

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LETÍCIA MAZEPA

ANÁLISE DO PERFIL FÍSICO-QUÍMICO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA ESPÉCIE VEGETAL *Annona x atemoya* Mabb.



CURITIBA
2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SEGURANÇA
ALIMENTAR E NUTRICIONAL



LETÍCIA MAZEPA

ANÁLISE DO PERFIL FÍSICO-QUÍMICO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA ESPÉCIE VEGETAL *Annona x atemoya* Mabb.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Segurança Alimentar e Nutricional, Área de Concentração: Qualidade dos Alimentos e Nutrição, do departamento de Nutrição, setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Segurança Alimentar e Nutricional.

Orientador: Prof. Dr. Obdúlio Gomes Miguel
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Cláudia Carneiro
Hecke Kruger

CURITIBA
2014

Mazepa, Leticia

Análise do perfil físico-químico, atividade antioxidante e atividades biológicas da espécie vegetal *Annona x atemoya Mabb* / Leticia Mazepa – Curitiba, 2014.
116 f. : il. (algumas color.) ; 30 cm.

Orientador: Professor Dr. Obdúlio Gomes Miguel

Coorientadora: Professora Dra. Cláudia Carneiro Hecke Kruger

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Segurança Alimentar e Nutricional, Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. 2014.

Inclui bibliografia

1. *Annona x atemoya Mabb*. 2. Atividade antioxidante. 3. Caracterização nutricional. 4. Fruticultura. I. Miguel, Obdúlio Gomes. II. Kruger, Cláudia Carneiro Hecke. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 583.115

TERMO DE APROVAÇÃO

LETÍCIA MAZEPA

Título: "ANÁLISE DO PERFIL FÍSICO-QUÍMICO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA ESPÉCIE VEGETAL ANNONA X ATEMOYA MABB"

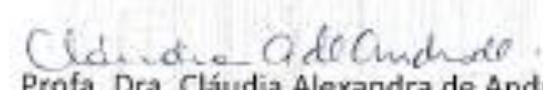
Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Segurança Alimentar e Nutricional, da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel
Orientador



Profa. Dra. Lys Mary Bileski Cândido
Universidade Federal do Paraná



Profa. Dra. Cláudia Alexandra de Andrade
Unibrasil

Curitiba, 28 de julho de 2014.

Dedico este trabalho aos meus pais, Waldomiro e Rosani, pelo amor, pelo apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida.

Sem eles a concretização desse sonho não seria possível.

Ao meu noivo, Tiago, pelo carinho, atenção e compreensão.

À Deus, pela vida, pela saúde, pela coragem de seguir na busca das realizações e no desfrute das oportunidades.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Segurança Alimentar e Nutricional pelo acolhimento.

Aos meus orientadores, Obdúlio Gomes Miguel e Cláudia Carneiro Hecke Kruger, pela confiança em meu trabalho, por compartilharem o conhecimento e pela paciência.

A família lassumassa, pela gentileza com a qual me receberam, pelos ensinamentos e pela permissão em analisar o fruto que cultivam.

Aos meus amigos, pelo companheirismo e apoio.

As minhas colegas de turma, pelo apoio mútuo, pela construção e enriquecimento de saberes e pelas diferenças que oportunizaram maior crescimento.

Ao doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas Vinícius Bednarczuk de Oliveira, pela auxílio nas análises antioxidantes e na identificação dos compostos químicos.

A professora Sandra Mara Woranovicz Barreira, por viabilizar gentilmente o uso de seu laboratório quando do preparo das amostras.

Ao técnico Jair Lima pela assessoria no laboratório, por compartilhar seu conhecimento e por estar sempre disposto a ajudar, sem medir esforços.

Às técnicas Adriana Serenato, Lindamir Tullio e Jaqueline Leobet, pelo auxílio nas análises físico-químicas.

À aluna de Iniciação Científica, Luana Aksenen, pela disponibilidade e auxílio nas análises das amostras.

Ao pós-doutorando Lauro Souza, pelo auxílio nas análises de ácidos graxos.

Ao programa REUNI, pelo auxílio financeiro.

Aos professores do Departamento de Nutrição, pela construção do saber.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o desenvolvimento deste estudo.

*“Na vida, não vale tanto o que temos,
nem tanto importa o que somos.
Vale o que realizamos com aquilo que possuímos e,
acima de tudo, importa o que fazemos de nós”.*

Chico Xavier

RESUMO

A caracterização físico-química e a quantificação dos componentes bioativos dos frutos são relevantes para a compreensão do seu valor nutritivo, agregação de valor aos produtos regionais e para o possível desenvolvimento de gêneros alimentícios e farmacêuticos a partir de seus subprodutos. A *Annona x atemoya* Mabb., fruta popularmente conhecida como atemoia, é uma espécie cultivada no estado do Paraná, possui consumo e conhecimento restritos pela população, além de pouco explorada pela classe científica. O objetivo deste trabalho foi realizar a análise da composição físico-química, atividade antioxidante e atividades biológicas da atemoia. Foram avaliadas as frações da polpa, casca, semente e folha do cultivar African Pride. O perfil físico-químico foi obtido mediante análises de umidade, cinzas, acidez titulável, sólidos solúveis, pH, açúcares totais, proteínas, lipídeos, carboidratos e fibra alimentar total. Os extratos das amostras foram obtidos por meio de extração com etanol em Soxhlet. Foram realizados os doseamentos de polifenóis e flavonoides, atividade antioxidante, testes de toxicidade frente à *Artemia salina* e por hemólise *in vitro*, além da atividade antimicrobiana. O isolamento e identificação de substâncias procedeu-se para a fração hexânica da folha e, a fração hexano da semente, foi submetida à análise do teor de ésteres metílicos em ácidos graxos. As frações *in natura* da atemoia demonstraram alto teor de umidade, sólidos solúveis, proteínas, açúcares totais, carboidratos e fibras. O alto teor de cinzas foi predominante nas amostras de casca e folha. O pH foi baixo para polpa, casca e sementes, bem como ocorreu para os lipídeos nas duas primeiras. Embora em quantidades variáveis, todos os extratos analisados apresentaram compostos fenólicos e atividade antioxidante pelos métodos analisados, sendo mais significativos os resultados para os extratos etanólicos da folha e casca fresca. O maior teor de flavonoides foi observado no extrato etanólico da folha. Quanto à toxicidade frente à *Artemia salina*, as frações clorofórmio, acetato de etila e etanol da semente demonstraram-se as mais tóxicas. O extrato da folha apresentou maior atividade hemolítica e, a casca fresca foi a única amostra a apresentar inibição microbiana. Os esteroides β -sitosterol e campesterol foram identificados na fração hexânica da folha e, a semente apresentou maior percentual de ácidos graxos insaturados aos saturados em sua composição. Este estudo demonstrou a alta qualidade na composição da atemoia e suas frações, reforçando o estímulo do seu consumo *in natura* e encorajando maiores estudos envolvendo seus subprodutos para possíveis aplicações industriais.

Palavras-chave: *Annona x atemoya* Mabb., atividade antioxidante, caracterização nutricional, fruticultura.

ABSTRACT

The quantification of the bioactive compounds of regional fruits and their byproducts is relevant to understanding their nutritional characteristics and quality, increases the commercial value of those products and allows converting byproducts in food ingredients and herbal medicines. *Annona x Atemoya* Mabb., fruit popularly known as atemoya, is one of the species produced in the state of Paraná, but still have limited knowledge and consumption by the population, and are still little explored by science. The present work was aimed at studying the physical and chemical composition, antioxidant activity and biological activities of atemoya. To trace the physical and chemical profile, fractions of pulp, peel, seeds and leaves of atemoya, (African Pride cultivar) were analysed by moisture, ash, titratable acidity, soluble solids, pH, total sugar, protein, lipid, carbohydrate, and total dietary fiber. The samples were extracted by Soxhlet using ethanol. The measurements of polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, toxicity tests through brine shrimp test and hemolysis in vitro and antimicrobial activity of each extract has been performed. Isolation and identification of substances by high performance liquid chromatography was performed to the hexane fraction of the sheet, and the hexane fraction of the seed was submitted to methyl esters of fatty acids analysis. Fractions of fresh fruit demonstrated high moisture content, soluble solids, protein, total sugars, carbohydrates and fiber. The ash content found was higher in the peel and leaf. The pH was low for pulp, peel and seeds, as well as for lipid occurred in the first two. Although in varying amounts, all extracts analyzed showed positive results in the determination of phenolic compounds and antioxidant activity, it was more significant for the ethanol extracts of leaf and fresh peel. Likewise, flavonoid content was highest leaf extract, as well as dry skin. Regarding toxicity by the brine shrimp lethality test, the fractions chloroform, ethyl acetate and ethanol seed proved to be the most toxic. The leaf extract showed higher hemolytic activity and fresh peel was the only sample to present microbial inhibition. Steroids β -sitosterol and campesterol were identified in leaf hexane fraction, and the seed had a higher concentration of unsaturated fatty acids to saturated. This study demonstrated the high quality of atemoya composition, fortifying its fresh consumption and encouraging further studies involving byproducts for possible industrial applications.

Keywords: *Annona x atemoya* Mabb., antioxidant activity, nutritional characterization, fruit production.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	CLASSES DOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES.....	38
FIGURA 2	ATEMOIEIRAS CULTIVADAS EM MARIALVA/PR.....	43
FIGURA 3	FOLHAS E FLOR DA ATEMOIEIRA.....	43
FIGURA 4	FRUTOS DE <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	44
FIGURA 5	CLASSIFICAÇÃO DA ATEMOIA SEGUNDO O TAMANHO E NÚMERO DE FRUTOS POR CAIXA.....	45
FIGURA 6	DISTRIBUIÇÃO DO CULTIVO DE ATEMOIA NO ESTADO DO PARANÁ.....	45
FIGURA 7	SECAGEM DAS FOLHAS DA ATEMOIEIRA EM ESTUFA.....	48
FIGURA 8	FLUXOGRAMA DO PREPARO DA AMOSTRA.....	49
FIGURA 9	EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE ACIDEZ TITULÁVEL EM ÁCIDO ORGÂNICO.....	52
FIGURA 10	EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE PROTEÍNA.....	53
FIGURA 11	EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE LIPÍDEOS.....	53
FIGURA 12	EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE FIBRAS TOTAIS.....	55
FIGURA 13	EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE CARBOIDRATO.....	55
FIGURA 14	EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE VALOR ENERGÉTICO TOTAL.....	56
FIGURA 15	APARELHO SOXHLET PARA OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	56
FIGURA 16	EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE TEOR DE SÓLIDOS DOS EXTRATOS BRUTOS.....	57
FIGURA 17	EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DO ÍNDICE ANTIOXIDANTE (IA) SEGUNDO O MÉTODO DE ESPÉCIES REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO.....	61
FIGURA 18	EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DO PERCENTUAL DE HEMÓLISE.....	61
FIGURA 19	CONCENTRAÇÕES UTILIZADAS PARA O ESTABELECIMENTO DA CURVA PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO PARA O DOSEAMENTO DE COMPOSTOS FENÓLICOS.....	76
FIGURA 20	ENSAIO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR MEIO DA REDUÇÃO DO RADICAL DPPH.....	80
FIGURA 21	REAÇÃO DE COMPLEXAÇÃO DO FOSFOMOLIBDÊNIO.....	85

FIGURA 22	REAÇÃO PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA PELO MÉTODO TBARS.....	87
FIGURA 23	MICROPLACA PARA LEITURA DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DOS EXTRATOS DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	92
FIGURA 24	ESPECTRO DE RMN ¹ H DO ISOLADO DA FRAÇÃO HEXÂNICA DA FOLHA.....	96
FIGURA 25	ESTRUTURA QUÍMICA DO β-SITOSTEROL.....	96
FIGURA 26	ESTRUTURA QUÍMICA DO CAMPESTEROL.....	97
FIGURA 27	ESPECTRO DE RMN ¹³ C DO ISOLADO DA FRAÇÃO HEXÂNICA DA FOLHA.....	97

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1	NOMENCLATURA DAS AMOSTRAS PARA APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS.....	50
QUADRO 2	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS REALIZADAS SEGUNDO A FRAÇÃO DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	50
QUADRO 3	DISTRIBUIÇÃO DAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DOS EXTRATOS E DOS CONTROLES POSITIVO E NEGATIVOS, DE ACORDO COM AS COLUNAS DA MICROPLACA, PARA O ENSAIO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	63

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	CURVA DE CALIBRAÇÃO REFERENTE AO ÁCIDO GÁLICO, UTILIZADA COMO PADRÃO NA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS NOS DIFERENTES EXTRATOS DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	76
GRÁFICO 2	CURVA PADRÃO DA QUERCETINA PARA DOSEAMENTO DE FLAVONOIDES.....	78
GRÁFICO 3	CURVAS DOS PADRÕES RUTINA E VITAMINA C PELA REDUÇÃO DO DPPH.....	81
GRÁFICO 4	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb. PELA REDUÇÃO DO RADICAL DPPH.....	82
GRÁFICO 5	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE RELATIVA (%) AO PADRÃO VITAMINA C.....	86
GRÁFICO 6	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE RELATIVA (%) AO PADRÃO RUTINA...	86

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	MENOR E MAIOR PERCENTUAL DE CONSUMO ADEQUADO DE FRUTAS E HORTALIÇAS (CINCO OU MAIS PORÇÕES DIÁRIAS), PELA POPULAÇÃO ADULTA (≥ 18 ANOS), REGISTRADOS DENTRE OS ESTADOS BRASILEIROS, SEGUNDO RESULTADO DA PESQUISA VIGITEL DE 2006 A 2012.....	27
TABELA 2	QUANTIDADE DE MATÉRIA-PRIMA UTILIZADA PARA A OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DO CULTIVAR AFRICAN PRIDE DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	57
TABELA 3	MASSA, COMPRIMENTO LONGITUDINAL E LARGURA EQUATORIAL DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	67
TABELA 4	TEOR DE UMIDADE, CINZAS, pH, ACIDEZ TITULÁVEL E SÓLIDOS SOLÚVEIS DO CUTIVAR AFRICAN PRIDE DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	68
TABELA 5	TEOR DE PROTEÍNAS, LIPÍDEOS E AÇÚCARES TOTAIS DO CUTIVAR AFRICAN PRIDE DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	68
TABELA 6	TEOR DE CARBOIDRATOS, FIBRA ALIMENTAR TOTAL E VALOR ENERGÉTICO TOTAL DO CUTIVAR AFRICAN PRIDE DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	69
TABELA 7	RENDIMENTO DOS EXTRATOS DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	75
TABELA 8	CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS CORRESPONDENTE AO PADRÃO ÁCIDO GÁLICO. NOS DIFERENTES EXTRATOS DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	77
TABELA 9	TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS CORRESPONDENTE AO PADRÃO ÁCIDO GÁLICO EM MASSA FRESCA DAS FRAÇÕES DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	77

TABELA 10	CONCENTRAÇÃO DE FLAVONOIDES CORRESPONDENTE AO PADRÃO QUERCITINA. NOS DIFERENTES EXTRATOS DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	79
TABELA 11	TEOR DE FLAVONOIDES CORRESPONDENTE AO PADRÃO QUERCITINA EM MASSA FRESCA DAS FRAÇÕES DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	79
TABELA 12	CAPACIDADE INIBITÓRIA (IC ₅₀) DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FRAÇÕES DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb. E DOS PADRÕES RUTINA E VITAMINA C.....	83
TABELA 13	VOLUME DE MASSA FRESCA DAS FRAÇÕES DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb. CORRESPONDENTE À CAPACIDADE INIBITÓRIA (IC ₅₀) OBTIDA PELO ENSAIO DO DPPH.....	84
TABELA 14	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE RELATIVA (AAR%) À VITAMINA C E À RUTINA SEGUNDO O ENSAIO DA FORMAÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMILIBDÊNIO DOS EXTRATOS BRUTOS DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	85
TABELA 15	ÍNDICE ANTIOXIDANTE (IA) DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FRAÇÕES DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb. PELO ENSAIO DO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO.....	88
TABELA 16	CLASSIFICAÇÃO DOS EXTRATOS DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb SEGUNDO OS RESULTADOS OBTIDOS PELAS ANÁLISES DE DOSEAMENTOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	89
TABELA 17	ATIVIDADE HEMOLÍTICA IN VITRO DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FRAÇÕES DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	91
TABELA 18	TOXICIDADE FRENTE A <i>Artemia salina</i> DAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FRAÇÕES DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	93
TABELA 19	CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FRAÇÕES DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	95
TABELA 20	DESLOCAMENTO QUÍMICO NO ESPECTRO DE RMN 13C DO ISOLADO DA FRAÇÃO HEXÂNICA DA FOLHA.....	98
TABELA 21	TEOR DE ÉSTERES METÁLICOS DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DA SEMENTE DO FRUTO <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	100

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

%	Por cento
°C	Graus Celsius
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µg/mL	Micrograma por mililitro
AAR	Atividade Antioxidante Relativa
ABAP	Cloreto de 2,2'-azo-bis (2-amidinopropano)
AH	Atividade Hemolítica
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Agricultural Chemists</i>
AOCS	<i>American Oil Chemists Society</i>
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BHT	Butil-hidroxitolueno
C	Carbono
CF	Casca fresca
CG-MS	Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas
CIM	Concentração Inibitória Mínima
cm	Centímetro
CS	Casca seca
DL ₅₀	Dose letal 50%
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EAG	Equivalentes de Ácido Gálico
EQE	Equivalentes de Quercetina
F	Folhas
FAME	Ésteres metílicos em ácidos graxos
FAT	Fibra Alimentar Total
g	Gramma
H	Hidrogênio
IA	Índice Antioxidante

M	Molar
MDA	Malonaldeído
mg/mL	Miligrama por mililitro
MHz	Megahertz
mL	Mililitro
mL/min	Mililitro por minuto
nm	Nanômetro
pH	Potencial hidrogeniônico
PF	Polpa fresca
PL	Polpa liofilizada
RMN	Ressonância magnética nuclear
S	Semente
SAN	Segurança Alimentar e Nutricional
UV	Ultravioleta
v/v	Volume por volume

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	OBJETIVOS	23
2.1	OBJETIVO GERAL.....	23
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
3.1	CONTEXTUALIZAÇÃO: SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL.....	24
3.1.1	Indicadores de consumo.....	25
3.1.2	Políticas públicas de incentivo.....	30
3.1.3	Fruticultura e economia: estímulo ao investimento.....	33
3.2	BIODIVERSIDADE E FRUTICULTURA BRASILEIRA.....	35
3.3	A IMPORTÂNCIA DO CONSUMO DE FRUTAS PARA A SAÚDE HUMANA.....	36
3.4	COMPOSTOS FENÓLICOS.....	39
3.5	A ATEMOIA (<i>Annona x atemoya</i> Mabb).....	41
4	MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1	CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DE PESQUISA.....	47
4.2	MATERIAL BOTÂNICO.....	47
4.3	DIMENSIONAMENTO DA AMOSTRA.....	48
4.4	PREPARO DA AMOSTRA.....	48
4.5	NOMENCLATURA DAS AMOSTRAS.....	50
4.6	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA ESPÉCIE <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	50
4.6.1	Umidade.....	51
4.6.2	Cinzas.....	51
4.6.3	Acidez titulável em ácido orgânico.....	51
4.6.4	Sólidos solúveis.....	52
4.6.5	Potencial hidrogeniônico (pH).....	52
4.6.6	Proteínas.....	52
4.6.7	Lipídeos.....	53
4.6.8	Açúcares totais.....	54

4.6.8.1	Preparo da amostra.....	54
4.6.8.2	Determinação de açúcares totais.....	54
4.6.9	Fibra Alimentar Total.....	54
4.6.10	Carboidratos.....	55
4.6.11	Valor Energético Total (VET).....	55
4.7	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS.....	56
4.7.1	Teor de sólidos.....	57
4.8	DOSEAMENTO DE COMPOSTOS FENÓLICOS.....	58
4.9	DOSEAMENTO DE FLAVONÓIDES.....	58
4.10	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	59
4.10.1	Redução do radical DPPH.....	59
4.10.2	Formação do Complexo Fosfomolibdênio.....	59
4.10.3	Espécies reativas ao Ácido Tiobarbitúrico.....	60
4.11	ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	61
4.11.1	ATIVIDADE HEMOLÍTICA.....	61
4.11.3	TOXICIDADE FRENTE À <i>Artemia salina</i>.....	62
4.11.4	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	62
4.12	ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS.....	64
4.12.1	Isolamento de compostos.....	64
4.12.2	Identificação de compostos.....	65
4.13	IDENTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DA SEMENTE DE <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	65
4.14	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	66
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
5.1	DIMENSIONAMENTO DA AMOSTRA.....	67
5.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....	68
5.2.1	Umidade.....	69
5.2.2	Cinzas.....	70
5.2.3	Acidez titulável em ácido orgânico.....	70

5.2.4	Sólidos solúveis.....	71
5.2.5	Potencial hidrogeniônico (pH).....	71
5.2.6	Açúcares totais.....	72
5.2.7	Proteínas.....	72
5.2.8	Lipídeos.....	73
5.2.9	Carboidratos.....	73
5.2.10	Fibra Alimentar Total.....	73
5.2.11	Valor Energético Total (VET).....	74
5.3	RENDIMENTO DOS EXTRATOS.....	74
5.4	DOSEAMENTO DE COMPOSTOS FENÓLICOS.....	75
5.5	DOSEAMENTO DE FLAVONÓIDES.....	78
5.6	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	80
5.6.1	Redução do radical DPPH.....	80
5.6.2	Formação do Complexo Fosfobilidênio.....	84
5.6.3	Espécies reativas ao Ácido Tiobarbitúrico.....	87
5.7	ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	90
5.7.1	ATIVIDADE HEMOLÍTICA.....	90
5.7.2	TOXICIDADE FRENTE À <i>Artemia salina</i>	92
5.7.3	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	94
5.8	ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS.....	95
5.9	IDENTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DA SEMENTE DE <i>Annona x atemoya</i> Mabb.....	99
6	CONCLUSÃO.....	102
	REFERÊNCIAS.....	104
	ANEXOS.....	114
	ANEXO 1.....	115
	ANEXO 2.....	116

1. INTRODUÇÃO

O interesse pelo uso de produtos naturais tem sido crescente nos últimos anos tanto pela indústria farmacêutica como pela indústria alimentícia, sobretudo devido à presença de diversos compostos bioativos reconhecidamente indispensáveis para a saúde humana.

O consumo de frutas já não é simplesmente o resultado do gosto ou da preferência pessoal, pois além de nutrientes essenciais, a maioria delas possui quantidades consideráveis de micronutrientes, como minerais, vitaminas e compostos fenólicos (RUFINO *et al.*, 2010).

Os compostos fenólicos estão entre a classe mais comum de metabólitos na natureza. São conhecidos pelo seu potencial antioxidante, o qual difere em termos de intensidade entre os diversos compostos pertencentes à essa classe (MELO *et al.*, 2008).

As frutas, principais fontes alimentares de compostos fenólicos, em função de fatores intrínsecos (cultivar, variedade, estágio de maturação) e extrínsecos (condições climáticas e edáficas) apresentam, em termos quantitativos e qualitativos, composição variada desses constituintes. Por sua vez, a eficácia da ação antioxidante depende da estrutura química e da concentração destes fitoquímicos no alimento (MELO *et al.*, 2008).

A caracterização físico-química e a quantificação dos componentes bioativos, tanto dos frutos como de seus subprodutos (como casca e sementes), são relevantes para a compreensão do seu valor nutritivo, para valorização do produto no mercado e, ainda, para o possível desenvolvimento de gêneros a partir das frações desperdiçadas, potencializando seu interesse na agroindústria e favorecendo a promoção da saúde à população através da riqueza natural local.

A atemoia, cujo nome científico é *Annona x atemoya* Mabb, é um fruto híbrido derivado do cruzamento entre as espécies *Annona squamosa* e *Annona cherimoia* Mill. (BONAVENTURE, 1999). Alguns estudos descrevem algumas vantagens da atemoia quando comparada às demais *Annonas*, sendo considerada mais saborosa, com menor número de sementes, com maior vida pós-colheita e melhor adaptação climática (MARCELLINI *et al.*, 2003).

O cultivo da atemoia pode ser notado no Brasil, bem como no estado do Paraná. O consumo e o conhecimento dessa espécie são restritos pela população, além de pouco explorada pela classe científica. O interesse na investigação de suas propriedades está atribuído, além das características da polpa propriamente dita, à agregação de valor às partes não comestíveis do fruto (casca, sementes e folhas).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a composição físico-química, atividade antioxidante e atividades biológicas da espécie *Annona x atemoya* Mabb.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Analisar o perfil físico-químico da espécie *Annona x atemoya* Mabb.;
- ✓ Analisar o teor de compostos fenólicos da espécie *Annona x atemoya* Mabb.;
- ✓ Analisar o teor de flavonoides da espécie *Annona x atemoya* Mabb.;
- ✓ Analisar a atividade antioxidante da espécie *Annona x atemoya* Mabb.;
- ✓ Analisar a toxicidade pelos métodos da *Atermia salina* e pela atividade hemolítica da espécie *Annona x atemoya* Mabb.;
- ✓ Analisar a atividade antimicrobiana da espécie *Annona x atemoya* Mabb.;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CONTEXTUALIZAÇÃO: SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL

A alimentação e a nutrição constituem requisitos básicos para a promoção e a proteção da saúde, possibilitando a afirmação plena do potencial de crescimento e desenvolvimento humano, com qualidade de vida e cidadania (BRASIL, 2012a). Neste contexto, o conceito de Segurança Alimentar e Nutricional (SAN) tem sido largamente abordado e fortalecido por discussões no âmbito político, na sociedade civil e científica.

Desde a primeira metade do século XX, o país avança na construção de ações com reflexos nas condições de alimentação e nutrição, como a instituição do salário mínimo em 1940, programas de abastecimento, alimentação escolar, refeitórios para trabalhadores nos anos 1950 e programas de suplementação alimentar nos anos 1970. Destaque para a contribuição do médico, sociólogo, geógrafo e político pernambucano Josué de Castro (BRASIL, 2009a).

O Direito Humano à Alimentação Adequada (DHAA) está previsto entre os direitos sociais da Constituição desde a aprovação da Emenda Constitucional nº 64 em fevereiro de 2010, porém antes implícito em outros dispositivos constitucionais. Esse direito se realiza quando todas as pessoas têm acesso garantido e ininterrupto à alimentação adequada e saudável por meios próprios e sustentáveis (BRASIL, 2010a), e foi devidamente fortalecido pelo Decreto nº 7.272 de 25 de agosto de 2010, que dentre outras providências, veio regulamentar a criação do Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (BRASIL, 2010b).

