

KATALIN CARRARA GEÓCZE

**ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE CAROTENÓIDES, ÓLEOS ESSENCIAIS
E TRIACILGLICERÍDIOS DO PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.) DE
MUNICÍPIOS BRASILEIROS SITUADOS NO BIOMA CERRADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do programa de Pós Graduação em Agroquímica para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2011**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

G342a
2011

Geőcze, Katalin Carrara, 1966-

Análise exploratória de carotenóides, óleos essenciais e triacilglicerídios do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) de municípios brasileiros situados no bioma cerrado / Katalin Carrara Geőcze. – Viçosa, MG, 2011.
xxvi, 201f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Cláudio Ferreira Lima.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Essências e óleos essenciais. 2. Carotenóides.
 3. Triacilglicerídios. 4. Cromatografia.
 5. *Caryocar brasiliense*. 6. Análise multivariada.
- I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 630.25

KATALIN CARRARA GEÓCZE

**ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE CAROTENÓIDES, ÓLEOS ESSENCIAIS
E TRIACILGLICERÍDIOS DO PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.) DE
MUNICÍPIOS BRASILEIROS SITUADOS NO BIOMA CERRADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do programa de Pós Graduação em Agroquímica para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Aprovada: 26 de agosto de 2011.



Profa. Vanderlúcia Fonseca de Paula



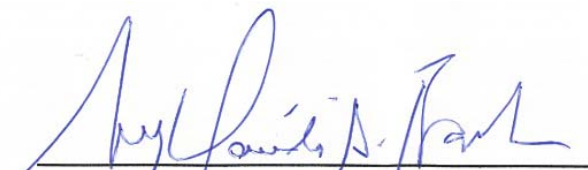
Prof. Paulo Henrique Fidêncio



Profa. Helena Maria Pinheiro Sant'Ana



Prof. Antônio Jacinto Demuner
Co-Orientador


Prof. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa
Co-Orientador

*"...O Garçon se regalava com os pequis,
relando devagar nos dentes aquela polpa amarela enjoada.
Aceitei não, daquilo não provo: por demais distraído que sou,
sempre receei dar nos espinhos, craváveis em língua..."*

João Guimarães ROSA, *Grande Sertão: veredas*, pg. 184.

*Dedico ao meu maior Mestre: Prof. Zoárd Antal László Geőcze.
E aos meus Colegas de Aprendizagem, seus mais Fiéis Pupilos: Irmão,
Déa,
Mino,
Zô,
Lucas,
Bruna,
Humbertinho,
Lipe e
Zóltan.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, que em todos os momentos me fez sentir a Sua presença me guiando, iluminando e abençoado. Ademais, por tudo que Ele, em Sua infinita bondade, tem me proporcionado e eu não tenho sido capaz de reconhecer.

Agradeço à Universidade Federal de Viçosa pela minha formação plena, desde o Ensino Médio (COLUNI) ao tão sonhado Doutorado. Ainda, ao Departamento de Química; pela oportunidade de realização do curso, personificando-o em seus Professores e Técnicos Administrativos.

Ao CEFET-MG, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, pela licença concedida ao afastamento de minhas atividades docentes, necessária à minha dedicação integral ao Curso. Ainda, aos amigos e colegas do CEFET-MG/*Campus* III – Leopoldina, que apesar da distância, sempre que necessitei pude contar com o apoio, a torcida e sugestões.

À CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de estudos. Também, em nome do grupo de pesquisa do LASA (Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos), agradeço às agências financiadoras: CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais).

Ao Professor Orientador Cláudio Ferreira Lima pela aquisição de amostras e pelo suporte financeiro na aquisição de alguns equipamentos.

Agradeço ao Professor Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, pela orientação segura, compreensão de minhas limitações e, principalmente, por acreditar e confiar em mim. Seu exemplo de profissionalismo, competência e dedicação o tornam, antes de tudo, um verdadeiro Educador. Ainda, ao Professor Antônio Jacinto Demuner pelo aconselhamento e auxílio, indispensáveis, para a realização desse trabalho.

Agradeço à Professora Helena Maria Pinheiro Sant'Ana pela ajuda e oportunidade de realização de parte desse estudo. Foi gratificante me sentir acolhida ao Grupo de Pesquisa do LAV (Laboratório de Análise de Vitaminas), por ela coordenado. Sou também grata a Leandro M. Cardoso (MS), pela

disposição de ajudar sempre que se fez necessário, bem como a todos integrantes do LAV, em especial, Fabiana, Ceres e Dani.

Agradeço ao Pesquisador Mário Ferruzzi (*Associate Professor of Food Science – Purdue University*) por disponibilizar laboratório, pessoal, reagentes, entre outros; possibilitando a execução de parte dessa pesquisa. Também, ao Prof. Eduardo Euclides de Lima e Borges, coordenador do LASF (Laboratório de Análise de Sementes Florestais) e ao Técnico Administrativo Sr. José Mauro Ferreira.

Todo o meu apreço e gratidão aos colaboradores Professor Flaviano Oliveira Silvério (UFMG) e Professor Paulo Henrique Fidêncio (UFVJM). A contribuição dos mesmos, além da agregação de valor científico ao projeto, foi preponderante para sua realização.

Agradeço a todos os meus Mestres. Personifico-os, agradecendo aos professores: Célia, Maria Eliana, Luiz Cláudio, Mayura, Antônio Augusto e César Reis. Obrigada pela qualidade das aulas ministradas e pelas sugestões gratuitas, entretanto, inestimáveis.

Gostaria de agradecer ao grupo de Pesquisa do LASA. Reúno esses agradecimentos em nome do Técnico Administrativo, Sr. José Luiz Pereira (MS), pelo auxílio, compartilhamento de conhecimento e pela harmoniosa convivência. Sou grata a todos os companheiros de bancada que dividiram os dias e noites de trabalho. Em especial, aos estagiários: Aline, Carlos Henrique, Silvana e Breno.

Ao Pesquisador e amigo Ricardo Marques Montanari por me ajudar, pacientemente, na introdução de meus estudos no LASA e nas várias etapas de execução desse projeto. Obrigada, a Deus, por você existir!

Minha gratidão e carinho pelos muitos amigos e colegas que aqui fiz, que comigo riram e, algumas vezes, enxugaram minhas lágrimas. Em particular gostaria de agradecer aos amigos Juliana, Tiago, Eder, Luciana, Ulisses e Elder pelo carinho e cumplicidade, os quais foram essenciais nessa jornada, tornando esses anos de convivência bem curtinhos, que nem percebi passá-los.

“Se a amizade e o coleguismo são as flores da vida”; agradeço por perfumarem e colorirem meus dias: Marcela, Lucas, Carol, Flaviane, Vânia, Bel, Leandro, Nathália, Leonel, Elba, Cleber, Juliana, Líliam, Viviane,

Guilherme, Renata, Betina, Fred, Patrícia, Vânia Valente, Maria Miranda, Fabrício, Cleinton, Rafael, Lígia, Chuchu, Adalberto, Profa. Alessandra, Profa. Cris, entre outros.

Aos casais amigos — Tê e Chico; Lu e Alvimar; Flaviano e Gevany; Mimi e Eustáquia; José Antônio e Rosinha; Sebastião e Maria José — pelo auxílio, acolhida e exemplo de companheirismo. Às minhas amigas-irmãs, “baluartes” de minha vida: Terezinha (*in memoriam*), Andréa, Terezita, Luciana, Karyne, Soraya, Fátima, Renatinha, Valéria, Patrícia, Ana Luíza, Virgínia, Juliana, Bruna, Letícia, Analu, Luana, minhas tias, primas, sobrinhas e cunhadas.

Agradeço à minha família: à minha mãe (*in memoriam*) e ao meu pai; aos meus irmãos, sobrinhos e cunhados; aos meus tios e primos. Ao meu querido esposo, Mino, pela sua excepcional generosidade. Ao meu filho, Lucas, que não permitiu, em nenhum momento, que eu me esquecesse de exercer minha mais importante vocação: ser Mãe.

À Cida, meu braço direito, nos cuidados com o meu lar e Dona Aparecida, por cuidar da casa de meu pai.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram de forma positiva para a realização deste trabalho e que, somente por descuido de minha parte, não foram citados.

BIOGRAFIA

Katalin Carrara Geócze, filha de Zoárd Antal László Geócze e Terezinha Carrara Geócze, nasceu em 03 de março de 1966, no município de Cataguases, Minas Gerais.

Em março de 1985, iniciou o curso de graduação em Engenharia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa, concluindo-o em março de 1990.

Em abril de 1990, iniciou o Curso de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, nível mestrado, em Ciência e Tecnologia de Alimentos, na Universidade Federal de Viçosa, concluindo-o em dezembro de 1993.

Em abril de 1996, ingressou na carreira de magistério, através de concurso público federal, na Escola Agrotécnica Federal de Januária (EAFJ), hoje denominada Instituto Federal do Norte de Minas Gerais – *Campus Januária* (IFNMG-Januária). A partir de janeiro de 2006, é professora do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG), *Campus III – Leopoldina*.

Em agosto de 2007, iniciou o Curso de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, nível Doutorado, em Agroquímica – Química Orgânica, na Universidade Federal de Viçosa.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xvi
RESUMO	xxii
ABSTRACT	xxv
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4
CAPÍTULO 1: CAROTENÓIDES DO PEQUI	9
1.1. INTRODUÇÃO.....	9
1.2. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
1.2.1. O PEQUI.....	11
1.2.1.1. Aspectos Botânicos e Agronômicos.....	11
1.2.1.2. Importância da Espécie.....	13
1.2.1.2. Valor Nutricional.....	14
1.2.2. CAROTENÓIDES.....	15
1.2.2.1. Características Químicas.....	15
1.2.2.2. Nomenclatura.....	17
1.2.2.3. Funções.....	17
1.2.2.4. Análise de Carotenóides.....	19
1.2.3. CAROTENÓIDES NO PEQUI	24
1.2.4. ESTUDO QUIMIOMÉTRICO – ANÁLISE MULTIVARIADA.....	25
1.2.4.1. Matriz de Dados.....	27
1.2.4.2. Autoescalonamento.....	28
1.2.4.3. Medidas de Similaridades.....	29
1.2.4.4. Análise das Componentes Principais.....	29
1.2.4.5. Análise Hierárquica por Agrupamento.....	30
1.3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
1.3.1. MATERIAL VEGETAL.....	31
1.3.2. ANÁLISE DOS CAROTENÓIDES NA POLPA DO PEQUI.....	32

1.3.2.1. Preparo das Amostras – Obtenção da Polpa.....	32
1.3.2.2. Análise dos Carotenóides Provitamina A.....	33
1.3.2.3. Cálculo do Valor de Vitamina A.....	37
1.3.2.4. Análise Estatística.....	38
1.3.2.5. Identificação dos demais Carotenóides do Pequi.....	39
1.3.3. DETERMINAÇÃO DA UMIDADE.....	41
1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
1.4.1. UMIDADE.....	42
1.4.2. CAROTENÓIDES DA POLPA DO PEQUI.....	43
1.4.2.1. Carotenóides com Atividade Provitamina A.....	43
1.4.2.2. Valores de Vitamina A.....	50
1.4.2.3. Análise Multivariada.....	53
1.4.2.4. Identificação dos demais Carotenóides.....	58
1.5. CONCLUSÕES.....	62
1.6. REFERÊNCIAS. BIBLIOGRÁFICAS.....	63
CAPÍTULO 2: ÓLEOS ESSENCIAIS DO PEQUI.....	76
2.1. INTRODUÇÃO.....	76
2.2. REVISÃO DE LITERATURA.....	78
2.2.1. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	78
2.2.2. IMPORTÂNCIA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	78
2.2.3. EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....	79
2.2.3.1. Hidrodestilação.....	81
2.2.4. ANÁLISE DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....	84
2.2.5. ÓLEOS ESSENCIAIS EM FRUTAS.....	84
2.2.6. ÉSTERES COMO COMPONENTES DE ÓLEOS ESSENCIAIS...	85
2.2.7. ÓLEOS ESSENCIAIS NO PEQUI.....	85
2.3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	88
2.3.1. MATERIAL VEGETAL.....	88
2.3.2. ANÁLISE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DA POLPA DO PEQUI.....	89
2.3.2.1. Preparo das Amostras – Obtenção da Polpa.....	90
2.3.2.2. Extração dos Óleos Essenciais do Pequi.....	90
2.3.2.3. Cromatografia em Fase Gasosa (CG).....	90

2.3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	91
2.3.3.1. Análise de Variância.....	91
2.3.3.2. Análise Multivariada.....	91
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	93
2.4.1. CONCENTRAÇÃO E COMPOSIÇÃO – Óleos Essenciais do Pequi.	93
2.4.2. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS – Óleos Essenciais do Pequi.....	102
2.4.3. COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA.....	103
2.4.4. ANÁLISE MULTIVARIADA.....	104
2.4.4.1. Análise das componentes Principais.....	104
2.4.4.2. Análise Hierárquica por Agrupamento.....	106
2.5. CONCLUSÕES.....	109
2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110
CAPÍTULO 3: TRIACILGLICERÍDIOS DO PEQUI.....	120
3.1. INTRODUÇÃO.....	120
3.2. REVISÃO DE LITERATURA.....	122
3.2.1. LIPÍDEOS – Conceito e Classificação.....	122
3.2.2. ÁCIDOS GRAXOS – Características Químicas e Nomenclatura.....	122
3.2.3. TRIACILGLICERÍDIOS – Características Químicas, Nomenclatura e Importância.....	124
3.2.4. ANÁLISE DE TRIACILGLICERÍDIOS.....	126
3.2.4.1. Métodos de Extração.....	126
3.2.4.2. Análise Espectroscópica no Infravermelho Médio.....	128
3.2.4.3. Derivatização.....	130
3.2.4.4. Cromatografia Gasosa / Espectrometria de Massas.....	131
3.2.5. ÓLEO DE PEQUI.....	133
3.2.5.1. Importância, Uso e Potencialidades.....	133
3.2.5.2. Composição de Triacilglicerídios no Óleo de Pequi.....	134
3.3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	136
3.3.1. MATERIAL VEGETAL.....	136
3.3.2. ANÁLISE DE TRIACILGLICERÍDIOS NO PEQUI.....	137
3.3.2.1. Preparo das Amostras – Obtenção da Polpa e Amêndoa.....	138
3.3.2.2. Extração dos Triacilglicerídios.....	139
3.3.2.3. Análise no Infravermelho Médio.....	140

3.3.2.4. Derivatização.....	140
3.3.2.5. Cromatografia Gasosa / Espectrometria de Massas.....	141
3.3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	141
3.3.3.1. Análise de Variância.....	141
3.3.3.2. Análise Multivariada.....	142
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	143
3.4.1. ESTUDO DO MELHOR TEMPO DE EXTRAÇÃO.....	143
3.4.2. CONCENTRAÇÃO DE TRIACILGLICERÍDIOS.....	145
3.4.3. ESPECTROS NO INFRAVERMELHO.....	147
3.4.4. IDENTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS.....	149
3.4.5. QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS.....	155
3.4.6. ANÁLISE MULTIVARIADA.....	162
3.4.6.1. Análise das Componentes Principais – ACP.....	162
3.4.6.2. Análise Hierárquica por Agrupamento – AHA.....	165
3.5. CONCLUSÕES.....	167
3.6. REFERÊNCIAS. BIBLIOGRÁFICAS.....	168
CONCLUSÃO GERAL.....	182
APÊNDICE.....	185

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – CAROTENÓIDES DO PEQUI

	TABELA	PÁGINA
TABELA 1.1.	Enquadramento taxonômico do pequi (<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.)	11
TABELA 1.2.	Constituição do fruto do <i>Caryocar brasiliense</i>	12
TABELA 1.3.	Composição centesimal (g 100 g ⁻¹) da polpa e amêndoa do pequi	15
TABELA 1.4.	Exemplos de nomes semi-sistemáticos de alguns carotenóides	17
TABELA 1.5.	Populações de <i>Caryocar brasiliense</i> , código das amostras, data da coleta dos frutos, dados geográficos e Registro no Herbário DBV/UFV	32
TABELA 1.6.	Populações de <i>Caryocar brasiliense</i> , enviadas para <i>Purdue University – Department of Food Sciences</i>	39
TABELA 1.7.	Umidade e Matéria Seca da Polpa do <i>Caryocar brasiliense</i>	42
TABELA 1.8.	Principais propriedades dos CPVA(s) da polpa do pequi, tendo acetona como solvente, obtidos por CLAE-DAD, fase móvel composta de metanol, acetato de etila e acetonitrila (80:10:10); comparada aos padrões nas mesmas condições	45

TABELA 1.9.	Concentração de CPVA (β -criptoxantina e β -caroteno) da polpa do pequi (<i>C. brasiliense</i>), na base úmida (BU) e base seca (BS)	47
TABELA 1.10.	Valor de vitamina A, em Equivalente de Atividade de Retinol (RAE), no pequi, <i>Caryocar brasiliense</i> , base úmida, em 100 g de polpa do fruto <i>in natura</i>	50
TABELA 1.11.	Contribuição na dieta para o fornecimento de Vitamina A da polpa de pequi, <i>Caryocar brasiliense</i> , provenientes de Municípios Norte-Mineiros, com base nas recomendações do IOM (2001)	52
TABELA 1.12.	Identificação quantitativa e qualitativa dos carotenóides presentes na polpa de pequi, expressos na base seca. Comparação dos teores de CPVA entre as duas metodologias utilizadas	59

CAPÍTULO 2 – ÓLEOS ESSENCIAIS DO PEQUI

TABELA	PÁGINA	
TABELA 2.1.	Populações de <i>Caryocar brasiliense</i> , código das amostras, data da coleta dos frutos, dados geográficos e Registro no Herbário DBV/UFV	89
TABELA 2.2.	Concentração de óleo essencial (base seca) e teor de umidade da polpa do <i>C. brasiliense</i>	93
TABELA 2.3.	Constituintes dos óleos essenciais (%) da polpa de <i>Caryocar brasiliense</i> das amostras coletadas nos Municípios do Estado do Maranhão	95
TABELA 2.4.	Constituintes dos óleos essenciais (%) da polpa de <i>Caryocar brasiliense</i> das amostras coletadas nos Municípios do Estado de Minas Gerais	96

TABELA 2.5.	Constituintes dos óleos essenciais (%) da polpa de <i>Caryocar brasiliense</i> das amostras coletadas nos Municípios do Estado do Tocantins	97
--------------------	---	----

CAPÍTULO 3 – TRIACILGLICERÍDIOS DO PEQUI

	TABELA	PÁGINA
TABELA 3.1.	Nomes sistemáticos, comuns e numéricos dos ácidos graxos naturalmente encontrados em alimentos de origem vegetal e animal	124
TABELA 3.2.	Alguns exemplos de nomenclatura dos triacilglicerídios	125
TABELA 3.3.	Populações de <i>Caryocar brasiliense</i> , código das amostras, data da coleta dos frutos, dados geográficos e Registro no Herbário DBV/UFV	137
TABELA 3.4.	Massas de óleo extraídas a partir de 5,00 g de amostras, polpa e amêndoa de pequi (<i>C. brasiliense</i>), em equipamento tipo Soxtec e hexano como solvente, durante 5 horas	143
TABELA 3.5.	Teor de óleo fixo (TAG), na base úmida e seca e teor de umidade da amêndoa do <i>C. brasiliense</i>	145
TABELA 3.6.	Teor de óleo fixo (base seca e úmida) e teor de umidade da polpa do <i>Caryocar brasiliense</i>	146
TABELA 3.7.	Concentração de ácidos graxos (normalização), constituintes das moléculas de triacilglicerídios do óleo da polpa do pequi (extrato hexânico), nas 18 populações amostradas	156
TABELA 3.8.	Relação entre o teor de ácidos graxos saturados e insaturados no óleo da polpa do pequi	158

TABELA 3.9.	Concentração de ácidos graxos majoritários, ácidos palmítico e oléico, no óleo da polpa do pequi (<i>C. brasiliense</i>)	160
TABELA 3.10.	Concentração de ácidos graxos majoritários, ácidos palmítico e oléico, na polpa do pequi (<i>C. brasiliense</i>)	161

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – CAROTENÓIDES DO PEQUI

	FIGURA	PÁGINA
FIGURA 1.1.	Ilustração do Pequizeiro (<i>Caryocar brasiliense</i>)	13
FIGURA 1.2.	Exemplos de estruturas químicas de carotenóides	16
FIGURA 1.3.	Grupos terminais presentes nas moléculas de carotenóides	18
FIGURA 1.4.	Cálculo de %III/II com indicação na estrutura espectral fina.	24
FIGURA 1.5.	Estruturas químicas dos carotenóides presentes na polpa do pequi	26
FIGURA 1.6.	Matriz X, constituída por <i>m</i> objetos e <i>n</i> variáveis	27
FIGURA 1.7.	Correlações lineares entre as concentrações de carotenóides e a área dos picos correspondentes	38
FIGURA 1.8.	Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD de CPVA, presentes na polpa do pequi (<i>C. brasiliense</i>). Condições cromatográficas: coluna C18; fase móvel metanol – acetato de etila – acetonitrila (80:10:10); vazão de 2 mL min ⁻¹	44
FIGURA 1.9.	Espectros de absorção, na região do visível, β -criptoxantina e β -caroteno, obtidos pelo detector de arranjo de diodos	46
FIGURA 1.10.	Teores de carotenóides, na polpa do pequi, na base seca, com atividade provitamina A	48

FIGURA 1.11.	Valores de vitamina A, em Equivalente de Atividade de Retinol (RAE), na polpa do pequi, <i>Caryocar brasiliense</i> , em 100 g de polpa do fruto <i>in natura</i>	51
FIGURA 1.12.	Gráfico de Escores das populações de <i>Caryocar brasiliense</i> , em que PC1 e PC2 explicaram 73,90% da variância total. Considerando as concentrações de carotenóides com atividade provitamina A, valor de vitamina A e umidade da polpa e, ainda, as informações geográficas (latitude e longitude)	54
FIGURA 1.13.	Dendrograma obtido pela Análise Hierárquica por Agrupamento	
FIGURA 1.14.	Gráficos de Escores e Dendrogramas das populações de <i>C. brasiliense</i> obtidos pela Análise Multivariada, considerando as concentrações de carotenóides com atividade provitamina A	56
FIGURA 1.15.	Mapa Político Brasileiro, dividido em Estados da Federação. Em destaque os Estados de Minas Gerais, Maranhão e Tocantins, nos quais se encontram agrupadas as 18 populações de <i>Caryocar brasiliense</i> , segundo seus teores de Carotenóides com Atividade Provitamina A, de acordo com a Análise Multivariada (ACP e AHA).	57
FIGURA 1.16.	Cromatograma dos carotenóides da polpa do pequi, <i>Caryocar brasiliense</i> , obtido por CLAE-DAD. Condições cromatográficas: coluna YMC – C30 amônio 1 mol L ⁻¹ (98:2) e Fase B – acetato de etila; vazão de 0,37 mL min ⁻¹ .	58

CAPÍTULO 2 – ÓLEOS ESSENCIAIS DO PEQUI

	FIGURA	PÁGINA
FIGURA 2.1.	Diagrama de um processo de extração de OE – hidrodestilação	83
FIGURA 2.2.	Ilustração de um destilador tipo Clevenger	83
FIGURA 2.3.	Estruturas de constituintes químicos “chave” do aroma da polpa do fruto do <i>C. brasiliense</i>	86
FIGURA 2.4.	Concentração de óleo essencial na polpa do pequi	94
FIGURA 2.5.	Substâncias majoritárias, presentes nos óleos essenciais da polpa do pequi de quatro municípios do Estado do Maranhão	98
FIGURA 2.6.	Substâncias majoritárias, presentes nos óleos essenciais da polpa do pequi de 12 municípios do Estado de Minas Gerais.	99
FIGURA 2.7.	Substâncias majoritárias, presentes nos óleos essenciais da polpa do pequi de dois municípios do Estado do Tocantins	100
FIGURA 2.8.	Cromatogramas gasosos de óleos essenciais de polpa do pequi	101
FIGURA 2.9.	β -ocimeno	102
FIGURA 2.10.	Escore das 18 populações amostradas dos Estados do MA, TO e MG. Considerando as variáveis obtidas, através de análises nos óleos essenciais da polpa de pequi.	105
FIGURA 2.11.	Pesos das variáveis, distribuídas na PCA, codificadas de acordo com o Índice de Kovats	105

FIGURA 2.12.	Dendrograma obtido pela AHA dos voláteis do pequi	106
FIGURA 2.13.	Mapa Político Brasileiro, dividido em Estados da Federação. Em destaque os estados de Minas Gerais, Maranhão e Tocantins, nos quais se encontram agrupadas as 18 populações de <i>C. brasiliense</i> , segundo a concentração e composição química de seus óleos essenciais, de acordo com a Análise Multivariada (ACP e AHA)	107

CAPÍTULO 3 – TRIACILGLICERÍDIOS DO PEQUI

	FIGURA	PÁGINA
FIGURA 3.1.	Estrutura geral de uma molécula de triacilglicerídio	124
FIGURA 3.2.	Esquema geral de uma reação de síntese de triacilglicerídios	125
FIGURA 3.3.	Extrator tipo Soxhlet	128
FIGURA 3.4.	Esquema de um sistema de extração de matéria graxa em equipamento tipo Soxtec	129
FIGURA 3.5.	Esquema geral de uma reação de transesterificação	130
FIGURA 3.6.	Esquema do processo de fragmentação de ésteres metílicos de ácidos graxos, evidenciando o fragmento oriundo do Rearranjo de McLafferty ($m/z = 74$)	132
FIGURA 3.7.	Extrator de matéria graxa (oito conjuntos), contínuo por imersão a quente; marca Marconi, modelo MA 491.	139

FIGURA 3.8.	Porcentagem de extração de óleo de <i>Caryocar brasiliense</i> em função do tempo	144
FIGURA 3.9.	Espectros no infravermelho de extratos hexânicos, da amêndoa e da polpa, do <i>Caryocar brasiliense</i>	148
FIGURA 3.10.	Cromatogramas de Íons Totais (CIT) de éteres metílicos, derivados do óleo (extrato hexânico) da polpa de pequi	150
FIGURA 3.11.	Cromatogramas de Íons Totais (CIT) de éteres metílicos, derivados do óleo (extrato hexânico) da amêndoa do pequi	151
FIGURA 3.12.	Espectros de massas de ésteres metílicos derivados dos ácidos graxos saturados identificados no óleo da polpa e da amêndoa de pequi	153
FIGURA 3.13.	Espectros de massas de ésteres metílicos derivados dos ácidos graxos insaturados, monoenólicos e dienólicos, identificados no óleo da polpa e da amêndoa de pequi	154
FIGURA 3.14.	Concentração de ácidos graxos, saturados e insaturados, no óleo da polpa do pequi (<i>C. brasiliense</i>)	157
FIGURA 3.15.	Correlações lineares entre as concentrações de ésteres metílicos dos ácidos graxos majoritários – ácido palmítico e ácido oléico – com a área dos picos correspondentes.	159
FIGURA 3.16.	Gráfico de Escores das 18 populações considerando os óleos fixos da polpa do <i>Caryocar brasiliense</i>	163

FIGURA 3.17.	Pesos das variáveis, distribuídas na ACP	164
FIGURA 3.18.	Dendrograma obtido pela Análise Hierárquica por Agrupamento, dos óleos fixos da polpa do <i>C. brasiliense</i>	165
FIGURA 3.19.	Mapa Político Brasileiro, dividido em Estados da Federação. Em destaque os estados de Minas Gerais, Maranhão e Tocantins, nos quais se encontram agrupadas as 18 populações amostradas de <i>Caryocar brasiliense</i> , segundo a concentração e composição química dos triacilglicerídios de sua polpa, de acordo com a Análise Multivariada (ACP e AHA).	166

RESUMO

GEÓCZE, Katalin Carrara, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2011. **Análise Exploratória de Carotenóides, Óleos Essenciais e Triacilglicerídios do Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) de Municípios Brasileiros Situados no Bioma Cerrado.** Orientador: Cláudio Ferreira Lima. Co-orientadores: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa e Antônio Jacinto Demuner.

O pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) é uma espécie arbórea, típica do Bioma cerrado. Produz um fruto amplamente utilizado regionalmente. Sua polpa amarela de sabor e aroma intenso é considerada uma fonte excelente de carotenóides e, também, possuidora de elevado teor de lipídeos. Determinou-se, quantitativamente e qualitativamente, a composição dos carotenóides, óleos essenciais e triacilglicerídios, em frutos do pequi; de diferentes regiões do Bioma Cerrado, abrangendo os estados do Maranhão, Minas Gerais e Tocantins. Verificou-se, ainda, através de análise multivariada, análise das componentes principais (ACP) e análise hierárquica por agrupamento (AHA), reconhecimento de padrões para classificação dessas amostras segundo essas características químicas. A determinação dos carotenóides com atividade provitamina A (CPVA), bem como dos demais carotenóides, da polpa do pequi, foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), acoplada a um detector de arranjo de diodos (DAD). Os CPVA encontrados nas 18 populações amostradas foram β -criptoxantina e β -caroteno. Foi observada elevada variação nas concentrações de CPVA(s), destacando-se a grande diferença apresentada entre as populações de Grajaú-MA, localidade Gato Preto, ($0,63 \mu\text{g g}^{-1}$) que apresentou índices quase nulos, e Januária-MG ($255 \mu\text{g g}^{-1}$) que se sobressaiu entre as demais amostras. A análise multivariada, ACP e AHA, possibilitaram agrupar as 18 amostras de pequi, através do teor decrescente de carotenóides com atividade provitamina A. Ainda, se evidenciou um grupo de amostras (Januária, Japonvar, Arinos, Salinas e Montes Claros), as quais se apresentaram superiores, quanto ao teor de

carotenóides. Afora β -criptoxantina e β -caroteno, os demais carotenóides identificados na polpa do *C. brasiliense* foram: neoxantina, violaxantina, luteína e zeaxantina; sendo neoxantina e β -caroteno, os componentes majoritários. Além de fonte de CPVA, o pequi pode, ainda, ser indicado como fonte de xantofilas, zeaxantina-luteína, consideradas quimiopreventivas de doenças oftálmicas como catarata e DMRI (degeneração macular relacionada à idade). Realizou-se análises dos óleos essenciais da polpa do *C. brasiliense*, após extração por hidrodestilação, empregando-se cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). O teor médio de óleo essencial foi em torno de 0,5%; entretanto, o Município Norte Mineiro de Januária destacou-se dos demais, apresentando 1,2%. Os menores valores apresentados foram dos Municípios do Tocantins, que apresentaram um teor médio de 0,2%. De maneira geral, os constituintes químicos dos óleos essenciais do pequi identificados foram ésteres e β -ocimeno. As substâncias majoritárias encontradas foram: hexanoato de etila (MA e MG); hexanoato de isopropila e 2-metilbutanoato de isopentila (TO). Os ésteres etílicos de cadeia curta conferem, aos frutos oriundos dos Estados de Minas Gerais e Maranhão, um sabor e aroma doce, frutado-floral, intensificado pelo aroma intenso do monoterpeneo β -ocimeno. No entanto, os ésteres de cadeia mais longa, presentes nas amostras do Estado do Tocantins, aos quais se atribuem notas metálicas, sugerem que estes pequis apresentam aromas e sabores menos frutados. Pela análise multivariada (PCA e AHA) foi possível classificar os pequis de acordo com seu local de origem; confirmando que a composição de óleos essenciais sofre influências geográficas, ou seja, edafoclimáticas e/ou genéticas. Adicionalmente, para a determinação dos triacilglicerídios da polpa e amêndoa do pequi realizou-se a extração (aparelho tipo Soxtec/hexano como solvente), derivatização (obtenção de ésteres metílicos) e análise cromatográfica CG-EM. Os teores médios de TAG, na polpa (53,7%) e na amêndoa (49,0%), confirmaram ser o pequi uma espécie oleaginosa. Os ácidos graxos majoritários, em torno de 98%, foram o ácido palmítico e ácido oléico. Essa composição e a ausência de ácidos graxos livres adéquam o emprego desses óleos para uso alimentício, entre outras potencialidades. De acordo com a ANOVA, as populações oriundas do Estado do Maranhão destacaram-se quanto ao teor de TAG na polpa do pequi, juntamente com o Município

mineiro de Januária. O estudo quimiométrico, através das análises multivariadas ACP e AHA, classificaram as amostras de acordo com a razão entre o teor de ácidos graxos saturados e insaturados (TAGS/TAGI), não sendo possível separá-las segundo a localização geográfica.

ABSTRACT

GEÓCZE, Katalin Carrara, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, august 2011. **Exploratory Analysis of Carotenoids, Essential Oils and Triacylglycerides of Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) from Brazilian Districts Located in the Cerrado Biome.** Adviser: Cláudio Ferreira Lima. Co-advisers: Luiz Claudio de Almeida Barbosa and Antônio Jacinto Demuner.

The *Caryocar brasiliense* Camb. is an arboreal species, typical of the Brazilian cerrado biome. It produces a fruit widely used regionally. Its yellow pulp, with intense flavor, is considered an excellent source of carotenoids and, also, a high content of lipids. It was determined, quantitatively and qualitatively, the composition of carotenoids, essential oils and triacylglycerides, on samples of pequi on different regions of the Cerrado biome, covering the states of Maranhão, Tocantins and Minas Gerais. It is also, through multivariate analysis, Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Cluster Analysis (HCA), the samples were classified according to these chemical characteristics. The determination of provitamin A carotenoids (PVAC), as well as other carotenoids from the pulp of *C. brasiliense*, was performed by high performance liquid chromatography coupled to a diode array detector (HPLC- DAD). The PVAC found in 18 populations sampled were β -cryptoxanthin and β -carotene. It was observed high variation in concentrations of PVAC, especially given the large difference between the populations of Grajaú-MA (0.63 g g^{-1}) and Januária-MG (255 mg g^{-1}). The multivariate analysis, PCA and HA, organized the 18 pequi samples by the decreasing content of provitamin A carotenoids. Moreover, it showed a group of samples (Januária, Japonvar, Arinos, Salinas and Montes Claros) with higher levels of carotenoids. In addition to β -cryptoxanthin and β -carotene, other carotenoids identified in the *C. brasiliense* pulp were neoxantina, violaxantina, lutein and zeaxanthin; the major constituents from this group are: neoxantina and β -carotene. In addition to being a source of PVAC, the pequi may also be indicated as a source of xanthophylls: lutein and

zeaxanthin. The analysis of essential oils from the pulp of *C. brasiliense* was carried out after extraction by hydrodistillation, using gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). The average content of essential oil was around 0.5%, however the Northern Minas Gerais district of Januária stood out from the others, at 1.2%. The lowest values were the districts from Tocantins, which showed an average content of 0.2%. In general, the chemical constituents of pequi essential oils are esters and β -ocimene. The majority of substances are: ethyl hexanoate (MA and MG), isopropyl hexanoate and isopentyl 2-methylbutanoate (TO). The ethyl esters of short chain confer the fruits from the States of Minas Gerais and Maranhão, a sweet flavor, a flowery-fruity, intense aroma enhanced by the monoterpene β -ocimene. However, the longer chain esters; present in the samples of the State of Tocantins, to which are attributed metallic notes; suggest that they have less fruity flavors. On multivariate analysis (PCA and HCA) it was possible to classify the pequi according to their place of origin, confirming that the composition of essential oils is influenced by geography and/or genetic factors. Additionally, it was made extraction (Soxtec/hexane), derivatization (methyl esters) and chromatographic analysis (GC-MS) for the determination of triacylglycerides (TAG) from the pequi's pulp and almond. The average levels of TAG, from the pulp (53.7%) and almond (49.0%), confirmed the *C. brasiliense* to be an oilseed species. The majority of fatty acids, about 98%, were palmitic acid and oleic acid. This composition and the absence of free fatty acids adequate these oils for use in food, among other capabilities. In According to ANOVA, the populations from the State of Maranhão stood out on the content of TAG in the pequi's pulp, together with the Januária Districts (Minas Gerais). The chemometric study, by multivariate analysis (ACP and HCA), classified the samples according to the ratio between the content of saturated and unsaturated fatty acids (TAGS/TAGI), as it is not possible to separate them according to geographical location.