Hoje, discorrer sobre SAN transcende o panorama fome, abarcando questões que transpõe desde o acesso à terra, a qualidade das etapas da produção, a distribuição do alimento, o cuidado com o meio ambiente, a valorização do produto local, a preservação de traços culturais, o consumo e a saúde da população.

Segundo Custódio *et al.* (2011):

“O tema SAN é bastante amplo, envolvendo aspectos tanto de oferta (produção, desenvolvimento sustentável, abastecimento e comercialização), quanto de demanda

(aproveitamento e aquisição) de alimentos. O tema pode ser analisado sob o ponto de vista micro ou macroeconômico”.

Partindo do ponto de vista nutricional da SAN, e mais especificamente biológico, o grupo alimentar das frutas destaca-se por exercer um papel fundamental na alimentação humana durante todas as fases da vida, uma vez que se referem a alimentos fontes de vitaminas, minerais, fibras e outros componentes relevantes para o bom funcionamento do organismo, bem como na redução do risco de inúmeras patologias.

A escolha por um padrão alimentar saudável tem recebido maior valorização, especialmente nas últimas décadas, nas quais pesquisas nacionais vêm demonstrando um aumento significativo de doenças associadas aos maus hábitos de vida, o que inclui a alimentação. Estudos demonstram associação positiva entre a nutrição e eventos cardiovasculares, desenvolvimento de cânceres, diabetes, hipertensão arterial, dislipidemias, além, é claro, do perfil sobrepeso/obesidade que tem acometido grande parte da população.

Entretanto, a riqueza físico-química das frutas não é a única característica que lhes atribui mérito, sobretudo em um país de invejável biodiversidade como se configura o Brasil. Neste sentido não há como desvincular-se de questões como a produção do alimento, o acesso, a informação, a preservação sociocultural e ambiental e, certamente, o incentivo do Estado por meio de políticas públicas a fim de concretizar efetivamente todas estas etapas.

3.1.1 Indicadores de consumo

Apesar dos inúmeros benefícios biológicos apontados quanto à ingestão de frutas e hortaliças, estudos revelam que a população brasileira consome menos da metade desses grupos alimentares segundo as recomendações do Guia Alimentar para a População Brasileira (BRASIL, 2009a), o qual, além de abordar questões relacionadas às deficiências nutricionais, estabelece orientações adequadas para a redução do risco de doenças cardiovasculares, câncer, diabetes, hipertensão, sobrepeso e obesidade (BRASIL, 2006).

A terceira diretriz do Guia Alimentar é a que se reporta às recomendações para frutas, legumes e verduras, e preconiza um consumo diário de três porções de

frutas e três porções de hortaliças. Em média, 400 g destes alimentos devem compor a alimentação diária do brasileiro – 9 a 12% do valor energético total baseado em uma dieta de 2000 kcal/dia (BRASIL, 2006).

Segundo os indicadores da Pesquisa Orçamentária Familiar (POF), uma das maiores fontes de dados referentes ao consumo alimentar, houve um aumento de aquisição de frutas de 4,38 kg/pessoa/ano no território brasileiro entre os anos de 2002-2003 e 2008-2009, anos em que foi aplicada a pesquisa, passando para um total médio de 28,86 kg/pessoa/ano (IBGE, 2010). Segundo a base de recomendações do Guia Alimentar (BRASIL, 2006), o consumo anual deveria ser próximo de 70 kg/pessoa, considerando um consumo médio de 200 g/dia.

A banana e a laranja mantiveram-se como as frutas preferidas do brasileiro e o consumo de melancia e maçã apontou crescimento. A explicação geral para isso é que são frutas mais populares e menos onerosas, disponíveis praticamente durante todo o ano e encontradas na maioria dos estabelecimentos do país. O mamão também é relativamente popular, alcançando quase a mesma representatividade que a maçã no consumo domiciliar, mas o aumento do seu consumo não é acompanhado pela oferta em quantidade e qualidade regulares ao longo do ano (SILVEIRA *et al.*, 2011).

A região Sul tem o maior consumo de frutas e hortaliças *per capita*, extrapolando a média de consumo individual de todo o país. A região Sudeste é a segunda maior consumidora de frutas e, apesar da ampliação de consumo na região Norte, esta ainda ocupou o último lugar no *ranking* nacional (SILVEIRA *et al.*, 2011). A última POF também indicou uma relação positiva entre consumo de hortifrutícolas e a renda da população (IBGE, 2010), mas é importante saber que o aumento de renda não é por si só um fator determinante nas escolhas de padrões alimentares mais saudáveis (BRASIL, 2005).

A Vigilância de Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico, pesquisa conhecida como VIGITEL, é sistema de monitoramento implantado em 2006 pelo Ministério da Saúde em todas as capitais nacionais e Distrito Federal por meio de questionário via telefone. Através dela, são coletadas informações atualizadas sobre a frequência, a distribuição e a evolução dos principais fatores que determinam as doenças crônicas no país. Segundo os dados da penúltima pesquisa realizada, a média do consumo regular de frutas e hortaliças pela população adulta, considerando uma frequência de cinco ou mais dias na semana, não atingiu 50% de

consumo recomendado, e, ainda, o aumento do consumo foi relacionado positivamente ao aumento de idade e escolaridade (BRASIL, 2012b), elementos que podem ser um reflexo da formação dos hábitos alimentares entre as gerações.

Para o mesmo ano da pesquisa (2011), os dados do consumo adequado de frutas e hortaliças, considerado quando da ingestão de pelo menos cinco porções ao dia, são ainda mais impactantes, uma vez que o estado que atingiu o maior consumo médio adequado não atingiu um percentual de 35% (BRASIL, 2012b).

Os últimos resultados divulgados, referentes ao ano de 2012, apresentaram um ligeiro aumento nas médias percentuais de indivíduos que mantêm um consumo adequado de hortifrutícolas, porém nenhuma das capitais chegou a apresentar ao menos a metade de entrevistados de acordo com o consumo preconizado pelo Guia Alimentar. A média de consumo adequado para o território nacional neste ano foi de apenas 22,7%, sendo maior para as mulheres em comparação aos homens: 27,2% e 17,6%, respectivamente (BRASIL, 2013a), fator também observado nos anos anteriores.

Ao avaliar a variação de consumo de frutas mediante o resultado da VIGITEL de 2006 a 2012 (TABELA 1), pôde-se notar que, percentualmente, o consumo ideal de frutas (≥ 5 porções diárias) nos estados brasileiros manteve-se muito aquém do recomendado nesse período de sete anos, apenas em 2006 e 2012 a média nacional ultrapassou pouco mais de 20%.

TABELA 1 – MENOR E MAIOR PERCENTUAL DE CONSUMO ADEQUADO DE FRUTAS E HORTALIÇAS (CINCO OU MAIS PORÇÕES DIÁRIAS), PELA POPULAÇÃO ADULTA (≥ 18 ANOS), REGISTRADOS DENTRE OS ESTADOS BRASILEIROS, SEGUNDO RESULTADO DA PESQUISA VIGITEL DE 2006 A 2012.

ANO DA PESQUISA	CONSUMO ADEQUADO MÍNIMO E MÁXIMO NOS ESTADOS BRASILEIROS(%)	CONSUMO ADEQUADO MÉDIA NACIONAL (%)
2006 ¹	7,3 – 38,6*	23,9*
2007 ²	10,0 – 23,0	17,7
2008 ³	8,1 – 22,0	15,7
2009 ⁴	9,6 – 25,4	18,9
2010 ⁵	9,2 – 24,8	18,2
2011 ⁶	13,4 – 34,3	16,9
2012 ⁷	16,2 – 30,3	22,7

FONTE: BRASIL, 2007¹; BRASIL, 2008²; BRASIL, 2009d³; BRASIL, 2010c⁴; BRASIL, 2011b⁵; BRASIL, 2012b⁶; BRASIL, 2013a⁷

Nota: os dados de 2006 representam o consumo regular de frutas e hortaliças, ou seja, em cinco ou mais dias na semana, enquanto as pesquisas de 2007 a 2012 representam o percentual de adultos que consomem pelo menos cinco porções de frutas e hortaliças por dia em cinco ou mais dias da semana, sendo este denominado consumo adequado desses grupos alimentares.

Ainda que notável o aumento de consumo de frutas entre as POF's de 2002-2003 e 2008-2009 e a variação irrisória demonstrada pela VIGITEL, verifica-se que esse se encontra abaixo de um terço das recomendações e necessidades preconizadas pelo Guia Alimentar, como já mencionado. Panorama semelhante pode ser encontrado em outros países, por exemplo, um estudo realizado na China que investigou mais de 13.000 idosos, concluindo, pela aplicação de inquéritos alimentares, que o consumo de frutas e hortaliças manteve-se abaixo do mínimo recomendado pela Organização Mundial da Saúde (LI *et al.*, 2012).

Neste sentido é importante entender se a produção nacional de frutas é suficiente para suprir o mercado interno, qual é a acessibilidade desses alimentos à população e qual a intervenção do Estado no sentido da promoção e viabilização da mudança no panorama atual, fundamentado pelas pesquisas nacionais.

Analisando a população brasileira segundo o Censo de 2010 (IBGE, 2010) somado à recomendação de consumo de frutas pelo Guia Alimentar da População Brasileira (aqui considerada a média de 200 g/pessoa/dia e, não realizando estratificação de consumo segundo faixa etária, dieta ou qualquer outra variável) supõe-se, superficialmente, que o país necessita de aproximadamente 14 milhões de toneladas de frutas ao ano para satisfazer a demanda da população. Considerando, hipoteticamente, que o crescimento populacional e de produção mantenham-se em uma constante, conclui-se que a produção supera o dobro da necessidade de abastecimento interno. Esse desfecho corrobora com dados emitidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), o qual relata que o suprimento *per capita* aumentou de 113 kg/habitantes/ano, em 2001, para 125 kg/habitantes/ano, em 2009, passando por um pico de 132 kg/habitantes/ano, em 2006 (BRASIL, 2011a).

Neste mesmo relatório, o MAPA descreve que dentre o aumento de preço dos alimentos para o consumidor, o grupo de frutas apresentou uma das menores taxas entre 2001 e 2011, quando comparado aos demais grupos (BRASIL, 2011a). A disponibilidade interna *per capita*, a qual cresce em torno de 1,41% ao ano, é uma medida útil para se inferir sobre a oferta e a demanda de determinado produto e tem reflexo direto nos preços praticados no mercado, em todos os segmentos da cadeia alimentar. Como o crescimento da renda tem demonstrado pouca influência no aumento do consumo de frutas, a variação nos preços se deve mais à lei da oferta e demanda do que à variação no poder de compra em si (BRASIL, 2011a).

Analisando os índices fica perceptível que o problema do baixo consumo de frutas no Brasil não está atribuído à produção insuficiente. As pesquisas também remetem à interpretação de que o aumento de renda não se relaciona necessariamente ao consumo desse grupo de alimentos. Partindo dessa premissa, é possível levantar hipóteses que atendam aos fatores cruciais pelos quais esses alimentos não atinjam o consumo preconizado, tais como a preferência alimentar e a dificuldade de acesso.

Ainda que os últimos dados da POF (IBGE, 2010) e do MAPA (BRASIL, 2011a) não correlacionem significativamente o maior poder aquisitivo ao maior consumo de frutas e hortaliças, é compreensível que as classes sociais financeiramente menos prevalecidas realizem sua base de escolhas alimentares mediante produtos que lhes confirmam maior densidade calórica e maior saciedade dentro de um menor custo. Essas características pertencem a uma grande massa de produtos industrializados ricos em açúcares, gorduras e sódio que, por vez, são reconhecidamente grandes vilões da saúde humana quando ingeridos exacerbadamente, fato que vem ao encontro dos altos índices de excesso de peso apontados pela POF 2008-2009 (IBGE, 2010), atingindo 50,1% e 48,0% para homens e mulheres, respectivamente.

A escolha do indivíduo, ainda que exerça papel importante quanto ao estabelecimento de seu padrão alimentar, não se configura no único fator desencadeante desse panorama. Como premissa da Política Nacional de Alimentação e Nutrição (BRASIL, 2012a), o cidadão deve ter direito ao acesso ao alimento e à informação.

A frente desse cenário, a SAN incorpora-se na medida em que ações integradas possibilitem a informação referente à importância do consumo das frutas para a saúde de toda a população – por meio de educação nutricional – porém, agregando meios facilitadores de acesso a esse consumo, sem que haja comprometimento no poder de aquisição de qualquer outro item necessário àquele cidadão. Por conseguinte, é imprescindível que ações integradas do Estado somem esforços não apenas na publicidade da alimentação saudável, mas também na formatação facilitadora da chegada desses produtos à mesa do consumidor, incorporados a meios alternativos e sustentáveis de produção.

3.1.2 Políticas públicas de incentivo

É indiscutível o fato que o papel desempenhado pelo governo em termos de políticas facilitadoras no apoio produtivo e no acesso ao alimento caracteriza-se como crucial quando se trata de segurança nutricional dentro do sistema alimentar – produção, distribuição e consumo de alimentos.

A Estratégia Global para a Promoção da Alimentação Saudável, Atividade Física e Saúde aponta para a necessidade de revitalizar esforços para a promoção da alimentação saudável (WHO, 2003).

Em 2009, frente à problemática estampada em termos do consumo alimentar e da transição nutricional, o Ministério da Saúde por meio da Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição, publicou o documento intitulado "Ações de Incentivo ao Consumo de Frutas e Hortaliças do Governo Brasileiro", parte integrante da Estratégia Global supracitada. Este documento visou apresentar as principais ações desenvolvidas por este governo para o incentivo do consumo de frutas e hortaliças. Estas diretrizes baseiam-se nas orientações do Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional - CONSEA (BRASIL, 2009b).

As ações sugeridas envolvem uma série de Ministérios, incumbindo-os de determinadas responsabilidades que, em conjunto, podem interferir positivamente não apenas na saúde biológica do ser humano, como no desenvolvimento de políticas de produção, da agricultura familiar, do abastecimento, do acesso ao alimento e à educação.

Dentre as propostas relatadas tem-se: fortalecimento do Programa de Análise de Resíduo de Alimentos; publicidade de alimentos e o controle do uso de agrotóxicos na esfera educativa; fomento de novos estudos no campo do consumo alimentar; garantia da continuidade das Pesquisas de Orçamento Familiares; ações que promovam a transição agroecológica e a conservação de espécies da agrobiodiversidade; ações que promovam a valorização das espécies nativas brasileiras; instituição de uma Política Nacional de Abastecimento Alimentar; fortalecimento das linhas de crédito para produção agroecológica e de produção integrada; articulação de ações de educação em SAN com as de abastecimento e agricultura; fortalecimento do Programa de Aquisição de Alimentos (PAA); incentivo da consolidação das feiras locais; priorização da aquisição de alimentos para a

alimentação escolar com produtos da agricultura familiar, entre outras. (BRASIL, 2009b).

Apesar da produção de frutas brasileira ter capacidade de atender, quantitativamente, à demanda populacional, e esse processo não estar sendo discutido como a problemática da produção insuficiente em si, é evidente que por fazer parte do ciclo do mercado agroalimentar, não deve ser omitida.

Dentro da proposta abordada e das ativas políticas brasileiras, cabe reforçar o incentivo do Programa Nacional de Agricultura Familiar (PRONAF) direcionado aos agricultores familiares de baixa renda, bem como o incentivo à Reforma Agrária que vise o assentamento dessas mesmas famílias, viabilizando o fortalecimento da agricultura familiar e da agrobiodiversidade (BRASIL, 2010a). Observa-se que o valor médio dos contratos do PRONAF Crédito vem aumentando no decorrer dos anos, o que evidencia uma redução do número de contratos, principalmente entre os agricultores familiares de baixa renda. Um dos principais desafios desse Programa é adequar uma política de crédito agrícola aos agricultores familiares mais empobrecidos (BRASIL, 2010a).

São os agricultores familiares que representam a maior fatia responsável pelo abastecimento interno de alimentos no país, isto significa que eles contribuem em favor do superávit comercial da balança de produtos agropecuários, na medida em que reduz a pressão pela importação desses produtos (BRASIL, 2010a). Ainda assim evidencia-se, além da desigualdade de direcionamento do crédito, a disparidade da distribuição agrária, onde 84,4% do número de unidades agrícolas nacionais são representados pela agricultura familiar, porém detendo apenas 25% da área total dos estabelecimentos brasileiros (IBGE, 2006), estando as três demais fatias em poder de determinadas oligarquias: um espelho do sistema agrário colonial.

Segundo dados obtidos em 2000 os agricultores familiares representavam 85,2% do total de estabelecimentos, ocupavam 30,5% da área total e eram responsáveis por 37,9% do Valor Bruto da Produção Agropecuária Nacional, recebendo apenas 25,3% do financiamento destinado à agricultura (FAO/INCRA, 2000). Em 10 anos, período entre 1996 e 2006, a participação dos estabelecimentos da agricultura familiar obteve um aumento de 3%, e, 2% foi o crescimento na participação desses produtores no Valor Total Bruto de Produção (BRASIL, 2009c),

podendo caracterizar o aprimoramento desses índices como uma importante meta a ser atingida.

Os instrumentos de política agrícola tradicionalmente relegaram a um segundo plano a agricultura familiar. O exemplo é o crédito rural subsidiado que se direcionou para as regiões mais ricas, como Sul e Sudeste, para os grandes produtores e para os produtos de exportação. O PRONAF tem sido analisado em vários estudos, que enfatizaram limitações como a baixa abrangência, a desigualdade na distribuição regional dos recursos, a concentração dos financiamentos nos agricultores mais capitalizados e o modelo de agricultura estimulado via concessão de financiamentos (SOUZA, NEY e PONCIANO, 2011), características evidenciadas pelos índices citados.

Concomitante ao crédito, o estímulo à agricultura orgânica configura um meio sustentável de produção ao meio ambiente e saudável em termos de consumo, necessitando, portanto, o desenvolvimento de apoio e assistência técnica a esses trabalhadores, uma vez que essa foi a maior dificuldade apontada por eles segundo resultado do Censo Agropecuário do ano de 2006 (IBGE, 2006).

Mazzoleni e Nogueira (2006) descrevem:

“A agricultura orgânica, do ponto de vista governamental, é uma oportunidade de formulação de políticas públicas. O potencial brasileiro para a agricultura orgânica são os agricultores familiares excluídos da agricultura química”.

Um estudo realizado em 2010 foi capaz de identificar outro fato de extrema relevância: a agricultura familiar ecológica como promotora de saúde aos agricultores e suas respectivas famílias no estado do Paraná. Tal fato foi observado por meio da possibilidade de construção de mudanças positivas nas famílias entrevistadas por meio de investigação da alimentação e saúde, bem como na promoção de melhorias econômicas mediante a comercialização de seus produtos (NAVOLAR, RIGON, PHILLIPI, 2010), configurando assim uma via refletora da SAN caminhando em sentidos múltiplos: solo, produtor, economia, cultura, desenvolvimento, diversidade, saúde.

Recentemente o governo federal instituiu a Política Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica (PNAPO), comprometendo-se em “integrar, articular e adequar

políticas, programas e ações indutores da transição agroecológica, da produção orgânica e de base agroecológica”, visando o desenvolvimento sustentável e a qualidade de vida da população, por meio do uso sustentável dos recursos naturais e da oferta e consumo de alimentos saudáveis (BRASIL, 2013b).

Dentro da PNAPO, duas instâncias foram nomeadas para elaboração do Plano Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica (PLANAPO). Uma delas pela Câmara Interministerial de Agroecologia e Produção Orgânica (CIAPO) e, a outra, pela Comissão Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica (CNAPO), propondo as diretrizes, objetivos e as ações prioritárias a serem desenvolvidas. O PLANAPO lança diversos desafios, dentre essas: ampliação do número de agricultores de produção orgânica e de base agroecológica; incentivo ao registro, à produção e à distribuição de insumos provenientes deste cultivo; fomento à conservação, ao manejo e ao uso sustentável dos recursos naturais; financiamento para implantação de infraestruturas produtivas e comerciais; estímulo à agregação de valor aos produtos orgânicos e de base agroecológica; ampliação do acesso de consumidores a informações e ao consumo de produtos orgânicos e de base agroecológica (BRASIL, 2013b).

Dada uma produção suficiente com foco no desenvolvimento dos pequenos agricultores mediante cultivos sustentáveis, há de se viabilizar o escoamento e o acesso interno das frutas, prioritariamente *in natura*, em quantidade e qualidade satisfatórias para toda a população. Nesse sentido, canais de comercialização (como mercados de orgânicos e feiras locais) fundamentados no modelo do Programa de Aquisição de Alimentos (PAA) o qual dispensa processo licitatório (BRASIL, 2012c), por exemplo, devem merecer atenção de investimentos, favorecendo, além do desenvolvimento do pequeno produtor, seu contato direto com o consumidor, omitindo assim a figura dos “atravessadores” (ASSIS e ROMEIRO, 2005).

3.1.3 Fruticultura e economia: estímulo ao investimento

O enfoque de Segurança Alimentar e Nutricional considera qualidade e riscos em diferentes sentidos para além da inocuidade, incluindo qualidade nutricional, qualidade do ponto de vista de como o alimento é produzido, riscos sociais,

ambientais e econômicos deste processo, além da adequação cultural (ANJOS e BURLANDY, 2010).

O setor de fruticultura está entre os principais geradores de renda, emprego e de desenvolvimento rural do agronegócio nacional, dispendo de elevado efeito multiplicador de renda e com força suficiente para dinamizar economias locais estagnadas ou com poucas alternativas de desenvolvimento (FACHINELLO *et al.*, 2011).

Políticas públicas devidamente orientadas podem não só proteger produtores, especialmente aqueles menores, mas também permitir sua maior inserção no mercado. O crescimento econômico é hoje condição indispensável para a redução da pobreza e da fome. Cabe ressaltar que esses investimentos sociais não se resumem às políticas compensatórias ou assistenciais, é preciso desenvolver políticas que promovam câmbios estruturais, iniciativas como as transferências condicionadas de renda, com ênfase nas condicionalidades e na integração com políticas de capacitação e inserção trabalhista. (SILVA e TAVARES, 2008).

A diversificação da produção da fruticultura vem sendo capaz de gerar melhorias no sustento das unidades rurais, impactando positivamente na disponibilidade de renda e na melhoria da qualidade de vida. Em um estudo realizado por Rathmann *et al.* (2008), os autores destacaram que mesmo na região onde a produção frutícola é emergente, os produtores já a percebem como uma atividade mais rentável que outra possibilidade produtiva, na qual os mesmos já apostaram em passado recente, qual seja, a produção de soja.

Visto que nosso país é capaz de atender satisfatoriamente o volume necessário de frutas para o consumo da população, a biodiversidade de frutas internacionalmente cobiçada, a possibilidade de crescimento de inserção da agricultura familiar, o canal de exportação segue como possibilidade de desenvolvimento da diversidade de culturas em meio ao latifundiarismo predominante no agronegócio, uma vez que não acarrete prejuízos no abastecimento nacional de qualidade. Em estudo realizado por Bueno e Baccarin (2012) verificou-se um avanço do Brasil nas exportações de frutas, principalmente na forma fresca, mostrando um cenário internacional com perspectivas favoráveis. A fruticultura brasileira apresenta grande potencial de expansão no mercado internacional (BUENO e BACCARIN, 2012), sendo esta uma situação propícia ao

comércio de produtos já bem estabelecidos na agricultura ou ainda na divulgação de frutas exóticas produzidas pelo país. Segundo FACHINELLO *et al.* (2011):

“Com o apoio e o incentivo público, é possível aproveitar o potencial de clima e solo existente no País para aumentar a diversificação de cultivos e atender à demanda crescente por clima temperado para atender ao mercado interno e às exportações.”

Se prioritariamente as frutas são defendidas como alimentos substanciais para a manutenção de uma boa saúde do indivíduo, ao adentrar-se em seu ciclo é possível notar que o desenvolvimento do setor fruticultor pode configurar em diversos ganhos além da saúde, transpassando pelo crescimento econômico regional, resgate da cultura local, desenvolvimento de pequenos produtores e diversificação da produção agrícola sustentável.

3.2 BIODIVERSIDADE E FRUTICULTURA BRASILEIRA

O Brasil é um país de grandes dimensões, constituído por regiões e estados conhecidos por sua rica variedade em recursos naturais. A história do Brasil, desde o início da colonização, traz em sua memória relatos da cultura alimentar brasileira: sua cor, aroma e sabor (BRASIL, 2002). A oferta de alimentos à base de plantas oferece uma mistura diversificada de constituintes químicos essenciais para a vida humana e que podem contribuir para a promoção de uma boa saúde (GRUSAK, 2002).

O clima favorável brasileiro configura um dos principais fatores que permite que muitos destes alimentos sejam de fácil disponibilidade e proporcionem benefícios especiais para a população como um todo (BRASIL, 2002), afinal, poucas são as variedades que não se adaptam ao clima e ao solo nacionais (BRASIL, 2012d).

Dentre essa vasta riqueza vegetal do país destacam-se as frutas. Elas são reconhecidas fontes de vitaminas, minerais e fibras, alimentos nutricionalmente importantes da dieta. Nos últimos anos, uma maior atenção tem sido dispensada a

estes alimentos uma vez que evidências epidemiológicas têm demonstrado que seu consumo regular está associado à redução da mortalidade e morbidade por algumas doenças crônicas não transmissíveis (MELO *et al.*, 2008).

O setor de fruticultura está entre os principais geradores de renda, emprego e desenvolvimento rural do agronegócio nacional, dispondo de elevado efeito multiplicador dessa renda e com força suficiente para dinamizar economias locais estagnadas ou com poucas alternativas de desenvolvimento (FACHINELLO *et al.*, 2011). O conhecimento, a valorização, a produção e a utilização dos alimentos regionais na comunidade encoraja a autossuficiência da mesma, colaborando para a melhoria da economia local e da qualidade de vida (BRASIL, 2002).

A produção mundial de frutas atingiu 587,6 milhões de toneladas em 2009. A China liderava o *ranking* com 19,5% da produção mundial, seguida pela Índia com 11,6% e o Brasil com 6,4%, seguidos por Estados Unidos, Itália, Indonésia, México, Filipinas, Espanha e Turquia. Juntos, estes dez países representaram cerca de 60% da produção mundial de frutas neste mesmo ano referenciado (FAO, 2011).

Apesar de estar entre os três maiores produtores mundiais, o Brasil encontrava-se, em 2008, em 15º no *ranking* dos exportadores de frutas. Do total produzido, 47% foram consumidos *in natura* e 53% foram para processamento. Dentre os 47% das frutas frescas, apenas 2% foram exportados e do total processado, 29% destinaram-se à exportação (BRASIL, 2012d).

No cenário nacional é possível notar, de um lado, o crescimento das grandes plantações monocultoras a cada ano, as quais fazem uso de produtos químicos com vistas ao aumento de produtividade. Do outro lado, penalizamos a população por limitá-la a variar a sua alimentação e consumir espécies nativas, capazes de oferecer saúde por meio de sua riqueza nutricional (PEREIRA *et al.*, 2013), e capazes ainda, de se tornar uma fonte de renda quando da produção de doces, geleias, sucos e sorvetes.

3.3 A IMPORTÂNCIA DO CONSUMO DE FRUTAS PARA A SAÚDE HUMANA

A realidade de transição epidemiológica brasileira, representada estatisticamente pelo aumento de mortalidade por doenças crônicas, como as cardiovasculares (IBGE, 2009), por exemplo, substancia ainda mais a necessidade

de pesquisas no setor da saúde e alimentação e, principalmente, na priorização de políticas públicas que facilitem produção e acesso a uma alimentação saudável. Políticas que incitem hábitos de vida saudáveis, como o próprio consumo adequado de frutas e hortaliças, contribuem não só na redução de risco de patologias, como também no controle de custos com a saúde pública nacional.

As frutas têm sido associadas a um papel protetor na manutenção da saúde. Seus benefícios na dieta humana são bem conhecidos e fortemente sustentados por evidências científicas (HERVERT-HERNÁNDEZ *et al.*, 2011), as quais têm ratificado que o consumo regular desses grupos alimentares está associado à redução da mortalidade e morbidade por algumas doenças crônicas não transmissíveis (MELO *et al.*, 2008).

Os radicais livres são átomos ou grupos de átomos que contenham pelo menos um elétron não emparelhado na sua órbita, e pode ser formado quando o oxigênio interage com determinadas moléculas. Há uma variedade de radicais livres formados no organismo, entre eles, as espécies reativas de oxigênio e espécies reativas de nitrogênio são os principais componentes. Os radicais livres incluem hidroxila, superóxido, óxido nítrico, dióxido de nitrogênio, peroxil, e peroxil lipídico (LIEN, HUA e CHUONG, 2008).

Essas espécies reativas são formadas continuamente como subprodutos do metabolismo aeróbico e, através de reações com drogas e toxinas ambientais são altamente reativos, podendo causar lesão química ao DNA, proteínas e lipídeos insaturados. Os radicais livres estão implicados em uma série de processos patológicos, como câncer, doença inflamatória e envelhecimento (CHAMPE e HARVEY, 1994). O efeito nocivo dos radicais livres que causam potencial dano biológico ao organismo é denominado estresse oxidativo (LIEN, HUA e CHUONG, 2008).

Uma série de agentes redutores intracelulares, como o ascorbato, vitamina E, beta-caroteno e compostos fenólicos (polifenóis) são capazes de reduzir e detoxicar os intermediários de oxigênio nas células (CHAMPE e HARVEY, 1994), sendo eles caracterizados como a defesa do organismo contra os radicais livres e denominados antioxidantes (LIEN, HUA e CHUONG, 2008). Os compostos antioxidantes são sintetizados pelo corpo e também extraídos dos alimentos, especialmente frutas, vegetais, sementes, nozes, carnes e óleo (FUNDA e KIYMET, 2007). As classes dos compostos antioxidantes estão representados na FIGURA 1.

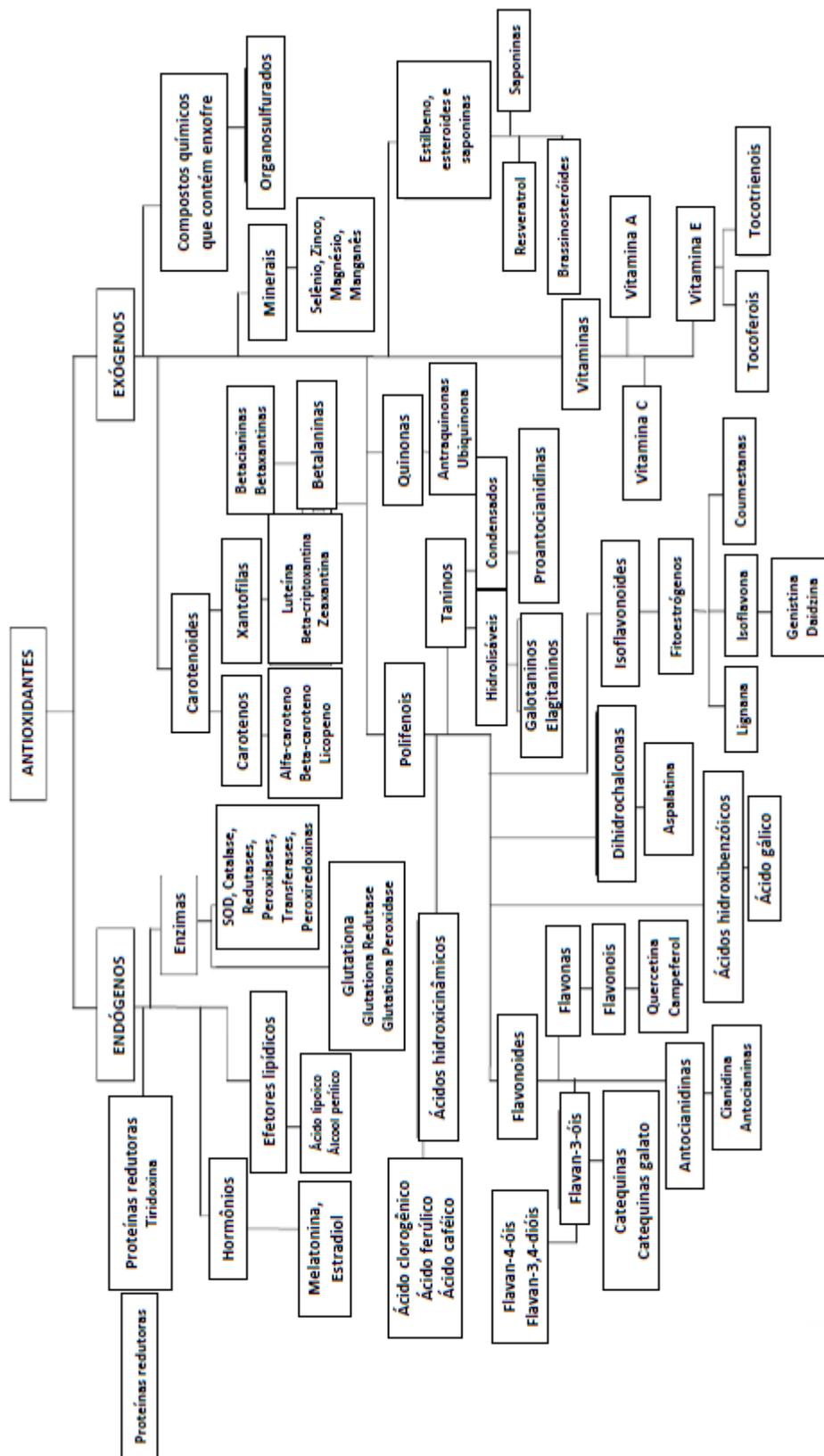


FIGURA 1 – CLASSES DOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES
 Fonte: ADAPTADO DE WOOTTON-BEARD e RYAN, 2011

O consumo de alimentos ricos em compostos antioxidantes foi correlacionado com um risco reduzido para diversas patologias e problemas crônicos de saúde (CHAMPE e HARVEY, 1994), uma vez que reduzem os processos de oxidação no organismo e desempenham um papel importante na manutenção da saúde, protegendo contra as espécies reativas de oxigênio responsáveis por um número de doenças crônicas e degenerativas (LOIZZO *et al.*, 2012).

Uma recente revisão sugere a relação entre o consumo de frutas ricas em antioxidantes e respostas protetoras contra a osteoporose, fundamentadas pela observação de maior massa e maior força óssea (SHEN *et al.* 2012). Mais recentemente, um estudo prospectivo realizado com mais de 74.000 indivíduos, analisou, dentre outras variáveis, o consumo alimentar, e concluiu uma relação significativamente inversa entre a ingestão de cinco ou mais porções de frutas e hortaliças ao dia com o risco de Acidente Vascular Cerebral (AVC) (LARSSON *et al.*, 2013). Os benefícios do consumo de ao menos uma porção de frutas e hortaliças ao dia foram atribuídos também na prevenção contra o câncer (REISS *et al.*, 2012).

Os benefícios dos polifenóis também têm sido apontados em diversos estudos na redução de risco de doenças cardiovasculares. Sugerem-se efeitos sob a vasodilatação, melhoria do perfil lipídico, redução da oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), dentre outros benefícios atribuídos à estes compostos, embora nem todos os mecanismos de ação estejam completamente elucidados (QUIÑONES, MIGUEL e ALEIXANDRE, 2013). Recentemente estudos revelam que, assim como macronutrientes trabalham juntos no organismo, o mesmo ocorre com os antioxidantes. Compostos como fenóis e flavonóides podem potencializar a ação de vitaminas antioxidantes, como por exemplo a rutina, sendo esta capaz de potencializar o efeito da vitamina C e E, quando ingeridas simultaneamente, gerando melhor captação de radicais livres (ALOK *et al.*, 2014).

3.4 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os polifenóis ou compostos fenólicos estão entre a classe mais comum de metabólitos na natureza e sua distribuição é quase onipresente (MELO *et al.*, 2008). São definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais

substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (ROCHA *et al.*, 2011). Embora exista uma grande variedade de fenóis de plantas, a maioria destes compostos resulta de uma comum origem: os aminoácidos fenilalanina e tirosina. Este diversificado grupo de compostos encontra-se dividido em várias classes, segundo o esqueleto carbônico dos fitoquímicos, dentre as quais se destacam a dos ácidos fenólicos e a dos flavonóides (MELO *et al.*, 2008).

A capacidade antioxidante dos polifenóis deve-se, principalmente, às suas propriedades redutoras do grupo aromático hidroxil, e, a intensidade da ação antioxidante exibida por estes metabólitos é diferenciada, uma vez que depende, fundamentalmente, do número e posição de hidroxilas presentes na molécula (MELO *et al.*, 2008).

Estruturas fenólicas frequentemente têm potencial para interagir com proteínas, devido aos seus anéis benzênicos hidrofóbicos e potenciais dos grupos hidroxila fenólicos hidrogênio-ligação. Estes fenólicos também atuam como antioxidantes em virtude da sua capacidade de inibir algumas enzimas envolvidas na geração de radicais, tais como várias isoformas do citocromo P450, lipoxigenases, ciclooxigenase e xantina oxidase (PEREIRA *et al.*, 2009).

Os polifenóis ocorrem em associação com matrizes alimentares em produtos vegetais, tais como cereais, frutas, hortaliças e bebidas (café, chás, vinhos e cerveja) (HERVERT-HERNÁNDEZ *et al.*, 2011). Frutas e hortaliças, além de fornecerem componentes como, por exemplo, ácido ascórbico, betacaroteno e ácido fólico, importantes para desempenharem funções básicas do organismo, são fontes de compostos bioativos diretamente associados à redução do risco de desenvolvimento de doenças. (ARTS e HOLLMAN, 2005).

A avaliação e a determinação de polifenóis totais em frutas e hortaliças produzidas e consumidas no país são essenciais para avaliar os alimentos-fonte de compostos bioativos e estimular sua ingestão pela população. A quantificação do teor de polifenóis nesses alimentos agrega conhecimento científico sobre a composição nutricional dos alimentos e seus benefícios na prevenção de diversas patologias (FALLER e FIALHO, 2009).

Tendo em vista a preconização do consumo adequado de frutas na prevenção de doenças e, sendo o Brasil um território que abriga valiosa biodiversidade, o desenvolvimento técnico científico de plantas nativas pouco exploradas é capaz de proporcionar proventos, diretos ou indiretos, em diferentes

faces, desde o desenvolvimento agrícola regional, aproveitamento sustentável de resíduos agroindustriais, até os benefícios de saúde conferidos à população.

3.5 A ATEMOIA (*Annona x atemoya* Mabb)

A família *Annonaceae* constitui-se por 132 gêneros e 2300 espécies (JESSUP, 1988), dos quais apenas três, *Annona*, *Rollinia* e *Duguetia*, produzem frutos comestíveis (EMBRAPA, 2006).

No gênero *Annona*, as principais espécies cultivadas nas regiões tropicais são: a *Annona squamosa* L., conhecida no Brasil como fruta-do-conde, ata ou pinha, a *Annona muricata* L., popularmente chamada de graviola e a *Annona reticulata* L., denominada de fruta-da-condessa. Já nas regiões subtropicais, a espécie *Annona cherimola* Mill. (cherimoia) e seu híbrido *Annona x atemoya* Mabb. (atemoia) lideram o cultivo das *Annonas* (EMBRAPA, 2006).

Dentre as espécies de *Annona*, apenas algumas delas, como fruta-do-conde, graviola e atemoia, são de importância comercial (PAREEK *et al.*, 2011), sendo que a maior parte das espécies dessa família é considerada subutilizada economicamente e a informação sobre as mesmas é escassa e amplamente dispersa, além disso, as áreas de produção têm crescido mais rapidamente do que a contribuição da ciência e da tecnologia (NUNES *et al.*, 2012).

A atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) é um fruto híbrido derivado do cruzamento entre um fruto tropical, a fruta-do-conde ou ata (*Annona squamosa*), muito cultivada no Brasil e em regiões de clima quente, e a cherimoia (*Annona cherimola* Mill.), fruto subtropical nativo de locais de clima ameno: regiões andinas do Chile, Peru, Bolívia, Equador (BONAVENTURE, 1999; TOKUNAGA, 2000). A capacidade de adaptação da *Annona cherimola* em temperaturas mais baixas e da *Annona squamosa* em temperaturas mais elevadas gerou um fruto com maior amplitude térmica para a adaptação.

Os primeiros cruzamentos da atemoia foram registrados em 1908, existindo também híbridos naturais (MORTON, 1987). No Brasil, há relatos de que, em 1950, o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) introduziu o fruto no estado de São Paulo visando avaliar seu comportamento (TOKUNAGA, 2000). Ao final da década de

1960 alguns pomares de atemoieiras já estavam instalados no Vale do Paraíba, graças à iniciativa de ínfima parcela de produtores crentes no potencial da fruta no mercado nacional. As pesquisas científicas referente ao cultivo, por sua vez, iniciaram apenas em meados dos anos 90 (PEREIRA e KAVATI, 2011).

No território nacional, as culturas de atemoia encontram-se localizadas em pontos com diferentes características climáticas, abrangendo desde regiões tropicais, com temperaturas médias anuais entre 20 e 25°C, a regiões subtropicais e tropicais de altitude, com temperaturas médias abaixo de 20°C. Há referências de que as temperaturas ideais para a fase de desenvolvimento da atemoia são: mínima entre 13 e 20°C e máxima entre 22 e 32°C (BONAVENTURE, 1999; TOKUNAGA, 2000).

Uma vez que seu cultivo em condições climáticas brasileiras é recente, há poucos dados disponíveis para a definição das principais características dos cultivares (NEVES e YUHARA, 2003). São conhecidas cerca de 15 cultivares de atemoia, das quais algumas foram introduzidas no Brasil. As cultivares mais conhecidas são Gefner, Page, African Pride, Bradley, IAC - A, PR - 2, PR - 3, Bernitski, Hete, Island, Gem, Kabri, Malali, Malamud, Mammoth e Sterner (EMBRAPA, 2006).

A planta apresenta porte pequeno a médio, chegando ao máximo de 10 metros de altura (FIGURA 2), normalmente sua copa é aberta e de ramos longos. As folhas são elípticas, ovaladas ou lanceoladas com dimensões entre, 10 a 20 cm de comprimento e 4 a 8 cm de largura (FIGURA 3). As flores medem de 3 a 4 cm, com três pétalas amarelo-esverdeadas (FIGURA 3), simples ou em pencas de 2 a 3 cm, localizadas nas axilas das folhas de ramos com um ano de idade ou nos brotos novos (MANICA, 1994).



FIGURA 2 – ATEMOIEIRAS CULTIVADAS EM MARIALVA/PR
FONTE: A autora (2014)



FIGURA 3 – FOLHAS E FLOR DA ATEMOIEIRA.
FONTE: A autora (2014)

Os frutos das *Annonaceas* são um pseudocarpo formado pela fusão dos carpelos e receptáculos dentro de uma massa carnosa. A forma do fruto pode ser variável, de esferóide a ovóide, e sua superfície é coberta com auréolas em forma de U, suaves ou pontudas (FIGURA 4). A polpa é branca, comestível e facilmente separada das sementes (SANTOS *et al.*, 2001). Pesam de 200 g a 450 g, amadurecem de 4 a 6 meses do florescimento, são esverdeados e chegam ao amarelo-pálido, na maturação (MANICA, 1994).

A classificação dos frutos tem como princípios: o grau de maturação, tamanho (FIGURA 5) e uniformidade na conformação (frutos bem formados). Os frutos defeituosos ou de tamanhos irregulares, destinam-se a um mercado menos exigente. São vendidos a granel, em contentores ou caixas de madeira, separados por camadas com papel branco (SANTOS *et al.*, 2001).



FIGURA 4 – FRUTOS DE *Annona x atemoya* Mabb.
FONTE: A autora (2014)



FIGURA 5 – CLASSIFICAÇÃO DA ATEMOIA SEGUNDO O TAMANHO E NÚMERO DE FRUTOS POR CAIXA.
FONTE: A autora (2014)

Cerca de mil hectares de atemoia são plantadas no Brasil. Os estados do Paraná, Minas Gerais e Bahia representam 18% dessa produção e São Paulo destaca-se com um volume de 43,8% da produção nacional (CAXITO, 2009). Sua comercialização ainda é caracterizada pelos altos preços, porém o gradativo aumento do consumo revela um prognóstico positivo para o crescimento da cultura (MARCELLINI *et al.*, 2003). Através da FIGURA 6 é possível observar a distribuição do cultivo desta fruta no estado do Paraná.

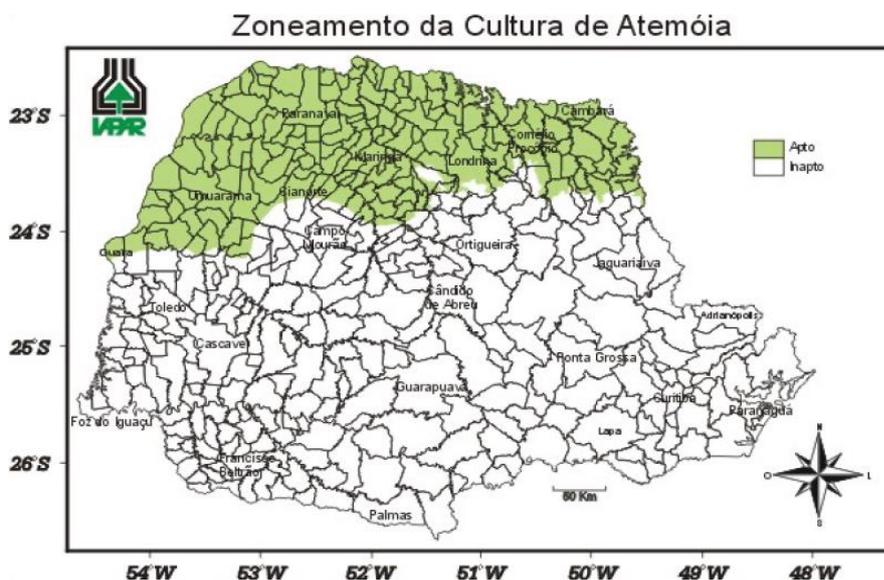


FIGURA 6 – DISTRIBUIÇÃO DO CULTIVO DE ATEMOIA NO ESTADO DO PARANÁ
Fonte: IAPAR

A atemoia apresenta algumas vantagens em relação às *Annonas* popularmente conhecidas como pinha e a graviola. É descrita como mais saborosa, com menor número de sementes e uma vida pós-colheita mais prolongada. Além disso, possui melhor adaptação a climas com características bem diferentes do que as demais espécies produtoras de frutos destinados ao consumo *in natura* (MARCELLINI *et al.*, 2003).

Em termos de contribuição nutricional, alguns estudos recentes envolvendo frutos pertencentes à família das *Annonaceas*, evidenciam seu importante teor de micronutrientes, a presença de compostos bioativos (CLERICI e CARVALHO-SILVA, 2011) e atividade antioxidante (JULIAN-LOAEZA *et al.*, 2011; SACRAMENTO *et al.*, 2003). Esses frutos contêm considerável quantidade de polifenóis, metabólitos secundários de poder antioxidante que podem auxiliar na redução do risco de doenças associadas ao estresse oxidativo, tais como o câncer, a aterosclerose e as doenças neurodegenerativas (LOIZZO *et al.*, 2012).

A literatura científica pouco contribui com informações quanto à caracterização centesimal e valor de atividades biológicas da espécie *Atemoia*, especificamente. Tal fato configura um maior estímulo na investigação proposta na referida pesquisa.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DE PESQUISA

Pesquisa de caráter experimental de fins práticos, abrangendo análises laboratoriais para caracterização da composição físico-química, da atividade antioxidante e atividades biológicas das frações polpa, casca, semente e folhas da espécie *Annona x atemoya* Mabb., cultivar African Pride.

4.2 MATERIAL BOTÂNICO

Estudos envolvendo plantas devem ser iniciados pela amostragem botânica. Para tanto, um material testemunha (*exsicata* ou *voucher*) deve ser preparado. Esse material consiste em um ramo da planta fértil (ou seja, com flores e/ou frutos), o qual é prensado, seco e acondicionado em uma coleção científica denominada “herbário”. Ao depositar a *exsicata* no herbário, o pesquisador de plantas medicinais permite que especialistas possam conferir se o nome botânico aplicado está correto. A toda *exsicata* é referida um coletor e um número de coleta (LORENZI e MATOS, 2008).

Os frutos e folhas espécie *Annona x atemoya* Mabb., cultivar African Pride, foram coletados no dia 27 de abril de 2013. A coleta ocorreu na cidade de Marialva, no estado do Paraná, sob as coordenadas geográficas S 23.47162 O 51.79231. O transporte do local da coleta até a cidade de Curitiba/PR foi realizado via terrestre em caixas de papelão e as amostras foram levadas ao Departamento de Nutrição da Universidade Federal do Paraná (UFPR), local de desenvolvimento da pesquisa. O material botânico foi submetido à identificação no Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba para classificação, onde encontra-se registrada sob o número 386620 (ANEXO 1).

A autorização de acesso ao patrimônio genético por meio de pesquisa científica foi emitida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, conforme documentado no ANEXO 2.

4.3 DIMENSIONAMENTO DA AMOSTRA

Cada um dos vinte e dois frutos utilizados na pesquisa foi pesado individualmente em balança semianalítica Marte® modelo AS2000, com sensibilidade de 0,01 grama. O dimensionamento longitudinal e equatorial foi realizado com paquímetro de bancada e o resultado expresso em centímetros (cm).

4.4 PREPARO DA AMOSTRA

Os frutos foram higienizados por imersão em solução clorada (hipoclorito de sódio) a 200 ppm, enxaguados em água corrente e distribuídos sobre uma bancada para secagem natural. Após o processo de dimensionamento, os frutos foram submetidos ao descascamento manual com o uso de faca de aço inoxidável e suas partes foram separadas: casca, polpa e sementes. Parte da polpa e casca foi submetida à secagem. Para a polpa, utilizou-se o método de liofilização, em liofilizador Cperon Freezer Dryer -55°C®. Cascas e folhas foram acondicionadas em estufa de circulação de ar a 45°C (FIGURA 7) por aproximadamente 24 horas até completa secagem. As sementes foram trituradas previamente à armazenagem.



FIGURA 7 – SECAGEM DAS FOLHAS DA ATEMOIEIRA EM ESTUFA.
FONTE: A autora (2014)

As frações do fruto foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e armazenadas em temperatura de congelamento até o início das análises. De acordo com a demanda de cada método, as amostras foram descongeladas em temperatura de resfriamento (até 5°C) e previamente homogeneizadas em liquidificador doméstico.

As etapas de preparo da amostra estão resumidas na FIGURA 8.

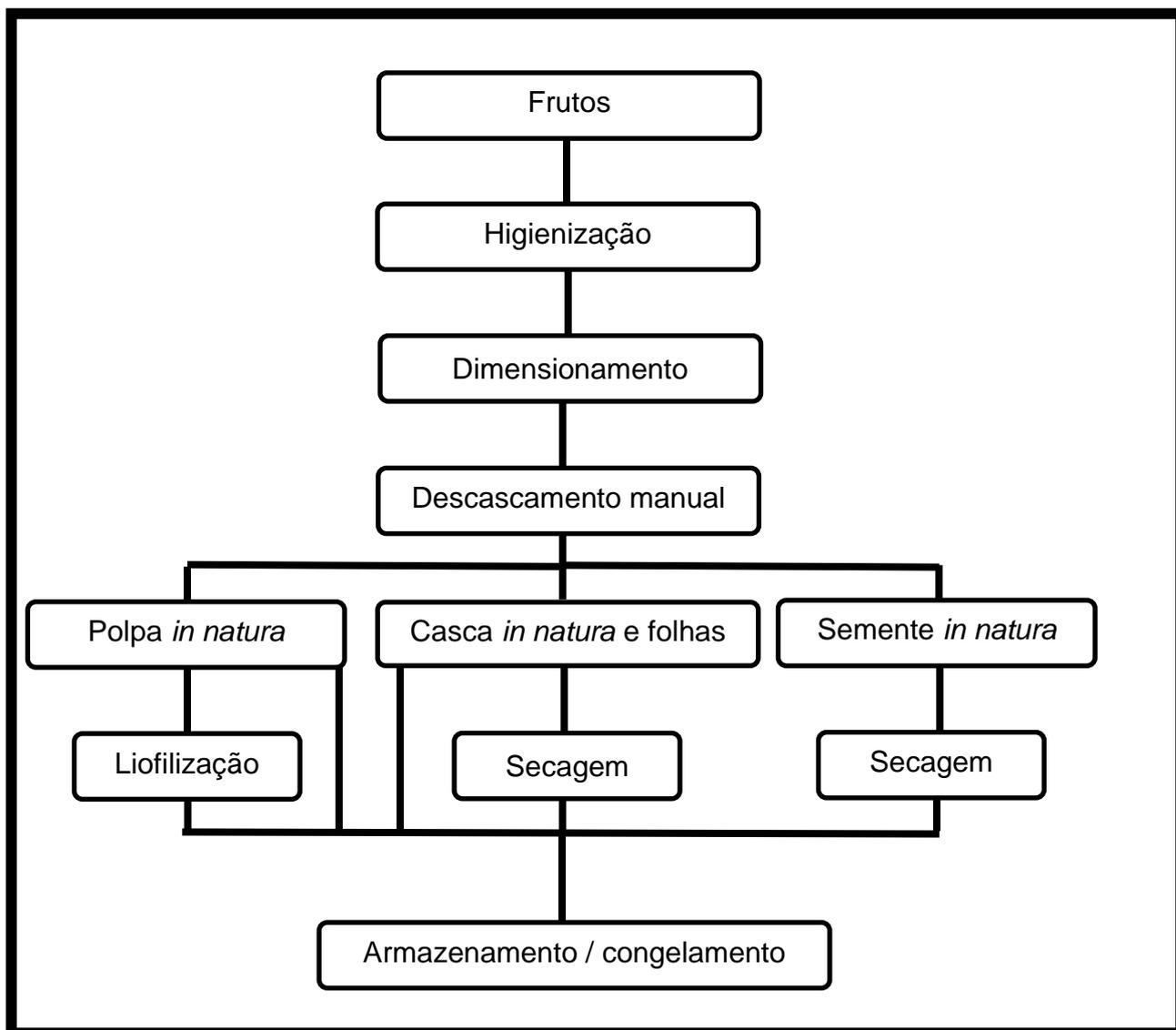


FIGURA 8 – FLUXOGRAMA DO PREPARO DA AMOSTRA
FONTE: A autora (2014)

4.5 NOMENCLATURA DAS AMOSTRAS

Para a apresentação dos resultados, foram utilizadas as abreviações descritas no QUADRO 1.