INTRODUÇÃO GERAL

O Cerrado brasileiro é a maior formação de savana neotropical na América e o segundo maior ecossistema do Brasil, que se estende por 200 milhões de hectares. Ocupa cerca de 20% do território nacional, possuindo uma grande diversidade de flora e fauna (RATTER *et al.*, 1997; AGUIAR & CAMARGO, 2004; BATLLE-BAYER *et al.*, 2010). Destaca-se o pequi, uma das espécies mais representativas desse ecossistema (ARÉVALO-PINEDO *et al.*, 2010). Sua ocorrência abrange todo o cerrado brasileiro; com distribuição nos Estados da Bahia, Ceará, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Piauí, Rio de Janeiro, São Paulo e Tocantins (ALMEIDA *et al.*, 1998).

O pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) é amplamente utilizado pela população dos cerrados, devido ao seu valor alimentício, medicinal, melífero, ornamental, oleaginoso e tanífero (MARQUES *et al.*, 2002). A palavra pequi tem sua origem no tupi (*py* significa casca e *qui* corresponde a espinho), originando “casca espinhosa”, possivelmente devido ao caroço do fruto ser revestido por finos espinhos (ALMEIDA & SILVA, 1994; SILVA & MEDEIROS FILHO, 2006).

Devido à importância comercial, gastronômica e potencialidades agroindustriais da espécie (ASCARI *et al.*, 2010), nas regiões produtoras, várias pesquisas têm sido empreendidas enfatizando o valor nutricional e nutracêutico dessa frutífera (RAMOS *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2007; VERA *et al.*, 2007; DAMIANI *et al.*, 2008; ROESLER *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2009; GONÇALVES *et al.*, 2011). Nesses estudos, os frutos do pequizeiro são identificados como altamente calóricos; ricos em lipídeos, proteínas, carboidratos, fibras, cinzas, vitamina C e; ainda, destacados pelo elevado teor de carotenóides. Além da coloração amarelada, típica de sua polpa, a mesma apresenta sabor e aroma, pungentes e característicos. Para tal, alguns estudos

têm sido realizados, objetivando a elucidação dos constituintes químicos de seus óleos essenciais (MAIA *et al.*, 2001; DAMIANI *et al.*, 2009).

Entretanto, se tem cada vez mais reportado variações da composição química de frutas e hortaliças, de uma mesma espécie vegetal, no que diz respeito aos carotenóides, óleos essenciais, óleos fixos e demais metabólitos secundários (SHEWFELT, 1990; HUBER *et al.*, 2005; BAKKALI *et al.*, 2008; RODRIGUEZ-AMAYA *et al.*, 2008; BURLINGAME *et al.*, 2009; MORETI *et al.*, 2010). Essas diferenças são, geralmente, associadas a fatores como: diferenças genotípicas (SINGH *et al.*, 2007; DAVEY *et al.*, 2009); sazonalidade (MIRDEHGHAN & RAHEMI, 2007); formas de cultivo (ROUPHAEL *et al.*, 2010); variações quanto ao clima e solo (ASSUNÇÃO & MERCADANTE, 2003); estágio de maturação (MSAADA *et al.*, 2009; WANNES *et al.*, 2009); tipo de armazenamento e processamento (RICO *et al.*, 2007); entre outros.

Há uma necessidade de dados quantitativos e qualitativos quanto ao teor de nutrientes e/ou nutracêuticos de frutas e hortaliças. Essas informações não só contribuem para o entendimento da função desses fitoquímicos, como podem auxiliar programas de melhoramento de espécies, a fim de desenvolver novas variedades com elevados teores dessas substâncias (SINGH *et al.*, 2007). Adicionalmente, esforços e recursos são necessários para analisar e disseminar dados sobre a composição química de alimentos silvestres, como por exemplo, o pequi (*C. brasiliense*), subutilizados e menos apreciados na biodiversidade alimentar, uma vez que estes podem se apresentar superiores, no que diz respeito à qualidade nutricional. A disponibilidade desses dados, também, ajudará a promoverem espécies e variedades regionais, valorizando e preservando os ecossistemas que os produzem (BURLINGAME *et al.*, 2009; RODRÍGUEZ-BURRUEZO *et al.*, 2011).

O estudo quimiométrico, através de análises multivariadas; em particular, a análise das componentes principais (ACP) e a análise hierárquica por agrupamento (AHA); é uma ferramenta metodológica que possibilita a formação de grupos classificatórios de amostras, em estudo, de acordo com suas semelhanças químicas (CORREIA & FERREIRA, 2007; ABDI & WILLIAMS, 2010).

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivos:

- Estudar, quantitativamente e qualitativamente, a composição química dos carotenóides, óleos essenciais e triacilglicerídios da polpa do pequi, em diferentes Municípios do Bioma Cerrado, abrangendo os Estados do Maranhão, Minas Gerais e Tocantins.
- Verificar pelo emprego de análise multivariada, o reconhecimento de padrões classificadores dessas amostras, segundo suas características químicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDI, H. & WILLIAMS, L. J. Principal component analysis. **John Wiley & Sons, Inc.**, v. 2, p. 433–459, 2010.

AGUIAR, L. M. S. & CAMARGO, A. J. A. **Cerrado**: ecologia e caracterização. Planaltina: EMBRAPA–CPAC, 2004.

ALMEIDA, S. P. & SILVA, J. A. **Piqui e Buriti**: importância alimentar para a população dos cerrados. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1994. 38p.

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado**: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464p.

ASCARI, J.; TAKAHASHI, J. A.; BOAVENTURA, M. A. D. Phytochemical and biological investigations of *Caryocar brasiliense* Camb.. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 9, n.1, p. 20–29, 2010.

ASSUNÇÃO, R. B. & MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and ascorbic acid from cashew Apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. **Food Chemistry**, v. 81, p. 495–502, 2003.

ARÉVALO-PINEDO, A.; MACIEL, V. B. V.; CARVALHO, K. M.; COELHO, A. F. S.; GIRALDO-ZUÑIGA, A.D.; ARÉVALO, Z. D. S.; ALVIM, T. C. Processamento e estudo da estabilidade de pasta de pequi (*Caryocar brasiliense*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 664–668, 2010.

BATLLE-BAYER, L.; BATJES, N. H.; BINDRABAN, P. S. Changes in organic carbon stocks upon land use conversion in the Brazilian Cerrado: A review. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 137, p. 47–58, 2010.

BURLINGAME, B.; CHARRONDIERE, R.; MOUILLE, B. Food composition is fundamental to the cross-cutting initiative on biodiversity for food and nutrition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, p. 361–365, 2009.

CORREIA, P. R. M. & FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando Procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 481–487, 2007.

DAMIANI, C.; VILASBOAS, E.V.B.; FERRI, P.H.; PINTO, D.M.; RODRIGUES, L. J. Volatile compounds profile of fresh-cut pequi fruit stored under different temperatures. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 435–439, 2009.

DAMIANI, C.; VILASBOAS, E. V. B.; PINTO, D. M.; RODRIGUES, L. J. Influência de diferentes temperaturas na manutenção da Qualidade de pequi minimamente processado. **Ciência e Agrotécologia**, v. 32, n. 1, p. 203–212, 2008.

DAVEY, M. W. A; VAN DEN BERGH I.; MARKHAM, B. R.; SWENNEN, R.; KEULEMANS, J. Genetic variability in Musa fruit provitamin A carotenoids, lutein and mineral micronutrient contents. **Food Chemistry**, v.115, p.806–813, 2009.

GONÇALVES, G. A. S.; VILAS BOAS, E. V. B.; RESENDE, J. V.; MACHADO, A. L. L.; VILASBOAS, B. M. Qualidade dos frutos do pequi submetidos a diferentes tempos de cozimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 2, p. 377–385, 2011.

HUBER, L. S.; HOFFMANN-RIBANI, R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Quantitative variation in Brazilian vegetable sources of flavonols and flavones. **Phytochemistry**, v. 66, p. 1427–1439, 2005.

LIMA, A.; SILVA, A. M. O.; TRINDADE, R. A.; TORRES, R. P.; MANCINI-FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695–698, 2007.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, M. H. L. Aroma volatiles of pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 574– 576, 2008.

MARQUES, M. C. S.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; GAVILANES, M. L.; SOUZA, J. A.; PEREIRA, N. E.; NEGRÃO, I. O. Efeito fungitóxico dos extratos de *Caryocar brasiliense* Camb. sobre os fungos *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum*. **Ciência e Agrotecnologia**, Edição Especial, p.1410–1419, 2002.

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

MORETTI, C. L.; MATTOS, L. M.; CALBO, A. G.; SARGENT, S. A. Climate changes and potential impacts on postharvest quality of fruit and vegetable crops: a review. **Food Research International**, v. 43, p. 1824–1832, 2010.

MSAADA, K.; HOSNI, K.; TAARIT, M. B.; CHAHED, T.; HAMMAMI, M.; MARZOUK, B. Changes in fatty acid composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruit during maturation. **Industrial Crops and Products**, v. 29, p. 269–274, 2009.

OLIVEIRA, M. N. S. de; GUSMÃO, E.; LOPES, P. S. N.; SIMÕES, M. O. M.; RIBEIRO, L. M.; DIAS, B. A. S. Estádio de maturação dos frutos e fatores relacionados aos aspectos nutritivos e de textura da polpa de pequi (*Caryocar brasiliensis* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 380–386, 2006.

RAMOS, M. I. L.; UMAKI, M. C. S.; HIANE, P. A.; RAMOS FILHO, M. M. Efeito do cozimento convencional sobre os carotenóides provitamínicos “A” da polpa do piqui (*Caryocar brasiliense* Camb). **Boletim CEPPA**, v. 19, n. 1, p. 23–32, 2001.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian Cerrado Vegetation and Threats to its Biodiversity. **Annals of Botany**, v. 80, p. 223–230, 1997.

RICO, D.; MARTÍN-DIANA, A. B. ; BARAT, J. M.; BARRY-RYAN, C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, p. 373–386, 2007.

RODRIGUES, L. J.; VILAS BOAS, E. V. B.; PICCOLI, R. H.; PAULA, N. R. F.; PINTO, D. M.; VILAS BOAS, B. Efeito do tipo de corte e sanificantes no amaciamento de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) minimamente processado. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1793–1799, 2007.

RODRIGUEZ-AMAYA D. B; KIMURA, M.; GODOY, H. T.; AMAYA-FARFAN, J. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 445–463, 2008.

RODRÍGUEZ-BURRUEZO, A.; PROHENS, J.; FITA, A. M. Breeding strategies for improving the performance and fruit quality of the pepino (*Solanum muricatum*): A model for the enhancement of underutilized exotic fruits. **Food Research International**, v. 44, p. 1927–1935, 2011.

ROESLER, R.; CATHARINO, R. R.; MALTA, L. G.; EBERLIN, M. N.; PASTORE, G. Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, v.110, p. 711–717, 2008.

ROUPHAEL, Y.; SCHWARZ, D.; KRUMBEIN, A.; COLLA, G. Impact of grafting on product quality of fruit vegetables. **Scientia Horticulturae**, v. 127, p. 172–179, 2010.

SHEWFELT, R. L. Sources of variation in the nutrient content of agricultural commodities from the farm to the consumer. **Journal of Food Quality**, v.13, n. 1, p. 37–54, 1990.

SILVA, M. A. P. & MEDEIROS FILHO, S. Morfologia de fruto, semente e plântula de piqui (*Caryocar coriaceum* Wittm.). **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.3, p.320–325, 2006.

SILVA, S. M.; BRAIT, J. D. A.; FARIA, F. P.; SILVA, S. M.; OLIVEIRA, S. L.; BRAGA, P. F.; SILVA, F. M. S. M. Chemical characteristics of pequi fruits (*Caryocar brasiliense* Camb.) native of three municipalities in the State of Goiás – Brazil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, p. 771–777, 2009.

SINGH, J.; UPADHYAY, A. K.; PRASAD, K.; BAHADUR, A.; MATHURA RAIJAGDISH SINGH A.K. UPADHYAY, PRASAD, K.; BAHADUR, A.; RAI M. Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in brassica vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 106–112, 2007.

SOUZA E. C.; VILAS BOAS, E. V. B.; VILAS BOAS, B. M.; RODRIGUES, L. J.; PAULA, N. R. F. Qualidade e vida útil de pequi minimamente processado armazenado sob atmosfera modificada. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1811–1817, 2007.

VERA, R.; SOUZA, E. R. B.; FERNANDES, E. P.; NAVES, R. V.; SOARES JÚNIOR, M. S.; CALIARI, M.; XIMENES, P. A. Caracterização física e química de frutos do pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) oriundos de duas regiões no Estado de Goiás, Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 2, p. 93–99, 2007.

WANNES, W. A.; MHAMDI, B.; MARZOUK, B. Variations in essential oil and fatty acid composition during *Myrtus communis* var. *italica* fruit maturation. **Food Chemistry**, v. 112, p. 621–626, 2009.

1. CAROTENÓIDES DO PEQUI

1.1. INTRODUÇÃO

O pequi, além de outras características químicas relevantes, é um fruto considerado excelente fonte de carotenóides. Essa afirmação parece ser um consenso entre os consumidores desse fruto (RIBEIRO, 2000), como também tem sido citada em algumas fontes da literatura científica (BRANDÃO *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2007; ALVES *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2008).

O interesse dos pesquisadores pelos carotenóides vem crescendo consideravelmente, por estas substâncias estarem estreitamente relacionadas à prevenção e/ou proteção contra graves enfermidades, tais como: câncer, doenças cardíacas e oftálmicas, entre outras. Este fato, de alguma forma, está relacionado às prováveis propriedades antioxidantes apresentadas pelos carotenóides (OLIVER & PALOU, 2000; FRASER & BRAMLEY, 2004; KRINSKY & JOHNSON, 2005; MELÉNDEZ-MARTINEZ *et al.*, 2007b; DIAS *et al.*, 2009).

Os carotenóides são uma classe de pigmentos naturais, geralmente produzidos por organismos fotossintetizantes, podendo ser encontrados em várias frutas e hortaliças (SASS-KISS *et al.*, 2005; STAHL & SIES, 2005; O'CONNELL *et al.*, 2007). Alguns trabalhos têm relatado diferenças, qualitativas e quantitativas, quanto ao teor de carotenóides com atividade provitamina A (CPVA) de frutas de uma mesma espécie, quando essas são cultivadas em diferentes regiões do Brasil. Podendo-se citar, como exemplo: estudos com a manga, *Mangifera indica* L. (MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA, 1998); o mamão, *Carica Papaya* L. (KIMURA *et al.*, 1991); o caju, *Anacardium occidentale* L. (ASSUNÇÃO & MERCADANTE, 2003); a nêspera, *Eriobotrya japonica* Lindl. (FARIA *et al.*, 2009); entre outros.

A variabilidade no teor de carotenóides em espécies vegetais está relacionada, algumas vezes, com diferenças genotípicas (ROSSO & MERCADANTE, 2005; CARDOSO *et al.*, 2009; DAVEY *et al.*, 2009). Essas informações podem ser utilizadas em programas de seleção de germoplasmas e desenvolvimento de linhagens com quimiótipos/genótipos superiores, no que se refere aos teores mais elevados de carotenóides, principalmente com atividade provitamina A.

O desenvolvimento do presente trabalho teve como objetivos:

- Identificar os carotenóides, presentes na polpa do pequi.
- Determinar, quantitativamente e qualitativamente, a composição dos carotenóides com atividade provitamina A, na polpa de pequi (*Caryocar brasiliense*), em amostras coletadas em 18 municípios situados em diferentes regiões do Bioma Cerrado, abrangendo os estados do Maranhão, Minas Gerais e Tocantins.
- Verificar, através de análise multivariada, reconhecimento de padrões classificadores dessas amostras, segundo os teores de CPVA.

1.2. REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1. O PEQUI: *Caryocar brasiliense* Camb.

1.2.1.1. Aspectos Botânicos e Agronômicos

O enquadramento taxonômico do pequi é apresentado na Tabela 1.1.

A família Caryocaraceae possui distribuição neotropical, incluindo dois gêneros e 25 espécies. No Brasil ocorrem os dois gêneros e 13 espécies: dez de *Caryocar* e três de *Anthodiscus*. As espécies nativas de *Anthodiscus* ocorrem na Amazônia e na Mata Atlântica do Sul da Bahia, sendo *A. amazonicus* a espécie nativa mais amplamente distribuída. Embora a maioria das Caryocaraceae seja proveniente da Região Amazônica, o pequizeiro (*C. brasiliense*) é nativo dos cerrados e considerada uma espécie característica deste tipo de vegetação (SOUZA & LORENZI, 2005).

TABELA 1.1. Enquadramento taxonômico do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)

DIVISÃO	Magnoliophyta
CLASSE	Magnoliopsida (Dicotyledonae)
ORDEM	Theales (Guttiferales)
FAMÍLIA	Caryocaraceae
GÊNERO	<i>Caryocar</i>
ESPÉCIE	<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.

CRONQUIST (1988) e SILVA *et al.* (2001).

Botanicamente, o *C. brasiliense* se caracteriza como uma planta arbórea, frondosa, de 6 a 8 m de altura por 6 a 8 m de diâmetro de copa; porém, sua altura pode superar 10 m. Produz 500 a 2.000 frutos por planta (SILVA *et al.*, 2001). Seu tronco, com 2 m de circunferência, é robusto e tortuoso, de casca espessa, cinza escura, fendida; ramos grossos, os superiores angulosos, densamente pilosos. Folhas opostas, trifoliadas, de folíolos ovalados, pilosos, com as bordas recortadas em dentes arredondados.

As flores são vistosas, em cachos, de cor branco-creme, cálice partido, cinco a seis pétalas obovadas, numerosos e longos estames, estilete tetra-partido (FERRI, 1969; PRANCE, 1990).

O *C. brasiliense* floresce no período seco, agosto a novembro e produz frutos durante a temporada de chuvas, janeiro a março, embora possam ser encontrados frutos em dezembro e abril (ARAÚJO, 1995; LEITE *et al.*, 2006; PROENÇA *et al.*, 2006; FAGUNDES *et al.*, 2007; VILELA *et al.*, 2008).

O fruto do pequi é uma drupa globosa verde, de tamanho variado, cuja parte interna é uma polpa que, varia sua coloração de amarelo intenso a pálido, recobrando as saliências espinhosas (FERRI, 1969; BRANDÃO *et al.*, 2002). Podem conter, em seu interior, de um a cinco putâmens, também denominados pirênios (ALMEIDA *et al.*, 1998). Os frutos do pequi devem ser coletados ao chão, logo que amadurecem e caem das árvores, quando são considerados maduros (OLIVEIRA *et al.*, 2006). O detalhamento das partes que formam o fruto do pequi é apresentado na Tabela 1.2.

TABELA 1.2. Constituição do fruto do *Caryocar brasiliense*

PARTES DO FRUTO	SUBDIVISÕES	DESCRIÇÃO
CASCA	Exocarpo	Fino e de coloração verde.
	Mesocarpo Externo	Coriáceo e carnoso, de cor branco-creme ou amarelo claro.
PIRÊNIOS, PUTÂMENS (CAROÇOS)	Mesocarpo Interno	Polpa comestível amarela e carnosa.
	Endocarpo	Amêndoa, semente, ou castanha envolvida por uma camada de espinhos.

ALMEIDA *et al.* (1998); LOPES *et al.* (2003); VIEIRA *et al.* (2005); OLIVEIRA *et al.* (2006); OLIVEIRA *et al.* (2008).

A Figura 1.1 ilustra o pequi, *Caryocar brasiliense* Camb. No detalhe, lado esquerdo da ilustração, tem-se suas folhas (“A”), flores (“B”) e frutos (“C”). Já, à direita, destacam-se os pirênios junto à drupa (“D”); os pirênios cortados transversalmente, mostrando a amêndoa (“E”) e; finalmente, um prato típico da gastronomia regional – o arroz com pequi (“F”).



FIGURA 1.1. Ilustração do Pequizeiro (*Caryocar brasiliense*).

1.2.1.2. Importância da Espécie – Considerações

O pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) é uma espécie típica do Cerrado, que se destaca pelo alto potencial econômico (ARAÚJO, 1995; LOPES *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2006; VILELA *et al.*, 2008); tornando-se a árvore símbolo da resistência contra a destruição desse bioma, pela cultura extensiva de grãos (SILVA, 2006).

Dentre as frutíferas do Cerrado, o pequizeiro é uma das mais importantes, podendo ser explorado de forma sustentável e aproveitado de diferentes formas pelas populações locais (SANTANA & NAVES, 2003; SOUZA *et al.*, 2007). É considerado por muitos como o “Rei do Cerrado”. O extrativismo de seus frutos representa uma importante atividade econômica, geradora de emprego e renda (RIBEIRO, 2000). A comercialização destes frutos ocorre, geralmente, às margens das rodovias e nas principais cidades; além dos mesmos servirem como produto alimentício básico, em épocas de safra para as populações carentes do meio rural (ARAÚJO, 1995).

CHEVÉS POZO (1997) relatou que no norte de Minas, durante a safra do pequi – em geral dois meses do verão – a colheita e a comercialização

mobilizam 50% da população rural e representam 54,7% da renda anual desses trabalhadores. A quantia obtida com a venda do pequi, além de contribuir com o orçamento familiar, serve para cobrir custos relacionados com as lavouras e representa um considerável reforço na economia do agricultor.

Embora o pequi seja encontrado em todos os estados constituintes da região de cerrado; em Goiás, é reconhecido como um dos símbolos da “goianidade” (NOGUEIRA, 2008). Adicionalmente, em um concurso realizado pelo Instituto Estadual de Floresta de Minas Gerais, o pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) foi eleito árvore símbolo do Estado (BRANDÃO *et al.*, 2002).

Entretanto, a importância social e econômica apresentadas pelo pequi, somadas à forma de exploração extrativista de seus frutos, têm desencadeado uma “erosão genética” nesta espécie. Pois, em função dos ótimos preços, a maioria dos frutos de alta qualidade, originados de genótipos superiores, é coletada, impedindo assim a regeneração natural. Além disso, a expansão agrícola e demográfica pode ocasionar a perda de material genético importante sem que tenha conhecimento científico sobre a utilização deste (MELO JÚNIOR *et al.*, 2004). Todavia, o corte e comercialização da madeira do pequizeiro são proibidos por lei, conforme previsto no artigo 16 da Portaria do IBAMA nº 113 de 29/12/1995 (BRASIL, 1996).

1.2.1.3. Valor Nutricional

Os frutos de *Caryocar brasiliense* Camb., polpa e amêndoa, apresentam alto valor energético como pode ser observado na Tabela 1.3.

De acordo com dados da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2006), a polpa do pequi, quando comparada à polpa de outras frutas e sua amêndoa, à de outras nozes e sementes, destacam-se pelos elevados teores de lipídeos e proteínas.

A polpa do fruto de pequi é rica em lipídios. Também se constitui em uma fonte importante de fibra alimentar e de proteínas, fornecendo cerca de 360 kcal/100 g de material, as quais correspondem a 18% das necessidades calóricas de um adulto com uma dieta de 2.000 kcal e 40% das necessidades de fibra alimentar. Os componentes majoritários da amêndoa de pequi são lipídios e proteínas, apresentando um baixo teor de umidade e um teor elevado de minerais, representado pelas cinzas (LIMA *et al.*, 2007).

TABELA 1.3. Composição centesimal (g 100 g⁻¹) da polpa e amêndoa do pequi*

Constituintes		Polpa	Amêndoa
Umidade (%)		41,50 ± 2,00	8,68 ± 0,08
Proteínas (g)		3,00 ± 0,13	25,27 ± 0,74
Lipídios (g)		33,40 ± 3,76	51,51 ± 0,35
Carboidratos** (g)		11,45	8,33
Fibra Alimentar (g)		10,02 ± 0,2	2,20 ± 0,1
Cinzas (g)		0,63 ± 0,01	4,01 ± 0,51
Valor	kcal	358,4	598,0
Energético***	kJ	1505,3	2511,6

LIMA *et al.* (2007).

* Valores expressos como média ± desvio-padrão (amostras em triplicata).

** O teor de carboidratos foi calculado pela diferença entre 100 e a soma das porcentagens de água, proteína, lipídeos, fibra alimentar e cinzas.

*** O valor energético foi estimado considerando-se os fatores de conversão de ATWATER de 4 kcal g⁻¹ de proteína, 4 kcal g⁻¹ de carboidrato e 9 kcal g⁻¹ de lipídio.

1.2.2. CAROTENÓIDES

1.2.2.1. Características Químicas

Os carotenóides são uma classe de produtos naturais, lipossolúveis, que ocorrem amplamente na natureza. São sintetizados por vegetais e por muitos microrganismos, sendo responsáveis pelas cores de muitas flores, frutas e sementes, com tons que variam do amarelo ao vermelho. As cores características de muitos pássaros, insetos e invertebrados marinhos devem-se, também, aos carotenóides; entretanto, a presença destes, em tecidos animais, têm origem na dieta (GOODWIN, 1980; MOULY *et al.*, 1999; FRASER & BRAMLEY, 2004).

A estrutura básica dos carotenóides é formada por duas unidades básicas de 20C (diterpenos), constituídos por quatro unidades isoprenóides (C₅H₈), encadeados do tipo “cabeça-cauda”. As duas estruturas diterpênicas condensam-se do tipo “cabeça-cabeça”, formando um tetraterpeno (C₄₀). São, ainda, dotados de um sistema com duplas ligações conjugadas (polieno), que

exercem influência sobre suas propriedades físico-químicas e bioquímicas (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007b). Derivam-se do licopeno, substância de cor vermelha característica, que pode sofrer variados tipos de modificações em sua molécula, tais como: hidrogenação, desidrogenação, ciclização, migração de dupla ligação, encurtamento ou extensão da cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de substituintes ou combinações de processos (FRASER & BRANLEY, 2004; RODRIGUEZ-AMAYA, 2006).

Os carotenóides podem ser cíclicos ou acíclicos e são divididos em duas classes: (i) carotenos ou carotenóides hidrocarbônicos, composto de apenas carbono e hidrogênio; (ii) xantofilas ou carotenóides oxigenados, que geralmente apresentam em seus anéis terminais os grupamentos epóxi, carbonila, hidroxila, entre outros (LESELLIER *et al.*, 1993; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007c; MOULY *et al.*, 1999). As estruturas de alguns carotenóides são apresentadas na Figura 1.2.

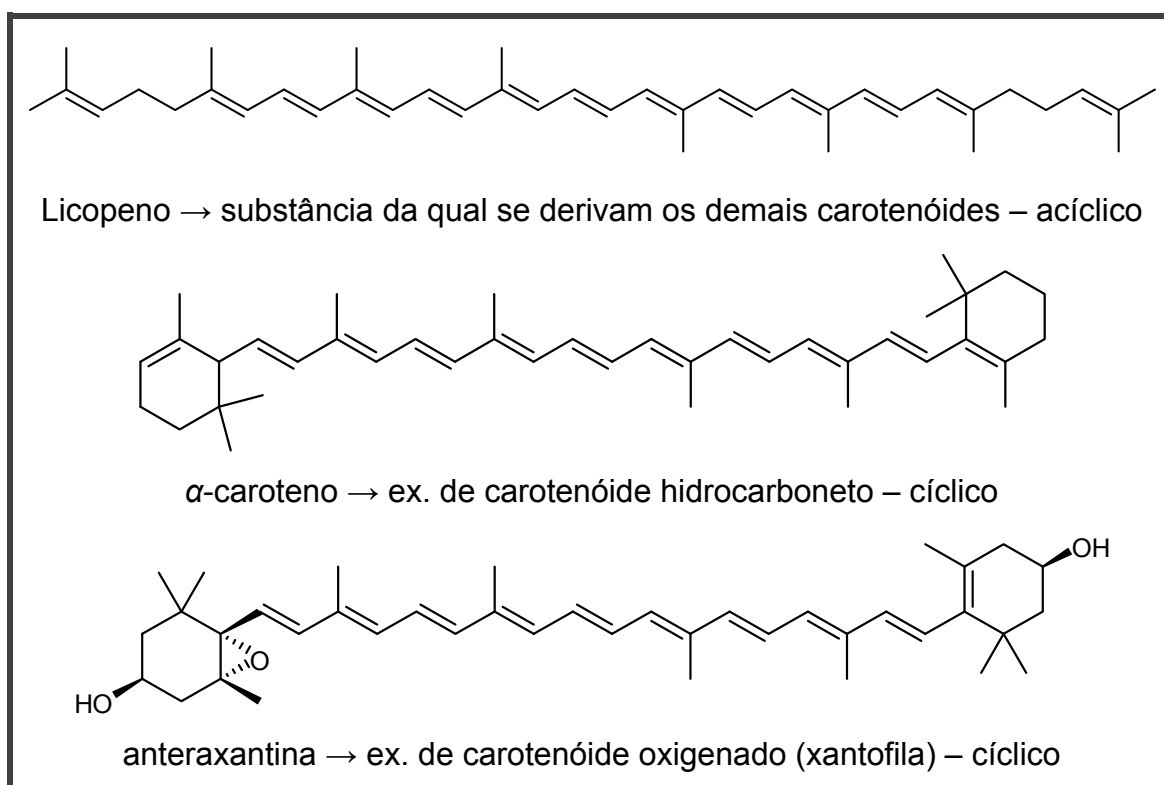


FIGURA 1.2. Exemplos de estruturas químicas de carotenóides.

1.2.2.2. Nomenclatura

Os carotenóides receberam seus nomes de acordo com a fonte de onde foram isolados pela primeira vez. Assim, o termo “caroteno” vem do nome científico da cenoura, *Daucus carota* L., enquanto que o pigmento violaxantina é uma xantofila e foi isolado, inicialmente, da flor amor-perfeito, *Viola tricolor* L. (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007b). Na atualidade se utiliza uma nomenclatura “semi-sistemática” que fornece informações estruturais (Tabela 1.4). Assim, consideram-se as duas metades da molécula de carotenóide e o composto é denominado como um derivado do caroteno correspondente, especificando os grupos terminais por letras gregas (Figura 1.3). As alterações nos níveis de hidrogenação e a presença de grupos substituintes são indicadas pelo uso de prefixos e sufixos (FRASER & BRANLEY, 2004; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007b).

TABELA 1.4. Exemplos de nomes semi-sistemáticos de alguns carotenóides

Nome comum	Nome semi-sistemático
anteraxantina	5,6-epoxi-5,6-diidro- β,β -caroteno-3,3'-diol
α -caroteno	β,ϵ -caroteno
licopeno	ψ,ψ -caroteno
neoxantina	5',6'-epoxi-6,7-dideidro-5,6,5',6'-tetraidro- β,β -caroteno-3,5,3'-triol
violaxantina	5,6,5',6'-diepoxi-5,6,5',6'-tetraidro- β,β -caroteno-3,3'-diol
luteína	β,ϵ -caroteno-3,3'-diol
zeaxantina	β,β -caroteno-3,3'-diol
β -criptoxantina	β,β -caroten-ol

RODRIGUEZ-AMAYA (2001) e MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.* (2007b).

1.2.2.3. Funções

Os carotenóides realizam processos fisiológicos essenciais de desenvolvimento das plantas e exercem, também, um papel importante na saúde e nutrição animal (FARRÉ *et al.*, 2010).

Nas plantas os carotenóides são produzidos nos cloroplastos e cromoplastos. Nos cloroplastos, cumprem uma série de funções vitais no processo da fotossíntese como a absorção de luz e, principalmente, proteção contra a fotooxidação. Entretanto, a síntese dos carotenóides nos cromoplastos

tem, ainda, a finalidade de atrair outros organismos, como insetos e herbívoros polinizadores a fim de promover a disseminação de pólen e sementes (BARTLEY & SCOLNIK, 1995; FARRÉ *et al.*, 2010; ZHU *et al.*, 2010).

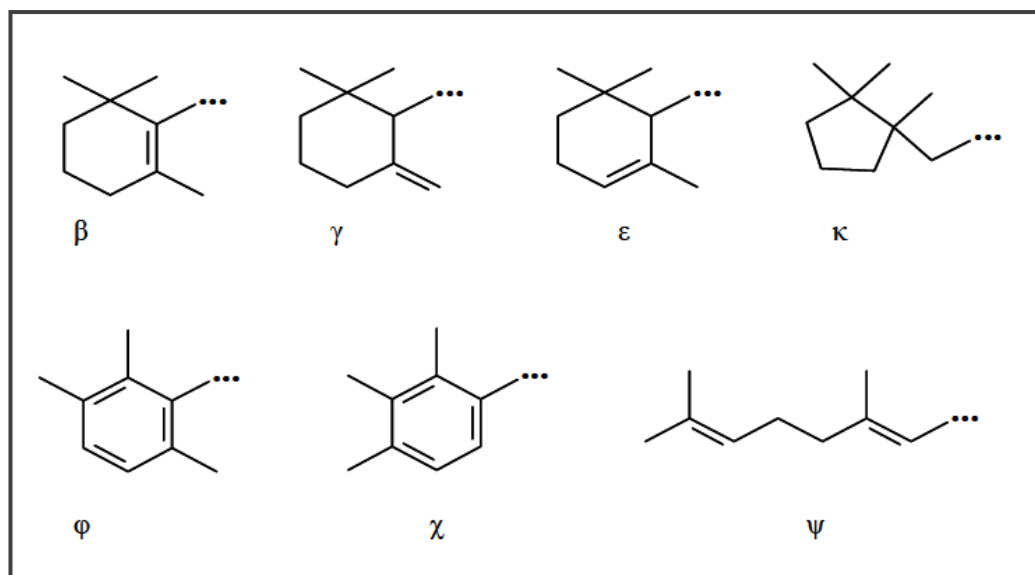


FIGURA 1.3. Grupos terminais presentes nas moléculas de carotenóides (MELÉNDEZ–MARTÍNEZ *et al.*, 2007b).