AMOSTRA	ABREVIÇÃO
Polpa Fresca	PF
Polpa Liofilizada	PL
Casca Fresca	CF
Casca Seca	CS
Semente	S
Folha	F

QUADRO 1 – NOMENCLATURA DAS AMOSTRAS PARA APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS.

FONTE: A autora (2014)

4.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA ESPÉCIE *Annona x atemoya* Mabb.

As análises físico-químicas do presente estudo estão indicadas no QUADRO 2, segundo cada fração do fruto.

ANÁLISE	AMOSTRA					
	PF	PL	CF	CS	S	F
Umidade	√	√	√	√	√	√
Cinzas	√	√	√	√	√	√
Potencial hidrogeniônico (pH)	√	√	√	√	√	√
Acidez titulável	√	√	√	√	√	
Sólidos solúveis	√					
Açúcar total	√	√	√	√	√	
Proteína	√	√	√	√	√	
Lipídeo	√	√	√	√	√	
Fibra alimentar total (FAT)		√		√	√	
Carboidrato	√	√	√	√	√	
Valor energético total (VET)	√	√	√	√	√	

QUADRO 2 – ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS REALIZADAS SEGUNDO A FRAÇÃO DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

FONTE: A autora (2014)

Nota: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca; CS: casca seca; S: semente; F: folha

4.6.1 Umidade

A umidade de todas as frações do fruto foi determinada, em quintuplicata, mediante secagem direta em estufa segundo a metodologia da AOAC - *Association of Official Analytical Chemists* (2005). Aproximadamente 5 gramas de amostra homogeneizada foram submetidas à estufa de circulação de ar da marca Quimis® a 105°C, em pesa-filtro previamente padronizado, até apresentar peso constante. O valor da umidade foi representado pela diferença entre o peso da amostra seca e o peso do pesa-filtro (AOAC, 2005).

4.6.2 Cinzas

As cinzas foram analisadas mediante calcinação da matéria orgânica (AOAC, 2005). Cerca de 3 gramas de amostra homogeneizada foram pesadas em cadinho previamente padronizado e levadas à secura e carbonização em chapa elétrica. Em seguida, as amostras foram incineradas em mufla, marca Robetshaw® modelo Indic 50, a 550°C até a queima total da matéria orgânica. Após resfriamento em dessecador, o teor de cinzas foi determinado pela diferença entre a amostra incinerada e o peso do cadinho. A análise foi realizada em quintuplicata.

4.6.3 Acidez titulável em ácido orgânico

A acidez titulável foi verificada através de volumetria potenciométrica conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). Foram diluídas 10 gramas da amostra em 300 mL de água destilada para posterior titulação com hidróxido de sódio a 0,1M. Prosseguiu-se com a titulação até a solução atingir um pH entre 8,2 e 8,4, aferido com pHmetro previamente calibrado, marca Analyser® modelo pH300. A análise foi realizada em quintuplicata e, os valores de acidez foram expressos em % de acidez em ácido cítrico, conforme equação descrita na FIGURA 9.

$$\% \text{ ácido orgânico} = \frac{V \times F \times M \times PM}{10 \times P \times n}$$

Na qual:

- V = volume de solução de hidróxido de sódio gasto na titulação em mL
- F = fator de correção da solução de hidróxido de sódio
- M = molaridade da solução de hidróxido de sódio
- PM = peso molecular do ácido cítrico em gramas (192)
- P = massa da amostra em g
- n = número de hidrogênios ionizáveis (3)

FIGURA 9 – EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE ACIDEZ TITULÁVEL EM ÁCIDO ORGÂNICO
 FONTE: IAL (2008)

4.6.4 Sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis em total de graus Brix (°Brix) foi mensurado mediante refratometria para a amostra da polpa *in natura*, dada pelo gotejamento do suco da polpa, em quintuplicata, e posterior leitura em refratômetro digital de bancada (IAL, 2008), marca Instrutherm® modelo RTD-95.

4.6.5 Potencial hidrogeniônico (pH)

A determinação do pH deu-se por método eletrométrico. Aproximadamente 10 gramas de amostra homogeneizada foram diluídas em 100 ml de água destilada e, após calibrado, o pHmetro Analyser® modelo pH300 foi utilizado para a indicação do pH (IAL, 2008). A análise foi realizada em quintuplicata

4.6.6 Proteínas

Foi realizada a determinação de nitrogênio pelo processo de digestão de Kjeldahl, segundo metodologia proposta pela AOAC (2005). Foi pesado aproximadamente 1 grama de cada amostra, a qual foi posteriormente submetida à digestão com ácido sulfúrico e catalisador, formando sulfato amoniacal. A destilação, realizada por arraste de vapor de amônia, foi recebida em enlermeyer contendo ácido bórico a 4%, tornando a solução de coloração verde. Por último, a amônia foi titulada com ácido sulfúrico 0,02M até a primeira coloração cor-de-rosa. A

determinação de proteínas das amostras foi realizada pela equação descrita na FIGURA 10, utilizando o valor de 6,25 como fator de conversão.

$$\% \text{ de proteínas} = \frac{V \times 0,14 \times f}{P}$$

Na qual:

- V = volume de ácido sulfúrico gasto na titulação
- P = peso da amostra
- f = fator de conversão (6,25)

FIGURA 10 – EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE PROTEÍNA
FONTE: AOAC (2005)

4.6.7 Lipídeos

Esta análise foi realizada mediante extração da amostra a quente com éter de petróleo (AOAC, 2005). Aproximadamente 5 gramas de amostra foram pesados em papel filtro e levados ao extrator de Soxhlet, acoplado em um condensador de bolas e balão de fundo chato previamente padronizado. O extrator foi mantido em aquecimento por aproximadamente 8 horas para extração. O solvente foi destilado e o balão com o resíduo etéreo foi levado à estufa para secagem e posterior pesagem. O teor de extrato etéreo foi expresso em porcentagem, segundo a diferença de peso do balão padronizado e o balão com o extrato etéreo (FIGURA 11).

$$\% \text{ de lipídeos} = \frac{100 \times N}{P}$$

Na qual:

- N = gramas de lipídeos
- P = gramas da amostra

FIGURA 11 – EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE LIPÍDEOS
FONTE: AOAC (2005)

4.6.8 Açúcares totais

4.6.8.1 Preparo da amostra

Foi pesado de 0,2 a 0,5g de cada amostra em balança analítica em béckeres de 120 mL. Adicionou-se 40 mL de água destilada e 1 mL de ácido sulfúrico 1 M, e a solução foi levada a aquecimento em chapa elétrica até início da fervura. Após resfriamento em temperatura ambiente, as soluções foram filtradas com o uso de funil e papel filtro em balões volumétricos de 100 mL.

4.6.8.2 Determinação de açúcares totais

Em uma série de tubos de ensaio foi adicionada solução padrão de glucose (100mg/dL) em diversas concentrações (25, 40, 55, 70, 85 e 100 µg/mL) e, em seguida, completou-se o volume dos tubos para 1 mL com água destilada. Foi adicionado 1 mL do reativo fenol (5 g%) e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Após o resfriamento dos tubos, aproximadamente 20 minutos, foi realizada a leitura das amostras em espectrofotômetro a 490 nm para traçar a curva padrão do experimento (DUBOIS *et al.*, 1956).

Os tubos das amostras foram realizados em triplicata, utilizando uma única concentração do filtrado da amostra: 150 µL para polpa fresca, polpa liofilizada, casca fresca e casca seca e, 500 µL para a amostra da semente. O procedimento seguinte foi o mesmo utilizado para a determinação da curva padrão, completando-se o volume para 1 mL com água destilada, adicionando o reativo fenol e o ácido sulfúrico concentrado para, finalmente, realizar a leitura em espectrofotômetro a 490 nm.

4.6.9 Fibra alimentar total

O teor de fibra alimentar total foi quantificado pelo método enzimático gravimétrico (IAL, 2008), o qual se constitui em digerir a amostra com três enzimas: alfa-amilase termorresistente, alcalase e amiloglucidase (Sigma®). Após digestão enzimática, 250 mL de etanol 95% pré-aquecido foram adicionados à amostra e a solução permaneceu em repouso por 24 horas. Essa solução foi filtrada em

cadinhos de vidro padronizados e lavada com 30 mL de etanol 78%, 20 mL de etanol 95% e 20 mL de acetona. O resíduo que permaneceu nos cadinhos foi submetido á secagem em estufa a 105°C e, o peso de cada cadinho foi aferido após estabilização. Na determinação das fibras foi utilizada a equação representada pela FIGURA 12. A análise foi realizada em duplicata, conforme sugerido pelo método.

$$\% FAT = \frac{R - P - C - B}{M \times 100}$$

Na qual:

- R = resíduo das amostras
- P = teor de proteína no resíduo
- C = teor de cinzas no resíduo
- B = branco da reação
- M = peso da amostra analisada

FIGURA 12 – EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE FIBRAS TOTAIS
 FONTE: IAL (2008)

4.6.10 Carboidratos

Para a determinação de carboidratos foi aplicado o método da diferença existente entre cem e o teor de proteínas, lipídeos, cinzas, fibras e umidade (MULER e TOBIN, 1980), conforme a equação demonstrada na FIGURA 13.

$$\% \text{ de carboidratos} = 100 - P - L - C - F - U$$

Na qual:

- P = teor de proteína
- L = teor de lipídeos
- C = teor de cinzas
- F = teor de fibras
- U = teor de umidade

FIGURA 13 – EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE CARBOIDRATO
 FONTE: MULER e TOBIN (1980)

4.6.11 Valor energético total

O valor energético foi calculado segundo a conversão de Atwater. O teor protéico e de carboidratos foram multiplicados por 4 quilocalorias (kcal), enquanto o

teor de lipídeos foi multiplicado por 9 kcal (OSBORNE e VOOGT, 1978). O valor energético total corresponde à soma de todos esses resultados (FIGURA 14).

$$VET = (P \times 4) + (C \times 4) + (L \times 9)$$

Na qual:

- P = teor de proteína
- C = teor de carboidrato
- L = teor de lipídeo

FIGURA 14 – EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE VALOR ENERGÉTICO TOTAL
FONTE: OSBORNE e VOOGT (1978)

4.7 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS

Os extratos brutos foram obtidos por maceração e percolação com a utilização de aparelho Soxhlet (CARVALHO *et al.*, 2009). Cada amostra foi pesada previamente ao seu acondicionamento no Soxhlet. Foi adicionado o solvente extrator, e submetido a um tempo médio de 8 horas de extração sob refluxo em manta aquecida a 65°C (FIGURA 15). Na TABELA 2 é possível observar a quantidade de matéria-prima utilizada na extração de cada uma das amostras estudadas.



FIGURA 15 – APARELHO SOXHLET PARA OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.
FONTE: A autora (2014)

TABELA 2 – QUANTIDADE DE MATÉRIA-PRIMA UTILIZADA PARA A OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DO CULTIVAR AFRICAN PRIDE DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb

AMOSTRA	QUANTIDADE DE MATÉRIA-PRIMA (g)
PF	85,50
PL	19,48
CF	38,85
CS	54,63
S _{hexano}	29,08
S _{acetado de etila}	29,08
S _{clorofórmio}	29,08
S _{etanol}	29,08
F	198,01

Nota₁: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca ; CS: casca seca; S: semente; F: folha

As amostras de polpa fresca, polpa liofilizada, casca fresca, casca seca e folha seca foram extraídas com a utilização de etanol absoluto. Para as sementes, procedeu-se a extração com solventes de polaridade crescente: hexano, clorofórmio, acetato de etila e etanol.

Foi aferido o volume dos extratos obtidos ao final da extração com o auxílio de uma proveta, os mesmos foram levados à estufa a 60°C até secura e, por fim, pesados em balança analítica.

4.7.1 Teor de sólidos

A determinação dos sólidos dos extratos consistiu em levar um mL de extrato a secura em estufa a 105°C até peso constante. A diferença do peso inicial e final do pesa filtro corresponde ao teor de sólidos por mL de extrato. Os resultados foram expressos em proporção da matéria-prima por mL de extrato e, a partir deste resultado e do teor de sólidos por 1 mL, aplicou-se a equação demonstrada na FIGURA 16.

$$\% \text{ teor de sólidos} = \frac{TS \times 100}{TF}$$

Na qual:

- TS = teor de sólidos/mL de extrato
- TF = teor do fruto / mL de extrato

FIGURA 16 – EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DE TEOR DE SÓLIDOS DOS EXTRATOS BRUTOS
FONTE: A autora (2014)

4.8 DOSEAMENTO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são altamente reativos com os radicais livres, portanto sua quantificação é indicativa de atividade antioxidante (JULIAN-LOAEZA *et al.*, 2011).

O doseamento de polifenóis foi realizado segundo a metodologia de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965), em triplicata, a qual consistiu na adição de água destilada, 320 μL da amostra (80 $\mu\text{L}/\text{mL}$), reagente Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio 10% a tubos de ensaio e, após trinta minutos, foi realizada a leitura em espectrofotômetro Shimadzu® UV-1800 a 765 nm. Como tubo branco foi utilizado o metanol e o controle foi composto por todos os reagentes citados anteriormente, com substituição da amostra por metanol.

A curva padrão para calibração foi realizada com soluções de diferentes concentrações de ácido gálico (2,5; 3; 4; 5; 6; 8 e 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), a partir da qual foi obtido um gráfico de dispersão permitindo, através da regressão linear, o cálculo das absorvâncias obtidas para cada amostra.

4.9 DOSEAMENTO DE FLAVONÓIDES

O doseamento de flavonóides foi realizado pelo método descrito por Chang *et al.* (2002), onde adicionou-se em 400 μL de amostra (1 mg/mL), 200 μL de cloreto de alumínio a 2,5% e 200 μL de acetato de sódio a 10%, completando o volume para 4 mL com metanol. Após o repouso dos tubos por 40 minutos, as amostras foram lidas em espectrofotômetro Shimadzu® UV-1800 a 425 nm. O tubo branco conteve os mesmos reagentes, porém a amostra foi substituída por metanol, o qual também foi utilizado para zerar o equipamento. A análise foi realizada em triplicata.

A curva de calibração foi composta por diferentes concentrações da quercetina (2,5; 3; 4; 5; 6; 8 e 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e o cálculo do teor de flavonóides nas amostras estudadas foi realizado por regressão linear.

4.10 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.10.1 Redução do radical DPPH

O 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) é um radical estável que apresenta coloração roxa escura, a qual é perdida com a redução deste radical. Este ensaio, realizado em triplicata, consistiu em adicionar a tubos de ensaio 2,5 mL de amostra em diferentes concentrações, diluídas em metanol. Aos tubos, foi adicionado ainda 1 mL de solução metanólica de DPPH. Após trinta minutos de repouso, a absorbância foi aferida em espectrofotômetro Shimadzu® UV-1800 a 518 nm. Utilizaram-se as mesmas concentrações de amostra sem a solução metanólica de DPPH como branco e, como controle, solução metanólica de DPPH.

Os resultados foram expressos pelo coeficiente de inibição IC_{50} , ou seja, a quantidade necessária de extrato para reduzir em 50% a quantidade inicial do radical DPPH (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995). Os valores são provenientes do gráfico onde a abscissa representa a concentração da amostra e a ordenada representa a média percentual de inibição do DPPH. A equação da reta no gráfico ($y=ax+b$) serviu como base para a obtenção do IC_{50} .

Para a comparação da atividade antioxidante obtida pelas amostras, utilizou-se como padrões a rutina e a vitamina C (MENSOR *et al.*, 2001).

4.10.2 Formação do Complexo Fosfomolibdênio

Foi aplicado o método descrito por Prieto, Pineda e Aguiar (1999), o qual determina a capacidade antioxidante por uma reação de óxido-redução, permitindo avaliar tanto componentes lipofílicos quanto hidrofílicos. O método baseia-se fundamentalmente na redução do molibdênio VI a molibdênio V quando da presença de compostos antioxidantes, gerando um complexo verde em pH ácido, determinado espectrofotometricamente a 695 nm.

Em tubos de ensaio foram adicionados 3 mL do reativo do complexo fosfomolibdênico, composto por fosfato de sódio 0,1M, molibdato de amônio 0,03M, ácido sulfúrico 3M e água destilada. Posteriormente foi adicionado 300 μ L da solução metanólica de cada amostra, a uma concentração de 200 μ g/mL. Os tubos

foram hermeticamente fechados e submetidos à banho-maria a 95°C por 90 minutos, e, após resfriamento, a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro Shimadzu® UV-1800 a 695 nm. Como branco, foi utilizado o mesmo procedimento, substituindo os 300 µL da solução da amostra por metanol. Os resultados foram expressos em atividade antioxidante relativa (AAR%) de amostra em relação a dois padrões com atividade antioxidante conhecida (ácido ascórbico e rutina). A análise foi realizada em triplicata.

4.10.3 Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

O método aplicado foi o proposto por Kishida *et al.* (2003), o qual avalia a capacidade da amostra em inibir a peroxidação lipídica induzida pelo agente oxidante, fundamentado na peroxidação da gema de ovo por meio da formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). O malonaldeído (MDA) é formado por auto-oxidação ou degradação enzimática de ácidos graxos poliinsaturados. Ele reage com o ácido tiobarbitúrico em altas temperaturas e baixo pH, formando um complexo cor-de-rosa, que representa a quantidade de lipídeos oxidados, sendo absorvido a 532 nm.

Este ensaio, realizado em quintuplicata, consistiu em adicionar aos tubos de ensaio: 100 µL da solução metanólica das amostras, água destilada, solução de gema de ovo a 5%, cloreto de 2,2'-azo-bis-ácido a 0,035% (ABAP), solução de ácido acético a 20% e solução de ácido tiobarbitúrico a 0,4% (TBARS). Os tubos foram fechados hermeticamente e levados ao banho-maria a 95°C por 60 minutos. Após resfriamento, foi adicionado 1500 µL de butanol em cada tubo, os quais foram agitados lentamente, mantidos em repouso por 10 minutos e então centrifugados. A leitura das amostras foi realizada a partir do sobrenadante de cada tubo, a 532 nm em espectrofotômetro Shimadzu® UV-1800. O aparelho foi zerado com butanol.

Como branco foi utilizado o mesmo procedimento, substituindo a solução ABAP por água destilada. O controle positivo foi composto por solução metanólica de butil hidroxitolueno (BHT) no lugar da solução da amostra. Para controle negativo foi substituída a solução da amostra por metanol.

A atividade antioxidante foi determinada pelo Índice Antioxidante (IA), segundo a equação apresentada na FIGURA 17:

$$IA (\%) = 1 - \left(\frac{\text{Absorbância amostra}}{\text{Absorbância controle}} \right) \times 100$$

FIGURA 17 – EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DO ÍNDICE ANTIOXIDANTE (IA) SEGUNDO O MÉTODO DE ESPÉCIES REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO.
FONTE: KISHIDA *et al.* (2003).

4.11 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

4.11.1 ATIVIDADE HEMOLÍTICA

Foram pesados aproximadamente 10 mg de cada amostra em balança analítica e diluídas em 1% de dimetilsulfóxido (DMSO) e 10 mL da solução tampão fosfato-salino (PBS).

Foram pipetadas, em triplicata, concentrações de 500 e 1000 µg/mL de cada amostra em ependorfes, adicionados 200 µL de sangue de carneiro, o qual foi previamente lavado com solução tampão PBS gelada e centrifugado. Os tubos foram levados à estufa por 3 horas a 36°C. Retirados da estufa, os ependorfes foram submetidos a centrifugação por 5 minutos a 3000 rpm. A leitura das amostras foi realizada a partir do sobrenadante límpido de cada tubo, com a utilização de microplacas e, a leitura foi realizada a 540 nm (BRASIL, 2010d)

O controle positivo foi composto por água destilada em substituição a amostra e, o controle negativo levou a solução de PBS para substituí-la.

A quantificação da hemólise foi obtida considerando que a absorbância do controle positivo correspondeu a 100% de hemólise, conforme demonstra a equação representada na FIGURA 18.

$$\text{Hemólise (\%)} = \frac{\text{Absorbância da amostra} \times 100}{\text{Absorbância do controle positivo}}$$

FIGURA 18 – EQUAÇÃO PARA CÁLCULO DO PERCENTUAL DE HEMÓLISE.
FONTE: BRASIL, 2010d

4.11.3 TOXICIDADE FRENTE À *Artemia salina*

Artemia salina é um microcústáceo marinho utilizado como alimento vivo para peixes e pode ser utilizado para estimar a toxicidade através da dose letal média (DL₅₀), considerando a amostra atóxica quando concentrações acima de 1000 µg/mL não apresentam mais de 50% de larvas mortas (MEYER *et.al*, 1982).

Foi utilizado o método descrito por Meyer *et.al* (1982), fundamentado na preparação de uma solução salina contendo sal marinho e água destilada. Os ovos de *Artemia salina* (200mg/400mL) foram colocados na água salgada para a eclosão, mantidos por 48 horas sob aeração contínua, expostos a luminosidade, com temperatura e pH controlados para manter as larvas vivas, na faixa de 27 a 30°C e 8 a 9, respectivamente.

As amostras foram preparadas em triplicata nas concentrações de 10, 100 e 1000 µg/mL, utilizando metanol como solvente e, levadas à estufa até total evaporação do metanol. Os tubos contendo amostras secas receberam 1 mL de solução salina e cerca de 30 náupilos de *Artemia salina*. Após 24 horas foi realizada a contagem dos náupilos mortos e vivos com auxílio de uma lupa e iluminação incandescente.

Como controle positivo para este ensaio foi utilizado o sulfato de quinidina nas mesmas concentrações das amostras, e, como controle negativo, a amostra foi substituída por metanol. Os resultados foram analisados pelo método estatístico Probitos e apresentados em dose letal média (DL₅₀), considerando tóxicos aquelas extratos cuja DL₅₀ foi inferior a 1000 µg/mL.

4.11.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A avaliação do potencial antimicrobiano dos extratos foi realizada pela técnica de microdiluição em caldo para a determinação da concentração inibitória mínima.

Os microrganismos utilizados neste ensaio foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (WIKLER *et al.*, 2009), os quais foram armazenados a -80°C em caldo TSB com glicerol 15% até o momento de uso. A reativação se deu pelo subcultivo das cepas em ágar TSA em temperatura de 37°C por aproximadamente 24 horas.

O inóculos foram preparados mediante suspensões em tubos contendo salina estéril (NaCl a 0,85%) na concentração de $1,0 \times 10^8$ UFC/mL, equivalente ao tubo 0,5 de McFarland. O ensaio foi realizado em microplacas estéreis contendo 96 cavidades (12 colunas e 8 linhas, identificadas de 1 a 12 e de A a H, respectivamente).

O preparo das amostras foi iniciado com a diluição de 100 mg/mL de extrato em 10% de etanol e 2% de DMSO, e posteriormente foram filtradas em membrana milipore 0,22 μ m. Em seguida, foram transferidos 100 μ L de caldo Mueller-Hinton (Merck®) na linha A das colunas 2 a 10. Na coluna 2 foi inoculado 100 μ L do extrato e após homogeneização transferido 100 μ L para o orifício da coluna 3. Este procedimento foi repetido até a coluna 10, conferindo diferentes concentrações dos extratos

O controle positivo foi composto de 100 μ L de caldo Mueller-Hinton e 5 μ L do inóculo bacteriano (coluna 12). Para o controle negativo ou controle de esterilidade foi utilizado 100 μ L de caldo Mueller-Hinton e 100 μ L de extrato vegetal (100 mg/mL), dosados na coluna 1 da microplaca. O controle negativo da atividade inibitória do diluente (DMSO e etanol) foi realizado mediante inclusão de 100 μ L de solução de DMSO a 2% e etanol a 10% juntamente com 100 μ L de caldo Mueller-Hinton e 5 μ L do inóculo bacteriano (coluna 11).

A distribuição da concentração dos extratos, bem como dos controles realizados neste ensaio, estão apresentados no QUADRO 3.

COLUNA	CONCENTRAÇÃO (μg/mL)
1	Caldo Mueller Hinton + extrato vegetal
2	5000
3	2500
4	1250
5	625
6	312
7	156
8	78
9	39
10	19
11	DMSO (2%) + etanol (10%) + caldo Mueller Hinton + inóculo bacteriano
12	Caldo Mueller Hinton + inóculo bacteriano

QUADRO 3 – DISTRIBUIÇÃO DAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DOS EXTRATOS E DOS CONTROLES POSITIVO E NEGATIVO, DE ACORDO COM AS COLUNAS DA MICROPLACA, PARA O ENSAIO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA
 FONTE: A autora (2014)

As microplacas foram incubadas em estufa a 35°C por 20 horas, foi acrescentada solução aquosa de cloreto de trifetil tetrazolium (TTC) da Merck® a 0,5% e, posteriormente, as microplacas retornaram á incubação por mais 3 horas na mesma temperatura (35°C) antes de serem lidos os resultados.

A prova negativa de efeito inibitório das amostras foi traduzida pela presença da coloração vermelha nos orifícios e, a ausência dessa coloração foi considerada ação inibitória positiva. Este ensaio foi realizado em duplicata.

4.12 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS

Após realizados os doseamentos de polifenóis e flavonoides, atividade antioxidante e atividades biológicas dos extratos, foi fracionado o extrato bruto da folha para isolamento e identificação de compostos. O fracionamento foi realizado por sonicação (volume por volume) com solventes de polaridade crescente (hexano, clorofórmio e acetato de etila, respectivamente).

A fração hexano da folha foi selecionada devido ao maior rendimento final, e submetida à cromatografia para o isolamento e identificação de compostos. O isolamento foi realizado pelo método cromatográfico em camada delgada com fase estacionária sílica gel Merck®.

4.12.1 Isolamento de compostos

A coluna cromatográfica com fase estacionária Sílica Gel 60 Merck ® foi empregada para o isolamento de compostos da fração hexânica da folha, com fase móvel composta por hexano/acetato de etila. A pastilha foi preparada utilizando dez partes de sílica em relação à amostra, levada até secura e então depositada em coluna de vidro seguida de papel filtro, para garantir a descida homogênea do solvente.

O gradiente de polaridade da fase móvel iniciou com 100% de hexano, tendo o acetato de etila como gradiente de polaridade, com variação de 5% até atingir 100% de acetato de etila. Foram utilizados 100 mL de solvente em cada fase.

As frações obtidas foram coletadas em frascos de vidro de aproximadamente 20 mL, e levadas a secar a temperatura ambiente para cristalização dos compostos.

4.12.2 Identificação de compostos

Foi realizado o método de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{13}C e ^1H para a leitura das amostras isoladas. As mesmas foram dissolvidas em clorofórmio, conforme o teste de solubilidade. Foi utilizado espectrofotômetro Brucker® modelo DPX 200 MHz, operando a 4,7 Tesla. O núcleo ^1H foi observado a 200,12 MHz e, o núcleo ^{13}C a 50,56 MHz. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm em relação ao sinal do TMS (tetrametilsilano – $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$) como referência em δ 0 ppm.

4.13 IDENTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DA SEMENTE DE *Annona x atemoya* Mabb.

A análise cromatográfica do óleo das sementes do fruto *Annona x atemoya* Mabb. foi realizada a partir da fração hexano do extrato da amostra, obtido por maceração e percolação em extrator Soxhlet conforme descrição no item 4.7 dessa pesquisa. Foi utilizada a Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-MS).

Primeiramente, a amostra do óleo foi dissolvida em clorofórmio e uma alíquota de 100 μL da solução foi transesterificada por catálise ácida (MAIA, 1992), com ácido clorídrico em metanol 1M. A amostra foi levada à estufa por uma hora a 80°C e, posteriormente, foi adicionado hexano e água para a separação de fases. Uma alíquota do sobrenadante (fase hexânica) foi transferida para um frasco com auxílio de uma micropipeta e encaminhada para a análise dos ésteres metílicos de ácido graxo (FAME).

Para a separação e a detecção de FAME foi utilizado um cromatógrafo a gás (Varian®, modelo Saturno 2000) acoplado a espectrômetro de massas (Ion-Trap), operando a 70 eV, equipado com coluna capilar OV-225 (30mx0,25mmx0,25 μm), gás de arraste hélio (1,7 mL/min) e temperatura do injetor a 250°C. A fase hexânica

(200 µL) constituída pelos ésteres metílicos de ácidos graxos foi diluída em 1 mL de hexano e injetado 1 µL dessa solução em temperatura inicial de 50 °C com elevação do aquecimento de 40 °C por minuto, até atingir 220 °C (AOCS, 1988).

Os ácidos graxos foram identificados mediante a comparação do tempo de retenção na coluna em relação aos padrões utilizados, uma mistura de 37 ésteres metílicos em ácido graxo variando de C4:0 até C24:1.

4.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das análises foram expressos como média \pm desvio padrão. A análise foi realizada com o programa estatístico SPSS 13.0 e Excel 2013.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DIMENSIONAMENTO DA AMOSTRA

Os resultados do dimensionamento das amostras estão relacionados na TABELA 2. Foi encontrado peso médio de 678,75 g, 11,50 cm de comprimento longitudinal e 9,72 cm de largura equatorial para os frutos.

TABELA 3 – MASSA, COMPRIMENTO LONGITUDINAL E LARGURA EQUATORIAL DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

n	COMPRIMENTO LONGITUDINAL (cm)	LARGURA EQUATORIAL (cm)	PESO (g)
22	11,50 ± 1,33	9,72 ± 0,98	678,75 ± 183,91

Nota 1: n = número de frutos

* resultados expressos em média ± desvio padrão.

Em análises físicas e químicas da atemoia, CRUZ *et al.* (2010) encontraram valores de 321,10 g para peso médio, 10,70 cm para comprimento longitudinal e, a largura equatorial média foi de 26,60 cm, porém, este estudo avaliou outro cultivar da atemoia (Gefner). Recentemente, Souza *et al.* (2013), ao analisar os parâmetros físico-químicos, também do cultivar Gefner, encontraram peso médio de 347,11 g, comprimento longitudinal de 10,92 cm e, 7,32 cm foi a largura equatorial.

Neves e Yuhara (2003) analisaram algumas características de quatro cultivares da atemoia, e neste estudo encontraram massa total de 357,40 g para o mesmo cultivar do presente estudo (African Pride). Os mesmos autores encontraram valores médios de comprimento longitudinal e largura equatorial 11,10 cm e 8,30 cm, respectivamente.

Uma vez que a seleção dos frutos não foi fundamentada na classificação dos frutos mas sim pela homogeneidade do grau de maturação das amostras, a qual é determinada pelo afastamento dos carpelos e coloração verde-amarelados dos tecidos intercarpelares, a diferença dimensional entre eles era devidamente esperada.

5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

O conhecimento das características físico-químicas dos frutos é de grande importância, pois além de fornecer informações nutricionais de interesse para a saúde, viabiliza a formação de base de dados relevantes para a indústria, quer seja no desenvolvimento de estratégias e tecnologias para melhor armazenamento e comercialização, ou mesmo na elaboração e aperfeiçoamento de produtos no mercado.

Os resultados encontrados nas análises físico-químicas das frações da atemoia estão apresentados na TABELA 3 para umidade, cinzas, pH, acidez titulável e sólidos solúveis. A TABELA 4 apresenta os teores de proteína, lipídeo e açúcares totais e, na TABELA 5, estão expressos os valores para carboidratos, fibra alimentar total (FAT) e valor energético total (VET).

TABELA 4 – TEOR DE UMIDADE, CINZAS, pH, ACIDEZ TITULÁVEL E SÓLIDOS SOLÚVEIS DO CUTIVAR AFRICAN PRIDE DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

AMOSTRA	UMIDADE (%)	CINZAS (%)	pH	ACIDEZ TITULÁVEL (%)	SÓLIDOS SOLÚVEIS (°BRIX)
PF	73,92 ± 0,26	1,08 ± 0,04	4,90 ± 0,01	0,27 ± 0,01	19,53 ± 0,64
PL	10,78 ± 0,18	2,65 ± 0,01	4,79 ± 0,01	0,89 ± 0,01	**
CF	68,13 ± 0,22	1,93 ± 0,02	5,03 ± 0,01	0,42 ± 0,00	**
CS	10,03 ± 0,18	4,64 ± 0,03	5,18 ± 0,01	1,24 ± 0,00	**
S	6,07 ± 0,01	1,66 ± 0,02	6,01 ± 0,03	0,28 ± 0,01	**
F	7,03 ± 0,09	7,12 ± 0,11	5,50 ± 0,06	**	**

Nota₁: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca ; CS: casca seca; S: semente; F: folha
 Nota₂: ** frações não analisadas

* resultados expressos em média ± desvio padrão da quintuplicata das análises

TABELA 5 – TEOR DE PROTEÍNAS, LIPÍDEOS E AÇÚCARES TOTAIS DO CUTIVAR AFRICAN PRIDE DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

AMOSTRA	PROTEÍNAS (%)	LIPÍDEOS (%)	AÇÚCARES TOTAIS (%)
PF	1,22 ± 0,33	0,03 ± 0,01	22,53 ± 0,76
PL	3,69 ± 0,28	0,44 ± 0,05	57,16 ± 0,47
CF	3,35 ± 0,20	0,13 ± 0,02	12,65 ± 0,43
CS	5,66 ± 0,91	2,92 ± 0,04	33,30 ± 0,57
S	2,72 ± 0,38	25,31 ± 0,60	5,18 ± 0,44

Nota₁: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca ; CS: casca seca; S: semente

* resultados expressos em média ± desvio padrão quintuplicata das análises para proteínas e lipídeos e triplicata para açúcares totais

TABELA 6 – TEOR DE CARBOIDRATOS, FIBRA ALIMENTAR TOTAL E VALOR ENERGÉTICO TOTAL DO CULTIVAR AFRICAN PRIDE DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

AMOSTRA	CARBOIDRATOS (%)	FAT (%)	VET (KCAL)
PF	21,12	2,63	89,63
PL	73,41	9,03	312,36
CF	5,16	16,20	69,56
CS	30,99	45,76	172,88
S	4,50	59,74	256,67
F	**	**	**

Nota₁: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca ; CS: casca seca; S: semente; F: folha

Nota₂: FAT = Fibra Alimentar Total

Nota₃: VET = Valor Energético Total

Nota₄: ** fração não analisada

5.2.1 Umidade

A umidade é uma das determinações mais importantes na análise de alimentos, uma vez que está relacionada à estabilidade, à composição e à vida de prateleira dos produtos alimentícios.

O teor de umidade para polpa fresca e polpa liofilizada foram de 73,92%, 10,78%, respectivamente. A casca fresca e casca seca apresentaram valores de 68,13% e 10,03%. A semente apresentou umidade de 6,07% e, por fim, para folha seca a umidade média foi de 7,03%.

Para o cultivar Gefner, CRUZ *et al.* (2010) encontraram valores de umidade para as amostras *in natura* de polpa, casca e semente de 71,84%, 51,00% e 29,59%, respectivamente. Um teor de umidade em 77,06% para polpa fresca foi apontado por ORSI *et al.* (2012). Semelhante ao presente estudo, a polpa fresca da atemoia apresentou umidade de 72,70%, sendo este realizado com outro cultivar da mesma espécie (SOUSA *et al.*, 2013)

A análise da polpa *in natura* da graviola, fruto pertencente ao gênero das *Annonas*, apresentou valores superiores para esta análise, com uma média de 88,31% (SOUZA *et al.*, 2012).

O elevado teor de umidade encontrado na matéria fresca das frações da atemoia (polpa e casca) revela sua alta susceptibilidade à deterioração e consequente redução da durabilidade. Essa característica deve ser considerada na prática de um adequado armazenamento, bem como um estímulo à indústria alimentícia no desenvolvimento de produtos derivados desse fruto, viabilizando

maior aproveitamento da matéria-prima em detrimento da otimização da sua vida de prateleira.

5.2.2 Cinzas

Para o teor de cinzas, os maiores valores puderam ser verificados nas frações da folha seca e casca seca, com percentual médio de 7,12% e 4,64%, respectivamente.

Em 2011, CRUZ encontrou um teor de cinzas nas frações liofilizadas de 5,64%, 4,74% e 1,73% para casca, polpa e sementes, respectivamente. ORSI *et al.* (2012) analisaram o teor de cinzas da polpa da atemoia, e encontraram um valor de 0,56%. No mesmo ano, foi encontrado um teor de cinzas de 0,19% na polpa *in natura* da graviola, sugerindo que a atemoia possui maior quantidade de micronutrientes nesta fração (SOUZA *et al.*, 2012).

Sabendo que o teor de cinzas de um alimento representa o resíduo inorgânico do mesmo, ao analisar os teores de micronutrientes nas frações liofilizadas da atemoia apresentados por CRUZ (2011) foi possível notar uma quantidade estatisticamente maior de fósforo, cálcio, zinco e ferro na amostra da casca, quando comparada a polpa liofilizada, corroborando com os achados no presente estudo. O maior teor de cinzas apresentado pela folha da atemoieira pode estar relacionado à maior quantidade de minerais como manganês, ferro e sódio (MENDES, 2012).

5.2.3 Acidez Titulável em ácido orgânico

A determinação de ácidos orgânicos é importante na medida em que este fator influencia nas características organolépticas do alimento, bem como na sua estabilidade (CECCHI, 2003). Essas informações são cruciais na definição do processamento e forma de conservação de produtos.

A acidez titulável para polpa fresca e polpa liofilizada foi de 0,27% e 0,89%, respectivamente. A casca fresca, casca seca e semente seguiram a ordem dos seguintes valores: 0,42%, 1,24% e 0,28%.

Estudo realizados em 2003 e 2013, verificaram acidez titulável expressa em % ácido cítrico para a polpa fresca do cultivar African de 0,29% e 0,34%, respectivamente (NEVES e YUHARA, 2003; SOUSA *et al.*, 2013), corroborando com

o resultado encontrado na presente pesquisa. Recentemente, ORSI *et al.* (2012) apresentaram acidez de 0,54% para esta mesma fração da fruta *in natura*. A polpa *in natura* da graviola, por sua vez, apresentou valor médio de 0,72% de acidez (SOUZA *et al.*, 2012) e, a polpa da pinha (*Annona squamosa* L.) apresentou um teor de 0,36% para a mesma análise (MOO-HUCHIN *et al.*, 2014).

5.2.4 Sólidos Solúveis

O teor de sólidos solúveis foi de 19,53 °Brix para a polpa fresca. Em 2003, Neves e Yuhara encontraram 16,40°Brix para a polpa do mesmo cultivar da atemoia, Estudos recentes verificaram teores de 25,10°Brix e 25,95°Brix (ORSI *et al.*, 2012; SOUSA *et al.*, 2013), podendo ser explicado pela diferença no grau de maturação, uma vez que os processos metabólicos decorrentes do amadurecimento aumentam os sólidos em suspensão e o teor de polissacarídeos.

Além de ser um dos principais fatores na determinação do grau de maturação dos frutos, quanto maior o teor de sólidos solúveis nos alimentos *in natura* menor será a necessidade de adição de açúcar nos processos de industrialização, permitindo redução do custo e aumento na qualidade da matéria-prima final.

5.2.5 Potencial hidrogeniônico (pH)

A amostra da semente apresentou o maior valor para pH, seguida da fração folha, casca e, finalmente a polpa.

ORSI *et al.* (2012) encontraram pH de 4,56 na polpa *in natura*, corroborando com os valores encontrados neste estudo. Para SOUZA *et al.* (2012), a polpa *in natura* da graviola apresentou pH médio de 3,19.

A análise do pH, a qual determina a concentração de íons de hidrogênio de uma amostra, é um importante parâmetro para o estado de conservação e armazenamento de alimentos. As frações da atemoia analisadas no presente estudo demonstraram baixa acidez, informação que, somada ao alto teor de umidade, indica maior susceptibilidade à deterioração, requerendo adequada conservação e aplicação industrial que promova maior tempo de prateleira.

5.2.6 Açúcares totais

O maior teor de açúcares totais apresentado foi na amostra da polpa, sendo de 57,16% e 22,53% para fração liofilizada e fresca, respectivamente. A semente apresentou menor resultado quando comparada com as demais amostras, contendo um teor total de apenas 5,18%

CRUZ (2011) encontrou, 12,92% de açúcares totais para casca, 58,05% na polpa e 2,19% para a semente, todas as amostras em matéria seca. A metodologia utilizada não foi a mesma do presente estudo, o que pode justificar a diferença encontrada na comparação dos resultados para casca seca e a semente, sendo que ambas apresentaram um percentual maior de açúcares (33,30% e 5,18%, respectivamente).

5.2.7 Proteínas

Apesar das frutas, de uma forma em geral, não serem conhecidas como fontes de proteína, as frações da atemoia apresentaram resultados interessantes para este macronutriente. O maior teor de proteína pôde ser observado na fração da casca seca (5,66%), seguida da polpa liofilizada (3,69%), casca fresca (3,35%), semente (2,72%) e, por fim, polpa fresca (1,22%).

Um estudo com o cultivar Gefner submetido à liofilização, encontrou um teor de proteína de 10,88% na casca, 6,84% na polpa e, nas sementes de 14,79% (CRUZ, 2011). O estudo de ORSI *et al.* (2012) encontrou um teor de proteína de 0,56% na polpa fresca.

Em 2012 Souza *et al.* analisaram a composição nutricional de cinco frutas do cerrado brasileiro: marolo (*Annona crassiflora* Mart), murici (*Byrsonima crassifolia* L. RICH), jenipapo (*Genipa americana* L.), graviola (*Annona muricata*, L.) e maracujá doce (*Passiflora alata* Dryand). Apenas o maracujá doce superou o teor de proteínas encontrado para a polpa da atemoia no presente estudo.

Uma pesquisa publicada em 2013 analisou a composição de aminoácidos livres da polpa de três espécies de *Annonas*, dentre as quais, duas representadas por diferentes cultivares da atemoia. O resultado demonstrou destaque para o teor de arginina no cultivar Gefner e, para o cultivar Pink's Mamonth, o maior teor de aminoácidos foi representado pela serina (EGYDIO *et al.*, 2013).

5.2.8 Lipídeos

Como esperado, a semente apresentou o maior teor de lipídeos (25,31%), em contra partida a amostra de polpa liofilizada apresentou baixo percentual deste macronutriente (0,44%).

Utilizando a mesma metodologia, os resultados para lipídeos encontrados na literatura seguiram em 1,16% para polpa, 2,52% para a casca, e 26,6% para a semente, utilizando amostras liofilizadas (CRUZ *et al.*, 2010). Apenas o resultado da polpa manteve-se numa faixa quase três vezes maior do que os valores encontrados no presente estudo, porém, os teores da casca e da semente foram semelhantes..

5.2.9 Carboidratos

O teor de carboidrato em massa fresca, obtido pela subtração dos valores encontrados para umidade, cinzas, lipídeos, proteínas e fibras, foi maior para a polpa (21,12%), seguida da casca (5,16%) e, por último, a semente (4,50%).

Ao analisar a composição centesimal do cultivar Gefner liofilizado, CRUZ (2011) encontrou valores próximos das amostras secas do presente estudo. Para a polpa o teor de carboidratos foi de 63,71% e, para a casca de 27,85%. Na análise realizada com o cultivar African Pride, foi encontrado um teor de 57,16% para a polpa liofilizada e 33,30% para a casca seca.

O elevado teor de carboidratos e açúcares totais da atemoia explica o sabor doce característico desse fruto.

5.2.10 Fibra Alimentar Total (FAT)

A fibra alimentar consiste de carboidratos não-digeríveis, como a celulose, lignina e pectina. Apesar de não fornecer energia, as fibras apresentam diversos efeitos benéficos para a saúde humana (CHAMPE e HARVEY, 1994).

A semente apresentou o maior teor de fibras dentre todas as frações (59,74%), seguida da casca seca (45,76%) e da casca fresca (16,20%). A polpa *in natura*, parte comestível do fruto, apresentou mais de 2,00% de fibras em sua composição.

CRUZ (2011) encontrou 52,83% de FAT para a casca liofilizada, 23,04% na polpa liofilizada e, na semente liofilizada, 57,57%. Esses valores apresentados corroboram com o teor encontrados para casca (45,76%) e para a semente (59,84%), porém, o presente estudo demonstrou na polpa um teor de fibras menor que a metade (9,03%) do encontrado por CRUZ (2011).

Ao comparar o teor de fibra alimentar da polpa da atemoia com as frutas *in natura* apresentadas na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO (UNICAMP, 2011), esta supera o teor total em 100 gramas para mais de 50% das 65 frutas listadas. Além disso, o teor de FAT encontrado pela presente análise, corrobora com o valor expresso na TACO (UNICAMP, 2011), sendo este de 2,1%.

5.2.11 Valor Energético Total (VET)

Como esperado, o VET em matéria fresca foi maior para a polpa (89,63 kcal/100g), devido ao seu elevado teor de carboidrato. As sementes, parte não comestível do fruto, apresentou mais de 250 kcal em 100 g, valor atribuído especialmente a sua significativa quantidade de lipídeos.

A comparação do VET da atemoia obtido neste estudo com outras frutas usualmente presentes na mesa dos brasileiros, permite concluir que esse fruto fornece uma quantidade adequada de energia. A banana, por exemplo, varia entre seus cultivares de 78 a 112 kcal/100g. Já a maçã, apresenta um valor energético aproximado de 63 kcal/100g (UNICAMP, 2011).

5.3 RENDIMENTO DOS EXTRATOS

Segundo o teor de sólidos totais, o maior rendimento deu-se para extrato etanólico da casca fresca (19,21%), seguido do extrato etanólico da casca seca (13,12%) e da polpa fresca (12,03%). O menor rendimento pôde ser observado na fração clorofórmio da semente (0,93%), conforme apresentado na TABELA 7.

TABELA 7 – RENDIMENTO DOS EXTRATOS DO CULTIVAR AFRICAN PRIDE DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb

AMOSTRA	QUANTIDADE DE MATÉRIA-PRIMA (g)	VOLUME FINAL DO EXTRATO (mL)	TEOR DE SÓLIDOS (%)
PF	85,50	100	12,03
PL	19,48	100	11,50
CF	38,85	65	19,21
CS	54,63	50	13,12
S _{hexano}	29,08	68	5,47
S _{acetado de etila}	29,08	100	5,03
S _{clorofórmio}	29,08	110	0,93
S _{etanol}	29,08	100	3,75
F	198,01	218	9,67

Nota₁: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca ; CS: casca seca; S: semente; F: folha

5.4 DOSEAMENTO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos compreendem uma importante categoria de fitoquímicos presente em plantas. O interesse pela análise dos polifenóis tem sido crescente devido à sua alta capacidade antioxidante, mediada por mecanismos de inibição das enzimas responsáveis pela produção de radicais livres (FU *et al.*, 2011)

O princípio do método de Folin-Ciocalteu se dá pela redução química do reagente, formando uma coloração azul pela redução dos óxidos metálicos, sendo que a intensidade de absorção de luz em um comprimento de onda de até 765 nm, é proporcional á quantidade de fenóis presente na amostra.

A curva de calibração utilizada neste ensaio foi realizada através do padrão ácido gálico (FIGURA 19) em diferentes concentrações (2,5, 3, 4, 5, 6, 8 e 10 µg/mL) e, o cálculo do teor de compostos fenólicos dos extratos foi obtido a partir da equação gerada pela reta desse padrão ($y = 0,0951x - 0,0964$), onde X representa a concentração de polifenóis correspondente ao ácido gálico, e Y representa a absorbância (GRÁFICO 1).



FIGURA 19 – CONCENTRAÇÕES UTILIZADAS PARA O ESTABELECIMENTO DA CURVA PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO PARA O DOSEAMENTO DE COMPOSTOS FENÓLICOS.

FONTE: A autora (2014)

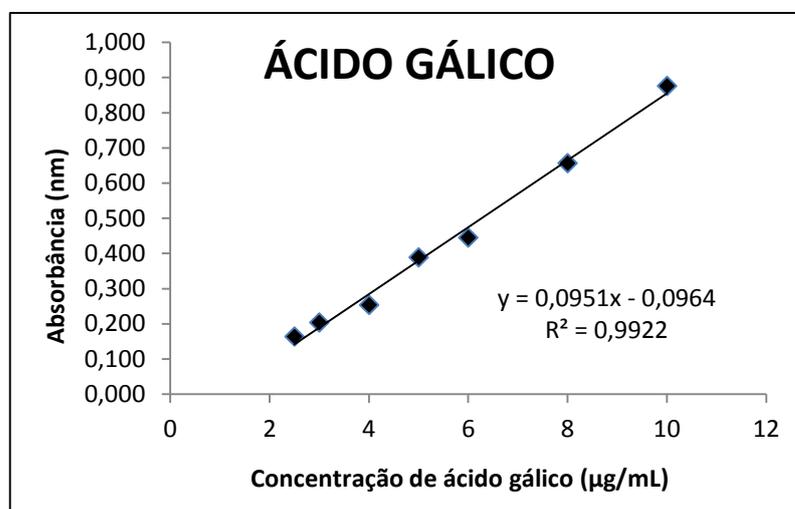


GRÁFICO 1 – CURVA DE CALIBRAÇÃO REFERENTE AO ÁCIDO GÁLICO, UTILIZADA COMO PADRÃO NA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS NOS DIFERENTES EXTRATOS DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

Após obter a média das absorbâncias mensuradas para cada um dos extratos, o valor foi aplicado à equação da curva de calibração e, assim, obtidos os resultados do total de compostos fenólicos correspondente ao ácido gálico das amostras, conforme demonstrado na TABELA 8.

TABELA 8 – CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS CORRESPONDENTE AO PADRÃO ÁCIDO GÁLICO NOS DIFERENTES EXTRATOS DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

AMOSTRA	ABSORBÂNCIA (nm)	CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE COMPOSTOS FENÓLICOS (mg EAG/g extrato)
PF	0,035 ± 0,00	17,24
PL	0,030 ± 0,01	16,58
CF	0,503 ± 0,01	78,82
CS	0,334 ± 0,01	56,52
S hexano	0,004 ± 0,00	13,16
S acetado de etila	0,240 ± 0,00	44,30
S clorofórmio	0,260 ± 0,01	46,89
S etanol	0,203 ± 0,00	39,35
F	0,321 ± 0,02	54,82

Nota₁: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca ; CS: casca seca; S: semente; F: folha
 Nota₂: EAG = equivalente ao ácido gálico

* absorvâncias expressas em média ± desvio padrão da triplicata das análises

Os maiores teores de polifenóis foram observados nos extratos etanólicos da casca fresca, casca seca e folha. Já os extratos da polpa e a fração hexano da semente, apresentaram os valores mais baixos para estes compostos. Entretanto, quando o resultado é representado em matéria-prima fresca segundo o rendimento dos extratos (TABELA 9), a polpa liofilizada apresenta maior teor de compostos fenólicos quando comparada à folha.

TABELA 9 – TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS CORRESPONDENTE AO PADRÃO ÁCIDO GÁLICO EM MASSA FRESCA DAS FRAÇÕES DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE COMPOSTOS FENÓLICOS (mg EAG/100g matéria fresca)
PF	196,35
PL	510,15
CF	1611,86
CS	741,73
S hexano	406,17
S acetado de etila	412,47
S clorofórmio	252,23
S etanol	150,47
F	477,52

Nota₁: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca; CS: casca seca; S: semente; F: folha
 Nota₂: EAG: equivalente ao ácido gálico

Ao utilizar o rendimento do extrato e avaliar a concentração de polifenóis em na polpa fresca, tem-se um teor de 196,35 mg EAG/100g de polpa. Resultado que corrobora com o estudo de Julián-Loaeza *et al.* (2011), que apresentou um teor de

compostos fenólicos de 170,88 mg EAG/100g de polpa de um cultivar da ilama, fruto também pertencente à família das *Annonaceas*. Tanto a polpa quanto a casca da atemoia apresentaram valores de polifenóis superiores aos encontrados recentemente na cherimóia (LOIZZO *et al.*, 2012).