Dos mais de 600 tipos de carotenóides isolados e identificados, em torno de 10% podem ser metabolizados e convertidos em vitamina A, em uma variedade de espécies animais (OLSON, 1994; YEUM & RUSSELL, 2002). Entretanto, na nutrição humana, a atividade da vitamina A deriva de duas fontes: vitamina A pré-formada — ésteres de retinil (obtidos de alimentos de origem animal) e provitamina A — na qual as fontes são os carotenóides provitamínicos A, como β -caroteno, α -caroteno e β -criptoxantina, provenientes de alimentos vegetais. Para apresentar uma atividade provitamina A, a molécula do carotenóide deve ter pelo menos um anel β -ionona não-substituído. Deve, ainda, possuir o número e a posição, corretos, dos grupos metilas na cadeia do polieno. O β -caroteno é o mais potente dos precursores de vitamina A (com dois anéis β -ionona). Já β -criptoxantina e α -caroteno apresentam um único anel β -ionona (HARRISON, 2011). Pode-se citar, ainda, outros carotenóides com atividade provitamina A, tais como: γ -caroteno; os isômeros 9-*cis*, 13-*cis* e 15-*cis* do β -caroteno; citanoxantina; α -criptoxantina; equinenona; β -zeacaroteno; entre outros (BARUA, 2004).

Tanto os carotenóides que possuem atividade provitamina A, quanto os que não a possuem são encontrados nos tecidos humanos exercendo as mais variadas funções; podendo ser responsáveis, especificamente, por diferentes efeitos de promoção da saúde (YEUM & RUSSELL, 2002).

Deve-se mencionar que 90% dos carotenóides que compõe a dieta humana e, portanto, presentes nos tecidos do corpo são representados por β -caroteno, α -caroteno, licopeno, luteína e β -criptoxantina. As propriedades antioxidantes dos carotenóides têm sido sugeridas como sendo o principal processo pelo qual eles oferecem seus efeitos benéficos. Estudos recentes apontam também que os carotenóides podem mediar seus efeitos por outros mecanismos, tais como, regulação do crescimento e da comunicação celular, modulação da expressão gênica, estimuladores da resposta do sistema imunológico, entre outros. Adicionalmente, são atribuídas aos carotenóides ações quimiopreventivas, ou seja, atuam na prevenção de muitas doenças crônicas: síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA); enfermidades cardiovasculares, oftálmicas e carcinogênicas (BURRI, 1997; EDGE *et al.*, 1997; PALACE *et al.*, 1999; HUGUES, 2001; KRISTAL, 2004; TAPIERO *et al.*, 2004; KRINSKY & JOHNSON, 2005; STAHL & SIES, 2005; RAO & RAO, 2007).

1.2.2.4. Análise de Carotenóides

A análise dos carotenóides compreende uma série de etapas características, tais como, amostragem, extração, saponificação, análise cromatográfica e espectrofotométrica, identificação e quantificação (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007c).

A. Extração e Saponificação:

O sistema de ligações duplas conjugadas, características dos carotenóides, produz os principais problemas associados à manipulação destes que é a sua instabilidade, especialmente no que se referem à luz, ao oxigênio e ao calor. Qualquer um desses fatores pode gerar a degradação e/ou a transformação (isomerização, por exemplo) dos carotenóides presentes na amostra e, conseqüentemente, a mudança na composição desta. Alguns cuidados são necessários, tais como: uso de antioxidantes; condução dos

experimentos com pouca iluminação; emprego de evaporador rotativo ou de fluxo de nitrogênio gasoso para evaporação das amostras; armazenamento das amostras no escuro e em atmosfera de nitrogênio ou argônio, em torno de -20°C. O uso de antioxidantes é uma das estratégias mais comuns para evitar a oxidação durante a extração e tratamento de amostras, principalmente quando as amostras são saponificadas. O BHT (2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol) é o antioxidante mais utilizado, geralmente a uma concentração de 0,01 a 0,1% na solução extratora (OLIVER & PALOU, 2000).

Não há um procedimento padrão na extração de carotenóides devido à diversidade de amostras contendo estes compostos (folhas, flores, frutos, tecidos animais, microorganismos entre outros) e, também, à variedade de carotenóides que podem ser encontrados, nestas amostras. Diversos são os solventes empregados, sozinhos ou combinados, tais como: acetona, metanol, hexano, éter de petróleo, éter dietílico, tetraidrofurano, diclorometano, entre outros (QUIRÓS & COSTA, 2006).

Após a extração dos carotenóides, opcionalmente, a segunda etapa do protocolo de análises de determinação de carotenóides é a saponificação. Geralmente os carotenóides hidroxilados (xantofilas) presentes em frutas e hortaliças encontram-se esterificados aos ácidos graxos. Além disso, o grau de esterificação pode ser diferente em função do número de hidroxilas presentes nessas substâncias (OLIVER & PALOU, 2000). Adicionalmente, a saponificação é um meio eficaz de remover clorofilas e lipídios indesejáveis, que podem interferir com a separação cromatográfica e encurtar a vida útil da coluna utilizada em análises por CLAE. A saponificação tem por objetivo hidrolisar os carotenóides esterificados aos ácidos graxos, facilitando a separação cromatográfica, identificação e quantificação destes, uma vez que dessa forma ocorrerá a análise de carotenóides livres (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007c). No entanto, prolonga o tempo de análise, podendo provocar isomerização de carotenóides e a formação de produtos de degradação. A extensão da degradação depende das condições utilizadas, estando diretamente relacionada à concentração de álcalis e à temperatura em que ocorre a reação de saponificação (KIMURA *et al.*, 1990; RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). Normalmente, a saponificação é realizada em solução de KOH (aquosa, etanólica ou metanólica), sendo que a concentração pode variar de 10 a

60% (m/v). Após a saponificação, a amostra é extraída com éter etílico ou hexano, em seguida, o extrato é lavado várias vezes com água até que todo álcali (KOH) seja removido (OLIVER & PALOU, 2000).

B. Análise Cromatográfica:

Os métodos cromatográficos, cromatografia em coluna de vidro recheada (CCV) e cromatografia de camada delgada (CCD), foram originalmente utilizados para a análise de carotenóides (SCHOEFS, 2004). Historicamente, a maioria dos dados sobre carotenos, em tabelas de composição de alimentos, originou-se de análise espectrofotométrica em um comprimento de onda (450 nm), especificado e quantificado, pela comparação com padrões de β -caroteno; ou, ainda, após separação cromatográfica (CCV ou CCD), dos carotenóides presentes na amostra, posterior quantificação destes, também por espectrofotometria, nos comprimentos de máxima absorção correspondentes (SU *et al.*, 2002).

As cromatografias em coluna de vidro recheada e em camada delgada trazem como inconvenientes a necessidade de grandes quantidades de amostra e a dificuldade de recuperação dos carotenóides totais. Entretanto, com os avanços de outras metodologias cromatográficas, de melhor resolução e velocidade, essas técnicas quase não têm sido empregadas (TSAO & DENG, 2004). Contudo, a cromatografia em coluna de vidro recheada é ainda muito utilizada, para o isolamento de padrões a partir de matrizes ricas em determinado carotenóide, objetivando a posterior identificação e quantificação deste na amostra investigada (KIMURA & RODRIGUEZ-AMAYA, 2002).

Com o desenvolvimento da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), fase normal e fase reversa, várias metodologias foram descritas a fim de separar carotenos e xantofilas (QUIRÓS & COSTA, 2006).

A evolução de equipamentos para análise por CLAE é paralela à, de uso de *hardware* em laboratórios. Os atuais cromatógrafos para CLAE são mais compactos, precisos, automatizados e de fácil operação. A maioria dos cromatógrafos atuais tem um *software* especial para controlar, automaticamente, todos os parâmetros do sistema, obter cromatogramas e, ao mesmo tempo, possibilitar a integração de dados e cálculo dos resultados (OLIVER & PALOU, 2000).

Os detectores espectrofotométricos, que são usados para detectar carotenóides, têm demonstrado uma evolução semelhante ao dos cromatógrafos. O detector, anteriormente empregado era o ultravioleta-visível (UV-Vis). Na atualidade, sistemas de detecção mais sofisticados têm sido empregados, de forma generalizada, tais como o acoplamento de um detector de arranjo de diodos (DAD). O sistema DAD possibilita uma coleta contínua de dados durante a análise espectrofotométrica, possui alta sensibilidade e precisão, permitindo o emprego de qualquer comprimento de onda e a gravação de toda a gama do espectro (190 – 800 nm). Assim, na corrida cromatográfica dos extratos obtidos das amostras, cada um dos picos do cromatograma registrado pode ser monitorado, nos diversos comprimentos de onda, pelos seus respectivos espectros de absorção (OLIVER & PALOU, 2000; FURR, 2004; QUIRÓS & COSTA, 2006).

Os carotenóides possuem uma natureza hidrofóbica, portanto, as análises em colunas C18 (octadecil-sílica), fase reversa (FR), são as mais utilizadas (SCHOEFS, 2004). Colunas C30-FR são, particularmente, adequadas para uma melhor separação de isômeros *cis-trans* de carotenóides, devido à maximização das interações entre o analito e a fase estacionária, possibilitada pela similaridade de tamanho entre ambos (EMENHISER *et al.*, 1995; SASS-KISS *et al.*, 2005).

A fase móvel é geralmente composta de solventes orgânicos (SCHOEFS, 2004) e a eluição desta pode ser isocrática ou fazendo uso de gradientes (SU *et al.*, 2002).

C. Identificação e Quantificação:

O sistema de duplas conjugadas dos carotenóides constitui o grupamento cromóforo dos carotenóides e está diretamente ligado à absorção de luz e, conseqüentemente, à coloração da molécula; servindo como base para sua identificação e quantificação. O espectro UV-Visível é a primeira ferramenta de diagnóstico para a identificação de carotenóides. O comprimento de onda de absorção máxima (λ_{max}) e a forma do espectro (estrutura fina) são característicos do cromóforo. A maioria dos carotenóides absorvem luz em três comprimentos de onda máximos, resultando em três picos nos espectros. Quanto maior o número de duplas conjugadas, maiores serão os valores de

λ_{\max} . Pelo menos, sete ligações duplas, conjugadas, são necessárias para que um carotenóide apresente coloração perceptível, ou seja, na região do visível (OLIVER & PALOU, 2000; RODRIGUEZ-AMAYA, 2001; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007b).

Grupamentos carbonílicos, isolados, não alteram o espectro; entretanto, quando conjugados com a série de duplas ligações, estendem a cadeia cromófora. Isso resulta em uma alteração batocrômica (deslocamento para um maior comprimento de onda), e perda da estrutura fina do espectro; na medida em que o espectro, com três picos de absorção máxima, é substituído por uma única curva larga como, por exemplo, a equinenona (cor laranja) e a cantaxantina (vermelho-alaranjado). Ainda, a introdução de substituintes hidroxilas e metoxilas, presentes nas xantofilas, não afetam o cromóforo. Portanto, praticamente, não tem efeito sobre o espectro de absorção. Assim, os espectros de luteína, zeinoxantina e α -criptoxantina se assemelham ao do α -caroteno; enquanto que os espectros de β -criptoxantina e zeaxantina são similares ao do β -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Os espectros de absorção de carotenóides são, marcadamente, dependentes do solvente empregado. Para tal, informações referentes ao solvente ou mistura de solventes e, ainda, o tipo de eluição (isocrática ou gradiente) devem ser fornecidas na apresentação dos espectros, obtidos pelo detector de arranjo de diodos, pela análise CLAE (BRITTON, 1995).

Na atualidade, os espectros de absorção são, raramente, mostrados em artigos científicos. Então, para se dar uma idéia da estrutura espectral fina, a relação %III/II é algumas vezes apresentada (Figura 1.4). Essa relação é uma propriedade físico-química dos carotenóides, que consiste na relação entre a altura (amplitude) do pico de absorvância de maior comprimento de onda, designado III, e a altura do pico de absorvância de comprimento de onda intermediário (valor médio), designado II, tendo o mínimo entre os dois picos como linha de base, multiplicado por 100 (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

A quantificação de carotenóides por CLAE é realizada por meio de calibração interna ou externa, na qual as concentrações dos padrões são também determinadas, espectrofotometricamente, assumindo os coeficientes de absorção tabulados. Uma fonte constante de padrões de carotenóides é necessária. A precisão dos resultados analíticos é dependente da precisão das

concentrações das soluções padrões, utilizadas na construção das curvas analíticas. Infelizmente, apenas alguns padrões de carotenóides (por exemplo: α -caroteno, β -caroteno e licopeno) estão disponíveis, comercialmente, com custos mais acessíveis. Alguns carotenóides têm que ser isolados e purificados a partir de fontes naturais pelo analista. Isto pode ser feito pela cromatografia líquida em coluna de vidro recheada ou por acumulação de frações separadas por CLAE, em várias corridas. Ambos os métodos assumem que os coeficientes de absorção tabulados são precisos. Deve-se registrar que não há, ainda, padrões internos adequados, comercialmente disponíveis, com características químicas (propriedades espectrais) semelhantes à dos carotenóides para a quantificação destes (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

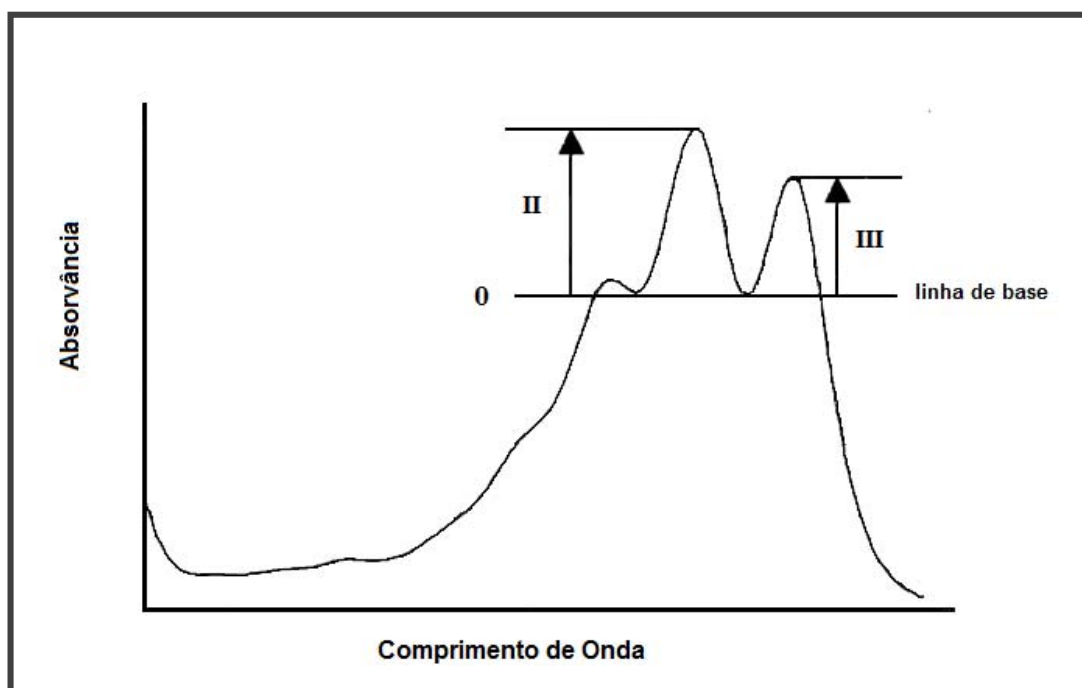


FIGURA 1.4. Cálculo de %III/II com indicação na estrutura espectral fina.
Onde: $\%III/II = III/II \times 100$ (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

1.2.3. CAROTENÓIDES NO PEQUI

RAMOS *et al.* (2001) identificaram e quantificaram os carotenóides do *Caryocar brasiliense*. Para tal, procederam à análise espectrofotométrica de cada substância isolada da polpa do pequi, crua e cozida, nos respectivos espectros de absorção UV-Visível. O isolamento dos carotenóides foi realizado

empregando-se cromatografia líquida em coluna de vidro, recheada com óxido de magnésio e celite. Os compostos identificados foram: β -caroteno, ζ -caroteno, criptoflavina, β -criptoxantina, anteraxantina, zeaxantina e mutatoxantina. Os respectivos teores de CPVA e de carotenóides totais foram: 115,16 e 231,09 $\mu\text{g g}^{-1}$ (polpa crua); 33,34 e 154,06 $\mu\text{g g}^{-1}$ (polpa cozida).

Entretanto, AZEVEDO-MELEIRO & RODRIGUEZ-AMAYA (2004) identificaram, na polpa de pequi, os seguintes carotenóides: violaxantina, luteína, zeaxantina, neoxantina, β -criptoxantina e β -caroteno. A estrutura desses compostos é mostrada na Figura 1.5. Para tal fizeram uso de instrumentação mais sofisticada como a cromatografia líquida de alta eficiência, acoplada ao detector de arranjo de diodos e ao espectrômetro de massas.

1.2.3. ESTUDO QUIMIOMÉTRICO – ANÁLISE MULTIVARIADA

A quimiometria é uma parte da química que utiliza métodos matemáticos, computacionais e estatísticos com o objetivo de definir ou selecionar as condições ótimas de medidas e de realizações de experimentos; como também de permitir a obtenção do máximo de informações, a partir da análise dos dados químicos (BRUNS & FAIGLE, 1985; HOPKE, 2003).

Embora os experimentos químicos envolvam um elevado número de variáveis, apenas pequena quantidade pode conter a maior parte das informações químicas, enquanto que as demais informações apresentam pouca contribuição. Essa redução do número de variáveis é representada por gráficos bi ou tridimensionais, e denominada de análise das componentes principais (ACP); sendo este um dos métodos mais empregados na extração e interpretação de informação de dados multivariados. Também é possível formar grupos entre as amostras, de acordo com suas similaridades químicas e com todas as variáveis disponíveis, e representá-las de maneira bidimensional em um dendrograma. Em geral, a análise de componentes principais (ACP) e hierárquica por agrupamento (AHA) são técnicas de estatística multivariada complementares, que apresentam um amplo campo de aplicação em análise de dados (MOITA NETO & MOITA, 1998).

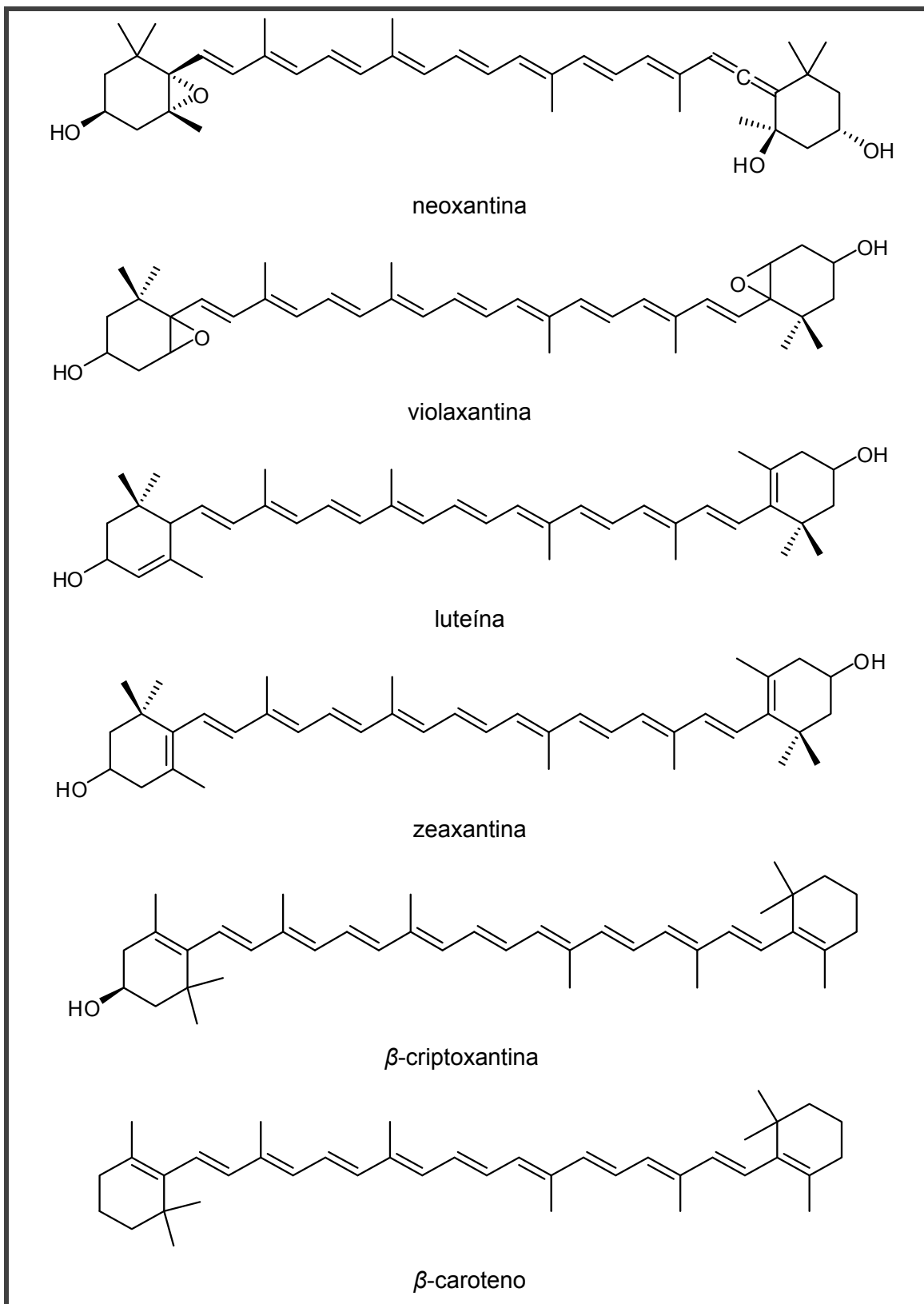


FIGURA 1.5. Estruturas químicas dos carotenóides presentes na polpa do pequi (AZEVEDO-MELEIRO & RODRIGUEZ-AMAYA 2004).

1.2.4.1. Matriz de Dados

Esses gráficos (ACP e AHA) são obtidos a partir de uma matriz, em que os objetos são dispostos em linhas e as variáveis em colunas. Exemplificando, os objetos da matriz podem ser constituídos de amostras e as variáveis constituídas de informações químicas respectivas para cada amostra analisada (MOITA NETO & MOITA, 1998).

Então, a matriz dos dados é constituída por n medidas de diferentes propriedades (variáveis) obtidas a partir de m amostras (objetos), gerando uma matriz de dados X formada por $m \times n$ elementos (m linhas correspondentes às amostras e n colunas correspondentes às variáveis (concentrações destas amostras, características físico-químicas, dados geográficos etc.) Assim, na matriz X (Figura 1.6), a j -ésima variável é representada por um vetor coluna, enquanto o i -ésimo objeto é representado como um vetor linha chamado vetor resposta e pode ser descrito como um ponto no espaço n dimensional. Portanto, a matriz pode ser ilustrada graficamente tanto no espaço das linhas como no espaço das colunas. O espaço das linhas é formado com linhas da matriz como eixos. Para n colunas, o espaço das linhas consiste em colocar em um gráfico n pontos (cada ponto correspondendo a uma coluna). A matriz no espaço das colunas é aquela em que as colunas formam os eixos, e as linhas, os pontos tridimensionais (MOITA NETO & MOITA, 1998).

$$X = \begin{pmatrix} x_{11} & x_{12} & \dots & x_{1j} & \dots & x_{1n} \\ x_{21} & x_{22} & : & : & : & : \\ : & : & : & : & : & : \\ x_{i1} & : & : & x_{ij} & : & : \\ : & : & : & : & : & : \\ x_{m1} & \dots & \dots & \dots & \dots & x_{mn} \end{pmatrix} \begin{matrix} \downarrow \text{objetos} \\ \\ \\ \\ \\ \end{matrix}$$

variáveis \rightarrow

FIGURA 1.6. Matriz X , constituída por m objetos e n variáveis.

1.2.4.2. Autoescalamento

Em geral, antes que o modelo seja desenvolvido, é necessário ajustar os dados originais devido às distorções causadas por escalas diferentes das diversas variáveis. Algumas apresentam valores absolutos, com ordem de grandeza muito superior à de outras variáveis. Com isso, o efeito daquelas de menor ordem de grandeza pode ser encoberto, ocorrendo perda de informação estatística e química. Para evitar isso, uma opção é fazer uma padronização dos dados para que cada variável tenha a mesma influência no estágio inicial dos cálculos. Uma das principais ferramentas para se resolver esse problema é denominada autoescalamento, através do qual a informação estatística dos dados originais é preservada, realizando uma transformação sobre o conjunto original dos dados de modo que cada variável apresente média zero e variância unitária. Esta transformação expressa cada observação como o número de desvios padrão da média. Então, os resultados obtidos para uma mesma variável (coluna) são subtraídos do valor médio (\bar{x}_j) e divididos pelo desvio-padrão do conjunto de resultados obtidos para essa variável (S_j). Esse cálculo é realizado para cada uma das amostras contidas no conjunto de dados original. A Equação 1.1 indica o cálculo matemático que se realiza para cada um dos elementos de interesse (variáveis) da matriz de dados (CORREIA & FERREIRA, 2007).

$$\text{Autoescalamento (ae)} \rightarrow x_{ij(ae)} = \frac{x_{ij} - \bar{x}_{ij}}{S_j}$$

EQUAÇÃO 1.1.

Resumidamente, o principal objetivo da padronização e do escalonamento dos dados originais é expressar cada observação em termos de variações, independente do tipo de dado estudado; assegurando que as influências relativas das diferentes variáveis sobre os cálculos sejam independentes das suas unidades, já que passam a ser expressas em unidades de desvio-padrão (WISE & GALLAGHER, 1996; ABDI & WILLIAMS, 2010).

1.2.4.3. Medidas de Similaridades

Para se estudar a similaridade entre os dados originais, cada objeto é ilustrado como um ponto no espaço n dimensional e, portanto, pode ser agrupado com outros próximos. Para isso, alguns parâmetros são utilizados para verificar a melhor associação, tais como: covariância e correlação; medidas da distância, podendo-se utilizar a distância Euclidiana (ABDI & WILLIAMS, 2010).

1.2.4.4. Análise das Componentes Principais (ACP)

As técnicas estatísticas de análise multivariada são comumente empregadas em estudos que envolvem grande número de variáveis que devem ser consideradas simultaneamente. Essas análises possibilitam que algumas informações e interpretações sejam adquiridas, o que não seria possível ao se utilizar estatística univariada (MOITA NETO & MOITA, 1998).

A análise das componentes principais (ACP) é uma técnica que consiste em converter um conjunto original de variáveis em um novo conjunto (componentes principais) com dimensões equivalentes (CORREIA & FERREIRA, 2007). A componente principal representa uma combinação linear de todas as variáveis originais, sendo independentes entre si e estimadas com o objetivo de manter o máximo de informação contida nos dados iniciais, através da variação total. Em resumo, a ACP consiste em transformar n variáveis originais em n componentes principais, através de combinações lineares. Essas componentes devem ser ortogonais entre si, e são obtidas em ordem decrescente da máxima variância. Desta forma, a primeira componente principal apresentará mais informação estatística que a segunda, que, por sua vez, terá mais informação que a terceira, e assim sucessivamente (MOITA NETO & MOITA, 1998).

Uma das principais vantagens deste método é a redução da dimensionalidade dos pontos representativos das amostras, pois, embora a informação estatística presente nas n variáveis originais seja a mesma dos n componentes principais, é comum obter em apenas duas ou três componentes principais mais de 90% desta informação (MOITA NETO & MOITA, 1998).

Dentre as informações extraídas pela ACP, destaca-se a capacidade de examinar as inter-relações entre todos os dados estudados, de forma a resumir um grande conjunto de dados em um menor; possibilitando a eliminação de ruídos, ou seja, dados que pouco contribuem em termos de variação. Isto é muito útil e, geralmente, utilizado quando grandes quantidades de informações necessitam de ser manipuladas (WISE & GALLAGHER, 1996).

1.2.4.5. Análise Hierárquica por Agrupamento (AHA)

A técnica de análise hierárquica por agrupamento interliga as amostras por suas similaridades, resultando em um gráfico bidimensional, denominado dendrograma. Neste tipo de gráfico, quanto menor a distância entre dois pontos quaisquer, maior a semelhança entre eles (FORINA *et al.*, 2002). Matematicamente, esses gráficos são obtidos pelo agrupamento de pares de pontos que estão mais próximos no espaço, utilizando a distância Euclidiana. Em seguida, esses pares são substituídos por um novo ponto localizado na metade da distância entre eles. Este procedimento, quando repetido até que todos os pontos sejam agrupados em um só ponto, leva à construção do dendrograma. Neste gráfico, as amostras são dispostas no eixo horizontal e, no eixo vertical, o índice de similaridade (CORREIA & FERREIRA, 2007).

Os dendrogramas, portanto, consistem em diagramas que representam a similaridade entre pares de amostras (ou grupos de amostras) numa escala que vai de 1 (identidade) a zero (nenhuma similaridade). Este tipo de representação gráfica torna-se imprescindível na visualização de semelhanças entre amostras ou objetos representados por pontos em espaço com dimensão maior do que três, em que a representação de gráficos convencionais não é possível (FORINA *et al.*, 2002).

1.3. MATERIAIS E MÉTODOS

1.3.1. MATERIAL VEGETAL

As coletas das amostras foram realizadas nos Estados do Maranhão, Minas Gerais e Tocantins. Foram coletadas amostras de 18 populações, entre os meses de dezembro de 2009 e janeiro de 2010.

A escolha dos locais de coleta foi, prioritariamente, o Estado de Minas Gerais, o qual tem o Bioma Cerrado equivalente a 57% do total da área ocupada pelas demais vegetações (41% Mata Atlântica e 2% Caatinga), que corresponde a 16% de todo o Cerrado Nacional (IBGE, 2004). As aquisições das amostras, em Minas Gerais (12 populações), abrangeram: a Região Central (Curvelo e Felixlândia); a Região do Noroeste de Minas (Arinos e Unaí) e a Região do Norte de Minas (Bocaiúva, Claro dos Poções, Grão Mogol, Januária, Japonvar, Montes Claros, Pirapora e Salinas) – fronteira ao Bioma Caatinga. A distância aproximada entre os municípios foi em torno de 100 km.

A seleção dos demais locais de aquisição de amostras, Estados do Maranhão e do Tocantins, levou-se em conta a representatividade, no que diz respeito ao Bioma Cerrado; ou seja, 65% e 91% do total da área ocupada pelas vegetações e 11% e 12% de todo Cerrado Nacional, respectivamente (IBGE, 2004); como também as, prováveis, diferenças geográficas. Deve-se destacar que o Cerrado do Estado do Maranhão situa-se em região de fronteira com a Floresta Amazônica.

A coleta dos frutos, após queda natural, foi realizada nos Municípios, em áreas com pouca interferência antrópicas, em horários matutinos. Depois de coletados, os frutos foram acondicionados em caixas isotérmicas com gelo e transportados para o Departamento de Química (DEQ) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), onde foram armazenados, com a casca, em freezer à temperatura de congelamento de -18°C até que se procedessem as análises. De maneira aleatória dividiu-se as amostras em três lotes: dois lotes de ± 4 kg, análise de carotenóides e de óleos fixos (Capítulo 3) e um lote com ± 12 kg, análise de óleos essenciais (Capítulo 2). Testemunhas de cada uma das

populações foram herborizadas (exsicata e carpoteca) e incorporadas ao acervo do Herbário VIC do Departamento de Biologia Vegetal (DBV) da UFV. As populações e os detalhes de coleta estão sumarizados na Tabela 1.5.

TABELA 1.5. Populações de *Caryocar brasiliense*, código das amostras, data da coleta dos frutos, dados geográficos* e Registro no Herbário DBV/UFV

Estado	Município	Código	Data Coleta (mês/ano)	Latitude	Longitude	Número Registro
MA	Barra do Corda	BAR	01/2010	05°37'30"	45°07'30"	VIC32272
	Grajaú I (Gato Preto)	GAT	01/2010	05°52'30"	46°07'30"	VIC32271
	Grajaú II (Olhos D'Água)	OLH	01/2010	05°52'30"	46°07'30"	VIC32273
	Lajeado Novo	LAJ	01/2010	06°07'30"	47°07'30"	VIC32270
MG	Arinos	ARI	12/2009	15°56'15"	46°03'45"	VIC34071
	Bocaiúva	BOI	12/2009	17°03'45"	43°48'45"	VIC34077
	Claro dos Poções	CLA	01/2010	17°03'45"	44°11'15"	VIC34082
	Curvelo	CUR	01/2009	18°48'45"	44°26'15"	VIC34079
	Felixlândia	FEX	01/2010	18°48'45"	44°56'15"	VIC34080
	Grão Mogol	GRA	01/2010	16°33'45"	42°56'15"	VIC34073
	Januária	JAN	12/2009	15°26'15"	44°18'45"	VIC 31602
	Japonvar	JAP	12/2009	15°56'15"	44°18'45"	VIC 31601
	Montes Claros	MOC	01/2010	16°41'15"	43°48'45"	VIC34081
	Pirapora	PIR	01/2010	17°18'45"	44°56'15"	VIC34072
	Salinas	SAL	01/2010	16°11'15"	42°18'45"	VIC33269
Unaí	UNA	01/2010	16°18'45"	46°56'15"	VIC34076	
TO	Paraná	PAR	12/2009	12°37'30"	47°52'30"	VIC34078
	Peixe	PEI	12/2009	12°07'30"	48°37'30"	VIC34075

* Dados obtidos através de <http://www.cdbrasil.cnpm.embrapa.br> – em 12/08/2010.

1.3.2. ANÁLISE DOS CAROTENÓIDES NA POLPA DO PEQUI

1.3.2.1. Preparo das Amostras - Obtenção da Polpa

Para se proceder às análises foi feito, o despulpamento dos pirênios, após a eliminação da casca (exocarpo). Tanto a retirada da casca, quanto o

despolpamento foram realizados, manualmente, com o uso de luvas de látex, empregando-se, para tal, facas afiadas de aço-inoxidável.

1.3.2.2. Análise dos Carotenóides Provitamina A – CPVA

A análise dos carotenóides foi realizada no Laboratório de Análise de Vitaminas (LAV), do Departamento de Nutrição e Saúde da UFV. Procedeu-se às análises utilizando a ordem de aquisição das amostras, com o objetivo de que as mesmas estivessem em condições semelhantes, no que se refere ao menor tempo possível de armazenamento.

Todos os reagentes utilizados nas etapas de extração dos carotenóides e subseqüentes saponificação e concentração foram de grau analítico PA (VETEC Química Fina Ltda.). Já os reagentes empregados nas análises cromatográficas foram de grau cromatográfico (TEDIA-USA). A extração e análises das amostras foram realizadas, em triplicata, em sala escura, usando frascos de vidro âmbar.

A. Extração dos Carotenóides:

O processo de extração dos carotenóides realizou-se de acordo com RODRIGUEZ *et al.* (1976) com algumas adaptações. A polpa obtida foi homogeneizada em mini-processador de alimentos doméstico (marca BLACK & DECKER, modelo KPMHC3IT). Pesou-se cerca de 5,00 gramas de cada amostra. Adicionou-se 60 mL de acetona resfriada, aproximadamente 10 °C (3 x 20 mL) e procedeu-se a extração com o uso de um triturador, em aço-inox (MARCONI – MA-102). A extração com acetona foi repetida até o resíduo se tornar claro. O extrato obtido foi filtrado em funil de Büchner, utilizando-se papel de filtro livre de cinzas (INLAB - tipo 50), 9 cm de diâmetro. Em seguida, o filtrado foi transferido, aos poucos, para um funil de separação, previamente adicionado de 50 mL de éter de petróleo resfriado, em torno de 10 °C. Lavou-se cada fração com água destilada (mínimo 3 vezes) para a eliminação de toda a acetona e, conseqüentemente, a transferência dos pigmentos para o éter de petróleo.