5.5 DOSEAMENTO DE FLAVONOIDES

Os flavonoides têm sido cada vez mais alvo da pesquisa científica. Este fato se deve aos relatos de suas propriedades benéficas à saúde, como agente anti-inflamatório, estrogênico, inibidor enzimático, antimicrobiano, antialérgico, antitumoral, entre outras. No entanto, a atividade antioxidante continua sendo o atributo mais investigado dos flavonóides, uma vez que a característica antioxidante desses compostos pode estar envolvida em outras atividades biológicas relacionadas à prevenção do estresse oxidativo (PEREIRA *et al.*, 2009).

O cálculo do teor de flavonóides das amostras foi realizado com a aplicação da média das absorbâncias na equação gerada pela reta, constituída pelas absorbâncias das diferentes concentrações do padrão quercetina, conforme demonstrado no GRÁFICO 2.

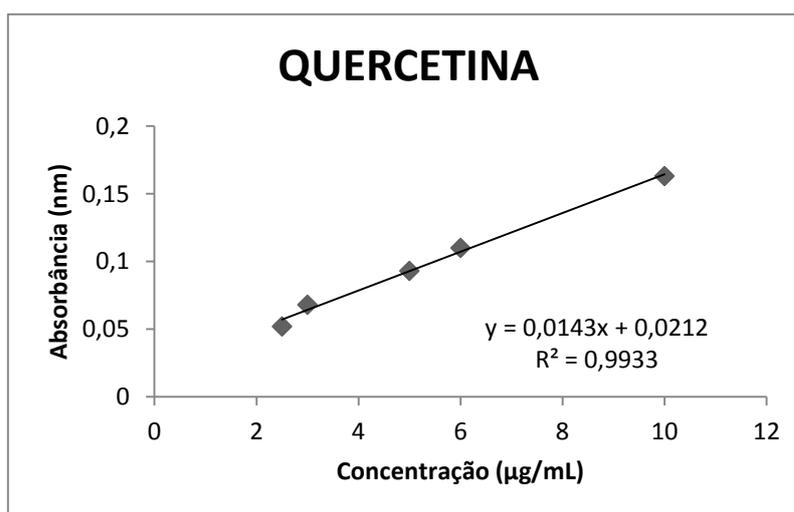


GRAFICO 2 – CURVA PADRÃO DA QUERCETINA PARA DOSEAMENTO DE FLAVONÓIDES

Conforme apresentado na TABELA 10, o extrato etanólico da folha apresentou o maior teor de flavonóides seguido do extrato etanólico. Rabêlo *et al.* (2013) avaliaram o teor de flavonoides no extrato obtido por maceração em metanol da folha da atemoieira, porém encontraram um resultado abaixo do apresentado nesta pesquisa, sendo este de 46,86 mg de equivalentes de quercetina por g de extrato, porém, cabe ressaltar que os autores não mencionaram o teor de umidade e o rendimento das amostras analisadas.

TABELA 10 – CONCENTRAÇÃO DE FLAVONÓIDES CORRESPONDENTE AO PADRÃO QUERCITINA. NOS DIFERENTES EXTRATOS DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

AMOSTRA	ABSORBÂNCIA	CONCENTRAÇÃO DE FLAVONÓIDES (mg EQE/g extrato)
CS	0,090 ± 0,020	47,41
S acetado de etila	0,040 ± 0,001	12,21
S clorofórmio	0,040 ± 0,003	12,68
S etanol	0,023 ± 0,002	0,32
F	0,243 ± 0,020	154,63

Nota₁: CS: casca seca; S: semente; F: folha

Nota₂: EQE = equivalente à quercetina

* absorbâncias expressas em média ± desvio padrão da triplicata das análises

Quando o teor de flavonoides é calculado segundo o rendimento de cada extrato (TABELA 11) é possível notar que, em 100 gramas de matéria-prima fresca, a amostra da folha se mantém com as maiores concentrações desse composto.

TABELA 11 – TEOR DE FLAVONOIDES CORRESPONDENTE AO PADRÃO QUERCITINA EM MASSA FRESCA DAS FRAÇÕES DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE COMPOSTOS FENÓLICOS (mg EQE/100g matéria fresca)
CS	622,17
S acetado de etila	113,37
S clorofórmio	68,20
S etanol	1,22
F	1346,95

Nota₁: CS: casca seca; S: semente; F: folha

Nota₂: EQE = equivalente à quercetina

Nos extratos da polpa fresca, polpa liofilizada, casca fresca e semente hexano não foi verificada a presença de flavonóides.

5.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A evidência epidemiológica constitui a base da hipótese de que os antioxidantes presentes em frutas e hortaliças podem auxiliar na redução do risco de diversas patologias (WOOTTON-BEARD e RYAN, 2011).

Além disso, os antioxidantes têm sido amplamente utilizados como aditivos alimentares na proteção contra degradação oxidativa de alimentos por radicais livres. Dessa forma, os antioxidantes sintéticos são empregados no processamento industrial a fim de prolongar a vida de prateleira dos alimentos, embora alguns desses compostos já façam parte de investigações que lhes atribuem efeitos maléficos à saúde humana (EL-CHAGHABY, AHMAD e RAMIS, 2011).

A investigação do poder antioxidante das plantas é relevante na medida em que, além do consumo da matéria-prima fonte propriamente dita, se tornam potenciais agentes naturais na substituição dos compostos sintéticos, viabilizando o desenvolvimento de produtos mais saudáveis ao consumidor.

5.6.1 Redução do radical DPPH

Segundo a metodologia utilizada, conforme a absorbância da amostra diminui ocorre uma mudança de cor da solução de roxo para amarelo (FIGURA 20), resultado do processo de doação de hidrogênio dos antioxidantes contidos na amostra para formar uma molécula estável do radical DPPH.

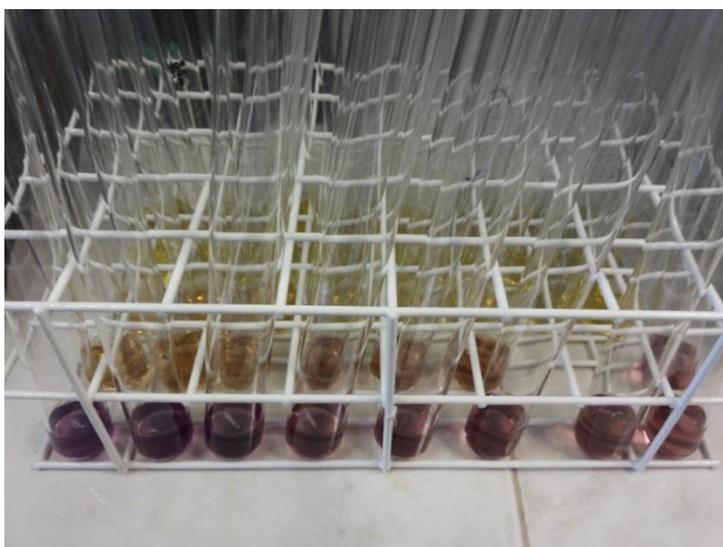


FIGURA 20 – ENSAIO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR MEIO DA REDUÇÃO DO RADICAL DPPH

Fonte: A Autora

Os GRÁFICOS 3 e 4 apresentam os cinco pontos de concentrações utilizadas para cada extrato analisado, informando as diferentes concentrações de cada amostra no eixo das abscissas e, no eixo das ordenadas, o potencial de redução do DPPH referente à cada concentração, expresso em percentual.

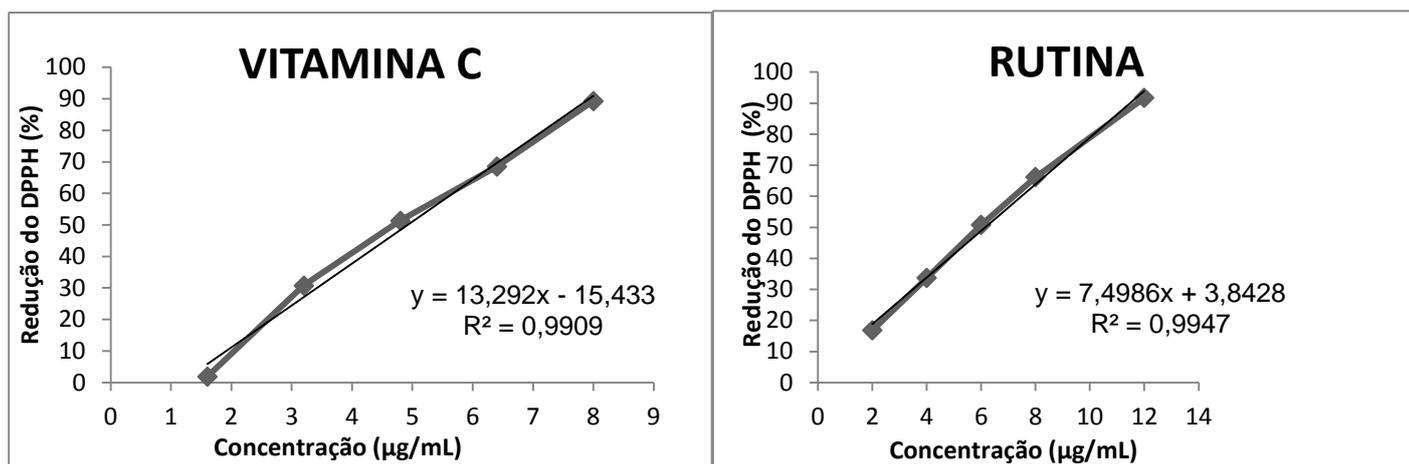


GRÁFICO 3 – CURVAS DOS PADRÕES RUTINA E VITAMINA C PELA REDUÇÃO DO DPPH.

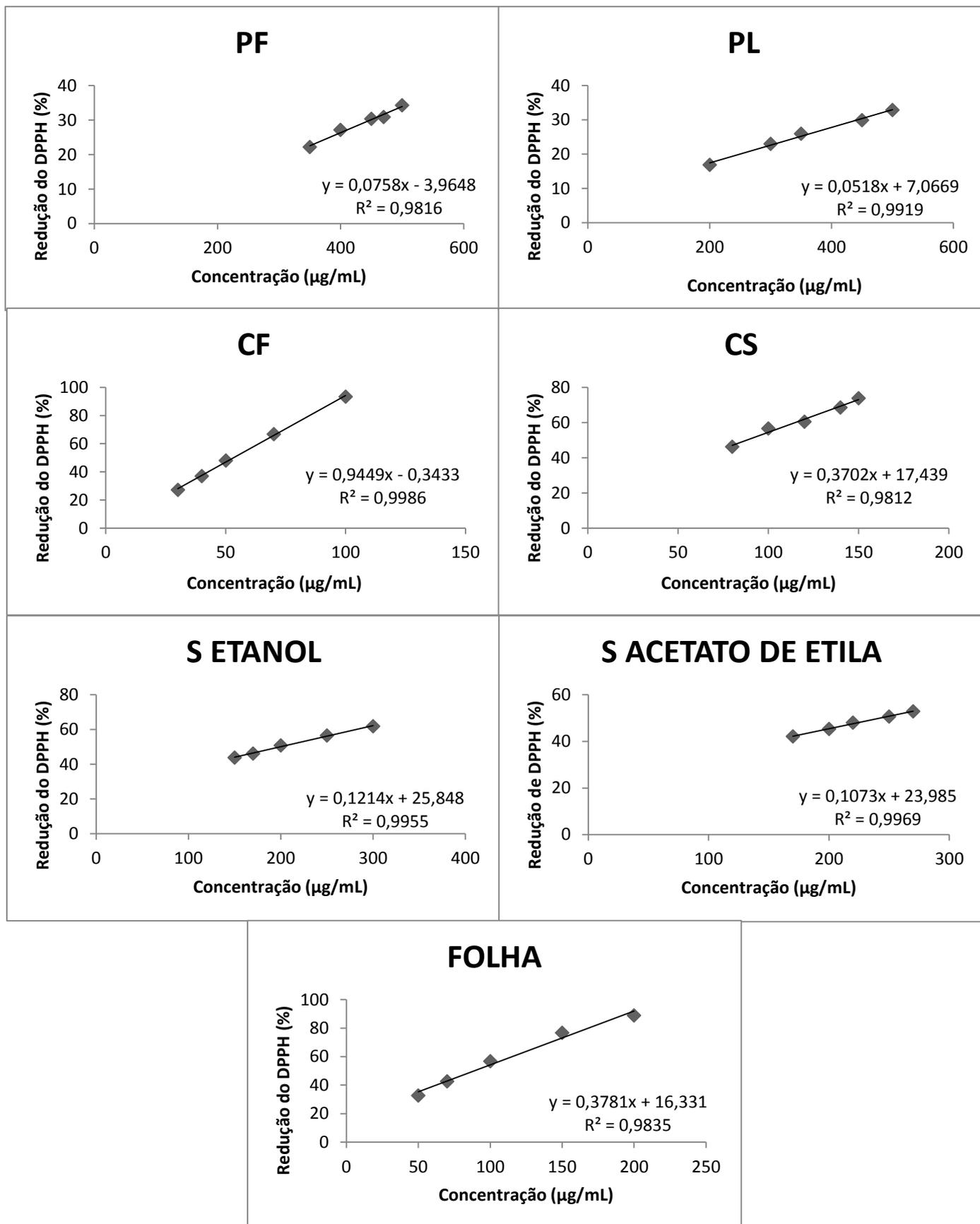


GRÁFICO 4 – ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb. PELA REDUÇÃO DO RADICAL DPPH

Nota: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca ; CS: casca seca; S: semente

A partir dos pontos gerados nos GRÁFICOS 3 e 4 foi adicionada a linha de tendência e a equação de cada extrato, então obteve-se, por regressão linear a IC₅₀ (TABELA 12), ou seja, a quantidade necessária de extrato para reduzir em 50% o radical DPPH.

TABELA 12 – CAPACIDADE INIBITÓRIA (IC₅₀) DOS EXTRATOS DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb. E DOS PADRÕES RUTINA E VITAMINA C.

EXTRATO	CONCENTRAÇÃO IC ₅₀ (µg/mL)
Vitamina C	4,92
Rutina	6,15
PF	963,79
PL	829,71
CF	52,34
CS	87,94
S ACETATO DE ETILA	242,71
S ETANOL	198,97
FOLHA	89,01

Nota₁: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca; CS: casca seca; S: semente; F: folha
* resultados expressos em IC₅₀ médio da triplicata das análises

Segundo os resultados encontrados, é possível notar que o extrato etanólico da casca fresca (CF) foi a amostra que apresentou melhor resultado quanto ao potencial antioxidante, atingindo o IC₅₀ com uma concentração de 52,34 µg/mL, seguida pelo extrato etanólico da casca seca (87,94 µg/mL) e pela folha seca (89,01 µg/mL). As frações acetato de etila e etanol da semente também apresentaram atividade antioxidante, embora em maiores concentrações (242,71 µg/mL e 198,97 µg/mL, respectivamente).

Corroborando com os resultados do presente estudo, LOIZZO *et al.* (2012), os quais utilizaram o mesmo solvente extrator e a mesma metodologia do ensaio DPPH para a análise da graviola, a fração casca (*in natura*) apresentou melhor atividade antioxidante em relação à polpa (*in natura*), com um IC₅₀ de 57,7 µg/mL.

Dentre todos os extratos brutos analisados, quatro deles não demonstraram atividade antioxidante, dos quais: polpa fresca, polpa liofilizada, semente clorofórmio e semente hexano. O fato da fração etanol da semente ter apresentado a melhor atividade frente às demais frações dessa mesma matéria-prima pode ser justificada pela polaridade do solvente, uma vez que o etanol tem maior polaridade quando comparado aos demais solventes utilizados no fracionamento.

Segundo o rendimento obtido em cada um dos extratos analisados, a TABELA 10 representa a IC₅₀ em quantidade de matéria fresca, demonstrando, portanto, que a amostra da casca fresca requer a menor quantidade de matéria-prima para atingir a atividade antioxidante capaz de reduzir 50% do radical DPPH.

TABELA 13 – VOLUME DE MASSA FRESCA DAS FRAÇÕES DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb. CORRESPONDENTE À CAPACIDADE INIBITÓRIA (IC₅₀) OBTIDA PELO ENSAIO DO DPPH.

EXTRATO	IC ₅₀ (mg de matéria fresca)
PF	8,46
PL	2,69
CF	0,25
CS	0,67
S ACETATO DE ETILA	2,61
S ETANOL	5,20
FOLHA	1,02

Nota₁: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca; CS: casca seca; S: semente; F: folha

Ao comparar os resultados do doseamento de compostos fenólicos, apresentados no item 5.4 da presente dissertação, com os valores da capacidade inibitória obtidos pela análise de redução do radical DPPH (TABELA 13), é possível notar que em ambos os métodos o extrato da casca fresca sobressaiu-se. Sendo assim, sugere-se uma relação entre a concentração de polifenóis e a capacidade de captação de radicais livres.

5.6.2 Formação do Complexo Fosfomolibdênio

A formação do complexo fosfomolibdênio é um método quantitativo para determinação da atividade antioxidante total (tanto de componentes hidrofílicos como lipofílicos), acessível e de fácil execução (PRIETO, PINEDA e AGUIAR, 1999). Após a reação da redução do molibdênio (VI) a molibdênio (V), quando em contato com os extratos, ocorreu a formação de um complexo de coloração verde (FIGURA 21) entre fosfato e molibdênio (V), a qual representou a atividade antioxidante de cada amostra avaliada a 695nm, cujos resultados estão representados na TABELA 11.



FIGURA 21 – REAÇÃO DE COMPLEXAÇÃO DO FOSFOMOLIBDÊNIO.
Fonte: A Autora

TABELA 14 – ATIVIDADE ANTIOXIDANTE RELATIVA (AAR%) À VITAMINA C E À RUTINA SEGUNDO O ENSAIO DA FORMAÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO DOS EXTRATOS BRUTOS DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

AMOSTRA	AAR (%) VITAMINA C	AAR (%) RUTINA
PF	17,71	78,74
PL	26,46	117,34
CF	37,31	165,42
CS	56,53	250,67
S hexano	18,92	83,91
S acetato de etila	26,72	118,49
S clorofórmio	26,44	117,24
S etanol	30,46	135,06
F	59,13	262,16

Nota₁: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca; CS: casca seca; S: semente; F: folha
Nota₂: resultados expressos em média percentual da triplicata das análises

Como demonstrado na TABELA 14, a amostra que apresentou melhor atividade antioxidante relativa à vitamina C para o método descrito foi a folha (59,13%), seguida da casca seca (56,53%) e da fração etanol da semente (30,46%). Os dois primeiros extratos melhores avaliados em relação ao ácido ascórbico, comportaram-se da mesma forma em relação à rutina, superando em 200 vezes a atividade apresentada por esse padrão. Os GRÁFICOS 5 e 6 permitem melhor visualização.

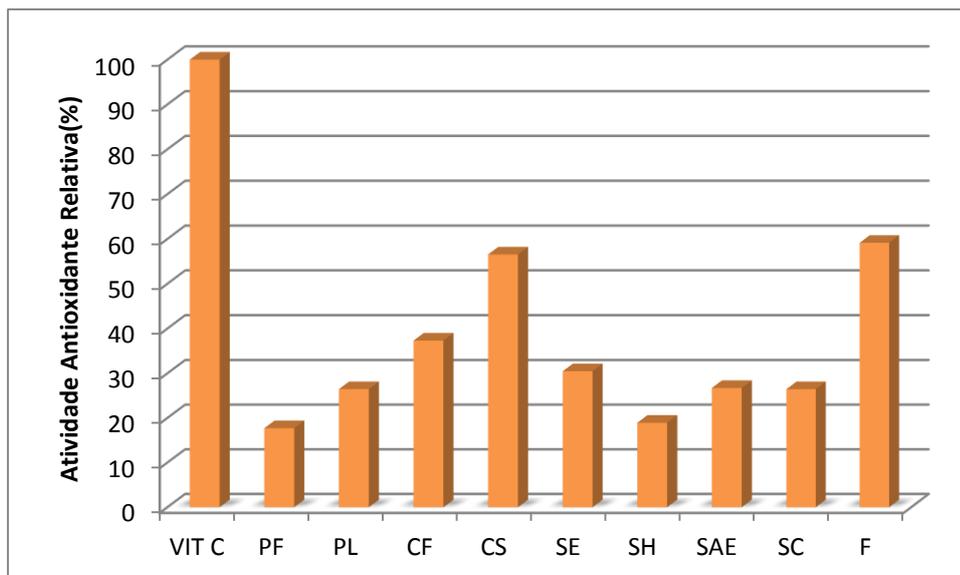


GRÁFICO 5 – ATIVIDADE ANTIOXIDANTE RELATIVA (%) AO PADRÃO VITAMINA C
 Nota: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca; CS: casca seca; SE: semente etanol; SH: semente hexano; SAE: semente acetato de etila; SC: semente clorofórmio; F: folha

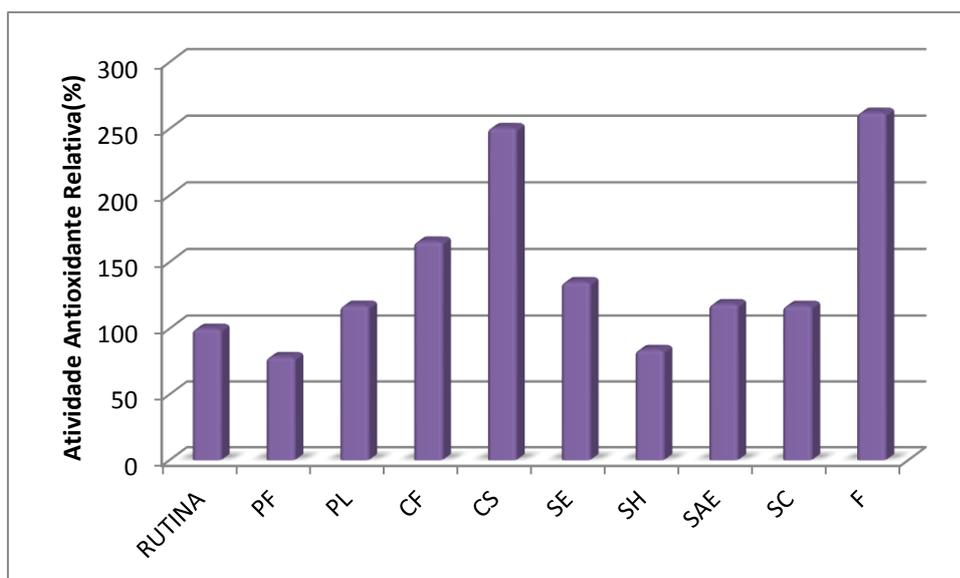


GRÁFICO 6 – ATIVIDADE ANTIOXIDANTE RELATIVA (%) AO PADRÃO RUTINA
 Nota: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca; CS: casca seca; SE: semente etanol; SH: semente hexano; SAE: semente acetato de etila; SC: semente clorofórmio; F: folha

Ao analisar o GRÁFICO 6, é possível notar que todas as amostras receberam destaque em relação ao padrão rutina e, apenas duas das nove amostras analisadas, não atingiram a mesma atividade antioxidante deste conhecido bioflavonóide.

Este ensaio avaliou a capacidade de doação de elétrons de cada amostra, um mecanismo redutor dependente da presença de substâncias hábeis a concederem íons de hidrogênio.

5.6.3 Espécies reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

O ensaio de espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) permite avaliar a peroxidação lipídica pela análise do malonaldeído, resultante da sua reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA) em meio acidificado e elevada temperatura. Ao final do processo, a leitura do cromóforo rosado (FIGURA 22) foi mensurada espectrofotometricamente. Os resultados de cada amostra estão apresentados como Índice Antioxidante (IA) na TABELA 15 e o padrão utilizado para este ensaio foi um antioxidante largamente empregado na indústria alimentícia, o butil hidroxitolueno (BHT).



FIGURA 22 – REAÇÃO PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA PELO MÉTODO TBARS
Fonte: A Autora

TABELA 15 – ÍNDICE ANTIOXIDANTE (IA) DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FRAÇÕES DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb. PELO ENSAIO DO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO.

AMOSTRA	IA (%)
PF	59,94 ± 2,20
PL	32,55 ± 7,71
CF	55,51 ± 7,59
CS	44,89 ± 2,44
S hexano	48,00 ± 2,98
S acetato de etila	47,56 ± 2,00
S clorofórmio	39,83 ± 7,77
S etanol	45,97 ± 5,19
F	62,99 ± 3,64
BHT	66,66 ± 1,60

Nota₁: IA: Índice Antioxidante; PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca; CS: casca seca; S: semente; F: folha; BHT: butil hidroxitolueno

* resultados expressos em média ± desvio padrão da triplicata das análises

O extrato etanólico da folha foi o que apresentou melhor IA (%) para este ensaio (62,99%), seguido da polpa fresca (59,94%) e casca fresca (55,51%), sendo valores próximos ao índice do controle positivo BHT (66,66%). Para o extrato da polpa liofilizada e da fração clorofórmio da semente encontrou-se os menores índices, sendo estes de 32,55% e 39,83%, respectivamente.

Conforme apresentado na TABELA 15, o IA (%) das amostras analisadas variaram entre 32,55 a 62,99% e, embora o extrato da polpa liofilizada tenha demonstrado um menor desempenho, é possível notar uma significativa inibição da peroxidação lipídica para todos os extratos examinados.

Ao analisar os resultados obtidos para os doseamentos de polifenóis, flavonóides e os diferentes métodos aplicados para a avaliação da atividade antioxidante, é possível notar, segundo a TABELA 16, que o extrato bruto da folha da atemoieira se destacou em 60% das análises, seguido do extrato bruto da casca seca,

TABELA 16 – CLASSIFICAÇÃO DOS EXTRATOS DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb SEGUNDO OS RESULTADOS OBTIDOS PELAS ANÁLISES DE DOSEAMENTOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.

CLASSIFICAÇÃO DOS EXTRATOS	COMPOSTOS FENÓLICOS	FLAVONOIDES	DPPH	FOSFOMOLIBDÊNIO	TBARS
1	CF	F	CF	F	F
2	CS	CS	CS	CS	PF
3	PL	S acetato etila	F	CF	CF

Nota: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca; CS: casca seca; S: semente; F: folha

Apesar do extrato bruto da folha ter apresentado maior teor de flavonóides, este não obteve destaque no ensaio pela captação de DPPH. Sendo assim, sua atividade antioxidante pode ser justificada mais pela inibição da peroxidação lipídica (demonstrada pelo ensaio do TBARS), do que pela reação de transferência de elétrons.

Situação contrária pôde ser observada para o extrato da casca fresca, melhor perfil na captação do radical DPPH e no teor de polifenóis. O método de avaliação de atividade antioxidante pelo uso do DPPH torna-se limitante na mensuração dos antioxidantes lipofílicos, uma vez que este radical pode ser dissolvido apenas em meio orgânico, especialmente em etanol (MARTÍNEZ *et al.*, 2012). Dessa forma, presume-se que, por se destacar no doseamento dos compostos fenólicos e no ensaio do radical DPPH, a atividade antioxidante da casca fresca se deve, principalmente, aos polifenóis de característica hidrofílica.