B. Saponificação do Extrato:

Devido ao elevado teor de lipídios dos frutos do pequi (GARCIA *et al.*, 2007; SEGALL *et al.*, 2006) e a presença de xantofilas evidenciadas em trabalhos anteriores (RAMOS *et al.*, 2001; AZEVEDO-MELEIRO & RODRIGUEZ-AMAYA, 2004), após a extração dos carotenóides foi necessário fazer a saponificação do extrato.

A saponificação das amostras se deu de acordo com metodologia proposta por MERCADANTE (1999). Para tal, recolheu-se o extrato etéreo contendo os carotenóides (50 mL) acondicionando-o em erlenmeyer âmbar de 250 mL. A este foram adicionados 50 mL de solução metanólica (10% de KOH + 0,5% de BHT, marca MERCK). Agitou-se a mistura, aplicou-se gás nitrogênio por 1 minuto e, em seguida vedou-se a tampa do erlenmeyer com papel alumínio e parafilme. A mistura permaneceu em repouso no escuro, durante 16 horas, à temperatura ambiente.

Após a saponificação, a mistura foi lavada com água destilada (3x), em funil de separação, para retirar toda a solução de saponificação. Acrescentou-se sulfato de sódio anidro (uma espátula) à solução de carotenóides, em éter de petróleo. Procedeu-se a evaporação do extrato em éter de petróleo, utilizando evaporador rotativo, na faixa de temperatura entre 35 e 37 °C. Os pigmentos obtidos foram redissolvidos em éter de petróleo (25 mL) e armazenados em frascos de vidro âmbar, no congelador (- 5 °C).

C. Análise Cromatográfica:

Antes das análises, aproximadamente 4 mL do extrato, em éter de petróleo, foi secado sob fluxo de nitrogênio gasoso e redissolvido em 2 mL de acetona (grau cromatográfico). Em seguida, as amostras foram filtradas em unidades filtrantes de polietileno (HV-Millex – 0,45 μ m de porosidade) e acondicionadas em *vials*.

A análise cromatográfica dos CPVA foi realizada de acordo com as condições cromatográficas desenvolvidas por PINHEIRO-SANT'ANA *et al.* (1998), utilizando um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), SHIMADZU. Esse sistema foi composto de: bomba de alta pressão (LC-10VP); injetor automático com *loop* de 50 μ L (SIL-10 AF); coluna

cromatográfica FR C18 (Phenomenex 250 mm x 4,6 mm), munida de coluna de guarda C18 (Phenomenex ODS 4 mm x 3 mm); detector espectrofotométrico de arranjos de diodos; *software* para controle de até quatro sistemas (Class Vp 6.1); fase móvel metanol: acetato de etila: acetonitrila (80:10:10); fluxo da fase móvel: 2,0 mL/minuto – eluição isocrática; tempo de corrida: 20 minutos; leitura dos cromatogramas em comprimento de onda de 450 nm.

D. Identificação e Quantificação dos Carotenóides:

Os cromatogramas e a integração das áreas obtidas foram efetuados com auxílio de um computador acoplado ao sistema.

A identificação dos carotenóides nas amostras foi realizada comparando-se os tempos de retenção obtidos para os padrões (β -caroteno e β -criptoxantina) e para as amostras, analisados sob as mesmas condições. Além disso, foram comparados os espectros de absorção do padrão e dos picos de interesse nas amostras, utilizando-se o detector de arranjos de diodos.

As quantificações dos carotenóides com atividade provitamina A da polpa do pequi (β -caroteno e β -criptoxantina) foram realizadas por padronização externa, utilizando-se padrões de β -caroteno (marca BASF) e de β -criptoxantina. O padrão de β -criptoxantina foi isolado a partir do mamão (*Carica papaya*) por cromatografia líquida em coluna de vidro, recheada com celite e óxido de magnésio, de acordo com metodologia proposta por KIMURA & RODRIGUEZ-AMAYA (2002), com adaptações.

- i. Obtenção do Padrão de β -criptoxantina:** Para separar a β -criptoxantina, cerca de 80 g de mamão (*Carica papaya*) foram triturados com 350 mL de acetona (350 mL) e posteriormente transferidos para um frasco contendo 300 mL de éter de petróleo. A coluna cromatográfica foi empacotada com celite (*hyflosupercel*) e óxido de magnésio (2:1); sendo este recheio ativado por 4 horas a 150 °C. Foi utilizada coluna de vidro com cerca de 50 cm de comprimento e 5 cm de diâmetro e recheio de cerca de 20 cm de altura, recoberta externamente com gaze umedecida em acetona. Foram empregadas fases móveis com concentrações crescentes de éter etílico em éter de petróleo (2 e 4%) e concentrações crescentes

de acetona em éter de petróleo (1 a 100%) para separação da β -criptoxantina. Após a penetração do extrato de carotenóides na fase estacionária adicionou-se cerca de 20 mL de fase móvel (2% de éter etílico em éter de petróleo) e aguardou-se a sua eluição. Em seguida foi sendo adicionada, aos poucos, fase móvel composta por 4% de éter etílico em éter de petróleo (20 mL). Após a passagem dessas fases adicionou-se ao topo da coluna outra fase móvel composta por 1% de acetona em éter de petróleo (20 mL). A concentração de acetona na fase móvel foi aumentada empregando 20 mL de fases móveis contendo 8, 10 e 100% de acetona. Retirou-se a fase estacionária da coluna de vidro; deixando secar a coluna e virando, cuidadosamente, ao contrário em uma superfície plana. A parte da coluna contendo a β -criptoxantina (cor laranja) foi seccionada. Para retirada total de β -criptoxantina da fase estacionária foi necessário empregar fase móvel contendo 5% de água em acetona e em seguida uma solução de 10% de água em acetona. A mistura foi então filtrada, sob vácuo, em funil de Büchner utilizando-se papel de filtro para separar a fase móvel (contendo β -criptoxantina) da fase estacionária. Em seguida, o filtrado foi transferido, aos poucos, para um funil de separação, onde foram adicionados 30 mL de éter de petróleo refrigerado, para a transferência dos pigmentos da acetona para o éter. Cada fração foi lavada com água destilada três vezes para retirar toda a acetona. Acrescentou-se sulfato de sódio anidro ao extrato em éter de petróleo para retirar qualquer resíduo de água que, porventura, tivesse restado e que pudesse prejudicar a evaporação do material. O padrão assim obtido foi transferido para frascos de vidro âmbar, seco sob fluxo de nitrogênio, lacrado e armazenado a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. A confirmação da identidade do padrão de β -criptoxantina foi feita com base nos seguintes parâmetros: tempo de retenção esperado por CLAE e espectros de absorção característicos no UV-Visível.

ii. Construção das Curvas Analíticas: Para a construção das curvas analíticas verificou-se a pureza das soluções padrões (β -caroteno e β -

criptoxantina) por CLAE. A quantificação dos padrões foi realizada por espectrofotometria, baseando-se na absorvância máxima, em um comprimento de onda específico para cada carotenóide, segundo a lei de Lambert-Beer, em que a absorvância é diretamente proporcional à concentração. Os coeficientes de absorvância ($\epsilon_{1\text{cm}}^{1\%}$) utilizados foram 2592 para β -caroteno e 2386 para β -criptoxantina. Os comprimentos de onda de máxima absorção (λ_{max}), em éter de petróleo, foram: 450 nm para o β -caroteno e 449 nm para a β -criptoxantina (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). Realizou-se injeção, em duplicata, utilizando-se seis concentrações crescentes de soluções padrão: entre 0,0103 e 2,0600 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (β -caroteno) e 0,0057 e 1,4333 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (β -criptoxantina). A concentração real dos padrões de carotenóides foi determinada por espectrofotometria e adequadamente corrigida. A equação e coeficientes usados para cálculo das concentrações foram:

EQUAÇÃO 1.2

$$C (\mu\text{g/mL}) = \text{ABS} \times 10^4 / \epsilon_{1\text{cm}}^{1\%}$$

Onde:

C = concentração real;

ABS = absorvância máxima;

$\epsilon_{1\text{cm}}^{1\%}$ = coeficiente de absorvância molar do carotenóide no solvente utilizado.

RODRIGUEZ-AMAYA (2001)

As curvas analíticas obtidas para β -caroteno e β -criptoxantina são apresentadas na Figura 1.7.

A partir das curvas analíticas obtiveram-se as concentrações dos carotenóides com atividade provitamina A. O valor real da concentração foi obtido pelos cálculos das diluições realizadas.

1.3.2.3. Cálculo do Valor de Vitamina A

O cálculo do valor de vitamina A foi feito segundo as recomendações do *Institute of Medicine* (IOM, 2001), em que 1 Equivalente de Atividade de Retinol (RAE) equivale a 1 μg de retinol ou a 12 μg de β -caroteno ou 24 μg de outros carotenóides provitamínicos, tais como α -caroteno e β -criptoxantina (MURPHY, 2001; YEUM & RUSSEL, 2002; HARRISON, 2011).

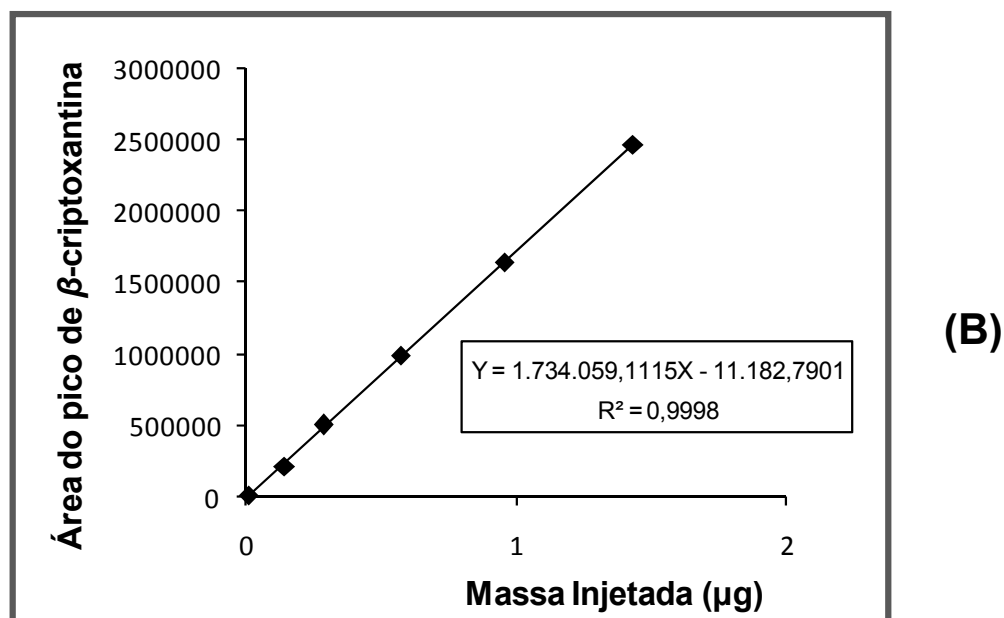
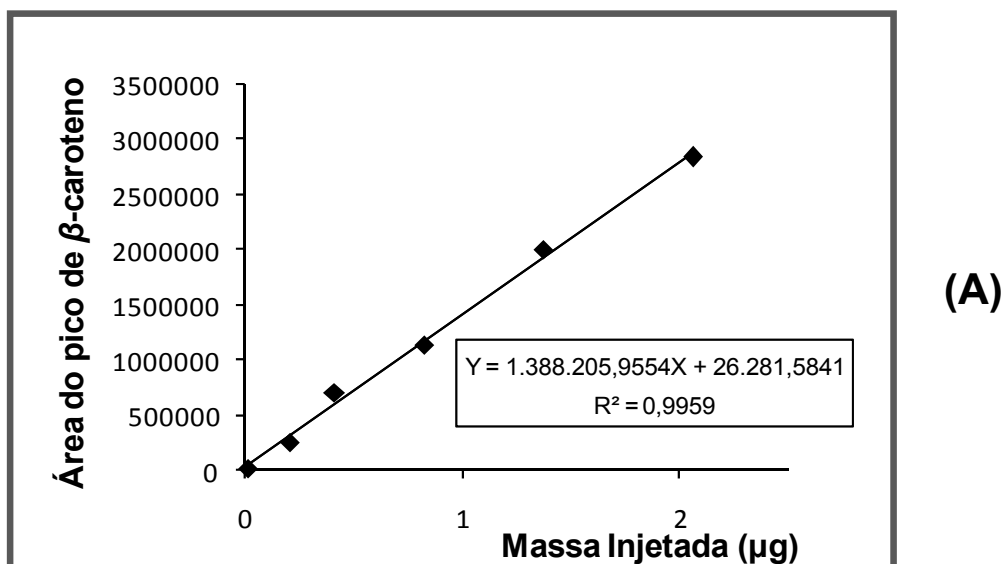


FIGURA 1.7. Correlações lineares entre as concentrações de carotenóides e a área dos picos correspondentes: β -caroteno (A) e β -criptoxantina (B)

1.3.2.4. Análise Estatística

A. Análise de Variância (ANOVA):

Em um delineamento experimental, inteiramente casualizado, com três repetições, realizou-se à ANOVA para as informações quantitativas obtidas. Para tal, empregou-se o programa estatístico livre ASSISTAT Versão 7.6 beta (2011).

B. Análise Multivariada:

Os dados obtidos foram dispostos em uma matriz constituída de variáveis (colunas), tais como: umidade, teor de β -criptoxantina (base úmida e seca), teor de β -caroteno (base úmida e seca), teor de CPVA, valor de vitamina A e dados geográficos (latitude e longitude). Os objetos dessa matriz foram as 18 populações amostradas (linhas) das três diferentes regiões. A matriz foi autoescalada e em seguida procedeu-se à análise das componentes principais (ACP) e análise hierárquica por agrupamento (AHA). Deve-se destacar que o AHA (cluster) foi realizado utilizando o algoritmo de médias. Os dados foram processados com o auxílio do programa MATLAB, versão 5.3; empregando pacote quimiométrico PLS_Toolbox, versão 2.0.

1.3.2.5. Identificação dos demais Carotenóides do Pequi

As análises de identificação e quantificação dos demais carotenóides presentes na polpa do pequi, *Caryocar brasiliense*, foram realizadas em *Purdue University*, sob a supervisão do pesquisador Mário Ferruzzi (*Associate Professor of Food Science*). Para tal, as polpas de sete amostras (Tabela 1.6) foram selecionadas, de acordo com a representatividade regional, e enviadas, na forma desidratada, para a referida Universidade.

TABELA 1.6. Populações de *Caryocar brasiliense*, enviadas para análise em *Purdue University – Department of Food Sciences*

Estado	Cidade	Código	Umidade
Maranhão	Barra do Corda	BAR	≈7%
Minas Gerais	Arinos	ARI	
	Curvelo	CUR	
	Januária	JAN	
	Montes Claros	MOC	
	Salinas	SAL	
Tocantins	Paraná	PAR	

A. Desidratação das Amostras:

As amostras de polpa de pequi selecionadas foram desidratadas pelo método de liofilização, em concentrador a vácuo (marca HETO, modelo VR-Maxi CS3), no Laboratório de Análise de Sementes Florestais (LASF) do Departamento de Engenharia Florestal – UFV, até umidade em torno de 7%. Todos os processos de manipulação e desidratação das amostras foram conduzidos no escuro, a fim de minimizar degradação das amostras pela ação da luz. As amostras foram acondicionadas em recipientes plásticos opacos, identificadas e enviadas para *Purdue University*.

B. Solventes e Padrões Químicos:

Todos os solventes empregados, tanto na extração dos carotenóides como na análise cromatográfica (CLAE) foram de grau cromatográfico (marca Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) e certificadas pela ACS.

Padrões de β -caroteno, luteína, neoxantina e violaxantina (Sigma-Aldrich), zeaxantina e β -criptoxantina (Indofine Química, Hillsborough, NJ) foram empregados para construção das curvas analíticas e, posterior, quantificação dos carotenóides presentes (padrão externo).

C. Extração Carotenóides:

A metodologia utilizada foi de acordo com a descrita em FERRUZZI *et al.* (2006). Todas as etapas de preparação das amostras e de extrações dos pigmentos foram realizadas sob luz amarela para minimizar reações de foto-oxidação de carotenóides e foto-isomerização. As análises ocorreram em duplicatas.

Aproximadamente 3 g de amostra (liofilizada) foi triturada em 4 mL de água bidestilada. A pasta resultante foi saponificada com 30% de NaOH em metanol por 30 minutos, na ausência de luz, a 37 °C. Após saponificação, os carotenóides foram extraídos com 4 mL de éter de petróleo/acetona (3:1), contendo 0,1% de BHT. As amostras foram misturadas em vortex por 30 segundos e, em seguida, centrifugadas por 5 minutos para facilitar a separação de fases. Coletou-se a fase etérea e o resíduo foi re-extraído (3x). As frações em éter de petróleo foram misturadas e após realizou-se a secagem destas sob corrente de nitrogênio gasoso. Ressolubilizou-se os carotenóides em

MeOH/acetato de etila (50:50) e, em seguida, filtrou em unidades filtrantes de polietileno de 0,45 μm específico para análise por CLAE (Millex HV).

D. Instrumentação e Cromatografia:

A análise dos carotenóides foi realizada em cromatógrafo, marca e modelo Hewlett-Packard 1090A (CLAE), equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) modelo 79880A, segundo as condições cromatográficas estabelecidas por KEAN *et al.* (2008). A fase estacionária empregada para a separação de carotenóides foi uma coluna YMC, polimérica C30, fase reversa (3 μm ; 2,0 x 250 mm), adequada para esse tipo de analito e uma coluna de guarda com a mesma fase estacionária (Waters Corp, Milford, MA). O perfil de eluição utilizado foi com base em um gradiente linear, composto de um sistema binário de fases móveis: Fase A – metanol/acetato de amônio (1 mol L⁻¹) (98:2 v/v) e Fase B – acetato de etila. Utilizou-se uma vazão de 0,37 mL min⁻¹ com as condições iniciais fixadas em 100% da Fase A. Aplicou-se, então, um gradiente linear de 80:20 (A:B) a ser atingido em 6 min. Esse gradiente foi mantido por 2 min. Em seguida, empregou um gradiente linear de volta à fase A (100%) a ser atingido em 3 min. Após se atingir as condições iniciais, permaneceu nestas condições, reequilibrando o sistema, por mais 3 min., totalizando um tempo de análise igual a 14 min. A detecção e identificação preliminar de todos os carotenóides foram realizadas utilizando dados do detector de arranjo de diodos *inline*, entre 250 e 600 nm. A quantificação dos carotenóides foi feita utilizando curvas analíticas (método do padrão externo), obtidas a partir dos padrões de carotenóides, construídas a 450 nm, nas mesmas condições da análise.

1.3.3. DETERMINAÇÃO DA UMIDADE

A umidade das amostras, polpa de pequi *in natura* e polpa de pequi liofilizada, foi determinada pelo método padrão da estufa 105 °C \pm 3 °C, durante 24 horas, de acordo com Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (NAIAL, 1985).

1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.4.1. UMIDADE

As informações referentes à umidade e à matéria seca da polpa de pequi, *Caryocar brasiliense* Camb., nas 18 populações amostradas, são apresentadas na Tabela 1.7.

TABELA 1.7. Umidade e Matéria Seca da Polpa do *Caryocar brasiliense*

	Amostra	Matéria Seca	Umidade*
Estado	Município	%	%
MA	Barra do Corda	41,63 ±0,78	58,37 ^{ab} ±0,78
	Grajaú I (Gato Preto)	54,50 ±1,95	45,50 ⁱ ±1,95
	Grajaú II (Olhos D'Água)	46,75 ±1,68	53,25 ^{de} ±1,68
	Lajeado Novo	48,37 ±0,70	51,63 ^{ef} ±0,70
MG	Arinos	46,57 ±0,38	53,43 ^{de} ±0,38
	Bocaiúva	41,87 ±1,07	58,13 ^{ab} ±1,07
	Claro dos Poções	54,38 ±1,72	45,62 ⁱ ±1,72
	Curvelo	48,92 ±1,45	51,08 ^{ef} ±1,45
	Felixlândia	51,46 ±1,34	48,54 ^{gh} ±1,34
	Grão Mogol	47,93 ±0,69	52,07 ^{ef} ±0,69
	Januária	40,91 ±1,53	59,09 ^a ±1,53
	Japonvar	42,25 ±1,95	57,75 ^{ab} ±1,95
	Montes Claros	40,19 ±1,01	59,81 ^a ±1,01
	Pirapora	49,46 ±0,62	50,54 ^{fg} ±0,62
	Salinas	43,32 ±1,04	56,68 ^{bc} ±1,04
Unai	52,86 ±1,34	47,14 ^{hi} ±1,34	
TO	Paranã	44,88 ±1,73	55,12 ^{cd} ±1,73
	Peixe	45,43 ±0,38	54,57 ^{cd} ±0,38
Média Teor de Umidade			53,24 ±4,63
Coefficiente de Variação (CV)			8,69 %

*Médias seguidas da mesma letra minúscula, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (5% de significância).

Na análise dos dados apresentados, observou-se relativa variação nos teores de umidade da polpa do pequi; sendo o percentual de variação, entre as populações de menor teor (Grajaú I-MA e Claro do Poções-MG) e as de maior teor (Montes Claros-MG e Januária-MG), em torno de 160%. Variações de características química e físico-química de outra espécie de pequi, *Caryocar coriaceum* Wittm., oriundos da Chapada do Araripe-CE, foram relatadas num trabalho de OLIVEIRA *et al.* (2010), onde se concluiu que a umidade, dentre todas as características analisadas, foi a que apresentou menor variação; apresentando um coeficiente de variação de 8,6%. Valores semelhantes foram aqui encontrados, através do cálculo da média da umidade, entre as 18 populações amostradas de *C. brasiliense*, ao se verificar que o coeficiente de variação (CV) foi relativamente baixo, ficando em torno de 8,7% (< 10%).

1.4.2. CAROTENÓIDES DA POLPA DO PEQUI

1.4.2.1 Carotenóides com Atividade Provitamina A

Os carotenóides do pequi com atividade provitamina A identificados foram β -caroteno e β -criptoxantina, o que coincide com os resultados encontrados em trabalhos anteriores (RAMOS *et al.*, 2001; AZEVEDO-MELEIRO & RODRIGUEZ-AMAYA, 2004). Esse resultado foi obtido na análise de carotenóides das 18 populações estudadas.

Na Figura 1.8 encontram-se os cromatogramas obtidos, representando as populações dos três Estados brasileiros estudados (MA, MG e TO) – os demais cromatogramas são apresentados no anexo A. Foram observadas diferenças entre as áreas dos picos (β -criptoxantina e β -caroteno), indicando divergências quantitativas, quanto às concentrações dos CPVA. Diferenças quanto às áreas dos picos nos três cromatogramas apresentados foram, também, evidenciadas; sugerindo variações quantitativas quanto ao teor de CPVA entre as populações de pequi amostradas.

A determinação de λ_{\max} , identificação e caracterização dos picos correspondentes aos carotenóides, com atividade provitamina A, da polpa do pequi encontram-se na Tabela 1.8. Deve-se registrar as semelhanças físico-químicas (t_R ; λ_{\max} e %III/II), apresentadas pelos CPVA presentes na polpa do pequi e os padrões destes; durante a corrida cromatográfica, nas mesmas

condições analíticas [coluna C18; solvente acetona; fase móvel constituída de metanol : acetato de etila : acetonitrila (80:10:10)].

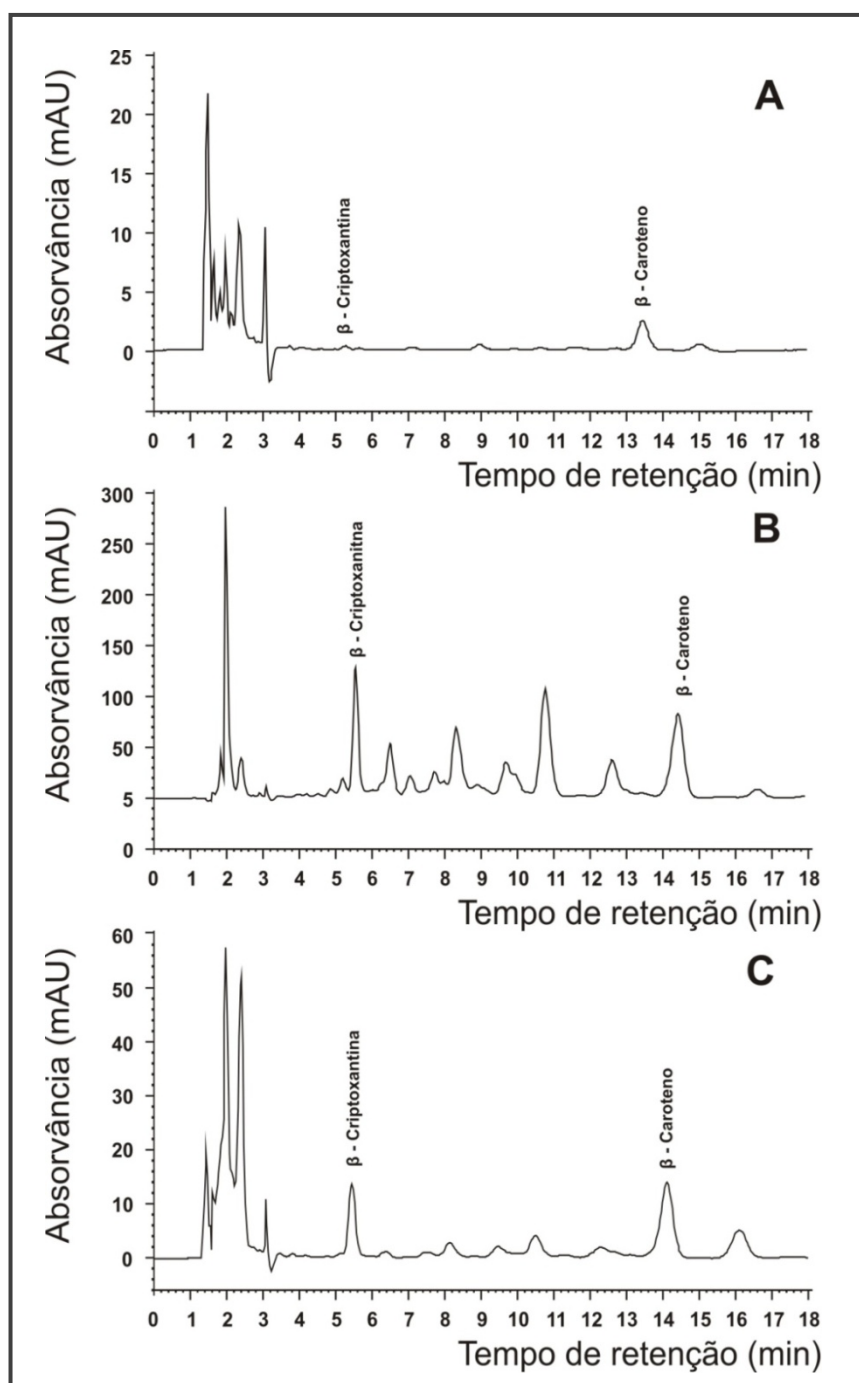


FIGURA 1.8. Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD de CPVA, presentes na polpa do pequi (*C. brasiliense*): **(A)** Barra do Corda-MA; **(B)** Januária-MG e **(C)** Paraná-TO. Condições cromatográficas: coluna C18; fase móvel metanol:acetato de etila:acetonitrila (80:10:10); vazão de 2 mL min⁻¹.

TABELA 1.8. Principais propriedades dos CPVA da polpa do pequi, tendo acetona como solvente, obtidos por CLAE-DAD, fase móvel composta de metanol, acetato de etila e acetonitrila (80:10:10); comparada aos padrões nas mesmas condições

Carotenóide		Tempo de Retenção t_R (min)	Comprimento de Onda λ_{max} (nm)	%III/II*
Amostra	β -criptoxantina	4,0 – 6,0	425, 450, 475	18,8
	β -caroteno	13,0 – 15,0	425, 452, 478	20,0
Padrão	β -criptoxantina	5,74	425, 451, 477	18,9
	β -caroteno	13,86	425, 453, 480	19,9

*Propriedade físico-química dos carotenóides, obtida a partir da Estrutura Espectral Fina, que consiste na relação entre a altura (amplitude) do pico de absorvância de maior comprimento de onda, designado III, e a altura do pico de absorvância de comprimento de onda médio, designado II, tomando o mínimo entre os dois picos como linha de base, multiplicado por 100 (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001) – conforme Figura 1.4.

Os espectros UV-Visível, obtidos com os dados do DAD, para β -criptoxantina e β -caroteno, encontram-se na Figura 1.9. Na análise dos dois espectros, foram evidenciadas semelhanças; devendo-se isto ao fato de que ambos os carotenóides possuem grupos cromóforos parecidos, ou seja, apresentam um mesmo número de duplas conjugadas (11, no total).

No que diz respeito aos comprimentos de absorção máxima (λ_{max}), o β -caroteno apresentou um valor ligeiramente maior que o apresentado pela β -criptoxantina. Resultados semelhantes foram encontrados por MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.* (2007a). Esses resultados também se aproximam de valores teóricos, calculados de acordo com a regra de Fieser-Kuhn, para polienos conjugados, com mais de quatro ligações duplas (SILVERSTEIN *et al.*, 1994). De acordo com a Equação 1.3, o valor teórico de λ_{max} para β -caroteno e para β -criptoxantina é de 453,3 nm. As diferenças apresentadas nos valores obtidos, experimentalmente, devem-se possivelmente aos diferentes grupos substituintes apresentados por cada um dos carotenóides.

$$\lambda_{\max} = 114 + 5M + n(48,0 - 1,7n) - 16R_{\text{endo}} - 10R_{\text{exo}}$$

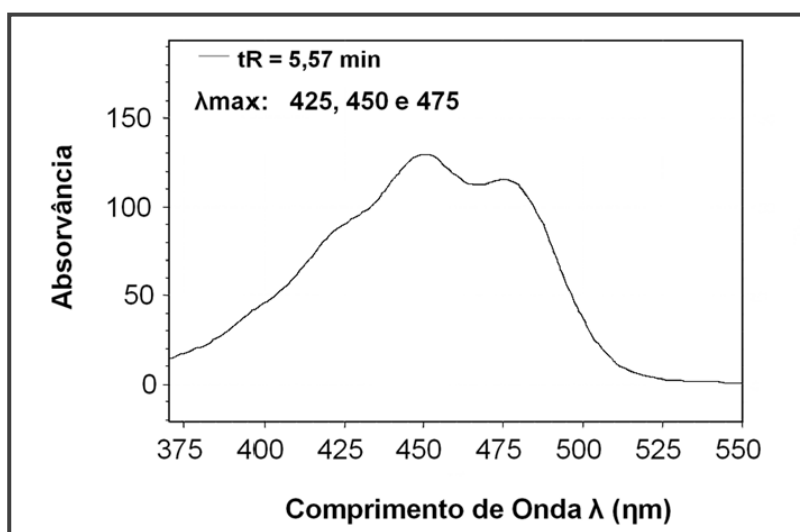
EQUAÇÃO 1.3

Onde: λ_{\max} = comprimento de onda de absorção máxima;

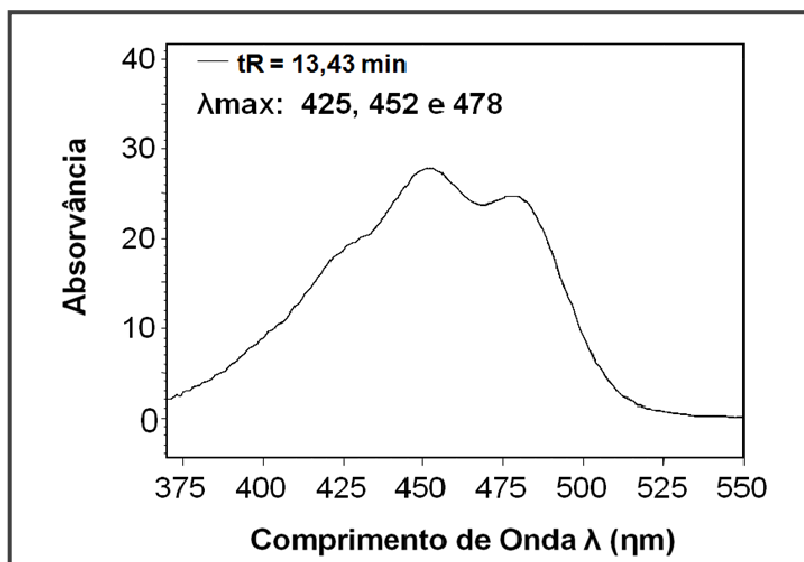
M = número de grupos alquilas ligados ao sistema conjugado.

R_{endo} = número de anéis com ligações duplas endocíclicas no sistema conjugado.

R_{exo} = número de anéis com ligações duplas exocíclicas no sistema conjugado.



(A)



(B)

FIGURA 1.9. Espectros de absorção, na região do visível, β -criptoxantina (A) e β -caroteno (B), obtidos pelo detector de arranjo de diodos.

Os resultados das análises de carotenóides na polpa do pequi dos 18 municípios, amostrados, são apresentados na Tabela 1.9. A partir das informações contidas nessa tabela, construiu-se o gráfico de barras (Figura 1.11). Para fins de melhor comparação, foram utilizadas as concentrações de CPVA, na base seca.