A heterogeneidade dos resultados obtidos na mensuração da atividade antioxidante pelos métodos empregados, pode estar relacionado com a diferente composição química de cada uma das frações e, ainda, pelos diferentes mecanismos de ação que envolvem cada um desses métodos, fatores que, somados, podem expressar afinidades distintas entre os compostos. Isto é, o fato de o extrato etanólico da folha ter apresentado atividade mais expressiva no ensaio de

formação do fosfomolibdênio, não significa, necessariamente, que mantenha a melhor performance na redução do radical DPPH.

5.7 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

As atividades biológicas das plantas normalmente são atribuídas aos seus metabólitos secundários, os quais possuem estrutura química complexa e variados tipos de compostos bioativos com ação farmacológica (AGRA, FRANÇA e BARBOSA-FILHO, 2007).

5.7.1 ATIVIDADE HEMOLÍTICA

A atividade hemolítica permite avaliar a toxicidade da amostra por meio da ruptura da hemácia e liberação da hemoglobina. A liberação da hemoglobina no plasma, quando em valores altos (em torno de 100 mg%), viabiliza a sua filtração pelos rins e, valores superiores a 3000 mg% podem promover lesão renal (KALEGARI *et al.*, 2011). Essa reação pode ser decorrente de compostos aplicados como medicamentos, ou até mesmo aqueles presentes nas plantas. Dessa forma, trata-se de uma resposta indesejável quando do uso de tais amostras no desenvolvimento de fitoterápicos.

A leitura espectrofotométrica do sobrenadante das amostras foi realizada em microplacas a 540 nm e, o resultado das absorbâncias permitiu posterior cálculo da atividade hemolítica. Conforme demonstrado na TABELA 1, as frações clorofórmio e acetato de etila da semente, e o extrato etanólico da folha apresentaram maior atividade hemolítica, sendo que o último superou 100% de hemólise para as concentrações de 500 e 1000 µg/mL.

TABELA 17 – ATIVIDADE HEMOLÍTICA *IN VITRO* DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FRAÇÕES DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g/mL}$)	AH (%)
PF	1000	0,00 \pm 0,00
	500	0,15 \pm 1,09
PL	1000	0,00 \pm 0,00
	500	0,00 \pm 0,00
CF	1000	49,92 \pm 7,66
	500	1,89 \pm 5,46
CS	1000	28,43 \pm 6,05
	500	8,68 \pm 6,09
S _{hexano}	1000	17,06 \pm 2,63
	500	4,26 \pm 2,06
S _{acetato de etila}	1000	87,04 \pm 6,57
	500	23,53 \pm 2,38
S _{clorofórmio}	1000	100,94 \pm 7,44
	500	22,27 \pm 2,17
S _{etanol}	1000	5,68 \pm 1,42
	500	0,00 \pm 0,00
F	1000	280,41 \pm 1,52
	500	124,01 \pm 4,27
Controle +	-	100
Controle -	-	0

Nota₁: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca; CS: casca seca; S: semente; F: folha; AH: Atividade Hemolítica

* resultados expressos em média \pm desvio padrão da triplicata das análises

A FIGURA 23 permite visualizar a diferença de coloração dos sobrenadantes, corroborando com a atividade hemolítica calculada para cada amostra. É possível observar que a maior atividade hemolítica encontrada em ambas as concentrações do extrato da folha estão representadas pelos sobrenadantes de coloração mais expressiva, uma vez que as amostras B9, B10 e C1 correspondem ao extrato da folha na concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$ e, C2, C3 e C4 correspondem à concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$ da mesma amostra. Do mesmo modo, as colorações mais claras dos sobrenadantes das demais amostras estão relacionadas a menores percentuais de atividade hemolítica acima apresentados.

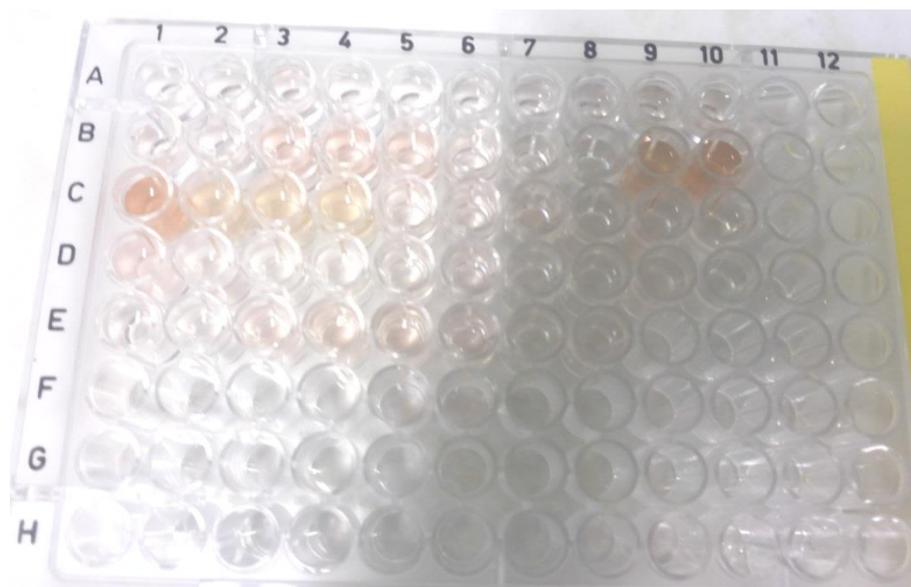


FIGURA 23 – MICROPLACA PARA LEITURA DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DOS EXTRATOS DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.
Fonte: A Autora

5.7.2 TOXICIDADE FRENTE À *Artemia salina*

O ensaio de toxicidade com a utilização de microcrustáceos de água salgada é um teste simples, rápido, acessível e eficiente, indicando dados preliminares da toxicidade de extratos vegetais em apenas 24 horas. Os extratos considerados tóxicos podem ser direcionados para testes como herbicidas e inseticidas, enquanto aqueles atóxicos podem, por exemplo, seguir em estudos farmacológicos (MEYER *et al.*, 1982).

O resultado de toxicidade foi expresso em DL₅₀, e as amostras só foram consideradas tóxicas quando os valores de DL₅₀ apresentaram-se menores que 1000 µg/mL (MEYER *et al.*, 1982), como descrito na TABELA 18.

TABELA 18 – TOXICIDADE FRENTE A *Artemia salina* DAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FRAÇÕES DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

EXTRATO	MORTALIDADE / CONCENTRAÇÃO			DL ₅₀ (µg/mL)	IC 95% (µg/mL)
	10 µg/mL	100 µg/mL	1000 µg/mL		
PF	1	4	1	> 1000	-
PL	3	3	5	> 1000	-
CF	8	7	9	> 1000	-
CS	8	3	6	> 1000	-
S _{hexano}	12	49	57	105,32	-
S _{acetato de etila}	82	78	86	< 10	-
S _{clorofórmio}	83	78	87	< 10	-
S _{etanol}	57	76	84	< 10	-
F	37	58	76	24,04	11,49 - 50,32
Controle +	7	29	88	151,50	114,41 - 200,61
Controle -	0	0	0	> 1000	-

Nota₁: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca; CS: casca seca; S: semente; F: folha
 Nota₂: DL₅₀ = Dose Letal Média; IC: Intervalo de Confiança

Segundo os resultados apresentados, os extratos da semente fração hexano, e folha apresentaram uma DL₅₀ de 105,32 µg/mL e 24,04 µg/mL, respectivamente. A atoxidade foi verificada nos extratos da polpa fresca, polpa liofilizada, casca fresca e casca seca. Porém, as frações hexano, acetato de etila e clorofórmio da semente apresentaram uma mortalidade acima de 50% das Artemias, sendo que para as frações acetato de etila e clorofórmio este fenômeno foi constatado desde a menor concentração analisada, o que lhes confere toxicidade.

Um estudo recente (RIBEIRO *et al.*, 2014) avaliou o poder inseticida de extratos da semente de algumas espécies da família das *Annonaceas*. O experimento foi aplicado contra a mariposa *Trichoplusia ni* Hübner e o *Myzus persica*, mais conhecido como pulgão verde, pragas responsáveis por inúmeros danos na agricultura. Os resultados encontrados foram satisfatórios para o controle das referidas pragas, sendo que uma das *Annonas* foi equivalente ao bioinseticida comercial utilizado como controle positivo. Sendo assim, esse resultado pode, de certa forma, justificar a toxicidade encontrada na presente pesquisa e, ainda, abre possibilidades para o desenvolvimento de barreiras técnicas no manejo de pragas mediante maiores investigações dessa fração da atemoia.

Os resultados da toxicidade frente à *Artemia salina* corroboram com aqueles encontrados na análise da atividade hemolítica do presente estudo, onde o extrato bruto da folha e as frações acetato de etila e clorofórmio da semente apresentaram os percentuais de hemólise mais expressivos.

5.7.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Agentes antimicrobianos naturais têm recebido atenção em vistas à redução da necessidade do uso de antibióticos, no controle da contaminação microbiana em alimentos, na melhoria de tecnologias que visem eliminar patógenos indesejáveis ou atrasar a contaminação microbiológica no fortalecimento de células imunes em seres humanos, dentre outros benefícios (EL-CHAGHABY, AHMAD e RAMIS, 2011).

A atividade antimicrobiana pelo método de diluição permite avaliar a concentração mínima necessária de uma amostra para inibir ou matar determinado microrganismo.

A Concentração Inibitória Mínima (CMI) foi considerada moderada quando a concentração da amostra se manteve na faixa de 100 a 500 µg/mL. Para a faixa entre 500-1000 µg/mL a atividade inibitória foi considerada fraca, e concentrações acima de 1000 µg/mL, inativas (TANAKA *et al.*, 2005; AYRES *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2008).

Como pode-se observar na TABELA 19, o extrato etanólico da casca fresca foi o único que apresentou uma CIM menor que 1000 µg/µL, sendo esta de 250 µg/µL para as cepas de *Staphylococcus aureus*.

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria gram-positiva frequentemente encontrada na pele e nas fossas nasais de pessoas saudáveis, capaz de provocar infecções das variadas dimensões. Seu alto potencial infeccioso está relacionado à sua facilidade de multiplicação e disseminação nos tecidos, além da produção de moléculas com poder patogênico, como enzimas e toxinas (SANTOS *et al.*, 2007)

TABELA 19 – CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FRAÇÕES DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

EXTRATO	CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)				
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
PF	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
PL	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
CF	250	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
CS	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
S hexano	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
S acetato de etila	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
S clorofórmio	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
S etanol	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
F	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000

Nota: PF: polpa fresca; PL: polpa liofilizada; CF: casca fresca; CS: casca seca; S: semente; F: folha

RABÊLO *et al.* (2013) avaliaram a atividade antimicrobiana da folha da atemoia e também encontraram CIM acima de 1000 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ para cepas de *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*.

5.8 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS

A partir da fração hexânica da folha foi realizada uma coluna cromatográfica e isolado 29 mg de um sólido branco composto, o qual foi identificado via RMN de ^1H e ^{13}C .

A FIGURA 24 demonstra a presença do H-3 (multipeto) na região de 3,55-3,51 ppm e do hidrogênio olefínico H-6 em δH 5,35 ppm ($J = 5,1$ Hz, d), e o acúmulo de sinais na região de 0,60 - 2,40 ppm atribuídos à presença de vários hidrogênios metílicos, metínicos e metilênicos. Esses sinais são característicos da mistura de

esteróides β -sitosterol e campesterol (FIGURA 25 e 26), conforme comparação com a literatura (ANDRADE, 2003). Pela análise dos espectros de RMN ^{13}C (Figura 27) pode-se observar sinais de carbonos insaturados em δC 140,73 (C), 121,70 (CH) além de outros carbonos. Os dados de RMN estão presentes nas TABELA 20.

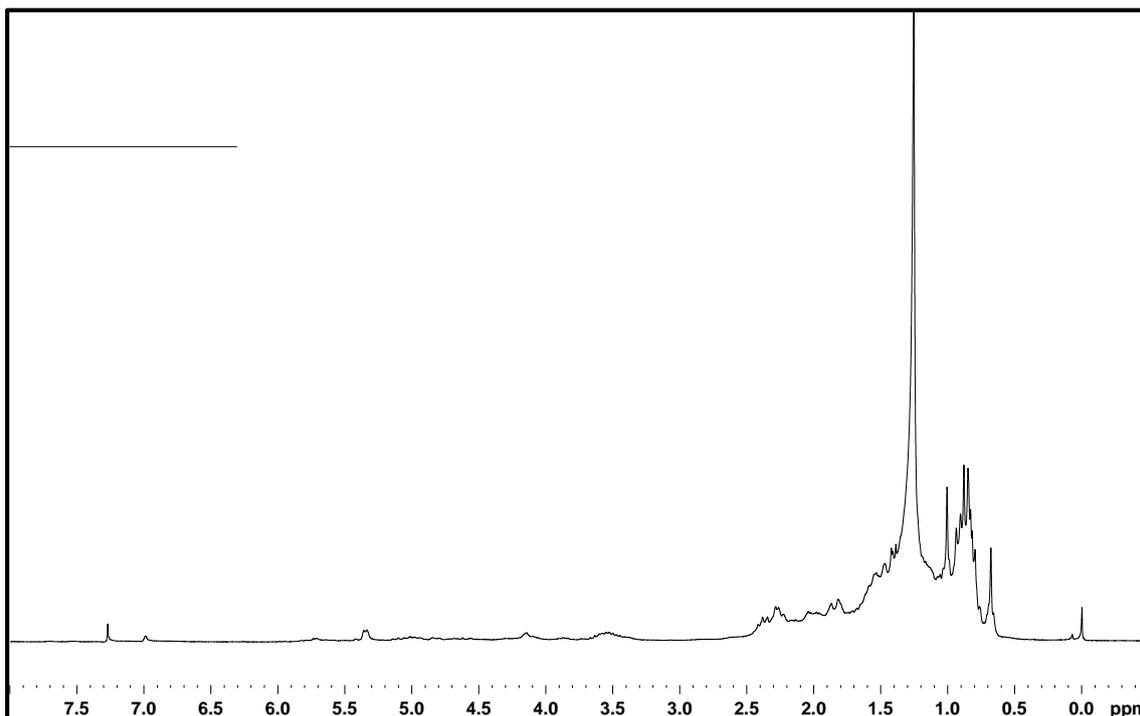


FIGURA 24 – ESPECTRO DE RMN ^1H DO ISOLADO DA FRAÇÃO HEXÂNICA DA FOLHA
Fonte: A Autora

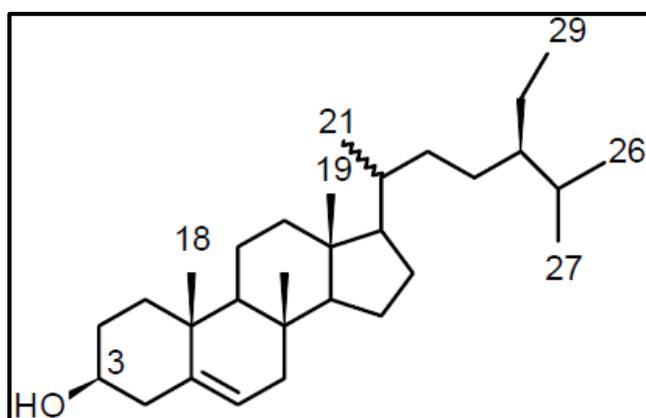


FIGURA 25 – ESTRUTURA QUÍMICA DO β -SITOSTEROL
Fonte: A Autora

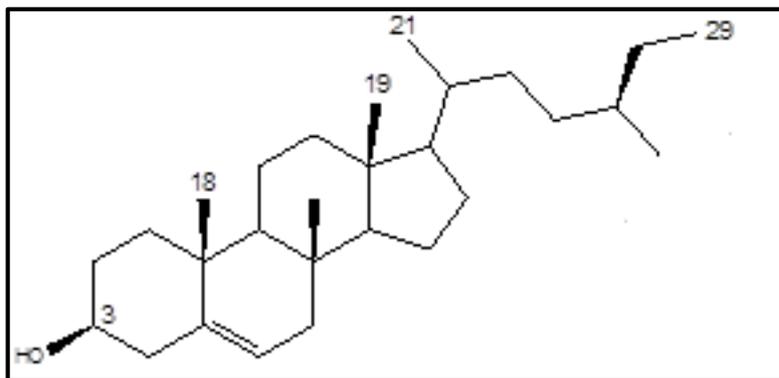


FIGURA 26 – ESTRUTURA QUÍMICA DO CAMPESTEROL
Fonte: A Autora

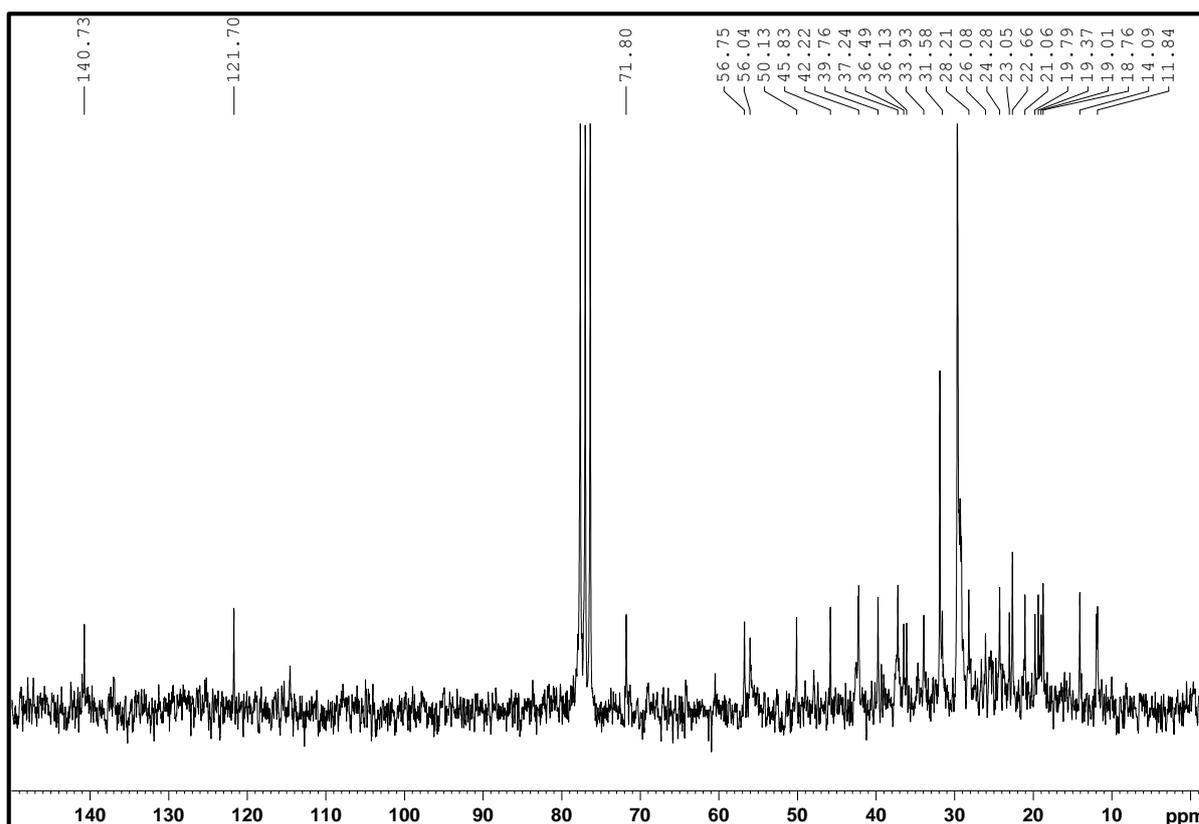


FIGURA 27 – ESPECTRO DE RMN ^{13}C DO ISOLADO DA FRAÇÃO HEXÂNICA DA FOLHA
Fonte: A Autora

TABELA 20 – DESLOCAMENTO QUÍMICO NO ESPECTRO DE RMN ¹³C DO ISOLADO DA FRAÇÃO HEXÂNICA DA FOLHA

C	β-sitosterol	Campesterol
1	37.24	37.24
2	31.58	31.58
3	71.80	71.80
4	42.22	42.22
5	140.73	140.73
6	121.70	121.70
7	31.58	31.58
8	31.58	31.58
9	50.13	50.13
10	36.49	36.49
11	21.06	21.06
12	39.76	39.76
13	42.22	42.22
14	56.75	56.75
15	24.28	24.28
16	28.21	28.21
17	56.04	56.04
18	11.84	11.84
19	19.31	19.31
20	36.13	36.13
21	19.01	19.37
22	33.93	33.93
23	39.76	39.76
24	45.83	45.83
25	26.08	26.08
26	18.76	18.76
27	19.79	19.79
28	23.05	23.05
29	11.96	

Os esteróis de plantas, conhecidos como fitosteróis, têm sido associados à redução no nível de colesterol plasmático e de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), fatores relacionados à dislipidemias e doenças cardiovasculares (BERNAL *et al.*, 2011).

Os fitosteróis mais comuns são: o campesterol, o sitosterol e o estigmasterol, os quais atuam na diminuição da absorção de colesterol no intestino delgado por um mecanismo de competição com consequente aumento na excreção fecal (PIIRONEN *et al.*, 2000), achados que têm estimulado a aplicação de fitosteróis no desenvolvimento de alimentos funcionais (RAMADAN e EL-SHAMY, 2013).

5.9 IDENTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DA SEMENTE DE *Annona x atemoya* Mabb.

Um ácido graxo consiste em uma cadeia de hidrocarboneto com um grupo carboxila terminal (CHAMPE e HARVEY, 1994), são componentes importantes dos fosfolipídeos que compõe a matriz estrutural das membranas celulares. Sua classificação se dá segundo o número de carbonos na cadeia, o número de ligações duplas (carbono-carbono) e a posição da primeira dupla ligação. Os ácidos graxos saturados possuem saturação com hidrogênio em todos os locais onde não há ligação com o carbono. Os monoinsaturados possuem uma dupla ligação e, os poliinsaturados contém duas ou mais duplas ligações (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2002).

Embora os seres humanos possam usar várias vias biossintéticas para sintetizar ácidos graxos, alguns deles são essenciais e devem ser obtidos a partir da dieta (BERNAL *et al.*, 2011). Estudos epidemiológicos têm demonstrado que o perfil de ácidos graxos dos alimentos tem um impacto direto sobre a saúde humana (SOLFRIZZI *et al.*, 2005).

Os ácidos graxos presentes sob a forma de ésteres metílicos foram analisados via Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-MS), conforme o método descrito no item 4.13 do presente estudo. Os perfis de ésteres metílicos de ácidos graxos obtidos das sementes de atemoia estão apresentados na TABELA 21.

TABELA 21 – TEOR DE ÉSTERES METÁLICOS DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DA SEMENTE DO FRUTO *Annona x atemoya* Mabb.

ÁCIDO GRAXO	ESTRUTURA	CLASSIFICAÇÃO	TEOR (%)
Ácido palmítico	C16:0	Saturado	10,2 ± 0,6
Ácido esteárico	C18:0	Saturado	10,4 ± 0,6
Ácido oleico (ω -9)	C18:1	Monoinsaturado	51,6 ± 0,7
Ácido linoleico (ω -6)	C18:2	Poliinsaturado	25,5 ± 0,6
Ácido linolênico (ω -3)	C18:3	Poliinsaturado	1,0 ± 0,5
Ácido eicosanoico	C20:0	Saturado	1,0 ± 0,5

* resultados expressos em média \pm desvio padrão da triplicata das análises

O teor total de ácidos graxos saturados foi de 21,6%, contra 78,1% de insaturados (51,6% monoinsaturado e 26,5% poliinsaturado).

Os ácidos oleico (51,6%) e linoleico (25,5%) apresentaram destaque dentre os demais ácidos graxos quantificados, juntos totalizando mais de 70% do teor total. A predominância do ácido oleico corrobora com a composição do óleo da semente do araticum (*Annona crassiflora* Mart.), fruto pertencente à mesma família da atemoia (LUZIA e JORGE, 2013).

Os principais ácidos graxos saturados de cadeia longa são: mirístico (14:0), palmítico (16:0) e esteárico (18:0), dentre os quais, o ácido palmítico é o mais abundante na alimentação humana. Os ácidos graxos saturados de cadeia longa encontram-se no estado sólido à temperatura ambiente. A gordura saturada (C12:0, C14:0 e C16:0) eleva a concentração plasmática de colesterol, especialmente o C14:0, enquanto o C18:0 é neutro em seus efeitos sobre o colesterol (SANTOS *et al.*, 2013). Portanto, o baixo teor de ácido palmítico encontrado para a semente da atemoia é desejável em termos nutricionais.

Os ácidos graxos monoinsaturados possuem uma dupla ligação na cadeia carbônica, e o mais comum encontrado na natureza é o oleico (C18:1), da série ω -9, com maior concentração no óleo de oliva. Sugere-se alguns benefícios relacionados ao consumo dessa gordura, como inibição do processo aterogênico, melhorias no perfil insulínico de diabéticos, redução de eventos cardiovasculares e até mesmo prevenção da hipertensão arterial (SANTOS *et al.*, 2013).

Dos ácidos graxos poliinsaturados, o mais importante da família ômega-6 (ω -6) é o ácido linoléico (C18:2), encontrado em maior ou menor abundância nos óleos vegetais (SANTOS *et al.*, 2013), fato que justifica sua expressiva proporção dentre

os demais ácidos graxos na amostra estudada. Juntamente com o ômega-3, o ácido linoleico é considerado um ácido graxo essencial, uma vez que ambos não são biossintetizados pelos animais e o homem, e devem ser adquiridos através da dieta. Os efeitos benéficos dos poliinsaturados seguem desde a redução nos níveis de triglicerídeos e aumento no HDL colesterol, até efeitos antiinflamatórios e protetor cardiovascular (SANTOS *et al.*, 2013).

Representando mais de 50% dos ácidos graxos presentes no óleo da semente de atemoia, o ácido oleico torna-se importante componente nutricional, bem como culinário. Sua alta estabilidade mediante aquecimento torna-se uma característica fundamental na escolha de óleos ricos em ácido oleico pela indústria alimentícia, uma vez que são menos susceptíveis à oxidação quando em altas temperaturas. Sendo assim, o uso de óleos com essa composição permitem manter tanto a qualidade como a palatabilidade dos produtos (LUZIA e JORGE, 2013).