TABELA 1.9. Concentração de CPVA (β -criptoxantina e β -caroteno) da polpa do pequi (*C. brasiliense*), na base úmida (BU) e base seca (BS)

Amostra		β -criptoxantina		β -caroteno	
Estado	Município (código)	$\mu\text{g g}^{-1}$		$\mu\text{g g}^{-1}$	
		BU* ^e ***	BS**	BU* ^e ***	BS**
MA	BAR	0,41 ⁿ \pm 0,02	0,97 \pm 0,07	0,87 ⁿ \pm 0,08	2,09 \pm 0,23
	GAT	0,34 ⁿ \pm 0,01	0,63 \pm 0,04	0,00 ⁿ \pm 0,10	0,00 \pm 0,00
	OLH	0,91 ⁿ \pm 0,02	1,95 \pm 0,11	4,80 ^m \pm 0,02	10,26 \pm 0,41
	LAJ	0,66 ⁿ \pm 0,01	1,37 \pm 0,04	0,96 ⁿ \pm 0,10	1,99 \pm 0,24
MG	ARI	13,38 ^e \pm 0,06	28,72 \pm 0,36	31,16 ^d \pm 1,00	66,91 \pm 2,69
	BOI	10,99 ^f \pm 0,88	26,25 \pm 2,77	15,78 ^g \pm 0,92	37,68 \pm 3,16
	CLA	6,78 ^{ij} \pm 0,32	12,47 \pm 0,98	11,44 ⁱ \pm 0,50	21,03 \pm 1,58
	CUR	7,62 ^{hi} \pm 0,76	15,59 \pm 2,02	8,60 ^j \pm 0,41	17,57 \pm 1,36
	FEX	4,99 ^m \pm 0,08	10,09 \pm 0,42	10,51 ^{ij} \pm 0,08	21,27 \pm 0,70
	GRA	8,00 ^h \pm 0,15	16,69 \pm 0,55	24,11 ^f \pm 0,41	50,31 \pm 1,58
	JAN	35,96 ^a \pm 0,49	87,89 \pm 4,49	68,21 ^a \pm 1,12	166,73 \pm 8,97
	JAP	19,67 ^b \pm 0,73	46,55 \pm 3,88	43,20 ^c \pm 0,81	102,26 \pm 6,64
	MOC	17,82 ^c \pm 1,33	44,35 \pm 4,42	27,00 ^e \pm 1,32	67,19 \pm 4,97
	PIR	11,31 ^f \pm 0,08	22,86 \pm 0,45	13,76 ^h \pm 0,12	27,82 \pm 0,59
	SAL	16,27 ^d \pm 0,23	37,55 \pm 1,43	47,55 ^b \pm 0,85	109,77 \pm 4,60
UNA	9,43 ^g \pm 0,12	17,84 \pm 0,68	27,41 ^e \pm 0,62	51,86 \pm 2,49	
TO	PAR	6,15 ^{lm} \pm 0,66	13,71 \pm 2,00	11,92 ^{jl} \pm 0,42	26,57 \pm 1,96
	PEI	5,23 ^{jl} \pm 0,20	11,52 \pm 0,54	9,23 ⁱ \pm 0,70	20,32 \pm 1,71

*Desvios Padrão obtidos pela média de três repetições.

**Desvios Padrão calculados pela “propagação de desvios” a partir dos dados da Tabela 1.7 e da concentração de CPVA, na base úmida.

***Médias seguidas da mesma letra minúscula, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (5% de significância).

Pela análise da Tabela 1.9 e da Figura 1.10, verificou-se que todas as populações amostradas apresentaram teores mais elevados de β -caroteno, quando confrontados com os teores de β -criptoxantina. Observou-se, também, elevada variação nas concentrações de CPVA, destacando-se a grande diferença apresentada entre as populações de Grajaú-MA (Localidade Gato Preto), que apresentou índices quase nulos, e Januária-MG que se sobressaiu entre as demais amostras.

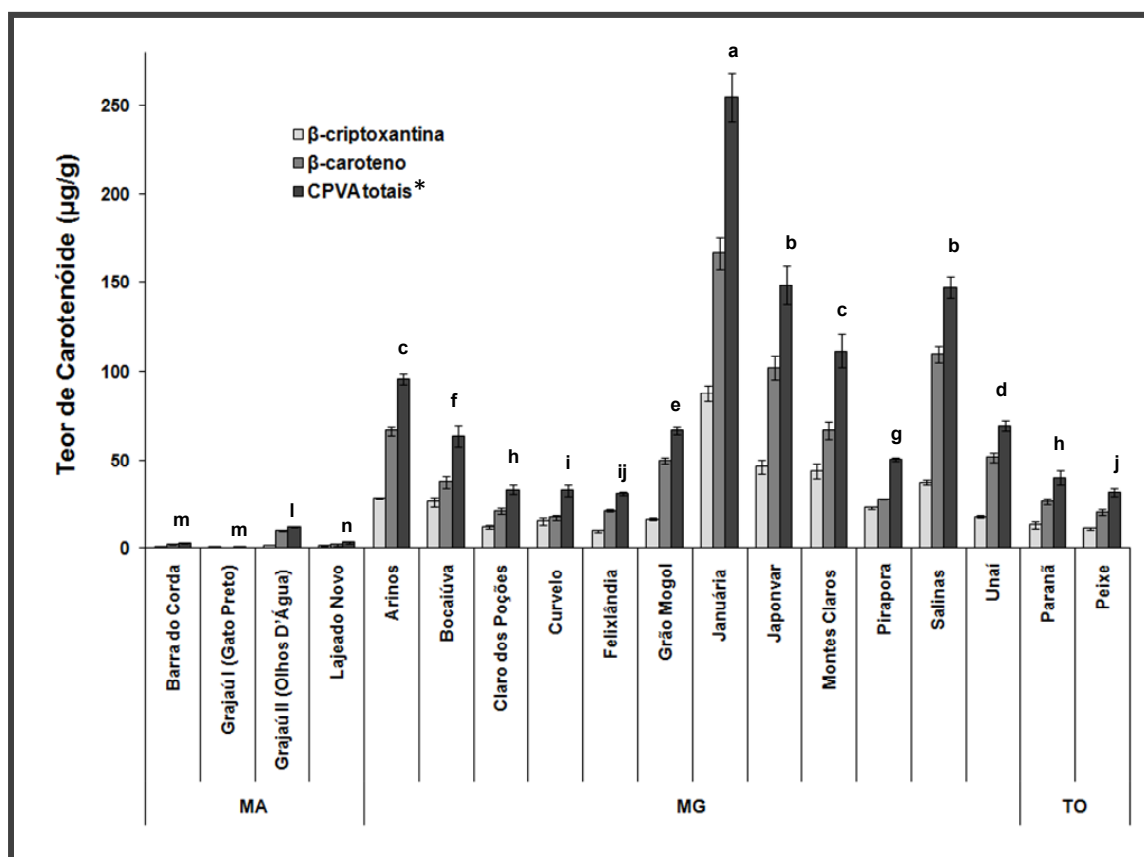


FIGURA 1.10. Teores de carotenóides, na polpa do pequi, na base seca, com atividade provitamina A.

*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (5% de significância).

Evidenciou-se, ainda, que os pequis oriundos dos Municípios norte mineiros — Januária, Japonvar, Salinas, Montes Claros e Arinos — apresentaram teores mais elevados de CPVA que os demais.

De acordo com a literatura, a composição química de um determinado alimento de uma mesma espécie vegetal, tais como as frutas e hortaliças, no

que se refere ao teor de carotenóides, pode exibir diferenças qualitativas e quantitativas devido a fatores como: cultivar/variedade (CHANDER *et al.*, 2008; DAVEY *et al.*, 2009; SINGH *et al.*, 2007); estágio de maturação (BOUDRIES *et al.*, 2007; DRAGOVIC-UZELAC *et al.*, 2007); clima/localização geográfica da produção (AHERNE *et al.*, 2009; LEE *et al.*, 2005); época da colheita, parte da planta utilizada, condições durante a produção agrícola, manejo pós-colheita, processamento e condições de armazenamento (RODRIGUEZ-AMAYA *et al.*, 2008).

Deve-se salientar que, apesar de todas as amostras aqui analisadas serem originárias de áreas de vegetação típicas de cerrado, dentro desse Bioma, existem variações de clima, tipos de solo, fauna e flora, suscetibilidade a ações antrópicas, entre outros (LEITE *et al.*, 2006; VILELA *et al.*, 2008). Nesse contexto, os Municípios situados mais ao Norte de Minas localizam-se em regiões de transição entre Cerrado e Caatinga, portanto possuem condições climáticas com menores índices pluviométricos e maior incidência solar; quando comparados aos Municípios da Região Norte do País (MA e TO) que, apesar de possuírem um clima com elevadas temperaturas, encontram-se em áreas limítrofes àquelas típicas de clima equatorial, com grande incidência de chuvas. Sendo assim, sugere-se que as diferenças, quanto às concentrações de CPVA, pode estar relacionada com o fato de que uma das funções dos carotenóides, nas plantas, é a proteção contra a fotooxidação (BARTLEY & SCOLNICK, 1995). Neste caso, as amostras oriundas da Região Norte Mineira apresentaram maior concentração de carotenóides, devido ao metabolismo vegetal que, sob condições de intenso estresse climático, pode estimular a planta, como resposta, a produzir uma maior quantidade de substâncias fotoprotetoras, tais como os CPVA. Outra possibilidade é que, sob essas condições de estresse, possa ter ocorrido uma preferência seletiva a favor de genótipos com maior potencial para a produção de carotenóides; ocasionando uma variabilidade genética. No caso particular do pequi (*Caryocar brasiliense*), deve-se mencionar o trabalho de MELO JÚNIOR *et al.* (2004) que evidenciou índices de diversidades genéticas entre indivíduos de uma mesma população, entretanto foi observado maiores semelhanças entre indivíduos de populações próximas, devido à maior possibilidade de fluxo gênico.

Em resumo, as diferenças quanto ao teor de umidade e de CPVA nas amostras de pequi dos diferentes Municípios, nos três Estados (MA, MG e TO), podem ser justificadas em consequência das diferenças geográficas e/ou climáticas, entre as amostras, e ainda com possíveis diferenças genéticas entre as populações analisadas.

1.4.2.2. Valores de Vitamina A

Os valores de vitamina A na polpa do pequi, em todas as populações amostradas são apresentadas na Tabela 1.10.

TABELA 1.10. Valor de vitamina A, em Equivalente de Atividade de Retinol (RAE), no pequi, *Caryocar brasiliense*, base úmida, em 100 g de polpa do fruto *in natura*

Amostra			RAE*/100g
Estado	Código	Cidade	
Maranhão	BAR	Barra do Corda	8,96 ± 0,72
	GAT	Grajaú	1,42 ± 0,06
	OLH	Olho D'Água das Cunhas	43,77 ± 0,25
	MOP	Lajeado Novo	10,75 ± 1,03
Minas Gerais	ARI	Arinos	315,42 ± 10,40
	BOI	Bocaiúva	177,29 ± 5,56
	CLA	Claro dos Poços	123,58 ± 5,85
	CUR	Curvelo	103,42 ± 8,02
	FEX	Felixlândia	108,38 ± 1,01
	GRA	Grão Mogol	234,25 ± 4,90
	JAN	Januária	718,20 ± 15,40
	JAP	Japonvar	441,99 ± 4,58
	MOC	Montes Claros	299,25 ± 10,90
	PIR	Pirapora	161,79 ± 1,60
Tocantins	SAL	Salinas	464,04 ± 9,17
	UNA	Unaí	267,71 ± 6,93
Tocantins	PAR	Paranã	124,96 ± 6,07
	PEI	Peixe	98,71 ± 7,49
Valor Médio			205,8 ± 182,9
Coeficiente de Variação			88,9%

*1 RAE = 1 µg de retinol = 12 µg de β-caroteno = 24 µg de β-criptoxantina (IOM, 2001).

A Figura 1.11 ilustra os valores de vitamina A, na polpa de pequi, nas 18 populações amostradas.

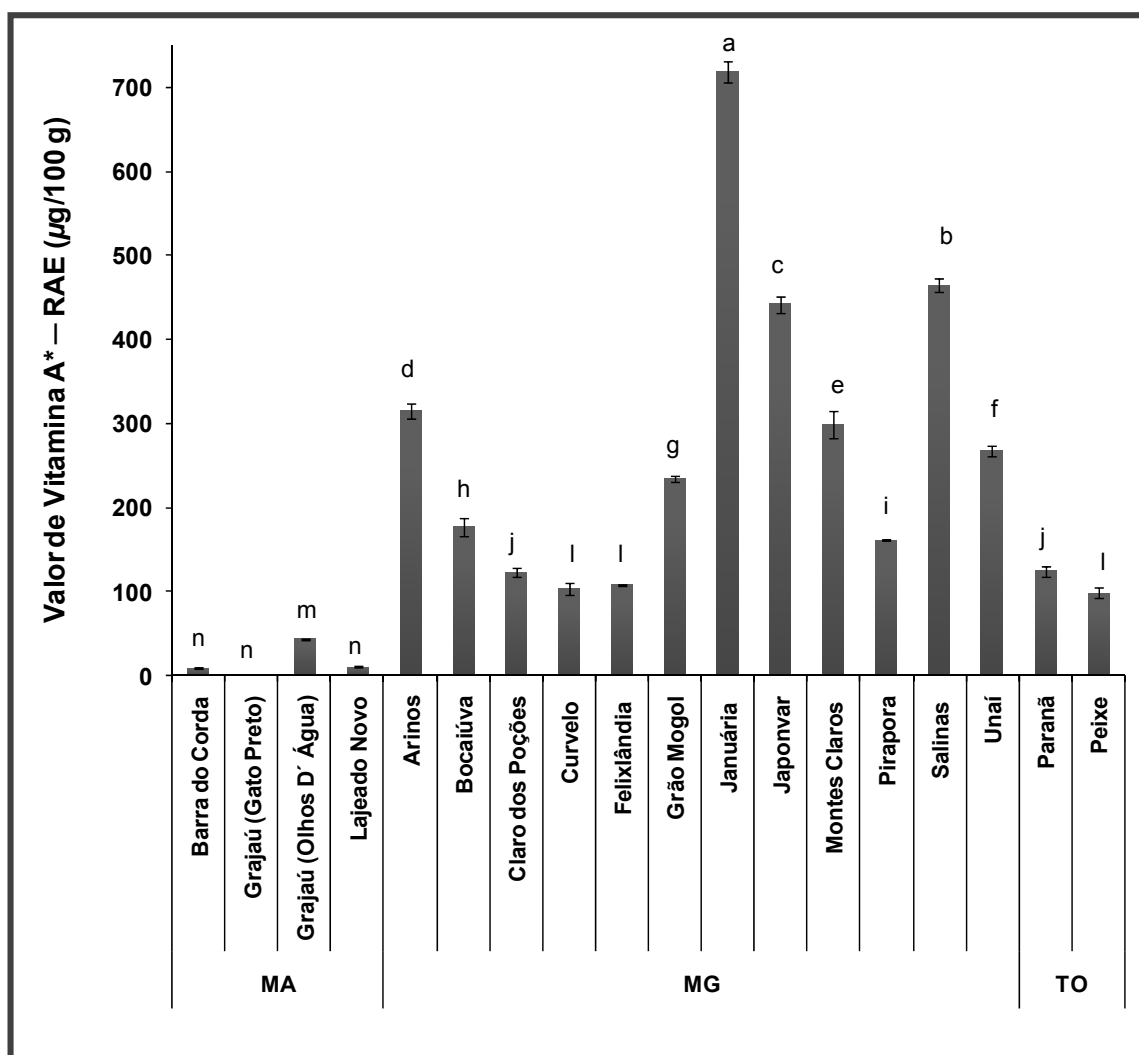


FIGURA 1.11. Valores de vitamina A, em Equivalente de Atividade de Retinol (RAE), na polpa do pequi, *Caryocar brasiliense*, em 100 g de polpa do fruto *in natura*.

*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (5% de significância).

Foram verificadas diferenças significativas, quanto ao valor de vitamina A, entre as populações estudadas. O coeficiente de variação apresentou um valor bastante elevado (próximo a 90%), sugerindo possíveis diferenças genéticas e, portanto, potencial de melhoramento da espécie (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Dentre as populações amostradas, verificou-se que, aquelas nas quais os frutos são oriundos de regiões localizadas mais ao Norte do Estado de Minas Gerais – compreendendo os Municípios de Arinos; Januária; Japonvar;

Montes Claros; Salinas — foram as que apresentaram valores mais elevados de vitamina A. Na Tabela 1.11 é apresentada a contribuição para o fornecimento de vitamina A da polpa de pequi, das referidas populações, com base nas recomendações do IOM (2001), em que as necessidades diárias de RAE, na dieta, para um indivíduo adulto é de 700 $\mu\text{g}/\text{dia}$ (mulheres) e 900 $\mu\text{g}/\text{dia}$ (homens).

TABELA 1.11. Contribuição na dieta para o fornecimento de Vitamina A da polpa de pequi, *Caryocar brasiliense*, provenientes de Municípios Norte-Mineiros, com base nas recomendações do IOM (2001)

Contribuição para o fornecimento diário de Vitamina A, em termos percentuais (%), que a polpa de pequi confere, segundo as necessidades de			
1 RAE = 1 μg de retinol			
População	RAE 100 g⁻¹	Mulheres (700 RAE)	Homens (900 RAE)
ARI	315,42	45	35
JAN	718,20	103	80
JAP	441,99	63	49
MOC	299,25	43	33
SAL	464,04	66	52
Média	447,78	64	50

É, ainda, digno de nota destacar que a contribuição da polpa de pequi, para o fornecimento diário de vitamina A, em amostras originárias do Município de Januária-MG, foram superiores às respectivas contribuições, em mulheres e homens, apresentadas pela cenoura (625 RAE 100 g⁻¹ — 89% e 69%) e pela moranga (268 RAE 100 g⁻¹ — 38% e 30%) — hortaliças consideradas boas fontes de vitamina A — CAMPOS & ROSADO (2005). Comparando-se os pequis Norte-Mineiros com outras frutas, verificou-se, também, que estes apresentaram valores mais elevados de vitamina A. Exemplificando, pode-se citar algumas frutas do Cerrado [cagaita (45 RAE 100 g⁻¹) — *Eugenia dysenterica* (CARDOSO *et al.*, 2011) e coquinho azedo (146 RAE 100 g⁻¹) — *Butia capitata* (FARIA *et al.*, 2008)] e outras frutas tropicais [manga (130 RAE

100 g⁻¹) — *Mangifera indica* L. var. Tommy Atkins; goiaba (31 RAE 100 g⁻¹) — *Psidium guajava* var. Paluma e mamão (204 RAE 100 g⁻¹) — *Carica papaya* L. var. Formosa (OLIVEIRA *et al.*, 2011)].

1.4.2.3. Análise Multivariada

As informações obtidas foram reunidas com o objetivo de se verificar tendências de classificação das amostras (populações). Ainda, se essas tendências confirmam pesquisas anteriores. Para tal, foi realizada a análise multivariada dos dados, através de um estudo não supervisionado, aplicando ao conjunto de variáveis (dados), a Análise das Componentes Principais (ACP) e a Análise Hierárquica por Agrupamento (AHA).

Na ACP empregou-se uma matriz 18 x 12, na qual os objetos (linhas) constituíram-se das 18 populações investigadas e as variáveis (colunas) foram: informações físico-químicas da polpa do pequi [umidade; teores de β -criptoxantina, β -caroteno e de CPVA totais (base seca e úmida); valor de vitamina A] e informações geográficas de cada população analisada (latidute e longitude). O resultado da Análise das Componentes Principais (ACP) encontra-se na Figura 1.12.

Através ACP foi verificado que as componentes CP1 e CP2 representam 73,90% da variância total dos dados e forneceram informações discriminatórias e classificatórias das amostras. Através do gráfico de escores (Figura 1.12), observa-se a formação de três agrupamentos. Pode-se observar que, no quadrante “Y”, encontram-se as populações de pequi (*Caryocar brasiliense*) de quimiótipos superiores, no que se refere aos teores de carotenóides com atividade provitamina A, destacando-se as cidades Norte Mineiras: Januária, Japonvar, Salinas, Montes Claros e Arinos. No quadrante “X”, foram agrupados pequis provenientes do Norte do País (Estados do Maranhão e Tocantins), que apresentaram teores relativamente baixos de carotenóides. Já, no quadrante “Z” e “W” agruparam-se amostras oriundas do Cerrado Mineiro, com valores intermediários de CPVA.

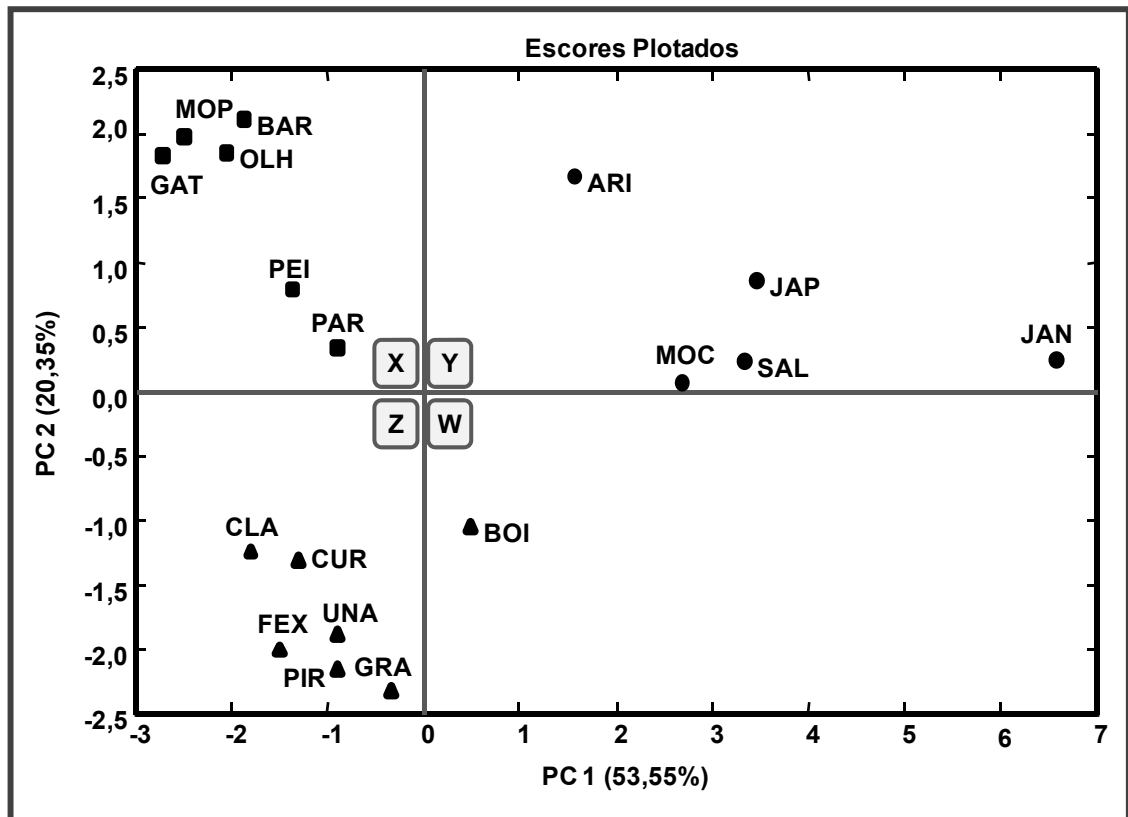


FIGURA 1.12. Gráfico de Escores das populações de *Caryocar brasiliense*, em que PC1 e PC2 explicaram 73,90% da variância total. Considerando as concentrações de carotenóides com atividade provitamina A, valor de vitamina A e umidade da polpa e, ainda, as informações geográficas (latitude e longitude).

As tendências observadas através da ACP foram confirmadas pelo dendrograma obtido pela AHA (Figura 1.13), havendo inclusive uma melhor diferenciação das amostras e, também, formação de três agrupamentos. Pode-se afirmar que as amostras provenientes da cidade de Januária-MG se distanciaram bastante das demais, apontando-a como a melhor fonte de carotenóides com atividade provitamina A; seguida das cidades Norte Mineiras: Montes Claros, Japonvar, Salinas e Arinos. Um segundo agrupamento é formado pelos pequis, provenientes das demais cidades mineiras. Quanto às amostras oriundas da Região Norte do País foi possível agrupá-las de acordo com seus Estados de origem.

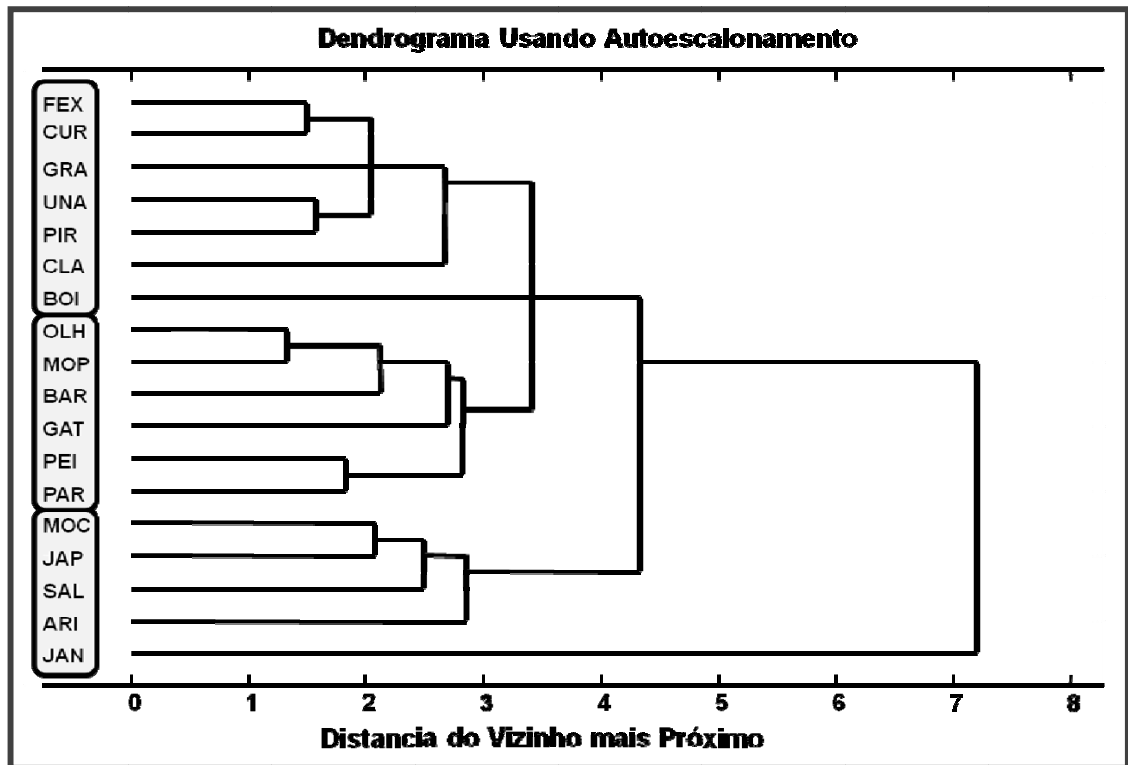
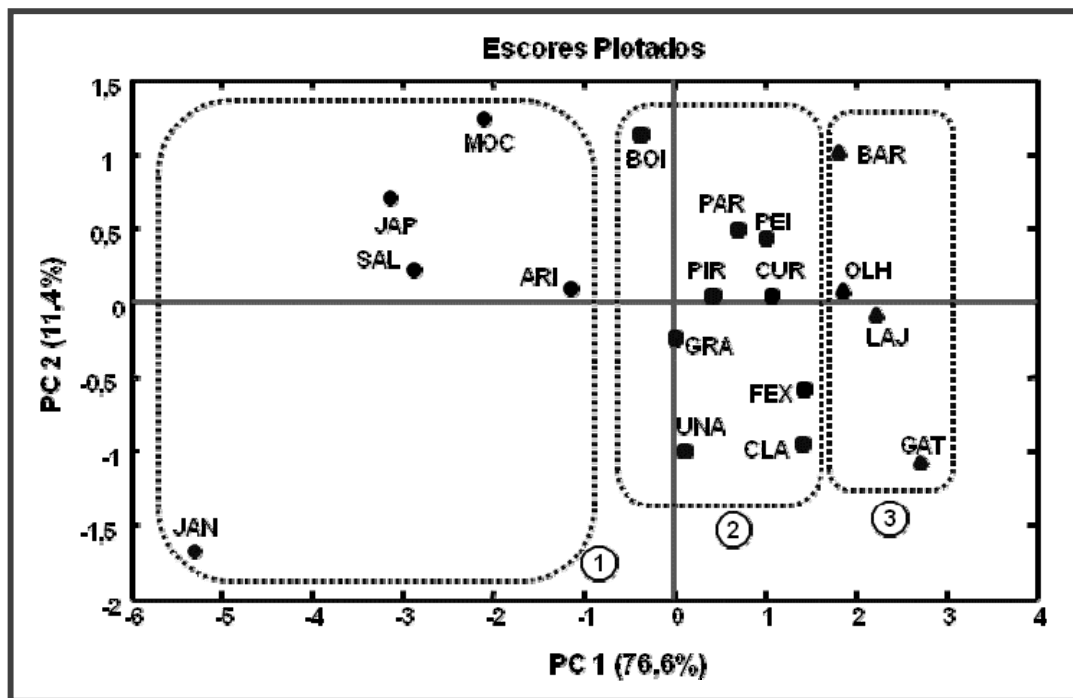


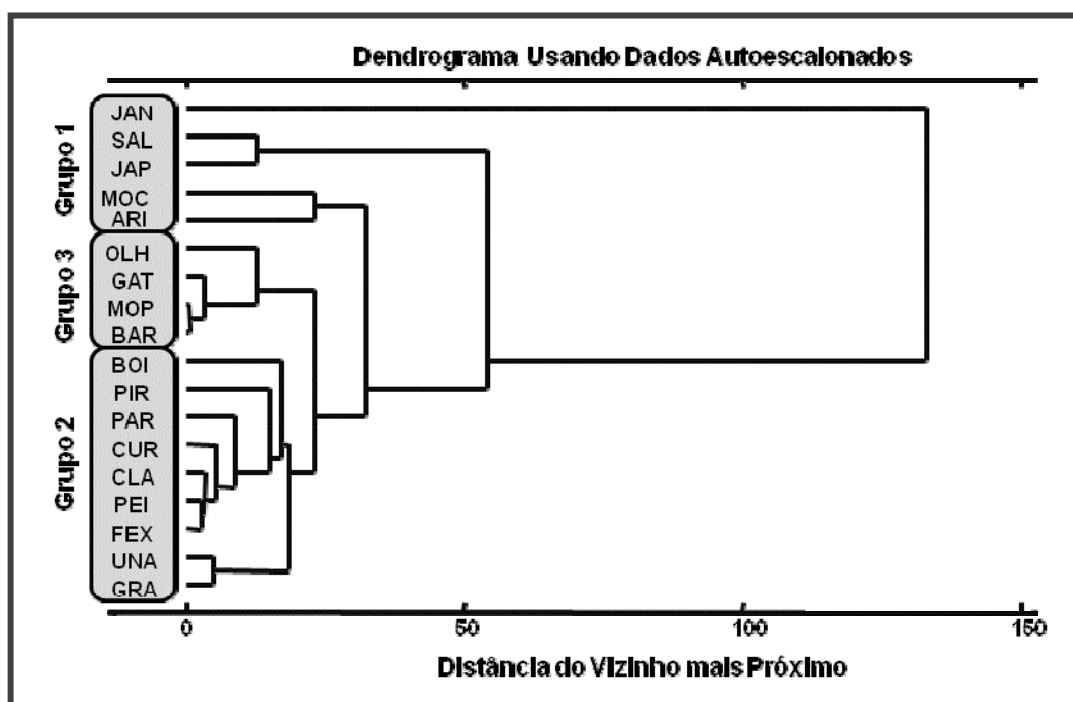
FIGURA 1.13. Dendrograma obtido pela Análise Hierárquica por Agrupamento.

Entretanto, realizou-se nova análise multivariada (ACP e AHA), na qual foram desconsideradas as informações geográficas (latitude e longitude). Os resultados obtidos são apresentados na Figura 1.14. Com essas análises, ACP e AHA, foi possível agrupar as amostras segundo seus teores de CPVA, ou seja, apenas informações físico-químicas. As componentes PC1 e PC2 acumularam 88,0% da variância total dos dados. Dessa forma, verificou-se que o agrupamento das amostras, anteriormente, no que diz respeito aos pequis oriundos da Região Norte (MA e TO), sofreu influências das informações geográficas. Portanto, doravante, as análises quimiométricas foram realizadas, apenas, com características físico-químicas das amostras analisadas.

Então, conforme apresentado nos gráficos de escores e dendrograma, verificou-se que as amostras de pequi foram reunidas em três agrupamentos, de acordo com a ordem decrescente do teor de carotenóides.



A



B

FIGURA 1.14. Gráficos de Escores e Dendrogramas das populações de *C. brasiliense* obtidos pela Análise Multivariada, considerando as concentrações de carotenóides com atividade provitamina A: (A) Análise das Componentes Principais – em que PC1 e PC2 explicaram 88% da variância total. (B) Análise Hierárquica por Agrupamento.

Nesse estudo, também, se corroborou que os frutos, provenientes da Região Norte Mineira, foram os que apresentaram maiores quantidades de CPVA, ou seja, Grupo1: Januária, Japonvar, Salinas, Montes Claros e Arinos. Deve-se registrar que os pequis provenientes do Estado do Maranhão foram considerados os frutos com teores mais baixos de carotenóides (Grupo 3). As demais populações amostradas, incluindo, os dois Municípios do Tocantins, apresentaram teores intermediários; para tal foram reunidas no agrupamento 2.

Na Figura 1.15, tem-se uma ilustração do mapa político brasileiro, dividido em Estados da Federação, no qual realizou a localização das 18 populações amostradas.

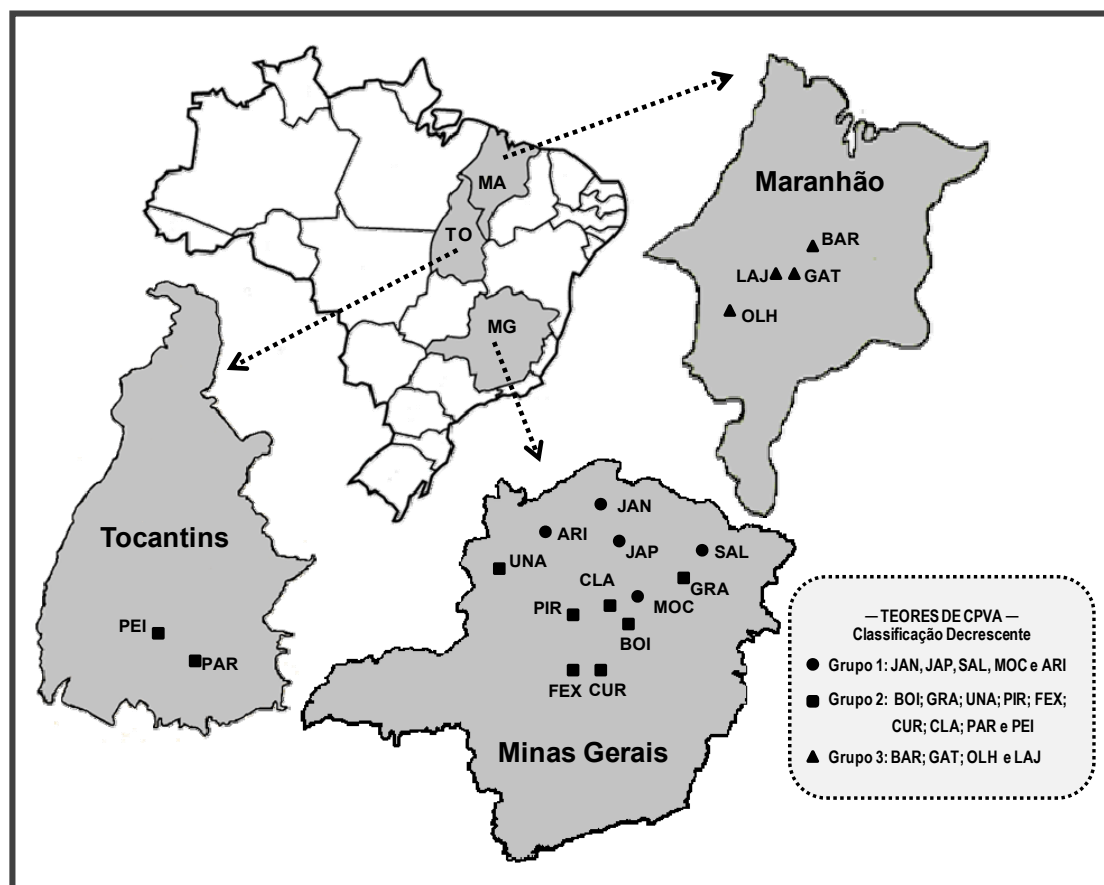


FIGURA 1.15. Mapa Político Brasileiro, dividido em Estados da Federação. Em destaque os Estados de Minas Gerais, Maranhão e Tocantins, nos quais se encontram agrupadas as 18 populações de *Caryocar brasiliense*, segundo seus teores de Carotenóides com Atividade Provitamina A, de acordo com a Análise Multivariada (ACP e AHA).