6. CONCLUSÃO

- As análises físico-químicas das frações da atemoia revelaram um fruto com alto teor de umidade, característica que lhe atribui alta susceptibilidade à deterioração microbiana e, conseqüentemente, menor durabilidade. Em contra partida, o baixo pH das frações do fruto lhe confere características favoráveis à estabilidade e ao processamento industrial.
- O alto teor de cinzas encontrado na casca e nas folhas indica maior quantidade de minerais nessas frações, porém, no presente estudo não foram realizadas análises de macro e microminerais, necessárias para elucidar esse resultado.
- Corroborando com o alto teor de sólidos solúveis na polpa, foi possível observar que essa fração é rica em açúcares totais, dentre os carboidrato. Além de atribuírem sabor ao fruto, essas características também lhe propiciam diversas possibilidades de processamento industrial na elaboração de produtos derivados.
- Em comparação à outros frutos, a atemoia apresentou importante teor de fibras e proteínas, porém, não diferenciando em termos de densidade energética de alguns outros frutos comumente presentes na mesa do consumidor.
- Embora em concentrações variáveis, todas as partes do fruto analisadas apresentaram potencial antioxidante. Ainda que o extrato da folha e das frações da semente apresentaram atividade hemolítica positiva e toxicidade frente à *Artemia salina*, sugere-se a aplicação de novos testes de toxicidade e até mesmo a realização de outras formas de extração ou razão solvente/substrato, bem como ensaios de identificação e isolamento de compostos.
- Às amostras consideradas tóxicas no teste *in vitro* aqui realizado, é recomendada a continuidade nos estudos fitoquímicos complementados com ensaios para avaliação do poder herbicida e fungicida, importantes no desenvolvimento de bioinseticidas que favoreçam cultivos sustentáveis.

- A atoxicidade da casca aliada à sua alta atividade antioxidante e moderada atividade antimicrobiana devem estimular a continuidade de pesquisas. Os estudos de compostos bioativos potenciais nas frações não comumente comestíveis dos alimentos, como neste caso a casca, a semente e as folhas, são importantes na medida em que permitem o aproveitamento e a valorização desses subprodutos que, no geral, são descartados como resíduos agroindustriais.
- A presença de esteroides nas folhas da atemoieira, substâncias conhecidas pela sua ação benéfica nas dislipidemias, torna-se importante no desenvolvimento de produtos naturais em prol da saúde da população.
- A composição de ácidos graxos, especialmente os insaturados, torna o óleo de semente de atemoia um componente especial para novas aplicações nutricionais e farmacêuticas.
- No decorrer do desenvolvimento desta pesquisa pôde-se notar que a atemoia é um fruto de importantes características nutricionais e potenciais atividades antioxidantes e biológicas, porém, pouco explorada pela comunidade científica. As características aqui apresentadas, aliadas à sua produção no estado do Paraná e, às possibilidades de aproveitamento dos subprodutos na aplicação farmacêutica e alimentícia, ratificam a necessidade de maiores investigações em sua composição que visem novos achados na sua potencialidade.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M.F.; FRANÇA, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 114-140, 2007.
- ALOK, S.; JAIN, S.K.; VERMA, A.; KUMAR, MAHOR, A.; SABHARWAL, M. Herbal antioxidant in clinical practice: A review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 1, p. 78-84, 2014.
- ANDRADE, M. R. **Alcalóides de Rutaceae: química e atividade biológica**. Tese de Doutorado. UFSCar. São Carlos, 2003.
- ANJOS, L.A.; BURLANDY, L. Construção do conhecimento e formulação de políticas públicas no Brasil na área de segurança alimentar. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, n. 1, p. 19-307, 2010.
- AMIRA, E.A.; GUIDO, F.; BEHIJA, S.E.; MANEL, I.; NESRINE, Z.; ALI, F. Chemical and aroma volatile compositions of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits at maturation stages. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1744–1754, 2011.
- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. **Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists Society**. 3^ªed. Chicago, 1988.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists**. 17^ªed. Washington, 2005.
- AYRES, M. C. B. *et al.* Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.1, p.90-97, 2008.
- ARTS, I.C.W.; HOLLMAN, P.C.H. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 317-325, 2005.
- ASSIS, R.L.; ROMEIRO, A.R. Agroecologia e Agricultura Familiar na Região Centro-Sul do Estado do Paraná. **Revista de Estudos Regionais**, v. 43, n. 1, p. 155-177, 2005.
- BERNAL, J.; MENDIOLA, J.A.; IBÁÑEZ, E.; CIFUENTES, A. Advanced analysis of nutraceuticals. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, p. 758-774, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Alimentos regionais brasileiros**. Brasília, 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional. **A Iniciativa de Incentivo ao consumo de Frutas, Verduras e Legumes de uma estratégia para abordagem intersectorial no contexto da Segurança Alimentar e Nutricional (CONSEA – Brasil)** Brasília, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia Alimentar Para a População Brasileira**. Brasília, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. Brasília, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. Brasília, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional. **Construção do Sistema e da Política Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional: uma experiência brasileira**. Brasília, 2009a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional. **Incentivo ao consumo de frutas, legumes e verduras**. Brasília, 2009b.

BRASIL, Ministério do Desenvolvimento Agrário. **Agricultura Familiar no Brasil e o Censo Agropecuário 2006**. Brasília: 2009c.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. Brasília, 2009d.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional. **A Segurança Alimentar e Nutricional e o Direito Humano à Alimentação Adequada no Brasil: indicadores e monitoramento da constituição de 1988 aos dias atuais**. Brasília, 2010a.

BRASIL. **Decreto nº 7.272, de 25 de agosto de 2010**. Regulamenta a Lei no 11.346, de 15 de setembro de 2006, que cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional - SISAN com vistas a assegurar o direito humano à alimentação adequada, institui a Política Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional - PNSAN, estabelece os parâmetros para a elaboração do Plano Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, Seção 1 p.6, 26 ago. 2010b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. Brasília, 2010c.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira volume 1 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília: 2010d.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MAPA. **Informativo CGPCP Fruticultura**. Brasília, v. 5, n. 46, 2011a.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. Brasília, 2011b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Alimentação e Nutrição**. Brasília, 2012a.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. Brasília, 2012b.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Social e Combate à Fome. **Programa de Aquisição de Alimentos da Agricultura Familiar**. Brasília: MDS, 2012c.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MAPA. **Anuário Brasileiro de Fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz Ltda., 2012d.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. Brasília, 2013a.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Agrário. **Brasil Agroecológico. Plano Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica – PLANAPO**. Brasília, 2013b.

BONAVENTURE, L. **A cultura da cherimóia e de seu híbrido, a atemoia**, São Paulo: Nobel, p.184, 1999.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.28, n.1, p. 25-30, 2002.

BUENO, G.; BACCARIN, J.G. Participação das principais frutas brasileiras no comércio internacional: 1997 a 2008. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 424-434, 2012.

CARVALHO, J.L.S.; CUNICO, M.M.; DIAS, J.F.G.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Termoestabilidade de Processos Extrativos de *Nasturtium officinale* R.Br., Brassicaceae por Sistema Soxhlet Modificado. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1031-1035, 2009.

CAXITO, A.M. **Atemóia do Jaíba/MG seduz a Europa**. Portal Abanorte. Disponível em: <http://www.abanorte.com.br/noticias/noticias-principal/atemoia-do-jaiba-mg-seduz-a-europa/>. Acesso em 05 fevereiro 2013.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análises de alimentos**. 2. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2003.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. **Bioquímica Ilustrada**. São Paulo: Artmed: 1994: p. 120-121.

CHANG, C.C.; YANG, M.H.; WEN, H.M.; CHERN, J.C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 10, p. 178-182, 2002.

CLERICI, M.T.P.S.; CARVALHO-SILVA, L.B. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 1658-1670, 2011.

CRUZ, L.S.; PINTO, L.A.M.; LIMA, R.A.Z.; CORRÊA, A.D.; GUEDES, M.N.S. **Análise física e química das frações da fruta atemoia**. In: XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA. Lavras, 2010.

CRUZ, L.S. **Caracterização física e química da casca, polpa e semente da atemoia “Gefner”**. Trabalho de conclusão de curso (Pós-Graduação em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, 63 p., 2011.

CUSTÓDIO, M.B.; FURQUIM, N.R.; SANTOS, G.M.M.; CYRILLO, D.C. Segurança Alimentar e Nutricional e a construção de sua política: uma visão histórica. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 18, n. 1, p. 1-10, 2011.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

EL-CHAGHABY, G.A.; AHMAD, A.F.; RAMIS, E.S. Evaluation of the antioxidant and antibacterial properties of various solvents extracts of *Annona squamosa* L. leaves. **Arabian Journal of Chemistry**, 2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Características Botânicas das Principais Anonáceas e Aspectos Fisiológicos da Maturação. **Embrapa Agroindústria Tropical**, Documentos 106, Fortaleza, 2006.

EGYDIO, A.P.M.; CATARINA, C.S.; FLOH, E.I.S.; SANTOS, D.Y.A.C. Free amino acid composition of *Annona* (Annonaceae) fruit species of economic interest. **Industrial Crops and Products**, v. 4, p. 373– 376, 2013.

FACHINELLO, J.C.; PASA, M.S.; SCHMITZ, J.D., BETEMPS, D.L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Rev. Bras. Frutic.** v. E, p. 109-120, 2011

FALLER, A.L.K.; FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. **Rev Saúde Pública**, v. 43, n. 2, p. 211-218, 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION (FAO) / INCRA. **Novo Retrato da Agricultura Familiar: o Brasil Redescoberto**. Brasília, 2000.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION (FAO). **Codex Committee on fresh fruits and vegetables**. Mexico City: Commission del Codex Alimentarius, 2011. Disponível em: ftp.fao.org/codex Acesso em: janeiro de 2013.

FU, L.; XU, B.; XU, X. GAN, R.; ZHANG, Y.; XIA, E.; LI, H. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, v. 129, p. 345–350, 2011.

FUNDA, S.P.; KIYMET, T. Free radicals: Our enemies or friends? **Advances in Molecular and Cell Biology**, v. 1, p. 63-69, 2007.

GRUSAK, M.A. Phytochemicals in plants: genomics-assisted plant improvement for nutritional and health benefits. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, p. 508-511, 2002.

HERVERT-HERNÁNDEZ, D.; GARCÍA, O.P.; ROSADO, J.L.; GOÑI, I. The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety. **Food Research International**, v. 44, p. 1182-1189, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Agropecuário 2006**. Rio de Janeiro, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Indicadores Sociodemográficos e de Saúde no Brasil**. Rio de Janeiro, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009**. Rio de Janeiro, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Normas Analíticas, Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. São Paulo: 4.ed, 2008.

JESSUP, L.W. Australian Annonaceae in an Asian-Pacific Context. **Proceedings of the Ecological Society of Australia**, v. 15, p. 249-57, 1988.

JULIAN-LOAEZA, A.P.; SANTOS-SÁNCHEZ, N.F.; VALADEZ-BLANCO, R.; SÁNCHEZ-GUZMÁN, B.S.; SALAS-CORONADO, R. Chemical composition, color and antioxidant activity of three varieties of *Annona diversifolia* Safford fruits. **Industrial crops and Products**, v. 24, p. 1262-1268, 2011.

KALEGARI, M.; MIGUEL, M.D.; DIAS, J.F.G.; LORDELLO, A.L.L.; LIMA, C.P.; MIYAZAKI, C.M.S.; ZANIN, S.M.; VERDAM, M.C.S.; MIGUEL, O.G. Phytochemical constituents and preliminary toxicity evaluation of leaves from *Rourea induta* Planch. (Connaraceae). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 3, p. 635-642, 2011.

KISHIDA, E. *et al.* Re-avaluation of malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactive substances as índices of autoxidation bases on the oxygen consumption. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 41, p. 1-4, 1993.

LARSSON, S.C.; VIRTAMO, J.; WOLK, A. Total and specific fruit and vegetable consumption and risk of stroke: A prospective study. **Atherosclerosis**, v. 227, p. 147-152, 2013.

LI, Y.; LI, D.; MA, C.; LIU, C.; DING, H.; WEN, A.; PENG, L. Consumption of, and factors influencing consumption of, fruit and vegetables among elderly Chinese people. **Nutrition**, v. 28, p. 504-508, 2012.

LIEN, A.P.; HUA, H.; CHUONG, P. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. **International Journal of Biomedicine Science**, v. 4, n. 2, p. 89-96, 2008.

LOIZZO, M.R.; TUNDIS, R.; BONESI, M.; MENICHINI, F.; MASTELLONE, V.; AVALLONE, L.; MENICHINI, F. Radical scavenging, antioxidant and metal chelating activities of *Annona cherimola* Mill. (cherimoya) peel and pulp in relation to their total phenolic and total flavonoid contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 25, p. 179-184, 2012.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil Nativas e Exóticas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda: Nova Odessa-SP, 2ªed, p. 12-18, 2008.

LUZIA, D.M.; HORGE, N. Bioactive substance contents and antioxidant capacity of the lipid fraction of *Annona crassiflora* Mart. seeds **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 231– 235, 2013.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Alimentos, Nutrição & Dietoterapia**. São Paulo: Roca, p.42-46, 2002.

MAIA, E.L. **Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídicos e determinação da composição química em ácidos graxos e aminoácidos de peixe em água doce**. Campinas, 1992 242 p. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

MANICA, I. **Fruticultura – cultivo da anonáceas: ata, cherimólia e graviola**. Porto Alegre: Evangraf, p.117, 1994.

MARCELLINI, P.S.; CORDEIRO, C.E.; FARAONI, A.S.; BATISTA, R.A.; RAMOS, A.L.; LIMA, A.L. Comparação físico-química e sensorial da atemoia com a pinha e a graviola produzidas e comercializadas no estado do Sergipe. **Alimentos e Nutrição**, v. 14, n. 2, p. 187-189, 2003.

MARTÍNEZ, R.; TORRES, P.; MENESES, M.A.; FIGUERO, A.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**, n. 135, p. 520–1526, 2012.

MAZZOLENI, E.M.; NOGUEIRA, J.M. Agricultura orgânica: características básicas do seu produtor. **Revista Estudos Regionais**, v. 44, n. 2, p. 263-293, 2006.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.G.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante das frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.

MENDES, H.T.A. **Silicato de cálcio e magnésio na produção e nutrição mineral de atemoieira “Gefner”**. Dissertação de mestrado Curso de Pós-graduação em Produção Vegetal no Semiárido. Universidade Estadual de Montes Claros. 92p.. 2012.

MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITÃO, G.G.; REIS, A.S.; SANTOS, T.C.; COUBE, C.S.; LEITÃO, S.G. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytoterapy Research**, v. 15, p. 127-130, 2001.

MEYER, B.N., *et al.* Brine Shrimp: a convenient general bioassa for active plant constituents. **Planta Médica**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MORTON, J. **Atemoya**. In: MORTON, J. F. *Fruits of warm climates*. Miami: Creative Resource, p .72-75, 1987.

MOO-HUCHIN, V.M.; ESTRADAO-MOTA, I.; ESTRADA-LEÓN, R. CUEVAS-GLORY, L.; ORTIZ-VÁSQUEZ, E.; VARGAS, M.L.V.; BETANCUR-ANCONA, D.; SAURI-DUCH, E. Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**, v. 152, p. 508–515, 2014.

MULER, H.G.; TOBIN, G. **Nutrition of Food Processing**. Croom Helm Ltd., London, 1980.

NAVOLAR, T. S.; RIGON, S. A. ; PHILIPPI, J.M.S . Diálogo entre a agroecologia e a promoção da saúde. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 23, p. 69-79, 2010.

NEVES, C.S.V.J.; YUHARA, E.N. Caracterização dos frutos de cultivares de atemóia produzidos no norte do Paraná. **Semina Ciência Agrárias**, v. 24, n. 2, p. 311-314, 2003.

NUNES, C.R.; BERNARDES, N.R.; GLORIA, L.L.; OLIVEIRA, B.D. Flavonoides em *Annonaceae*: ocorrência e propriedades biológicas. **Vértices**, v. 14, n. 1, p. 39-57, 2012.

ORSI, D.C.; CARVALHO, V.S.; NISHI, A.C.F.; DAMIANI, C.; ASQUIERI, E.R. Use of sugar apple, atemoya and soursop for technological development of jams – chemical and sensorial composition. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 36, n. 5, p. 560-566, 2012.

OSBORNE, D;R., VOOGT, P. **The analysis of nutrient in foods**. London: Academic Press, p .251, 1978.

PAREEK, S.; YAHIA, E.M.; PAREEK, O.P.; KAUSHIK, R.A. Postharvest physiology and technology of Annona fruits. **Food Research International**, v. 44, p. 1741-1751, 2011.

PEREIRA, D.A.; VALENTAO, P.; PEREIRA, J.A.; ANDRADE, P.B. Phenolics: from the chemistry to biology. **Molecules**, v. 14, p. 2202-2211, 2009.

PEREIRA, M.D., KAVATI, R. Contribuição da pesquisa científica brasileira no desenvolvimento de algumas frutíferas de clima subtropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. E, p. 092-108, 2011.

PIIRONEN, V. et al. Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. **Journal of Sciences Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 939-966, 2000.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. SPECTROPHOTOMETRIC quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, v. 269, p. 337-341, 1999.

QUIÑONES, M.; MIGUEL, M.; ALEIXANDRE, A. Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. **Pharmacological Research**, v. 68, p. 125– 131, 2013.

RABÊLO, S.V.; COSTA, M.M.; LIBÓRIO, R.C.; ALMEIDA, J.R.G.S. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de atemoia**. In: V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação. Botucatu, 2013.

RAMADAN, M.F.; EL-SHAMY, H. Snapdragon (*Antirrhinum majus*) seed oil: Characterization of fatty acids, bioactive lipids and radical scavenging potential. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 373– 379, 2013.

RATHMANN, R.; HOFF, D.N.; SANTOS, O.I.B.; PADULA, A.D. Diversificação produtiva e as possibilidades de desenvolvimento: um estudo da fruticultura na região da Campanha no RS. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 46, n. 2, p. 325-354, 2008.

REISS, R.; JOHNSTON, J.; TUCKER, K.; DESESSO, J.M.; KEEN, C.L. Estimation of cancer risks and benefits associated with a potential increased consumption of fruits and vegetables. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 4421–4427, 2012.

RIBEIRO, L.P.; AKHTAR, Y.; VENDRAMIM, J.D.; ISMAN, M.B. Comparative bioactivity of selected seed extracts from Brazilian *Annona* species and na acetogenin-based commercial bioinsecticide against *Trichoplusia ni* and *Myzus persicae*. **Crop Protection**, v. 62, p. 100-106, 2014.

ROCHA, W.S. et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do Cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.

RUFINO, M.S.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, 2010.

SACRAMENTO, C.K. et al. Caracterização física e química de frutos de três tipos de gravioleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 329-331, 2003.

SANTOS, C.R.; NETO, M.L.M.; NOGUEIRA, P.S.C.; HAJI, F.N.P. **Produção de atemoia no submédio do São Francisco**. Brasília: EMBRAPA, 2001.

SANTOS, A.L.; SANTOS, D.O., FREITAS, C.C.; FERREIRA, B.L.A.; AFONSO, I.F., RODRIGUES, C.R.; CASTRO, H.C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SANTOS, A. O. *et al.* Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 3, p. 277-281, 2008.

SANTOS, R.D.; GAGLIARDI, A.C.M.; XAVIER, H.T.; MAGNONI, C.D.; CASSANI, R.; LOTTENBERG, A.M.; *et al.* Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 100, n. 1, supl. 3, p. 1-40, 2013.

SHEN, C.; BERGEN, V.V.; CHYU, N.; JENKINS, M.R.; MO, H.; CHEN, C.; KWUN, I. Fruits and dietary phytochemicals in boné protection. **Nutrition Research**, v. 32, p. 897-910, 2012.

SILVA, J.G.; TAVARES, L. Segurança alimentar e a alta dos preços dos alimentos: oportunidades e desafios. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 15, n. 1, p. 63-75, 2008.

SILVEIRA, J. GALESKAS, H., TAPETTI, R.; LOURENCINI, I.. Quem é o consumidor brasileiro de frutas e hortaliças? **Revista Hortifrutibrasil**, 2011.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. A Calorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-phosphotungstic Acid Reagents. **American Society for Etnology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SOLFRIZZI, V.; D'INTRONO, A.; COLACCIO, A.; CAPURSO, C.; PALASCIANO, R.; CAPURSO, S. Unsaturated fatty acids intake and all-causes mortality: A 8.5 year follow-up of the Italian Longitudinal Study of Aging. **Experimental Gerontology**, v. 40, p. 335-343, 2005.

SOUSA, F.C.; SOUSA, E.P.; CRUZ, C.S.A.; GOMES, J.P.; ALMEIDA, F.A.C. parâmetros físicos e físico-químicos da atemoia 'gefner' em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.5, n.4, p.329-334, 2013.

SOUZA, P.M.; NEY, M.G.; PONCIANO, N.J. Evolução da Distribuição dos Financiamentos do PRONAF entre as Unidades da Federação, no Período de 1999 e 2009. **Revista Brasileira de Economia**, v. 63, n. 3, p. 303-313, 2011.

SOUZA, V.R.S.; PEREIRA, P.A.P.; QUEIROZ, F.; BORGES, S.V.; CARNEIRO, J.D.S. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, v. 134, p. 381-386, 2012.

TOKUNAGA, T. **A cultura da atemóia**. Campinas: CATI (Boletim técnico 233), p.80, 2000.

UNICAMP. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4ªed. Campinas, SP: UNICAMP. 2011, p. 36-42.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Integrated prevention on noncommunicable diseases: Draft global strategy on diet, physical activity and health**. Geneva, 23 de novembro de 2003.

WIKLER, M.A.; COCKERILL, F.R.; BUSH, K. et al. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically – Approved Standard**. 8ª ed Pennsylvania: CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute, v. 29, p. 1-65, 2009.

WOOTTON-BEARD, P.C.; RYAN, L. Improving public health?: The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. **Food Research International**, v. 44, p. 3135–3148, 2011.

TANAKA, J. C. A. S. et al. Constituintes químicos de *Luehea divaricata* Mart. (*Tiliaceae*). **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 834-837, 2005.

ANEXOS

ANEXO 1	DECLARAÇÃO DE REGISTRO DE EXSICATA.....	111
ANEXO 2	AUTORIZAÇÃO DAS ATIVIDADES DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO.....	112

ANEXO 1



Prefeitura Municipal de Curitiba
 Secretaria Municipal do Meio Ambiente
 Departamento de Produção Vegetal
 Divisão do Museu Botânico Municipal
Herbário MBM

DECLARAÇÃO

Declaro para os fins que se fizerem necessários que se encontram depositadas no herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba (HERBÁRIO MBM), duas exsicatas de plantas pertencentes à família Annonaceae, conhecidas popularmente como "ATEMOYA", uma planta híbrida, originada através do cruzamento de *Annona cherimola* Mill. e *Annona squamosa* L.

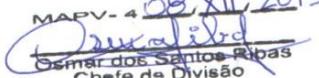
O nome utilizado para esse cruzamento é *Annona x atemoya* Mabb., sendo que no Brasil quatro cultivares são mais produzidos: (AFRICAN), (GEFNER), (PINK) e (THOMPSON).

As duas exsicatas já vieram pré-identificadas e os nomes foram corrigidos pelos técnicos do Museu Botânico Municipal: Osmar dos Santos Ribas, José Tadeu Weidlich Motta e Marcelo Leandro Brotto, em 07/VIII/2013.

- A exsicata da planta pertencente à família Annonaceae, popularmente conhecida como "ATEMOYA", cujo nome científico é: *Annona x atemoya* Mabb. ("Africa"), foi coletada na propriedade do Sr. Yassumassa Assami, no município de Marialva, Paraná, Brasil, pela pesquisadora Leticia Mazepa s/nº, em 27/IV/2013 e está depositada sob o nº de registro **386619**.
- A exsicata da planta pertencente à família Annonaceae, popularmente conhecida como "ATEMOYA", cujo nome científico é: *Annona x atemoya* Mabb. ("Thompson"), foi coletada na propriedade do Sr. Yassumassa Assami, no município de Marialva, Paraná, Brasil, pela pesquisadora Leticia Mazepa s/nº, em 27/IV/2013, e está depositada sob o nº de registro **386620**.

Ambas as exsicatas encontram-se depositadas no acervo do Museu Botânico Municipal (Herbário MBM) e estão à disposição de qualquer pesquisador, podendo ser consultadas para todas e quaisquer eventualidades.

Curitiba, 08 de dezembro de 2013

MAPV-4 08.XII.2013

 Osmar dos Santos Ribas
 Chefe de Divisão
 MAT. 76.674

ANEXO 2



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
 MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
 INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS

**AUTORIZAÇÃO DAS ATIVIDADES DE ACESSO AO PATRIMÔNIO
 GENÉTICO REALIZADA DE ACORDO COM A RESOLUÇÃO CGEN Nº35,
 DE 27 DE ABRIL DE 2011
 Nº 03/2014**

O INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, credenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/MMA), por meio da Deliberação CGEN nº 40, de 24 de setembro de 2003, para autorizar instituição nacional, pública ou privada, que exerça atividade de pesquisa e desenvolvimento nas áreas biológicas e afins, a acessar amostras de componente do patrimônio genético para fins de pesquisa científica sem potencial de uso econômico, **autoriza com amparo na Resolução CGEN nº 35, de 27 de abril de 2011, que dispõe sobre regularização de atividades de acesso ao patrimônio genético e/ou ao conhecimento tradicional associado e sua exploração econômica realizadas em desacordo com a Medida Provisória no 2.186-16, de 23 de agosto de 2001 e demais normas, as atividades de acesso ao patrimônio genético desenvolvidas pela:**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, CNPJ/MF nº. 75.095.679/0001-49, situada na Rua XV de Novembro, 1299, Curitiba-PR, CEP: 80060-000, e representada na pessoa do Reitor Zaki Akel Sobrinho, RG nº. 1.439.536-9 SSP/PR, CPF nº. 359.063.759-53, no âmbito das atividades do projeto de pesquisa "*Estudo Químico e Biológico das Espécies Vegetais*".

Objetivo da Autorização: Avaliar sob aspecto morfoanatômico, químico e biológico das espécies acessadas constantes do projeto de pesquisa.

Período das atividades: 2000 a 2019.

Validade da Autorização: Cinco anos, contados da assinatura. Em razão da continuidade do projeto de pesquisa, a instituição detentora desta autorização deverá enviar ao Ibama, a partir da emissão da licença, relatório anual sobre a execução das atividades de pesquisa, nos termos do Decreto nº 4.946/2003 e Resolução CGEN nº 41/2013. **Endereço para envio do relatório:** IBAMA/DBFLO, SCEN L4 Norte, Bloco B, Brasília-DF, CEP: 70818-900.

Esta autorização das atividades de acesso está vinculada às informações e termos assinados pelo requerente, constantes do processo nº 02001.001165/2013-47.

Volney Zanardi Junior
 Presidente

Brasília, 17 de março de 2014.