Nesse mapa, é possível observar os três agrupamentos das amostras formados, obtidos com a ACP e, confirmada, pela AHA. Demonstrou-se, portanto, que a referida análise possibilitou a classificação de amostras de pequis, segundo suas concentrações decrescente de carotenóides com atividade provitamina A e ainda agrupou os pequis do Estado do Maranhão segundo sua localização geográfica.

1.4.2.4. Identificação dos demais Carotenóides

O cromatograma obtido na análise de identificação dos demais carotenóides presentes na polpa do pequi, utilizando como exemplo as amostras provenientes de Januária-MG, é apresentado na Figura 1.16.

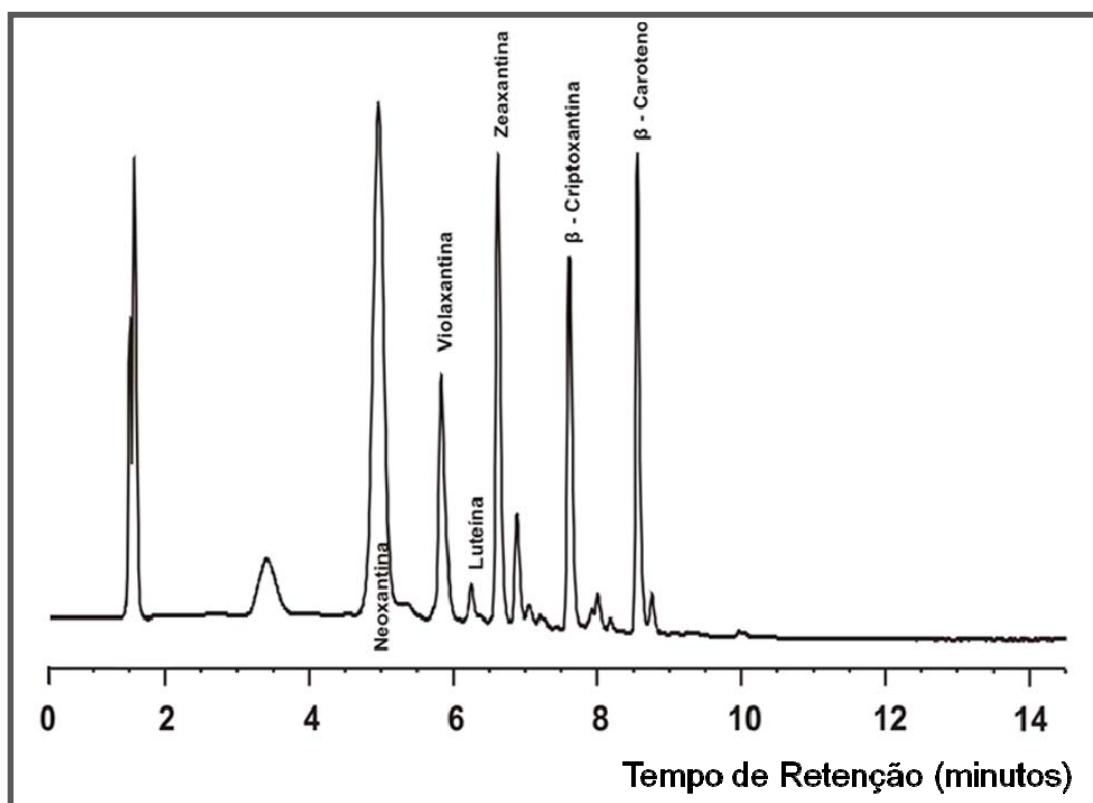


FIGURA 1.16. Cromatograma dos carotenóides da polpa do pequi, *Caryocar brasiliense*, obtido por CLAE-DAD. Condições cromatográficas: coluna YMC – C30 (polimérica); fase móvel composta de um sistema binário, com perfil de eluição com base em um gradiente linear, Fase A – metanol/acetato de amônio 1 mol L⁻¹ (98:2) e Fase B – acetato de etila; vazão de 0,37 mL min⁻¹.

A identificação e quantificação dos carotenóides, presentes na polpa do pequi, encontra-se na Tabela 1.12. Para esse estudo foram selecionadas amostras, representativas dos três Estados brasileiros. Os Estados do Maranhão e Tocantins foram representados pela população de Barra do Corda e Paranã, respectivamente. No que se refere ao Estado de Minas Gerais, as amostras foram escolhidas de acordo com as maiores distâncias: Arinos, Curvelo, Januária, Salinas e Montes Claros; considerando esta última, Montes Claros, como ponto de referência (central).

TABELA 1.12. Identificação quantitativa e qualitativa dos carotenóides presentes na polpa de pequi, expressos na base seca. Comparação dos teores de CPVA entre as duas metodologias utilizadas.

Amostra		Quantidade em $\mu\text{g g}^{-1}$							
Estado	Cidade	Neoxantina	Violaxantina	Luteína	Zeaxantina	CPVA			
						β -criptoxantina		β -caroteno	
						PU*	UFV**	PU*	UFV**
MA	BAR	0,00	0,00	0,00	2,21	0,00	0,97	0,98	2,02
MG	ARI	33,99	6,80	3,46	16,47	4,76	28,72	44,86	66,91
	CUR	6,25	8,20	1,50	19,57	4,49	15,59	6,65	17,57
	JAN	112,01	32,41	4,46	45,54	29,67	87,89	146,80	166,73
	MOC	9,31	2,35	0,60	10,48	4,46	44,35	14,77	67,19
	SAL	29,30	8,22	0,70	16,55	9,84	37,55	42,63	109,77
TO	PAR	16,13	3,31	0,89	13,80	2,02	13,71	19,38	26,57

*PU – Purdue University

**UFV – Universidade Federal de Viçosa – Laboratório de Análise de Vitaminas (LAV/DNS)

Pode-se observar que os carotenóides presentes no fruto do pequi foram: neoxantina, violaxantina, luteína, zeaxantina, β -criptoxantina e β -caroteno. Estes compostos foram descritos, em trabalhos anteriores, na análise da polpa do pequi (AZEVEDO-MELEIRO & RODRIGUEZ-AMAYA 2004).

Verificaram-se diferenças quantitativas entre as amostras estudadas. Entretanto, não ficou evidente nenhuma diferença qualitativa.

Nas sete populações analisadas, evidenciaram-se diferenças quantitativas quanto ao teor de carotenóides provitamina A, obtidos nas duas metodologias empregadas (UFV e *Purdue*). Deve-se ressaltar que, em ambos os casos, cuidados referentes à degradação das amostras pela ação da luz foram devidamente tomados. Em contrapartida, a fim de que as análises fossem realizadas com as amostras *in natura*, as mesmas não receberam nenhum tratamento térmico, que possibilitassem evitar ou mesmo conter degradações de origem enzimática; uma vez que a aplicação de calor poderia, também, ocasionar perdas dos carotenóides. Vale destacar que a desidratação das amostras pode proporcionar redução no teor desses pigmentos, através da oxidação em meios com baixa atividade de água (BALL, 2005; LAVELLI *et al.*, 2007). Sugere-se, portanto, que as diferenças quanto à concentração de CPVA entre as amostras analisadas, *Purdue* e UFV, sejam em função das perdas advindas do processo de liofilização e, ainda, às diferenças quanto a datas em que as análises foram realizadas.

Deve-se salientar que com os resultados aqui obtidos, evidenciaram-se teores consideráveis no que diz respeito aos carotenóides zeaxantina + luteína (Z+L), em torno de 18%, principalmente para os frutos originários de Minas Gerais. Grande interesse tem sido demonstrado a esses pigmentos devido sua importância na prevenção de doenças oftálmicas, tais como catarata e a degeneração macular (DMA), relacionada à idade (KRINSKY *et al.*, 2003). Portanto, pelas quantidades de zeaxantina e luteína, encontradas na polpa do pequi, pode-se considerar esse fruto uma fonte desses nutrientes (MURILLO *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2010). Mais uma vez merecendo destaque o pequi da cidade de Januária-MG que apresentou um teor desses carotenóides, somados, em torno de $50 \mu\text{g g}^{-1}$ (base seca) e $20 \mu\text{g g}^{-1}$ (base úmida).

Adicionalmente, pode-se dizer que os carotenóides majoritários do *Caryocar brasiliense* foram o β -caroteno e neoxantina, aproximadamente 66%. A importância do β -caroteno tem sido bastante estudada e difundida no meio acadêmico (BURRI, 1997) e, também neste trabalho, como precursor de vitamina A (retinol). Entretanto, mais recentemente, a neoxantina tem despertado algum interesse, devido sua ação antioxidante (PALACE *et al.*,

1999) e aos avanços das técnicas instrumentais de análises que tem evidenciado cada vez mais esse carotenóide em vegetais.

1.5. CONCLUSÕES

O teor de umidade da polpa do pequi (*Caryocar brasiliense*), dentre as demais características químicas aqui obtidas para as 18 populações amostradas, foi a que teve uma menor variação; apresentando um coeficiente de variação em torno 8,7%. Coeficiente de variação dessa magnitude é muito comum quando se trata de replicatas de amostras biológicas.

As 18 populações de pequi apresentaram significativas diferenças, no que se refere aos teores de carotenóides com atividade provitamina A (CPVA). No entanto, essas diferenças foram menores entre amostras situadas mais próximas uma das outras. Provavelmente, isso se deve às semelhanças edafoclimáticas, bem como à possibilidade de haver um maior fluxo gênico entre essas populações.

Os pequis da cidade Norte Mineira, Januária, apresentaram altos teores de CPVA. Além de destacá-los como fontes de vitamina A, estes pequis também apresentaram teores elevados dos demais carotenóides. Deve-se, portanto, sugeri-los como componentes de estudos de formação de bancos de germoplasma, interessados na seleção de espécies que apresentem genótipos/quimiótipos superiores quanto ao teor desses nutrientes.

Através da ACP e AHA foi possível agrupar as amostras, através do teor decrescente de CPVA. Ainda, foi possível reunir as amostras oriundas do Estado do Maranhão em um único agrupamento e classificá-las pelos baixos teores de CPVA encontrados em sua polpa. Foi, também, evidenciado um grupo de amostras – Januária, Japonvar, Arinos, Salinas e Montes Claros – as quais se apresentaram superiores, quanto ao teor desses pigmentos (nutrientes).

Os carotenóides identificados na polpa do pequi (*C. brasiliense*) foram: neoxantina, violaxantina, luteína, zeaxantina, β -criptoxantina e β -caroteno. Sendo neoxantina e β -caroteno, os componentes majoritários. O pequi pode ser indicado como fonte dos carotenóides (xantofilas) zeaxantina-luteína, considerados como quimiopreventivos de doenças oftálmicas como a catarata e DMI (degeneração macular, relacionada à idade).

1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDI, H. & WILLIAMS, L. J. Principal component analysis. John Wiley & Sons, Inc., v. 2, p. 433–459, 2010.

AGUIAR, L. M. S. & CAMARGO, A. J. A. Cerrado: ecologia e caracterização. Planaltina: EMBRAPA–CPAC, 2004.

AHERNE, S. A.; JIWAN, M. A.; DALY T.; O'BRIEN, N. M. Geographical location has greater impact on carotenoid content and bioaccessibility from tomatoes than variety. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 64, p. 250–256, 2009.

ALMEIDA, S. P. & SILVA, J. A. Piqui e Buriti: importância alimentar para a população dos cerrados. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1994. 38p.

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464p.

ALVES, C. C. O.; RESENDE, J. V.; CRUVINEL, R. S. R.; PRADO, M. E. T. Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) liofilizada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 4, p. 830–839, 2008.

ARAÚJO, F. D. A review of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) – an economically valuable species of the central Brazilian cerrados. *Economic Botany*, v. 49, n. 1, p. 40–48, 1995.

ASSUNÇÃO, R. B. & MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and ascorbic acid from cashew Apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. *Food Chemistry*, v. 81, p. 495–502, 2003.

AZEVEDO-MELEIRO, C. H. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, p. 385–396, 2004.

BALL, G. F. M. **Vitamins in Foods: analysis, bioavailability, and stability**. CRC Press Taylor & Francis U.S., 2005. 824 p.

BARTLEY, G. E. & SCOLNIK, P. A. Plant Carotenoids: Pigments for Photoprotection, Visual Attraction, and Human Health. **The Plant Cell**, v. 7, p.1027–1038, 1995.

BATLLE-BAYER, L.; BATJES, N. H.; BINDRABAN, P. S. Changes in organic carbon stocks upon land use conversion in the Brazilian Cerrado: A review. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 137, p. 47–58, 2010.

BARUA, A. B. Chapter 13. Bioconversion of provitamin A carotenoids. In: MAYNE, S. T.; SIES, H.; KRINSKY, N. I., Ed(s). **Carotenoids in Health and Disease**. Ames: CRC Press, p.295–312, 2004.

BOUDRIES, H.; KEFALAS, P.; HORNERO-MÉNDEZ, D. Carotenoid composition of Algerian date varieties (*Phoenix dactylifera*) at different edible maturation stages. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1372–1377, 2007.

BRANDÃO, M.; LACA-BUENDÍA, J. P.; MACEDO, J. F. **Árvores Nativas e Exóticas do Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. **Portaria n. 113, de 29 de dezembro de 1995**. D.O.U. de 09/01/1996.

BRITTON, G. UV/visible spectroscopy. In: BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H., Ed(s). **Carotenoids: spectroscopy**. Basel: Birkhäuser Verlag, v. 1B, p 13–63, 1995.

BRUNS, R. E. & FAIGLE, J. F. G. Quimiometria. **Química Nova**, São Paulo, v. 8, p. 84–99, 1985.

BURLINGAME, B.; CHARRONDIERE, R.; MOUILLE, B. Food composition is fundamental to the cross-cutting initiative on biodiversity for food and nutrition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, p. 361–365, 2009.

BURRI, B. J. Beta-carotene and human health: a review of current research. **Nutrition Research**, v.17. n. 3, p. 547–580,1997.

CAMPOS, F. M. & ROSADO, G. P. Novos fatores de conversão de carotenóides provitamínicos A. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 571–578, 2005.

CARDOSO, L. M.; MARTINO, H. S. D.; MOREIRA, A. V. B.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) of the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: physical and chemical characterization, carotenoids and vitamins. **Food Research International**, v. 44, p. 2151–2154, 2011.

CARDOSO, W. S.; PAES, M. C. D.; GALVÃO, J. C. C.; RIOS, S. A.; GUIMARÃES, P. E. O.; SCHAFFERT, R. E.; BORÉM, A. Variabilidade de genótipos de milho quanto à composição de carotenoides nos grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.2, p.164–173, 2009.

CHANDER, S.; GUO, Y. Q.; YANG, X. H.; ZHANG, J.; LU, X. Q.; YAN, J. B.; SONG, T. M.; LI, J. S. Using molecular markers to identify two major loci controlling carotenoid contents in maize grain. **Theoretical and Applied Genetics**, v.116, p. 223–233, 2008.

CHÉVEZ POZO, O.V. **O pequi (*Caryocar brasiliense*): uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do cerrado no Norte de Minas Gerais**. 1997. 100f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CORREIA, P. R. M. & FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando Procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 481–487, 2007.

CRONQUIST, A. **The Evolution and Classification of Flowering Plants**. 2nd ed. New York: The New Botanical Garden, 1988.

DAVEY, M. W. A; VAN DEN BERGH I.; MARKHAM, B. R.; SWENNEN, R.; KEULEMANS, J. Genetic variability in Musa fruit provitamin A carotenoids, lutein and mineral micronutrient contents. **Food Chemistry**, v. 115, p. 806–813, 2009.

DIAS, M. G.; CAMÕES, M. F. G. F. C.; OLIVEIRA, L. Carotenoids in traditional Portuguese fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 113, p. 808–815, 2009.

DRAGOVIC-UZELAC, V.; LEVAJ, B.; MRKIC, V.; BURSAC, D.; BORAS, M. The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region. **Food Chemistry**, v.102, p. 966–975, 2007.

EDGE, R.; MCGARVEY, D. J.; TRUSCOTT, T. G. The carotenoids as anti-oxidants – a review. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 41, p. 189–200, 1997.

EMENHISER, C.; SANDE, L. C.; SCHWARTZA, S. J. Capability of a polymeric C₃₀ stationary phase to resolve *cis-trans* carotenoid isomers in reversed-phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 707, p. 205–216, 1995.

FAGUNDES M.; ARAÚJO, L. S.; NUNES, Y. R. F. Efeitos do Estágio Sucessional do Habitat na Fenologia do Pequi (*Caryocar brasiliense*: Caryocaraceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 1, p. 144–146, 2007.

FARIA, A. F.; HASEGAWA, P. N.; CHAGAS, E. A.; PIO, R.; PURGATTO, E.; MERCADANTE, A. Z. Cultivar influence on carotenoid composition of loquats from Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, p. 196–203, 2009.

FARIA, J. P.; ALMEIDA, F.; SILVA, L. C. R.; VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Caracterização da polpa do coquinho-azedo (*Butia capitata* var *capitata*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 827-829, 2008.

FARRÉ, G.; SANAHUJA, G.; NAQVI, S.; BAI, C.; CAPELLA, T.; ZHU, C.; CHRISTOU, P. Travel advice on the road to carotenoids in plants. **Plant Science**, v.179, p. 28–48, 2010.

FERRI, M. G. **Plantas do Brasil: Espécies do Cerrado**. São Paulo: Edgard Blücher, 1969.

FERRUZZI, M. G.; LUMPKIN, J. L.; SCHWARTZ, S. J.; FAILLA, M. Digestive Stability, Micellarization, and Uptake of α -Carotene Isomers by Caco-2 Human Intestinal Cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2780–2785, 2006.

FORINA, M.; ARMANINO, C.; RAGGIO, V. Clustering with dendrograms on interpretation variables. **Analytica Chimica Acta**, v. 454, p. 13–19, 2002.

FRASER, P. D. & BRAMLEY, P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Progress in Lipid Research**, v. 43, p. 228–265, 2004.

FURR, H. C. Analysis of retinoids and carotenoids: problems resolved and unsolved. **The Journal of Nutrition**, supplement, p. 281S–285S, 2004.

GARCIA, C. C.; FRANCO, P. I. B. M.; ZUPPA, T. O.; ANTONIOSI-FILHO, N. R.; LELES, M. I. G. Thermal stability studies of some cerrado plant oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 87, n. 3, p. 645–648, 2007.

GOODWIN, T. W. Metabolism, nutrition, and function of carotenoids. **Annual Review of Nutrition**, v. 6, p. 273–297, 1986.

GOODWIN, T. W. **The Biochemistry of the Carotenoids: Plants**. London: Chapman and Hall, 1980.

HARRISON, E. H. Mechanisms involved in the intestinal absorption of dietary vitamin A and provitamin A carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta**, *in press*, 2011.

HOPKE, P. K. The evolution of chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 500, p. 365–377, 2003.

HUGHES, D. A. Dietary Carotenoids and Human Immune Function. **Nutrition**, v.17, n. 10, p. 823–827, 2001.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Mapa de Biomas do Brasil**. Brasília, 2004.

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

KEAN, E. G.; HAMAKER, B. R.; FERRUZZI, M. G. Carotenoid Bioaccessibility from Whole Grain and Degermed Maize Meal Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 9918–9926, 2008.

KIMURA, M. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**, v. 78, p. 389–398, 2002.

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.; GODOY, H. T. Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamins A. **Food Chemistry**, v. 35, n. 3, p. 187–195, 1990.

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; YOKOYAMA, S. M. Cultivar differences and geographic effects on the carotenoid composition and vitamin A value of Papaya. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 24, n. 5, p. 415–418, 1991.

KRINSKY, N. I. & JOHNSON, E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, p. 459–516, 2005.

KRINSKY, N. I.; LANDRUM, J. T.; BONE, R. A. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, p. 171–201, 2003.

KRISTAL, A. R. Vitamin a, retinoids and carotenoids as chemopreventive Agents for prostate cancer. **The Journal of Urology**, v. 171, p. S54–S58, 2004.

LAVELLI, V.; ZANONI, B.; ZANIBONI, A. Effect of water activity on carotenoid degradation in dehydrated carrots. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1705–1711, 2007.

LEE, J. J.; CROSBY, K. M. ; PIKE, L. M.; YOO, K. S.; LESKOVAR, D. I. Impact of genetic and environmental variation on development of flavonoids and carotenoids in pepper (*Capsicum* spp.). **Scientia Horticulturae**, v. 106, p. 341–352, 2005.

LEITE, G. L. D.; VELOSO, R. V. S.; ZANUNCIO, J. C.; FERNANDES, L. A.; ALMEIDA, C. I. M. Phenology of *Caryocar brasiliense* in the Brazilian cerrado region. **Forest Ecology and Management**, v. 236, p. 286–294, 2006.

LESELLIER, E.; TCHAPLA, A.; MARTY, C.; LEBERT, A. Analysis of carotenoids by high-performance liquid chromatography and supercritical fluid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 633, p. 9–23, 1993.

LIMA, A.; SILVA, A. M. O.; TRINDADE, R. A.; TORRES, R. P.; MANCINI-FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695–698, 2007.

LIU, Y.; PERERA, C. O.; SURESH, V. Comparison of three chosen vegetables with others from South East Asia for their lutein and zeaxanthin content. **Food Chemistry**, v. 101, p.1533–1539, 2007.

LOPES, P. S. N.; SOUZA, J. C. de; REIS, P. R.; OLIVEIRA, J. M.; ROCHA, I. D. F. Caracterização do ataque da broca dos frutos do pequi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 540–543, 2003.

MARQUES, M. C. S.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; GAVILANES, M. L.; SOUZA, J. A.; PEREIRA, N. E.; NEGRÃO, I. O. Efeito fungitóxico dos extratos de *Caryocar brasiliense* Camb. sobre os fungos *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum*. **Ciência e Agrotecnologia**, Edição Especial, p.1410–1419, 2002.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; BRITTON, G.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments. **Food Chemistry**, v.101, p. 1145–1150, 2007a.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Review: Analysis of carotenoids in orange juice. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 638–649, 2007c.

MELO-JÚNIOR, A. F.; CARVALHO, D.; PÓVOA, J. S. R.; BEARZOTI, E. Estrutura genética de populações naturais de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Scientia Forestalis**, n. 66, p. 56–65, 2004.

MERCADANTE, A. Z. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Effects of Ripening, Cultivar Differences, and Processing on the Carotenoid Composition of Mango. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 46, p. 128–130, 1998.

MERCADANTE, A. Z. Chromatographic separation of carotenoids. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 49, n. 1, p. 52–57, 1999.

MOULY, P. P.; GAYDOU, E.; CORSETTI, J. Determination of the geographical origin of valencia orange juice using carotenoid liquid chromatographic profiles. **Journal of Chromatography A**, v. 844, p. 149–159, 1999.

MOITA NETO, J. M. & MOITA, G. C. Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados. **Química Nova**, v. 21, n. 4, p. 467–469, 1998.

MURILLO, E.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; PORTUGAL, F. Screening of vegetables and fruits from Panama for rich sources of lutein and zeaxanthin. **Food Chemistry**, v. 122, p. 167–172, 2010.

MURPHY, S. P. Dietary Reference Intakes for the U.S. and Canada: Update on Implications for Nutrient Databases. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 411–417, 2002.

NAIAL. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, v. 1, 3. ed. Sao Paulo: IMESP, 1985. p. 21–22.

NOGUEIRA, M. F. M. Turismo e cultura em Goiás. **Comunicação & Informação**, v.11, n. 1, p. 138-144, 2008.

O'CONNELL, O. F.; RYAN, L.; O'BRIEN, N. M. Xanthophyll carotenoids are more bioaccessible from fruits than dark green vegetables. **Nutrition Research**, v. 27, p. 258–264, 2007.

PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; STRINGHETA, P. C.; BRANDÃO, S. C. C.; AZEREDO, R. M. C. Carotenoid retention and vitamin A value in carrot (*Daucus carota* L.) prepared by food service. **Food Chemistry**, v. 61, n. 1/2, p. 145–151, 1998.

PRANCE, G. T. The genus *Caryocar* L. (Caryocaraceae): an underexploited tropical resource. 1990. **Advances in Economic Botany**, v.8, p.77–188, 1990.

PROENÇA, C.; OLIVEIRA, R. S.; SILVA, A. P. **Flores e Frutos do Cerrado**. 2. ed. Brasília: Rede de Sementes do Cerrado, 2006. 225 p.

QUIRÓS, A. R. & COSTA, H. S. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p. 97–111, 2006.

RAMOS, M. I. L.; UMAKI, M. C. S.; HIANE, P. A.; RAMOS FILHO, M. M. Efeito do cozimento convencional sobre os carotenóides provitamínicos “A” da polpa do piqui (*Caryocar brasiliense* camb). **Boletim CEPPA**, v. 19, n. 1, p. 23–32, 2001.

RAO, A. V. & RAO L. G. Carotenoids and human health. **Pharmacological Research**, v. 55, p. 207–216, 2007.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian Cerrado Vegetation and Threats to its Biodiversity. **Annals of Botany**, v. 80, p. 223–230, 1997.

RIBEIRO, R. F. **Pequi, o Rei do Cerrado: roendo o fruto sertanejo por todos os lados**. Belo Horizonte: REDE CERRADO/REDE/CAANM/CAMPO VALE, 2000. 62p.

RODRIGUEZ, D. B.; RAYMUNDO, L. C.; LEE, T.; SIMPSON, K. L.; CHICHESTER, C. O. Carotenoid pigment changes in ripening *Momordica charantia* fruits. **Annual Botanic**, v. 40, p. 615–624, 1976.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods.** Washington: ILSI Press, 2001. 64 p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; RODRIGUEZ, E. B.; AMAYA-FARFAN, J. Advances in food carotenoid research: chemical and technological aspects, implications in human health. **Malaysian Journal of Nutrition**, v. 12, n. 1, p. 101–121, 2006.

RODRIGUEZ-AMAYA D. B; KIMURA, M.; GODOY, H. T.; AMAYA-FARFAN, J. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 445– 463, 2008.

ROSSO, V. V. & MERCADANTE A. Z. Carotenoid composition of two Brazilian genotypes of acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) from two harvests. **Food Research International**, v. 38, p. 1073–1077, 2005.

SANTANA, J. G. & NAVES, R. V. Caracterização de ambientes de cerrado com alta densidade de pequizeiros (*Caryocar brasiliense* Camb.) na Região Sudeste do Estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 33, n. 1, p. 1–10, 2003.

SANTOS, B. R.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. M.; SILVA, D. P. C.; MARTINOTTO, C.; SOARES, F. P.; PAIVA, P. D. O. Micropropagação de pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 293–296, 2006.

SASS-KISS A.; KISS, J.; MILOTAY, P.; KEREK, M. M.; TOTH-MARKUS, M. Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. **Food Research International**, v. 38, p. 1023–1029, 2005.

SCHOEFS, B. Determination of pigments in vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 217–226, 2004.

SEGALL, S. D.; ARTZ, W. E.; RASLAN, D. S.; FERRAZ, V. P.; TAKAHASHI, J. A. Triacylglycerol analysis of pequi (*Caryocar brasiliensis* Camb.) oil by electrospray and tandem mass spectrometry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 445–452, 2006.

SILVA, D. B.; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas do cerrado**. Brasília: EMBRAPA-CPAC, 2001. 178 p.

SILVA, S. **Maravilhas do Brasil: frutas**. São Paulo: Escrituras, 2006. 117p.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 5.ed. Rio de Janeiro: LTC, 1994. 387p.

SINGH, J.; UPADHYAY, A. K.; PRASAD, K.; BAHADUR, A.; MATHURA RAIJAGDISH SINGH A.K. UPADHYAY, PRASAD, K.; BAHADUR, A.; RAI M. Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in Brassica vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 106–112, 2007.

SOUZA, O. A.; NASCIMENTO, J. L.; NAVES, R. V.; BORGES, J. D. Propagação sexuada de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.): efeito da procedência de frutos e do ácido giberélico na emergência de plântulas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 3, p. 131–136, 2007.

SOUZA, V. C. & LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia Ilustrado para Identificação das Famílias de Angiospermas da Flora Brasileira, baseado em APGII**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005.

STAHL, W. & SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1740, p. 101–107, 2005.

SU, Q.; ROWLEY, K. G.; BALAZSA, N. D.H. Carotenoids: separation methods applicable to biological samples. **Journal of Chromatography B**, v. 781, p. 393–418, 2002.

TACO — Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. 2^a ed. NEPA-UNICAMP: Campinas, 2006.

TAPIERO, H.; TOWNSEND, D. M.; TEW K. D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 58, p. 100–110, 2004.

TSAO, R.; DENG, Z. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. **Journal of Chromatography B**, v. 812, p. 85–99, 2004.

VIEIRA, F. A.; PACHECO, M. V.; LOPES, P. S. N. Método de escarificação de putâmens de *Caryocar brasiliense* Camb. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 8, p. 1–8, 2005.

VILELA, G. F.; CARVALHO, D.; VIEIRA, F. A. Fenologia de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae) no Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais. **Cerne**, v. 14, n. 4, p. 317–329, 2008.

WISE, B. M. & GALLAGUER, N. B. The process chemometrics approach to process monitoring and fault detection. **Journal of Process Control**, v. 6, n. 6, p. 329–348, 1996.

YEUM, K. & RUSSELL, R. M. Carotenoid bioavailability and bioconversion. **Annual Review of Nutrition**, v. 22, p. 483–504, 2002.

ZHU, C.; BAI, C.; SANAHUJA G.; YUAN, D.; FARRÉ, G.; NAQVI, S.; SHI, L.; CAPELL, T.; CHRISTOU, P. The regulation of carotenoid pigmentation in flowers. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 504, p. 132–141, 2011.

2. ÓLEOS ESSENCIAIS DO PEQUI

2.1. INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OEs), também chamados de óleos voláteis, são líquidos aromáticos, de aspecto oleoso, menos denso que a água, obtidos a partir de material vegetal (flores, brotos, sementes, folhas, galhos, cascas, ervas, madeira, frutos e raízes). Estas substâncias são derivadas do metabolismo secundário de plantas e podem ser obtidas por expressão, fermentação, *enfleurage*, extração (solventes orgânicos, CO₂, microondas). Entretanto, o método de destilação a vapor (hidrodestilação) é o mais comumente utilizado na produção comercial de OEs (BAKKALI *et al.*, 2008; BURT, 2004; EDRIS, 2007; NERIO *et al.*, 2010).

A composição dos OEs, de uma mesma espécie, pode variar em qualidade e quantidade; como também, em sua composição, em função do clima, da composição do solo, do órgão da planta, da idade e fase do ciclo vegetativo (MASOTTI *et al.*, 2003; ANGIONI *et al.*, 2006). Além disso, de acordo com a metodologia de extração utilizada (DONELIAN *et al.*, 2009; SEFIDKON *et al.*, 2006).

É inquestionável a importância da identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais de alimentos, tais como as frutas, uma vez que essas informações contribuem para sua identidade e caracterização (WANG *et al.*, 2009). O *flavor* de um determinado alimento é um dos principais atributos para análise sensorial e aceitação por parte do consumidor. De maneira geral, essa propriedade é conferida pela combinação das moléculas voláteis, presentes nos óleos essenciais (LINFORTH, 2000; BICAS *et al.*, 2011).

Devido ao sabor e aroma característicos, os frutos do *Caryocar brasiliense* (pequi) são amplamente empregados, como condimento, na culinária regional (RIBEIRO, 2000). Compõem variados pratos a base de arroz,

feijão, carnes, farofas etc. Sua polpa é também utilizada na fabricação de licores, doces e extração de óleo. (LIMA *et al.*, 2007; RAMOS *et al.*, 2001; SOUZA *et al.*, 2007).

O desenvolvimento do presente trabalho teve por objetivos:

- Determinar a concentração de óleos essenciais da polpa do pequi, *Caryocar brasiliense*.
- Determinar a composição química dos óleos essenciais do pequi, em amostras coletadas em 18 Municípios do Bioma Cerrado, abrangendo três Estados da Federação (MA, MG e TO); empregando cromatografia gasosa, acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).
- Verificar, fazendo uso de análise multivariada, reconhecimento de padrões classificadores dessas amostras, segundo as respectivas concentrações das substâncias constituintes dos óleos essenciais, das 18 populações amostradas.

2.2. REVISÃO DE LITERATURA

2.2.1. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

O termo “óleo essencial” deriva de uma expressão introduzida, no século XVI, pelo médico suíço Paracelsus Von Hohenheim, que nomeou o princípio ativo de uma droga de *Quinta Essentia* (BURT, 2004; EDRIS, 2007); possivelmente decorrente do pensamento aristotélico de que a matéria seria composta de quatro elementos, ou seja, água, fogo, terra e ar. Para tal, o quinto elemento foi considerado o “espírito” ou força vital. A destilação e evaporação foram, então, idealizadas como um processo de remoção do “espírito da planta”. Esse termo é, ainda, empregado na língua inglesa para designar bebidas alcoólicas destiladas, tais como conhaque, uísque e demais aguardentes. Na atualidade, logicamente, sabe-se que, longe de serem espirituais, os OEs são de natureza física e constituídos de uma mistura complexa de substâncias orgânicas. Dos antigos conceitos, deve-se levar em conta, que os constituintes químicos dos OEs são voláteis, com temperaturas de ebulição relativamente baixas, a fim de possibilitar que a destilação a vapor ocorra à pressão atmosférica. Para tal, devem apresentar massas moleculares menores que 300 Daltons e razoável natureza hidrofóbica (SELL, 2010). Dentro dessas limitações, encontram-se uma diversificada e riquíssima gama de substâncias químicas. Entretanto, existem padrões de estruturas moleculares comumente identificadas como componentes de óleos essenciais de plantas, tais como, hidrocarbonetos, terpenos e terpenóides, alcoóis, aldeídos, cetonas, éteres, ésteres, lactonas, fenóis e éteres fenólicos (BAKKALI *et al.*, 2008; BATISH *et al.*, 2008).

2.2.2. IMPORTÂNCIA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Estima-se serem conhecidas mais de 3.000 substâncias constituintes dos OEs, das quais cerca de 10% tem importância comercial na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (NERIO *et al.*, 2010; LAWRENCET, 2000). O uso de OEs vem ganhando impulso, tanto devido ao interesse

crescente de consumidores em ingredientes de fontes naturais, como também, devido à crescente preocupação relacionada ao uso de substâncias potencialmente prejudiciais, como os aditivos sintéticos na alimentação (REISCHE *et al.*, 1998).

Na natureza, os óleos essenciais desempenham um papel importante na proteção das plantas como agentes antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e também contra potenciais herbívoros. Em alguns casos, seus odores exercem função atrativa para insetos polinizadores ou repelente para outros, indesejáveis (BAKKALI *et al.*, 2008). No entanto, desde a antiguidade, o homem tem utilizado as plantas aromáticas e seus respectivos OEs com os mais variados objetivos: como condimentos e temperos, conferindo sabor e fragrâncias; em medicamentos e cosméticos; como agentes inseticidas, fungicidas, acaricidas e antimicrobianos; na conservação de produtos armazenados; entre outros (BATISH *et al.*, 2008; EDRIS, 2007; HAMMER *et al.*, 1999; ISMAN, 2000; ISMAN & MACHIAL, 2006).

2.2.3. EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Várias são as metodologias utilizadas na extração de OEs. A escolha do método dependerá, principalmente, da finalidade de seu uso (BAKKALI *et al.*, 2008), como também, da localização desse óleo no material vegetal, ou seja, a parte da planta, em que se procederá à extração (ARAUS *et al.*, 2009).

Alguns métodos de extração de óleos essenciais vêm sendo, tradicionalmente, empregados. Em perfumarias, por exemplo, é utilizado o método de *enfleurage*, originário de Grasse – França. Esse método utiliza gorduras animais a fim de adsorver os compostos aromáticos exsudados de flores frescas. Uma placa grande de vidro moldado é untada com uma camada de gordura animal, e as pétalas ou flores inteiras são, então, colocadas na gordura. As flores são trocadas diariamente até que a gordura fique saturada com a fragrância e, em seguida, os óleos voláteis são separados da gordura (PENSUK *et al.*, 2007).

No que se refere à casca de frutas cítricas (Rutaceae), a extração é, geralmente, realizada por expressão, ou seja, prensagem a frio (LAHLOU, 2004). Este processo envolve a abrasão das cascas e da remoção do óleo na

forma de uma emulsão aquosa que é, subsequentemente, separada por centrifugação. Os óleos de citrus obtidos por esse método tem qualidade superior quando comparado aos obtidos por destilação, devido a ausência de aquecimento durante o processo. São, também, mais estáveis à oxidação devido a presença de antioxidantes naturais, tal como os esteróis, os quais não são extraídos pelo método de arraste de vapor (ASHURSTS, 1999).

O CO₂ supercrítico é um solvente lipofílico utilizado na extração de OEs, uma vez que não é tóxico e permite que a operação ocorra a pressões relativamente baixas e a temperaturas próximas à ambiental (REVECHON, 1997). A extração com fluido supercrítico é uma técnica simples, rápida e seletiva. Pode, também, ser considerada uma metodologia conveniente para a preparação de amostras, antes da análise de identificação dos compostos voláteis em analitos obtidos de matrizes vegetais. Deve-se destacar que as indústrias alimentícias, farmacêuticas e de cosméticos vêm, crescentemente, substituindo os métodos tradicionais de extração pelo emprego do CO₂ supercrítico, devido à melhor qualidade apresentada pelo produto final, embora seja essa técnica de custo mais elevado (POURMORTAZAVI & HAJIMIRSADEGHI, 2007).

A irradiação com microondas foi desenvolvida e relatada por alguns pesquisadores como uma técnica alternativa de extração de OEs, a fim de obter um bom rendimento do óleo e redução no tempo de extração (FARHAT *et al.*, 2011; LUCCHESI *et al.*, 2004; TIGRINE-KORDJANIET *et al.*, 2006). De modo geral, a técnica consiste em excitar as moléculas de água presente nos tecidos da planta, causando a ruptura das células vegetais e, assim, a liberação dos óleos essenciais presos no meio extracelular (LAHLOU, 2004).

A hidrodestilação, também denominada de destilação por arraste de vapor, é o método mais comumente empregado para a extração de OEs de plantas (SCHMIDT, 2010). Esta técnica apresenta custos de produção relativamente baixos, embora possa induzir a degradação térmica, a hidrólise e a solubilização de água em alguns de seus constituintes (WENQIANG *et al.*, 2007). Entretanto, as alterações químicas de substâncias componentes dos óleos essenciais, obtidas através da hidrodestilação, são, em alguns casos, consideradas favoráveis; uma vez que alguns dos constituintes presentes no

óleo (produto final), não são originalmente encontrados na planta, mas conferem ao óleo características singulares (SCHMIDT, 2010).

2.2.3.1. Hidrodestilação

O termo "destilação" é derivado do latim *distillare* que significa "gotejar" e descreve o estágio final do processo, quando do gotejamento de um líquido de um condensador para um recipiente de coleta. Na sua forma mais simples, pode ser definida como: evaporação e posterior condensação de um líquido (FERREIRA & AQUINO NETO, 2005; SCHMIDT, 2010).

De acordo com ISO/DIS 9235.2 (1997), os óleos essenciais são definidos como: "... produto obtido a partir de matérias-primas vegetais, quer por destilação com água ou vapor". Portanto, a simples cocção, na presença de água representa um método de obtenção de óleos essenciais.

A teoria da hidrodestilação, envolvida na extração de óleos essenciais de material vegetal, pode ser analisada sob dois aspectos. O primeiro no que se refere à obtenção dos constituintes voláteis, presentes nas glândulas (células) de uma planta. Isto se deve à ruptura das paredes celulares, através do emprego de calor. O calor aplicado, logicamente, eleva a temperatura no interior das células, promovendo a expansão do óleo e o aumento da pressão intracelular. Acontece o rompimento das células e, conseqüentemente, a liberação do óleo essencial. O fluxo de vapor age, então, "arrastando" as moléculas constituintes dos óleos essenciais. O segundo aspecto, diz respeito à destilação, propriamente dita, que pode ser explicada da seguinte forma: dois líquidos não miscíveis (nesse caso, a água e óleo essencial) formam duas fases distintas. A pressão de vapor total desse sistema (ρ) é igual à soma das pressões parciais de vapor dos dois líquidos puros: $\rho = \rho_{\text{água}} + \rho_{\text{óleo}}$. Supondo uma imiscibilidade completa de ambos os líquidos, ρ é independente da composição da fase líquida. A temperatura de ebulição da mistura (T_{EM}) se situa abaixo da temperatura de ebulição dos líquidos água e óleo essencial ($T_{E\text{ água}}$ e $T_{E\text{ óleo}}$). A proporcionalidade entre a quantidade de cada componente e a pressão da fase vapor é dada pela fórmula:

$$\frac{N_{\text{óleo}}}{N_{\text{água}}} = \frac{P_{\text{óleo}}}{P_{\text{água}}}$$

Onde $N_{\text{óleo}}$ e $N_{\text{água}}$ representam, respectivamente, as quantidades de matéria do óleo e da água; ambos, na fase de vapor (SCHMIDT, 2010).

A hidrodestilação, portanto, é o método mais simples de extração do óleo essencial e pode ser realizada, por exemplo, através da imersão da biomassa em água fervente. O material vegetal absorve água durante o processo de ebulição e o óleo contido nas células difunde-se através das paredes celulares por meio de osmose. Uma vez que o óleo tenha se difundido este é vaporizado e arrastado pela corrente de vapor. A volatilidade dos constituintes do óleo não é influenciada pela taxa de vaporização, mas depende sim, do seu grau de solubilidade em água. Como resultado, os componentes dos OEs, solúveis em água, irão destilar antes dos componentes insolúveis em água, ainda que mais voláteis (SCHMIDT, 2010).

Projetos industriais para a extração de OEs são os mais variados possíveis, desde os tradicionais alambiques de cobre até plantas mais sofisticadas com *layout* automatizado, incluindo equipamentos em aço-inox. Em geral, o vapor, produzido em uma caldeira, circula pelo recipiente por onde o material vegetal se encontra (destilador). Os voláteis disprendidos são arrastados pelo vapor d'água, saindo no alto do destilador, e a seguir passam por um sistema de resfriamento, por exemplo, através do uso de uma serpentina que fica em contato com um líquido refrigerante (água) à temperatura mais baixa. O vapor d'água e o óleo são condensados. Nesse produto de saída pode se ver a diferença de duas fases, óleo na parte superior e na inferior a água; elas são separadas por um processo de decantação. A água que sobra deste processo recebe o nome de hidrolato (CERPA *et al.*, 2008; MASANGO, 2005). O esquema de um sistema de destilação por arraste de vapor (hidrodestilação) industrial é apresentado na Figura 2.1.

A hidrodestilação, seguida de extração com solvente, é também uma das técnicas mais comuns empregada na preparação de amostra, para análise de óleos essenciais, em escala de laboratório. A principal vantagem é que a etapa de destilação separa os voláteis dos não voláteis. Outras razões para isso incluem a simplicidade de operação, sem necessidade de aparelhos complexos, reprodutibilidade, rapidez, e a gama de amostras que podem ser manipuladas (PARLIMENT, 2002). Para tal o equipamento utilizado

é o destilador tipo Clevenger modificado (AKISUE, 1986), ilustrado na Figura 2.2.

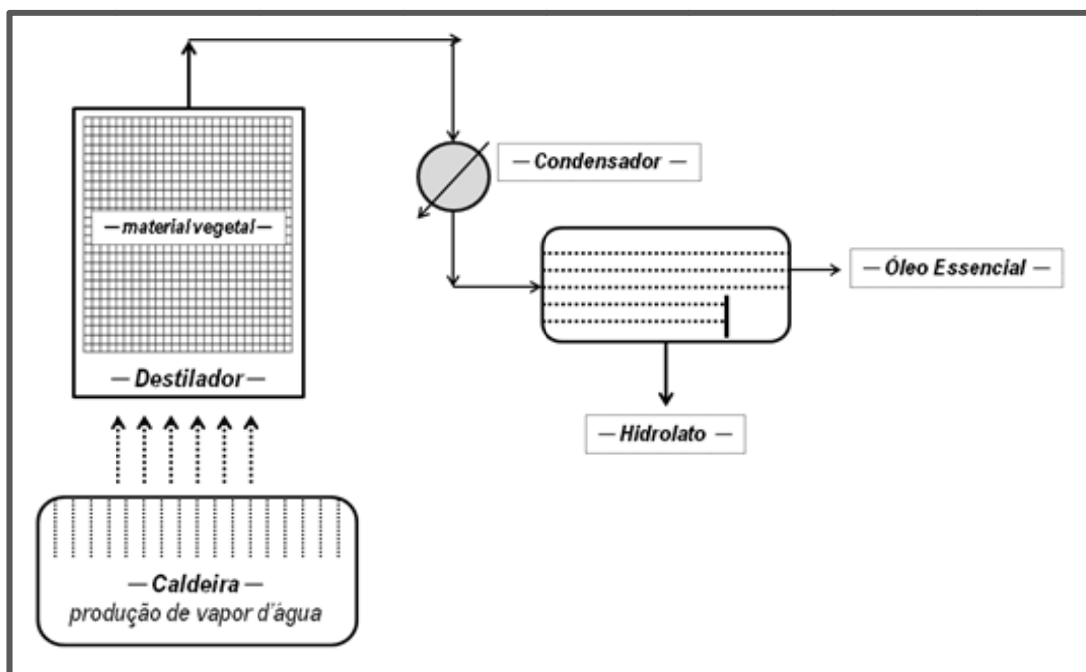


FIGURA 2.1. Diagrama de um processo de extração de OE – hidrodestilação.

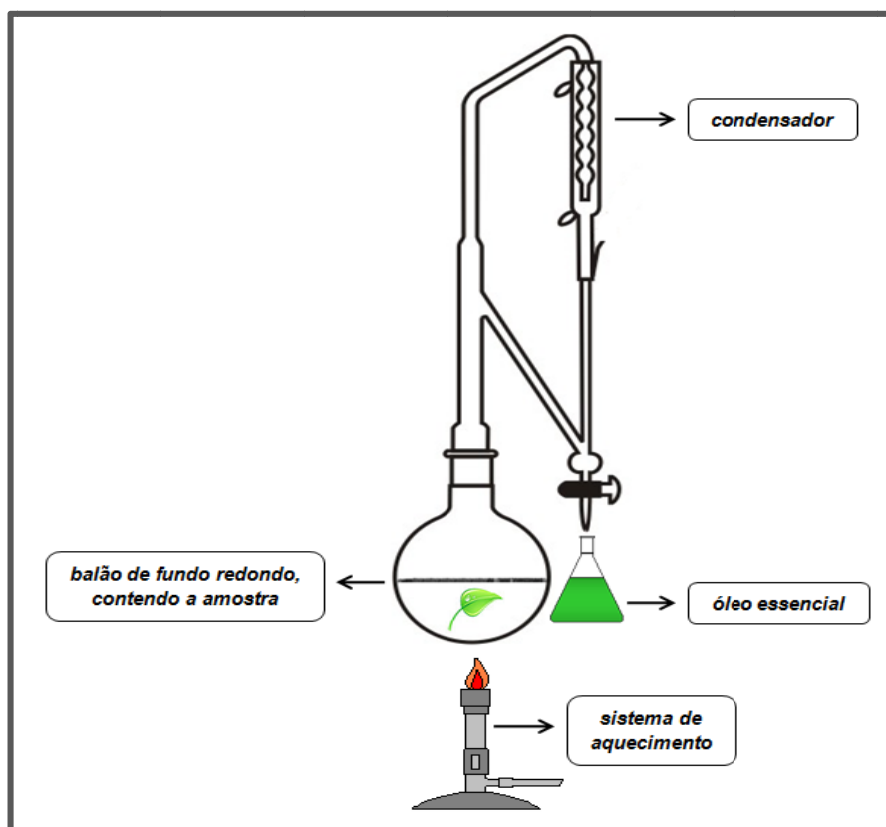


FIGURA 2.2. Ilustração de um destilador tipo Clevenger.

2.2.4. ANÁLISE DE ÓLEOS ESSENCIAIS

A análise de óleos essenciais cumpre, basicamente, um objetivo técnico, ou seja, alcançar uma melhor separação e, posterior, identificação dos constituintes dos óleos essenciais, através da mais eficaz tecnologia disponível. Os resultados obtidos, a partir destas informações, podem então ser utilizados para responder questões de interesse científico e/ou industrial, que motivaram a análise. Pode-se citar como exemplo: avaliação de desempenho entre metodologias de extração de óleos essenciais (GOLMAKANI & REZAEI, 2008; KHAJEH *et al.*, 2010; OKOH *et al.*, 2010); estudos comparativos da composição química de óleos essenciais entre plantas da mesma espécie (HUSSAIN *et al.*, 2008; PAOLINI *et al.*, 2010) ou de espécies distintas (COLE *et al.*, 2007; BICAS *et al.*, 2011); para controle de qualidade e investigação de adulteração (CHUN *et al.*, 2011; HOWES *et al.*, 2003); descobertas de novas substâncias ou, ainda, para caracterização das classes químicas dos compostos presentes (KOYAMA *et al.*, 1997; SMITH *et al.*, 2010); entre outros.

Na atualidade, o pesquisador ou o analista, fazem uso da cromatografia gasosa (CG) como metodologia de separação e, posteriormente, complementam esse estudo através da espectrometria de massas (EM), a fim de possibilitar a identificação dos constituintes dos OEs. Melhorias nessas técnicas analíticas, ou seja, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), serão, imediatamente, relevantes para os avanços nas diversas áreas de atuação dos óleos essenciais (MARRIOTT *et al.*, 2001).

2.2.5. ÓLEOS ESSENCIAIS EM FRUTAS

Substâncias químicas naturais, presentes nas polpas das frutas, tais como os óleos essenciais são sintetizados, pelas plantas, durante o período de maturação. Os compostos voláteis são responsáveis pelo sabor e aroma característicos das frutas, sustentados pelos açúcares e ácidos orgânicos. A composição volátil das frutas é complexa; constituindo-se, geralmente, de ésteres, aldeídos, alcoóis, terpenos e seus derivados; entretanto, os ésteres são os constituintes comuns entre todas as espécies. Os OEs das frutas, obtidos a partir de suas polpas, são geralmente extraídos por destilação por

arraste de vapor e, posteriormente, analisados por CG-EM. Estas técnicas de extração, isolamento e análise requerem quantidades, relativamente, grandes de frutas, às vezes da ordem de quilos, a fim de se obter uma amostra adequada de análise (HARMON, 2002; MCGORRIN, 2002).

2.2.6. ÉSTERES COMO COMPONENTES DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Os ésteres alifáticos contribuem para o aroma de quase todas as frutas e muitos alimentos. Alguns são responsáveis por um aroma de uma fruta em particular, ou para o cheiro de uma flor em particular, no entanto, muitos destes ésteres possuem um inespecífico odor frutado. Na natureza, a maioria dos ésteres deriva-se dos alcoóis e ácidos, com um mesmo número de átomos de carbono. Além dos ésteres de cadeia linear e saturados, alguns compostos de cadeia ramificada, como os ésteres isoamílicos e alguns ésteres insaturados, como o hexenyl, são também importantes. Embora o odor dos ésteres alifáticos com um pequeno número de átomos de carbono é estritamente frutado, este muda para odores que lembram gorduras saponificadas ou, mesmo, odores metálicos com o aumento do número de átomos de carbonos em suas cadeias. Os ésteres são geralmente preparados por esterificação de ácidos carboxílicos com alcoóis. Os procedimentos industriais dependem das propriedades físicas dos ésteres em questão. Métodos biossintéticos podem ser aplicados para produzir ésteres naturais para fins sabor. Em perfumaria, os acetatos são os ésteres alifáticos mais importantes. Nas composições de sabor, os ésteres são os preferidos para aromas de fruta artificial e assim, como na natureza, prevalecem os ésteres etílicos (SURBURG & PANTEN, 2006).

2.2.7. ÓLEOS ESSENCIAIS DO PEQUI

De acordo com a pesquisa de DAMIANI *et al.* (2009), a concentração de óleos essenciais da polpa de pequi, provenientes de Cordisburgo-MG, foi de, aproximadamente, 0,01%. A composição do óleo essencial encontrada foi: ácido hexanóico, hexanoato de etila, hex-2-enoato de etila, *cis*- β -ocimeno, octanoato de etila, oct-2-enoato de etila e decanoato de etila. Dentre estes, o hexanoato de etila (63,0%) e o octanoato de etila (16,3%) são os compostos

majoritários. A extração dos voláteis, neste trabalho, foi realizada por hidrodestilação e posterior análise por CG-EM.

No entanto, MAIA *et al.* (2008); estudando a composição de OEs da polpa de pequi, oriundos do Município de Chapada dos Guimarães, Estado do Mato Grosso; detectaram 60 compostos voláteis; incluindo uma mistura de ésteres, ácidos graxos saturados, hidrocarbonetos de cadeia longa e terpenos. Os principais compostos identificados foram: hexanoato de etila (52,9%); octanoato de etila (4,6%), álcool tetraidrofurfurílico (4,3%), butanoato de etila (4,1%), palmitato de butila (3,7%), estearato de isobutila (2,6%), ácido 3-metilvalérico (2,6%) e fenilacetaldéido (0,4%). Sugeriu-se que estes compostos são os constituintes químicos, “chaves”, do aroma do pequi (Figura 2.3).

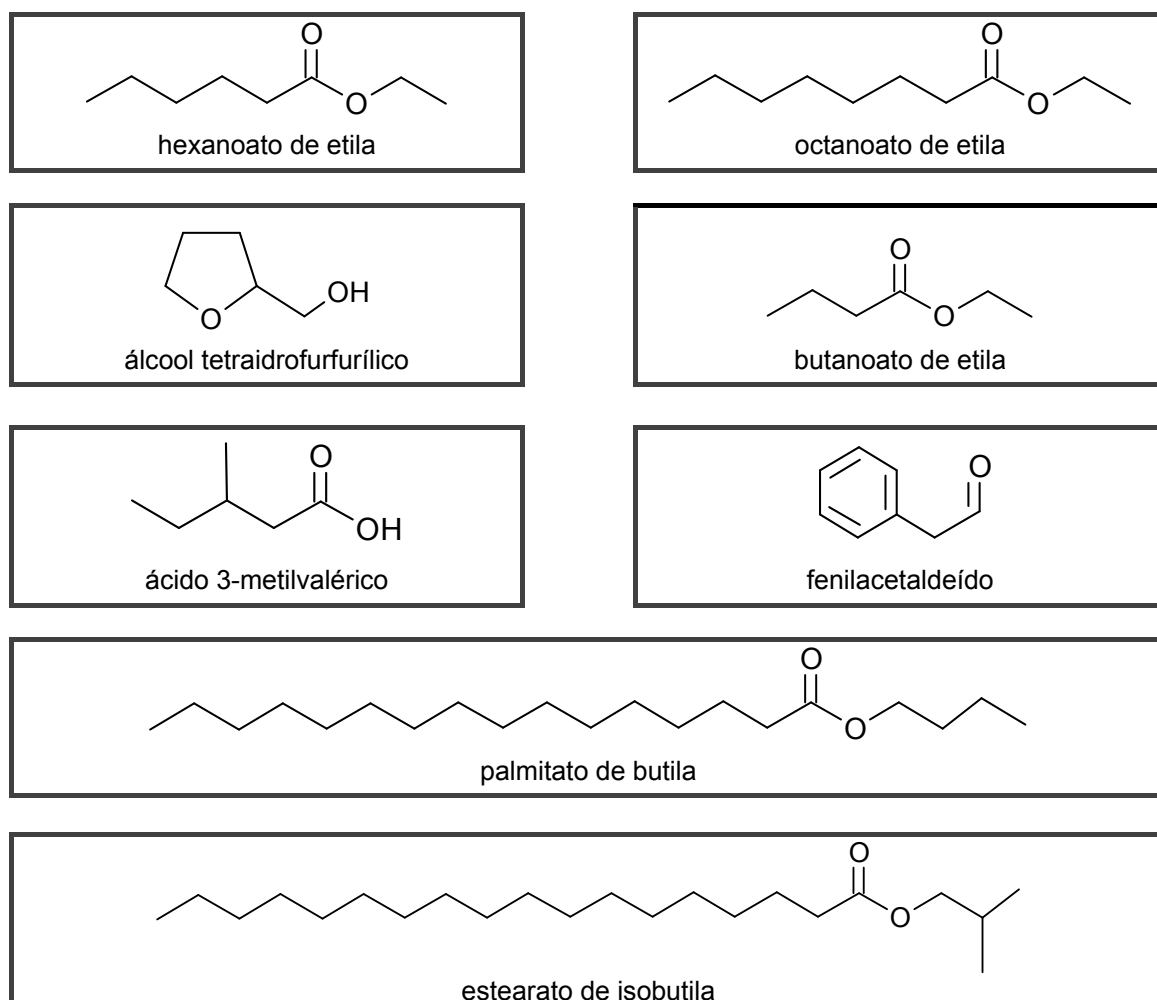


FIGURA 2.3. Estruturas de constituintes químicos “chave” do aroma da polpa do fruto do *C. brasiliense* (MAIA *et al.*, 2008).

A obtenção dos OEs, por MAIA *et al.* (2008), foi realizada por destilação-extração simultâneas (SDE), empregando-se um micro-destilador-extrator, aparato de Likens-Nickerson. Os óleos essenciais foram analisados por GC-EM.

2.3. MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1. MATERIAL VEGETAL

As coletas das amostras foram realizadas nos Estados do Maranhão, Minas Gerais e Tocantins. Foram coletadas amostras de 18 populações, entre os meses de dezembro de 2009 e janeiro de 2010.

A escolha dos locais de coleta foi, prioritariamente, o Estado de Minas Gerais, o qual tem o Bioma Cerrado equivalente a 57% do total da área ocupada pelas demais vegetações (41% Mata Atlântica e 2% Caatinga), que corresponde a 16% de todo o Cerrado Nacional (IBGE, 2004). As aquisições das amostras, em Minas Gerais (12 populações), abrangeram: a Região Central (Curvelo e Felixlândia); a Região do Noroeste de Minas (Arinos e Unaí) e a Região do Norte de Minas (Bocaiúva, Claro dos Poções, Grão Mogol, Januária, Japonvar, Montes Claros, Pirapora e Salinas) – fronteira ao Bioma Caatinga. A distância aproximada entre os municípios foi em torno de 100 km.

A seleção dos demais locais de aquisição de amostras, Estados do Maranhão e do Tocantins, levou-se em conta a representatividade, no que diz respeito ao Bioma Cerrado; ou seja, 65% e 91% do total da área ocupada pelas vegetações e 11% e 12% de todo Cerrado Nacional, respectivamente (IBGE, 2004); como também as, prováveis, diferenças geográficas. Deve-se destacar que o Cerrado do Estado do Maranhão situa-se em região de fronteira com a Floresta Amazônica.

A coleta dos frutos, após queda natural, foi realizada nos Municípios, em áreas com pouca interferência antrópicas, em horários matutinos. Depois de coletados, os frutos foram acondicionados em caixas isotérmicas com gelo e transportados para o Departamento de Química (DEQ) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), onde foram armazenados, com a casca, em freezer à temperatura de congelamento de -18°C até que se procedessem as análises. De maneira aleatória dividiu-se as amostras em três lotes: dois lotes de ± 4 kg, análise de carotenóides e de óleos fixos (Capítulo 1 e 3) e um lote com ± 12 kg, análise de óleos essenciais. Testemunhas de cada uma das populações foram

herborizadas (exsicata e carpoteca) e incorporadas ao acervo do Herbário VIC do Departamento de Biologia Vegetal (DBV) da UFV. As populações e os detalhes de coleta estão sumarizados na Tabela 2.1.

TABELA 2.1. Populações de *Caryocar brasiliense*, código das amostras, data da coleta dos frutos, dados geográficos* e Registro no Herbário DBV/UFV

Estado	Cidade	Código	Data Coleta (mês/ano)	Latitude	Longitude	Número Registro
MA	Barra do Corda	BAR	01/2010	05°37'30"	45°07'30"	VIC32272
	Grajaú I (Gato Preto)	GAT	01/2010	05°52'30"	46°07'30"	VIC32271
	Grajaú II (Olhos D'Água)	OLH	01/2010	05°52'30"	46°07'30"	VIC32273
	Lajeado Novo	LAJ	01/2010	06°07'30"	47°07'30"	VIC32270
MG	Arinos	ARI	12/2009	15°56'15"	46°03'45"	VIC34071
	Bocaiúva	BOI	12/2009	17°03'45"	43°48'45"	VIC34077
	Claro dos Poções	CLA	01/2010	17°03'45"	44°11'15"	VIC34082
	Curvelo	CUR	01/2009	18°48'45"	44°26'15"	VIC34079
	Felixlândia	FEX	01/2010	18°48'45"	44°56'15"	VIC34080
	Grão Mogol	GRA	01/2010	16°33'45"	42°56'15"	VIC34073
	Januária	JAN	12/2009	15°26'15"	44°18'45"	VIC 31602
	Japonvar	JAP	12/2009	15°56'15"	44°18'45"	VIC 31601
	Montes Claros	MOC	01/2010	16°41'15"	43°48'45"	VIC34081
	Pirapora	PIR	01/2010	17°18'45"	44°56'15"	VIC34072
	Salinas	SAL	01/2010	16°11'15"	42°18'45"	VIC33269
Unaí	UNA	01/2010	16°18'45"	46°56'15"	VIC34076	
TO	Paranã	PAR	12/2009	12°37'30"	47°52'30"	VIC34078
	Peixe	PEI	12/2009	12°07'30"	48°37'30"	VIC34075

* Dados obtidos através de <http://www.cdbrasil.cnpm.embrapa.br>; em 12/08/2010.

2.3.2. ANÁLISE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DA POLPA DO PEQUI

A análise dos óleos essenciais; que compreenderam as etapas de extração, identificação e quantificação, tanto do teor de óleo como da composição deste, para cada uma das 18 populações investigadas; foi realizada no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos – LASA, do Departamento de Química da UFV. Procedeu-se às análises utilizando a ordem de aquisição

das amostras, com o objetivo de que as mesmas estivessem em condições semelhantes, no que se refere ao menor tempo possível de congelamento.

2.3.2.1. Preparo das Amostras - Obtenção da Polpa

Para se proceder às análises foi necessário, o descongelamento dos frutos, seguido do despulpamento dos pirênios, após a eliminação da casca (exocarpo). Tanto a retirada da casca, quanto o despulpamento foram realizados, manualmente, com o uso de luvas de látex, empregando-se, para tal, facas afiadas de aço-inoxidável.

2.3.2.2. Extração dos Óleos Essenciais do Pequi

A polpa obtida foi dividida em três porções de 100 g cada (triplicata). Cada porção da amostra foi triturada com 1 L de água destilada, em liquidificador industrial (copo em aço inox AISI 304, capacidade 2 L, marca TRON) e submetida a três horas de hidrodestilação em aparato tipo Clevenger. Os óleos obtidos foram recolhidos juntamente com o hidrolato e extraídos com pentano (3 x 20 mL) em funil de separação. As fases orgânicas foram secadas com sulfato de magnésio ($MgSO_4$) anidro e o solvente removido sob baixa pressão, a 40 °C, em evaporador rotativo. Os óleos foram acondicionados em frascos de vidro, sob atmosfera de nitrogênio, e mantidos sob refrigeração à temperatura de aproximadamente -18 °C, até o momento das análises químicas. A massa de cada óleo foi determinada em balança analítica e os rendimentos expressos em relação à massa de matéria seca do vegetal. A matéria seca foi determinada pela secagem de três alíquotas de aproximadamente 2 g, de cada amostra de polpa, pelo método padrão da estufa 105 ±3 °C, durante 24 horas, de acordo com Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

2.3.2.3. Cromatografia em Fase Gasosa (CG)

Utilizou-se cromatógrafo a gás Shimadzu GC-17A, equipado com detector de ionização de chama (DIC) e coluna capilar de sílica fundida tipo DB-5 (30 m × 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 μm). As condições cromatográficas foram: gás de arraste N_2 sob fluxo de 1,8 mL min^{-1} ; temperatura do injetor 220 °C e temperatura do detector 240 °C; temperatura

inicial da coluna de 40 °C (mantida por 4 min.), seguida de aquecimento a uma proporção de 3 °C min⁻¹ até atingir 240 °C, mais isoterma por 10 min; volume de injeção 1,0 µL (1% m/v em CH₂Cl₂ – diclorometano); razão de *split* 1:10; pressão da coluna 113 kPa.

As análises foram realizadas em triplicata e a concentração de cada constituinte foi calculada pela porcentagem da área do pico correspondente em relação à área total do cromatograma.

Para a identificação das substâncias componentes dos óleos essenciais, fez-se uso de um aparelho Shimadzu GCMS-QP5050A, equipado com coluna de sílica fundida DB-5 (30 m × 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 µm) e acoplado a um detector de ionização por impacto de elétrons. Gás de arraste He com fluxo de 1,8 mL min⁻¹; temperatura do injetor 220 °C, temperatura inicial da coluna 40 °C, isoterma por 4 min., seguido de aquecimento a 3 °C min⁻¹ até 240 °C, mais isoterma por 10 min; volume de injeção 1,0 µL (1% m/v em CH₂Cl₂); razão de *split* 1:5; pressão da coluna 100 kPa; temperatura da interface 240 °C; ionização (70 eV); amplitude de varredura de 30 a 600 u. Para tal, foram realizadas comparações entre os tempos de retenção e o Índice de Kovats (IK), relativos à série de alcanos (C₉ – C₂₇), e pela comparação dos espectros de massas com o banco de dados da biblioteca Wiley (Wiley 330.000) ou com a literatura (ADAMS, 2007).

2.3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

2.3.3.1. Análise de Variância (ANOVA)

Em um delineamento experimental, inteiramente casualizado, com três repetições e 18 tratamentos; realizou-se à ANOVA com as informações quantitativas obtidas sobre o teor de óleo essencial. Para tal, empregou-se o programa estatístico livre ASSISTAT Versão 7.6 beta (2011).

2.3.3.2. Análise Multivariada

As informações obtidas (dados) foram dispostas em uma matriz constituída de variáveis (colunas), tais como: umidade, teor de óleo essencial na base seca e concentração de cada um dos constituintes identificados. Os objetos dessa matriz foram as 18 populações amostradas (linhas) dos três

diferentes Estados da Federação (MA, MG e TO). A matriz foi autoescalada e em seguida procedeu-se à análise das componentes principais (ACP) e análise hierárquica por agrupamento (AHA). Deve-se destacar que o AHA (*cluster*) foi realizado utilizando o algoritmo de médias. Os dados foram processados em um programa MATLAB, versão 5.3; empregando pacote quimiométrico PLS_Toolbox, versão 2.0.

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1. CONCENTRAÇÃO E COMPOSIÇÃO

– Óleos Essenciais do Pequi –

Os teores de óleo essencial da polpa do pequi, na base seca, obtidos; através da hidrodestilação e posterior extração com solvente pentano, para cada uma das 18 populações amostradas; são apresentados na Tabela 2.2.

TABELA 2.2. Concentração de óleo essencial (base seca) e teor de umidade da polpa do *C. brasiliense*

Estado	Amostra		Concentração Óleo Essencial (%)	Umidade (%)
	Cidade	Código		
MA	Barra do Corda	BAR	0,67 ±0,039	58,37 ±0,78
	Grajaú i (Gato Preto)	GAT	0,25 ±0,005	45,50 ±1,95
	Grajaú ii (Olhos D'Água)	OLH	0,33 ±0,022	53,25 ±1,68
	Lajeado Novo	LAJ	0,35 ±0,012	51,63 ±0,70
Média Parcial			0,40 ±0,185	
MG	Arinos	ARI	0,33 ±0,010	53,43 ±0,38
	Bocaiúva	BOI	0,55 ±0,022	58,13 ±1,07
	Claro dos Poções	CLA	0,47 ±0,019	45,62 ±1,72
	Curvelo	CUR	0,33 ±0,015	51,08 ±1,45
	Felixlândia	FEX	0,29 ±0,007	50,59 ±1,25
	Grão Mogol	GRA	0,60 ±0,010	52,07 ±0,69
	Januária	JAN	1,15 ±0,056	59,09 ±1,53
	Japonvar	JAP	0,90 ±0,073	57,75 ±1,95
	Montes Claros	MOC	0,61 ±0,053	59,81 ±1,01
	Pirapora	PIR	0,30 ±0,013	50,54 ±0,62
	Salinas	SAL	0,89 ±0,005	56,68 ±1,04
	Unaí	UNA	0,23 ±0,027	47,14 ±1,34
Média Parcial			0,55 ±0,292	
TO	Paraná	PAR	0,13 ±0,001	55,12 ±1,73
	Peixe	PEI	0,16 ±0,005	54,57 ±0,38
Média Parcial			0,15 ±0,021	
Média Geral			0,47 ±0,280	53,35 ±4,53
Coefficiente de Variação (CV)			59,6%	8,49%

De acordo com os dados listados na Tabela 2.2 e plotados no gráfico de barras (Figura 2.4); o teor médio de OEs da polpa do pequi foi igual a 0,47%; apresentado um coeficiente de variação (CV) em torno de 59,6%. A ANOVA confirmou que as duas populações do Estado do Tocantins (Paraná e Peixe) apresentaram as menores concentrações de óleos essenciais (<0,16%). Enquanto que as populações com teores mais elevados de voláteis ($\geq 0,55\%$) são: Januária, Japonvar, Salinas, Montes Claros, Grão Mogol e Boicaiúva (Minas Gerais) e Barra do Corda (Maranhão). Pode-se, portanto, sugerir que as polpas de *C. brasiliense* dessas populações, provavelmente, apresentam características de aroma e sabor mais pungentes.

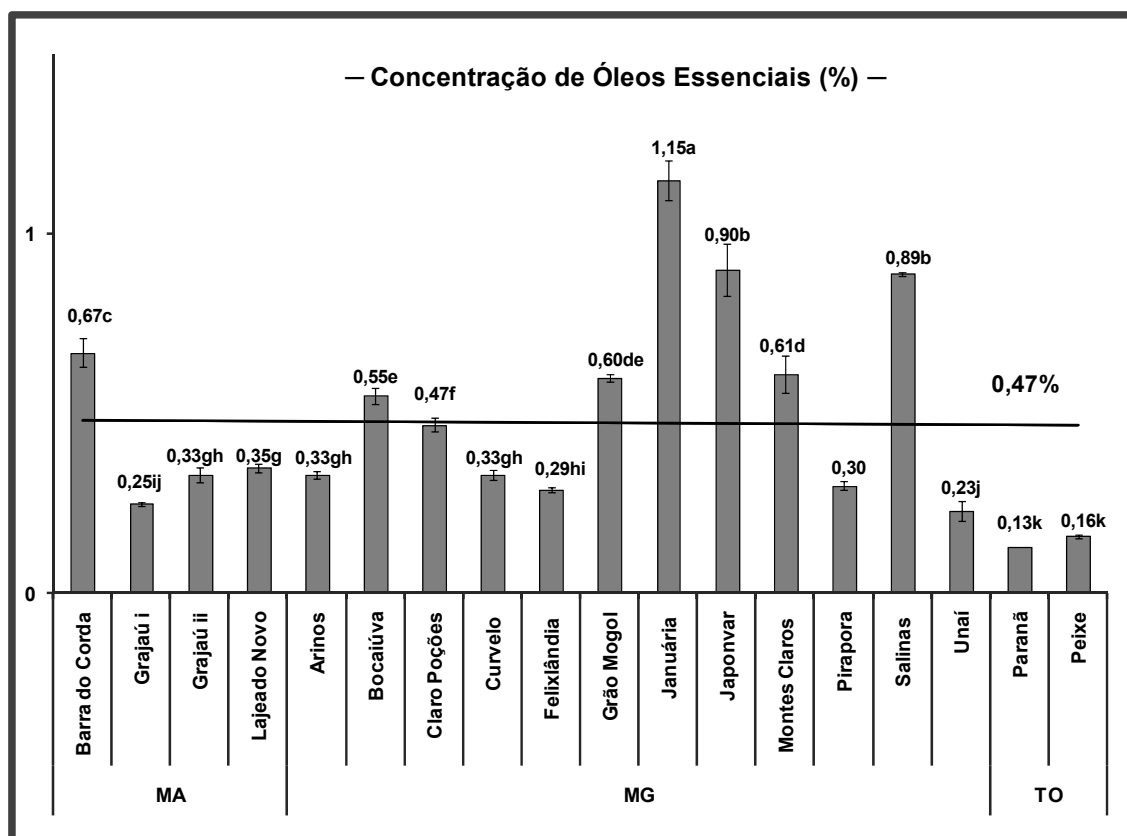


FIGURA 2.4. Concentração de óleo essencial na polpa do pequi. Médias seguidas da mesma letra não diferem, estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan ao nível de 5%.

Nas Tabelas 2.3; 2.4 e 2.5 encontram-se a composição química, ou seja, as substâncias identificadas nos óleos essenciais da polpa dos frutos do pequizeiro (*C. brasiliense*), oriundos dos estados do Maranhão, Minas Gerais e

Tocantins, respectivamente. Os constituintes dos OEs e suas porcentagens estão listados de acordo com sua ordem de eluição em coluna capilar tipo DB5.

TABELA 2.3. Constituintes dos óleos essenciais (%) da polpa de *C. brasiliense* das amostras coletadas nos Municípios do Estado do Maranhão

	SUBSTÂNCIA	IK*	IK	Barra do Corda	Grajaú	Grajaú	Lajeado Novo
		tabelado	encontrado		Gato Preto	Olhos D'Água	
1	2-metilbutanoato de etila	846 ^A	850	—	0,09 ±0,04	—	—
2	isopentanoato de etila	856 ^B	854	0,15 ±0,05	0,07 ±0,02	—	0,16 ±0,05
3	heptan-4-ona	869 ^C	877	0,37 ±0,13	—	—	—
4	nonano	900 ^D	896	11,9 ±1,51	—	0,92 ±0,11	3,16 ±0,89
5	pentanoato de etila	901 ^D	901	—	0,04 ±0,02	—	—
6	hexanoato de metila	927 ^D	928	—	0,03 ±0,01	—	—
7	hexanoato de etila	998 ^D	1004	80,8 ±1,84	91,49 ±1,91	76,62 ±1,94	80,0 ±0,05
8	isobutanoato de 2-metilbutila	1022 ^E	1028	0,52 ±0,18	0,86 ±0,07	1,11 ±0,20	0,35 ±0,08
9	<i>cis</i> -beta-ocimeno	1040 ^B	1040	—	—	0,72 ±0,06	0,30 ±0,07
10	hex-2-enoato de etila	1044 ^D	1048	—	0,17 ±0,02	—	—
11	<i>trans</i> -beta-ocimeno	1050 ^B	1052	1,26 ±0,44	2,96 ±0,21	12,80 ±1,88	6,95 ±0,95
12	butanoato de isopentila	1060 ^B	1059	0,77 ±0,10	1,25 ±0,08	0,95 ±0,12	0,80 ±0,22
13	butanoato de 2-metilbutila	1056 ^F	1062	—	—	—	0,68 ±0,21
14	hexanoato de propila	1097 ^G	1094	1,47 ±0,33	—	—	0,82 ±0,30
15	isopentanoato de 2-metilbutila	1109 ^E	1102	2,70 ±0,60	—	0,60 ±0,05	—
16	octanoato de etila	1195 ^B	1198	—	0,47 ±0,10	2,28 ±0,50	0,27 ±0,12
17	hexanoato de isopentila	1249 ^D	1251	—	0,30 ±0,13	—	0,33 ±0,14
18	decanoato de etila	1395 ^D	1396	—	—	0,74 ±0,21	0,10 ±0,04
19	dendrolasin	1571 ^D	1577	—	1,02 ±0,32	0,82 ±0,22	0,41 ±0,18
20	dodecanoato de etila	1595 ^D	1593	—	0,17 ±0,07	1,25 ±0,53	3,75 ±1,62
21	tetradecanoato de etila	1796 ^D	1792	—	0,10 ±0,03	—	—
22	hexadecanoato de etila	1993 ^D	1993	—	—	0,34 ±0,09	—
23	geranilinalol	2027 ^D	2029	—	0,09 ±0,03	0,65 ±0,23	—
TOTAL				100,0	99,10	99,80	98,07

*Valores de Índice de Kovatz, obtidos na literatura: VALIM *et al.* (2003)^A; ADAMS (1995)^B; PINO *et al.* (2005)^C; ADAMS (2007)^D; LEFFINGWELL & ALFORD (2005)^E; BEAULIEU & GRIMM (2001)^F; QIAN & REINECCIUS (2003)^G;

TABELA 2.4. Constituintes dos óleos essenciais (%) da polpa de *C. brasiliense* das amostras coletadas nos Municípios de Minas Gerais

	Substância	IK* tabelado	IK observado	Arinos	Bocaiúva	C. Poções	Curvelo	Felixlândia	G. Mogol	Januária	Japonvar	M. Claros	Pirapora	Salinas	Unai
1	but-2-enoato de etila	ne ^J	839	—	0,02 ±0,01	—	0,09 ±0,01	—	—	0,17 ±0,10	0,17 ±0,08	—	0,13 ±0,10	—	0,18 ±0,10
2	2-metilbutanoato de etila	846 ^A	850	0,14 ±0,03	—	0,13 ±0,03	0,07 ±0,01	—	—	—	0,07 ±0,02	—	0,07 ±0,02	0,11 ±0,03	0,33 ±0,05
3	isopentanoato de etila	856 ^B	854	0,18 ±0,01	0,07 ±0,01	0,02 ±0,01	0,17 ±0,10	—	—	—	—	—	—	—	0,34 ±0,03
4	etilbenzeno	878 ^C	875	—	—	—	0,18 ±0,11	—	—	—	—	—	—	—	—
5	heptan-4-ona	869 ^D	877	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,27 ±0,12	—	—
6	nonano	900 ^E	896	—	0,35 ±0,03	0,12 ±0,03	—	0,29 ±0,11	0,71 ±0,08	0,35 ±0,03	—	0,17 ±0,07	0,50 ±0,10	0,37 ±0,04	0,53 ±0,14
7	pentanoato de etila	901 ^E	901	—	—	—	0,02 ±0,01	—	—	—	—	—	—	—	—
8	hexanoato de metila	927 ^E	928	0,82 ±0,05	0,30 ±0,06	0,31 ±0,03	0,47 ±0,02	0,31 ±0,08	0,70 ±0,09	0,95 ±0,15	0,86 ±0,08	0,29 ±0,07	0,32 ±0,09	0,55 ±0,03	0,13 ±0,06
9	beta-mirceno	990 ^E	992	—	—	—	0,08 ±0,04	—	—	—	—	—	—	—	—
10	hexanoato de etila	998 ^E	1004	80,0 ±0,90	87,1 ±2,87	89,8 ±0,58	73,4 ±2,56	83,5 ±1,38	78,0 ±0,71	89,6 ±1,07	87,4 ±0,67	84,2 ±0,67	80,3 ±2,60	85,9 ±0,32	90,6 ±2,10
11	ácido hexanóico	1020 ^F	1029	7,86 ±0,44	2,94 ±0,85	—	—	—	3,67 ±0,80	—	—	—	—	—	—
12	cis-beta-ocimeno	1040 ^B	1040	0,92 ±0,03	0,59 ±0,12	0,32 ±0,09	1,25 ±0,13	0,57 ±0,03	1,37 ±0,21	0,44 ±0,17	0,25 ±0,06	0,27 ±0,03	0,29 ±0,02	0,33 ±0,06	—
13	hex-2-enoato de etila	1044 ^E	1048	—	0,29 ±0,12	—	—	—	0,39 ±0,17	—	—	—	—	—	1,71 ±0,62
14	trans-beta-ocimeno	1050 ^B	1052	7,69 ±0,41	3,94 ±0,39	5,47 ±0,54	22,4 ±1,64	10,9 ±1,38	11,5 ±0,79	6,22 ±0,78	6,34 ±0,72	7,27 ±0,84	6,54 ±0,45	8,50 ±0,54	3,36 ±0,35
15	hexanoato de propila	1097 ^G	1094	0,14 ±0,01	0,34 ±0,09	0,11 ±0,01	0,08 ±0,01	0,33 ±0,04	0,11 ±0,05	0,61 ±0,06	0,16 ±0,01	0,15 ±0,02	0,17 ±0,07	0,05 ±0,01	0,19 ±0,07
16	heptanoato de etila	1098 ^E	1097	0,10 ±0,01	0,13 ±0,03	—	0,05 ±0,02	—	0,37 ±0,04	—	—	0,18 ±0,10	0,10 ±0,05	0,05 ±0,02	—
17	hexanoato de isobutila	1137 ^H	1140	0,11 ±0,01	0,10 ±0,02	—	0,11 ±0,01	0,07 ±0,01	—	—	—	—	—	—	—
18	ácido octanóico	1179 ^I	1187	—	0,02 ±0,01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	butanoato de hexila	1192 ^E	1192	—	—	—	—	—	—	—	0,04	—	—	—	—
20	octanoato de etila	1195 ^B	1198	1,95 ±0,27	3,32 ±0,67	3,72 ±0,28	1,51 ±0,52	3,67 ±0,43	2,17 ±0,09	1,66 ±0,53	4,72 ±0,40	7,36 ±1,34	9,77 ±1,52	4,14 ±0,77	1,24 ±0,60
21	oct-2-enoato de etila	ne ^K	1248	0,12 ±0,10	0,31 ±0,13	—	—	—	—	—	—	—	0,68 ±0,29	—	—
22	dodecanoato de etila	1595 ^E	1593	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,04 ±0,02	—	—
TOTAL				100,0	99,8	100,0	99,9	99,7	99,1	100,0	100,0	99,9	99,2	100,0	98,6

*Valores de Índice de Kovatz, obtidos na literatura: VALIM *et al.* (2003)^A; ADAMS (1995)^B; TELLEZ *et al.* (2001)^C; PINO *et al.* (2005)^D; ADAMS (2007)^E; FERREIRA *et al.* (2001)^F; QIAN & REINECCIUS (2003)^G; PINO *et al.* (2001)^H; JORDÁN *et al.* (2001)^I.

ne – não encontrado na literatura, em coluna tipo DB5. Entretanto a substância foi reportada em pesquisa na qual foi empregada outra coluna: PEPPARD (1992)^J e TAKEOKA *et al.* (1992)^K.

TABELA 2.5. Constituintes dos óleos essenciais (%) da polpa de *C. brasiliense* em amostras coletadas nos Municípios do Tocantis

SUBSTÂNCIA		IK tabelado	IK observado	Paraná	Peixe
1	butanoato de isopropila	837 ^A	842	1,04 ±0,13	2,35 ±0,25
2	isopentanoato de etila	856 ^B	854	4,24 ±0,38	2,58 ±0,20
3	etanoato de isopentila	876 ^C	886	—	0,16 ±0,03
4	nonano	900 ^C	896	—	0,26 ±0,02
5	isopentanoato de isopropila	904 ^D	898	12,34 ±1,00	22,19 ±2,01
6	isobutanoato de isobutila	908 ^C	917	0,19 ±0,07	0,09 ±0,01
7	pentanoato de isopropila	ne	945	—	1,94 ±0,13
8	butanoato de isobutila	956 ^A	960	1,02 ±0,20	0,50 ±0,02
9	hexanoato de etila	998 ^C	1004	11,13 ±0,55	5,22 ±0,01
10	isopentanoato de isobutila	1013 ^E	1007	5,46 ±0,15	2,75 ±0,08
11	isobutanoato de isopentila	1017 ^F	1015	1,03 ±0,01	0,68 ±0,01
12	biciclopentadieno	ne ^K	1024	0,67 ±0,05	0,50 ±0,02
13	hexanoato de isopropila	1040 ^G	1043	10,41 ±0,80	16,59 ±1,23
14	<i>trans</i> -beta-ocimeno	1050 ^B	1052	21,09 ±1,60	26,01 ±1,40
15	butanoato de isopentila	1060 ^B	1059	5,45 ±0,07	2,53 ±0,12
16	isopentanoato de isopentila	1103 ^B	1106	0,58 ±0,03	0,48 ±0,02
17	2-metilbutanoato de isopentila	1103 ^F	1108	11,37 ±1,20	6,10 ±0,09
18	hexanoato de isobutila	1137 ^H	1140	2,08 ±0,22	0,09 ±0,01
19	octanoato de etila	1195 ^B	1198	0,76 ±0,08	0,61 ±0,13
20	benzoato de isopropila	ne ^L	1206	0,28 ±0,05	—
21	octanoato de isopropila	ne ^M	1235	—	0,10 ±0,01
22	fenilacetoato de etila	1244 ^B	1247	0,23 ±0,03	0,08 ±0,01
23	hexanoato de isopentila	1250 ^I	1251	2,74 ±0,49	0,65 ±0,04
24	fenilacetoato de isopropila	1267 ^C	1274	0,61 ±0,09	—
25	decanoato de etila	1395 ^C	1396	0,43 ±0,04	0,27
26	dendrolasin	1571 ^C	1577	0,43 ±0,08	1,13
27	dodecanoato de etila	1595 ^C	1593	0,74 ±0,10	0,43
28	dodecanoato de propila	1626 ^J	1626	—	0,06
29	dodecanoato de isobutila	ne ^M	1742	0,10 ±0,03	—
30	tetradecanoato de etila	1796 ^C	1792	0,34 ±0,07	0,22 ±0,02
31	tetradecanoato de isopropila	1828 ^E	1824	0,09 ±0,01	0,05 ±0,01
32	hexadecanoato de etila	1993 ^C	1993	0,29 ±0,03	0,15 ±0,03
33	hexadecanoato de isopropila	2024 ^C	2024	0,23 ±0,02	0,42 ±0,09
34	geranilinalol	2027 ^C	2029	0,25 ±0,02	0,16 ±0,01
TOTAL				96,80	97,30

*Valores de Índice de Kovatz, obtidos através da literatura: BEAULIEU & GRIMM (2001)^A; ADAMS (1995)^B; ADAMS (2007)^C; ISIDOROV *et al.*, (2001)^D; LEFFINGWELL & ALFORD (2005)^E; GALLORI *et al.*, (2001)^F; QIAN & REINECCIUS (2003)^G; PINO *et al.* (2001)^H; MAIA *et al.* (2004)^I; EL-SAYED *et al.* (2005)^J

ne – não encontrado na literatura, em coluna tipo DB5. Entretanto a substância foi reportada em estudo, no qual foi empregada outra coluna: BREDAEL (1982)^K; KORHONEN (1986)^L e TAKEOKA *et al.* (1992)^M.

Ao se analisar os dados da Tabela 2.3, a qual consta a composição química dos OEs da polpa do pequi – Estado do Maranhão – verifica-se que foram elucidados em torno de 98% dos constituintes desses óleos. Para tal, identificaram 23 substâncias. Dessas, apenas dois compostos são comuns entre as quatro populações amostradas: o hexanoato de etila (82,2%) e o *trans*- β -ocimeno (7,0%); correspondendo à, aproximadamente, 90% da constituição química dos OEs. O gráfico de barras (Figura 2.5) ilustra a concentração dessas substâncias majoritárias, presentes nos OEs das quatro populações (MA).

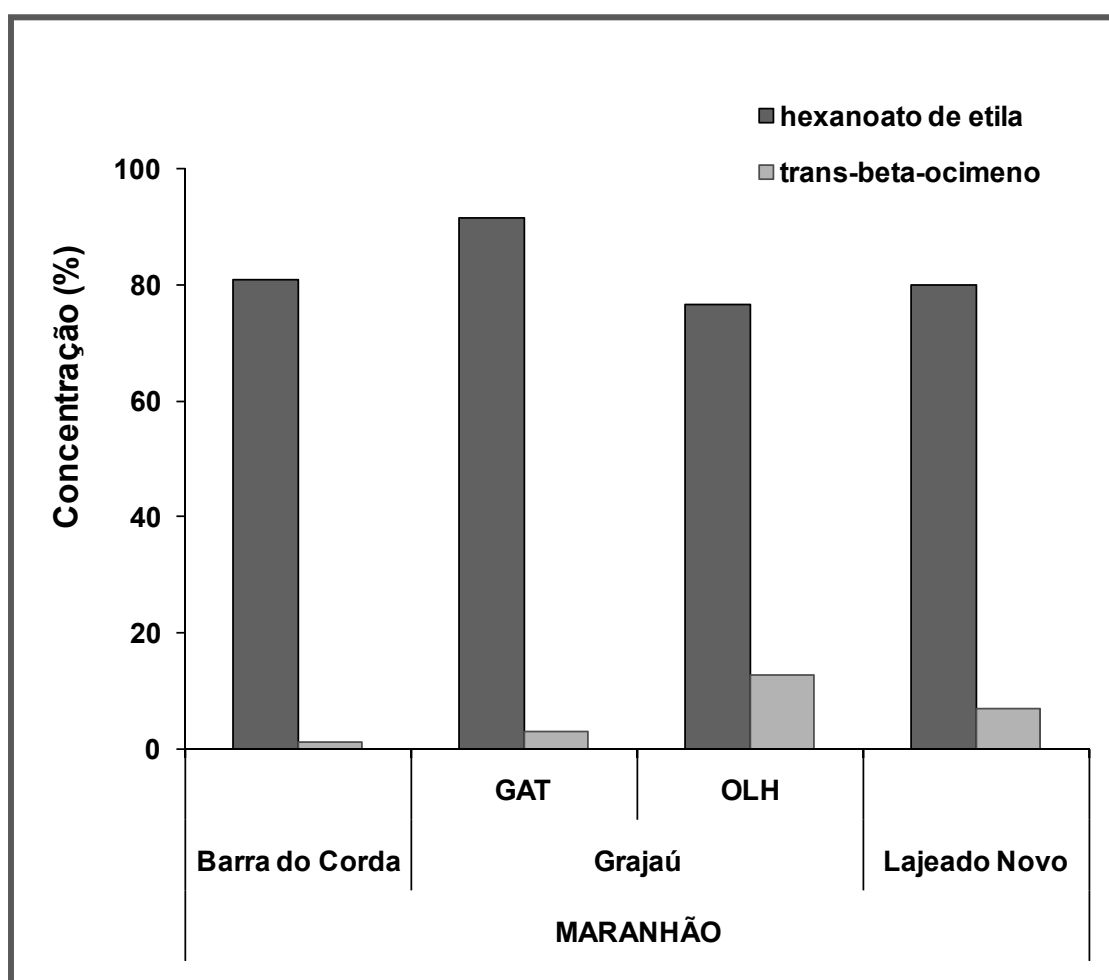


FIGURA 2.5. Substâncias majoritárias, presentes nos óleos essenciais da polpa do pequi de quatro municípios do Estado do Maranhão.

Segundo a Tabela 2.4, que fornece dados sobre a composição de OEs dos pequis do Estado de Minas Gerais, foram identificadas 22 substâncias, abrangendo cerca de 99% de sua constituição química. As substâncias em

comum, entre as 12 populações amostradas foram: hexanoato de etila, hexanoato de metila, *trans*- β -ocimeno, hexanoato de propila e octanoato de etila. Dentre estas cinco substâncias, merecem destaque: o hexanoato de etila (84,1%); o *trans*- β -ocimeno (8,4%) e octanoato de etila (3,8%). Deve-se salientar que essas três substâncias representam, aproximadamente, 96% da composição desses OEs. Para uma melhor visualização, plotou-se um gráfico, ilustrado na Figura 2.6. É digno de nota, ainda, observar que entre as 18 populações investigadas, somente, os Municípios Mineiros de Arinos, Bocaiúva e Grão Mogol apresentaram concentrações expressivas de ácido hexanóico, ou seja, de 3 a 8%.

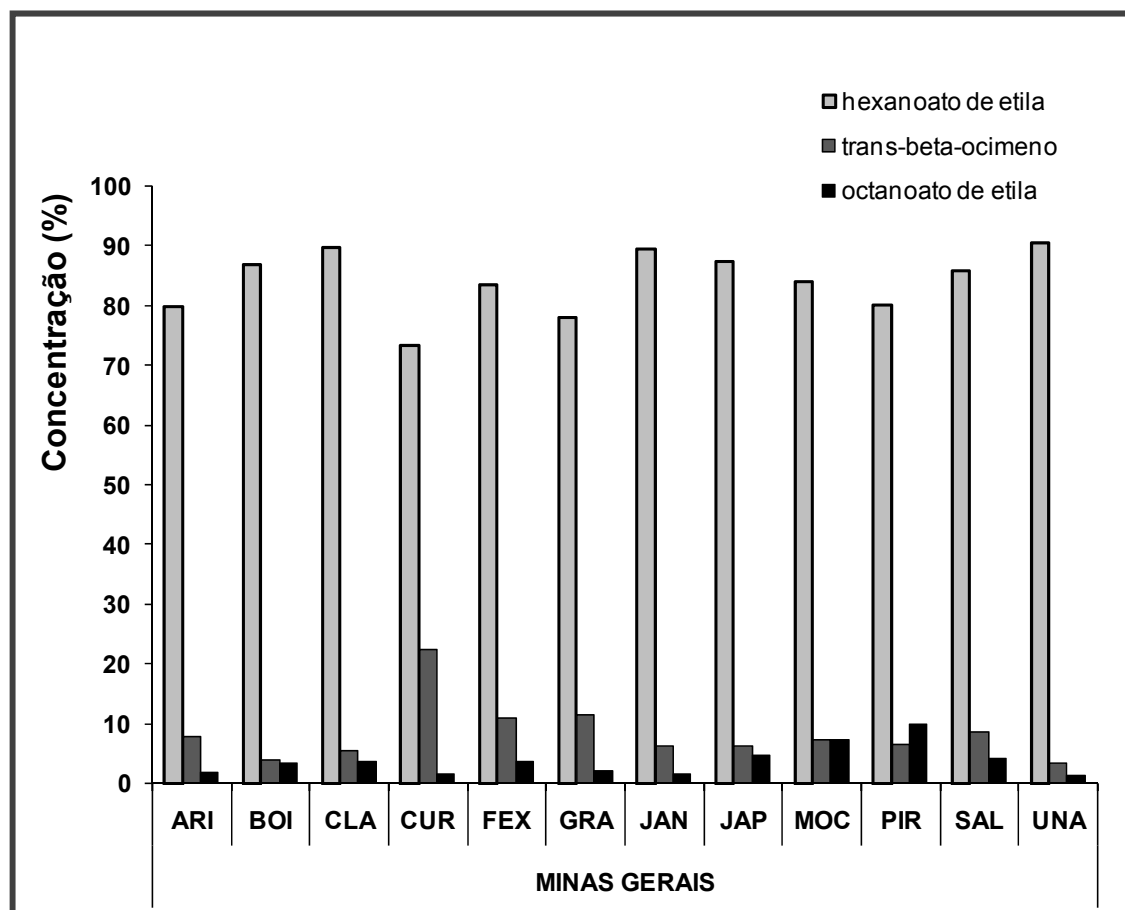


FIGURA 2.6. Substâncias majoritárias, presentes nos óleos essenciais da polpa do pequi de 12 municípios do Estado de Minas Gerais.

Através da análise dos dados (Tabela 2.5), que se referem à composição dos OEs da polpa de pequi do Tocantins, observa-se que foram identificadas 34 substâncias, correspondendo à, aproximadamente, 95% de

sua constituição química. Verificou-se, ainda, que esses óleos (Paraná e Peixe) possuem uma gama maior de substâncias, quando comparados aos óleos das amostras de outros Estados (MA e MG).

Vale destacar que nas amostras do TO, o hexanoato de etila, ainda que presente em quantidades expressivas (8,2%), não se apresentou como o componente majoritário isolado. As substâncias majoritárias foram: os ésteres [butanoato de isopropila (1,7%); isopentanoato de etila (3,4%); isopentanoato de isopropila (17,3%); hexanoato de etila (8,2%); isopentanoato de isobutila (4,1%); hexanoato de isopropila (13,5%); butanoato de isopentila (4,0%); hexanoato de isopentila (1,69%); 2-metilbutanoato de isopentila (8,7%)] e o monoterpeneo *trans*- β -ocimeno (23,6%). Totalizando, aproximadamente, 86% das substâncias componentes desses óleos. Com base nessas informações construiu-se um gráfico de barras, ilustrado na Figura 2.7.

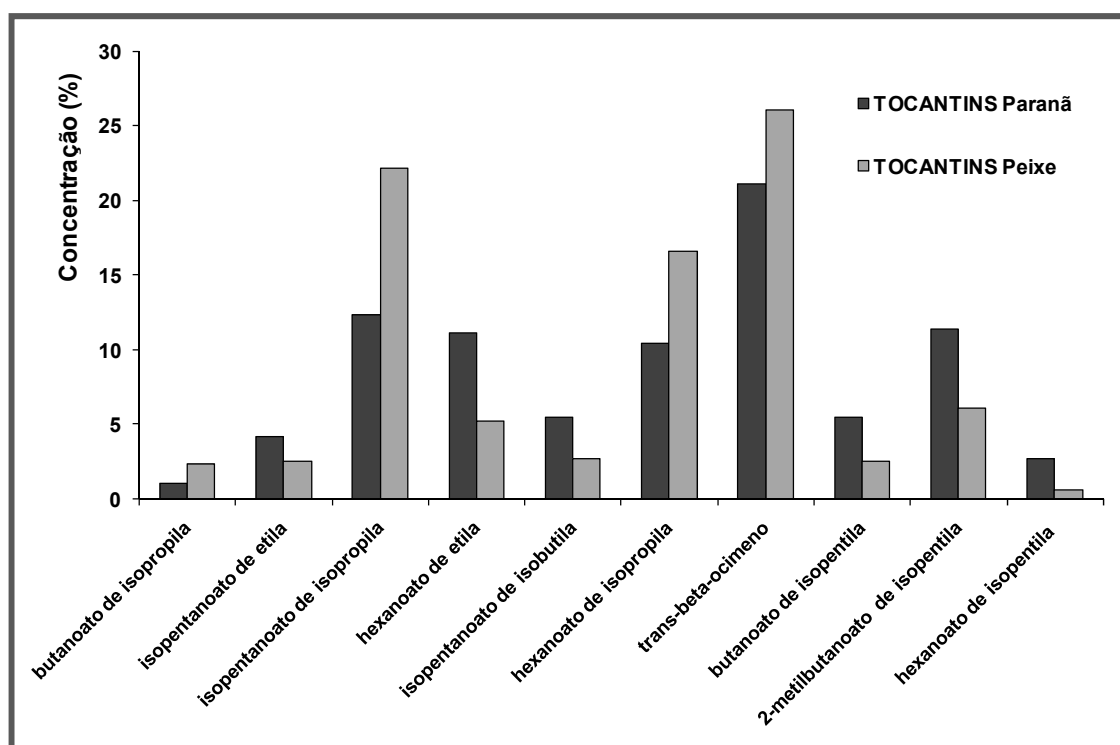


FIGURA 2.7. Substâncias majoritárias, presentes nos óleos essenciais da polpa do pequi de dois municípios do Estado do Tocantins.

A Figura 2.8 ilustra os cromatogramas dos óleos essenciais de três municípios, representando cada um dos Estados investigados.

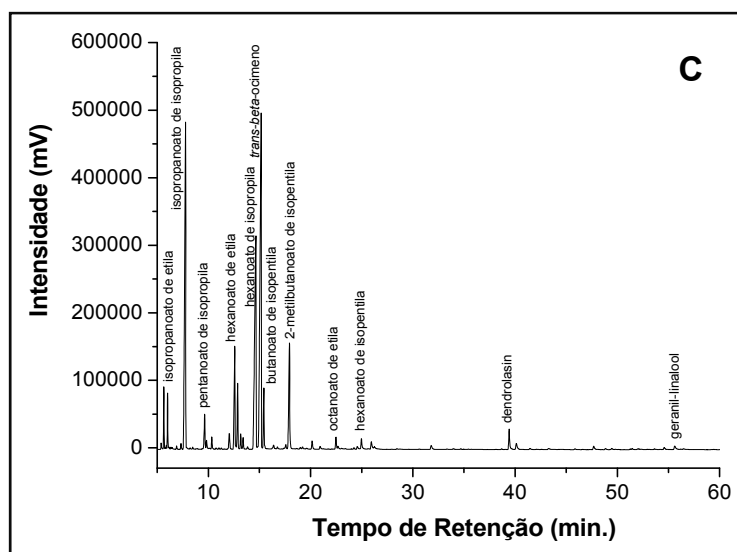
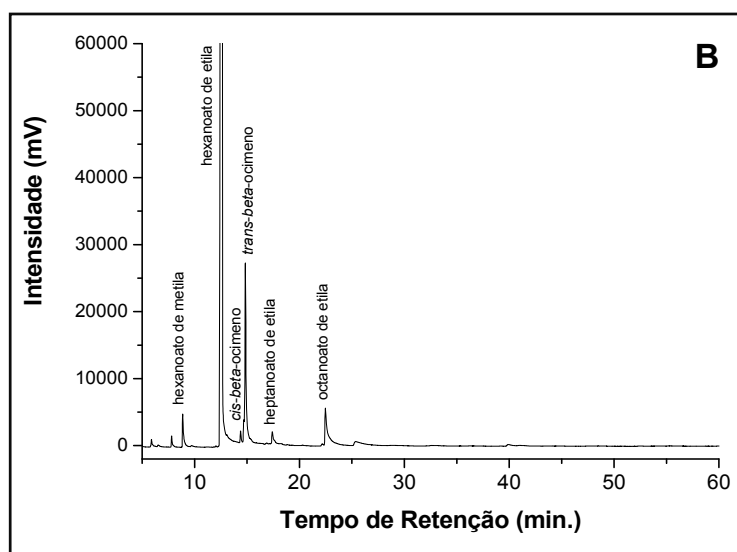
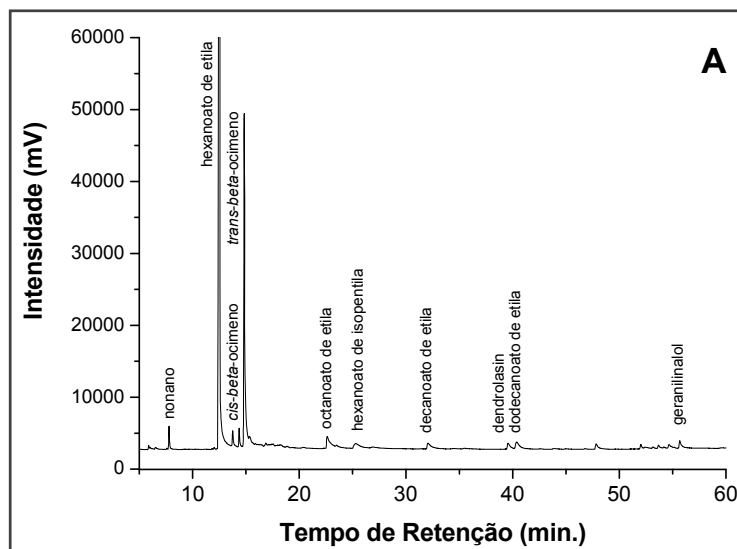


FIGURA 2.8. Cromatogramas gasosos de óleos essenciais de polpa do pequi: Grajaú(Olhos D'Água)-MA (A), Januária-MG (B) e Peixe-TO (C)

Os cromatogramas das demais populações encontram-se no Apêndice.

2.4.2. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS – Óleos Essenciais do Pequi –

O éster hexanoato de etila ($C_6H_{16}O_2$), presente nas 18 populações amostradas, é um líquido incolor, de massa molecular igual 144,2 Da e temperatura de ebulição de 168 °C. Esta substância apresenta um odor forte frutado, presente em muitas frutas, lembrando o abacaxi (SURBURG & PANTEN, 2006). É largamente empregado como flavorizante de licores chineses e saquê, bebida típica japonesa (HAN *et al.*, 2009).

O β -ocimene (Figura 2.9), identificado nas 18 amostras, é um hidrocarboneto insaturado, monoterpene acíclico de odor pungente, devido sua estrutura altamente insaturada. Embora presente em muitos óleos essenciais, inclusive de frutas, tem emprego limitado em perfumarias (SURBURG & PANTEN, 2006). O *trans*- β -ocimeno é um dos monoterpene comumente encontrado nas misturas voláteis emitidas a partir de folhas em resposta ao dano por herbivoria ou injúria mecânica. É também componente de muitos aromas florais. Podendo servir como estímulo químico para a atração de parasitóides ou predadores de herbívoros de plantas e, ainda, para insetos polinizadores. Sua rota biossintética é a mesma do seu isômero, o β -mirceno (FÄLDT *et al.*, 2003).

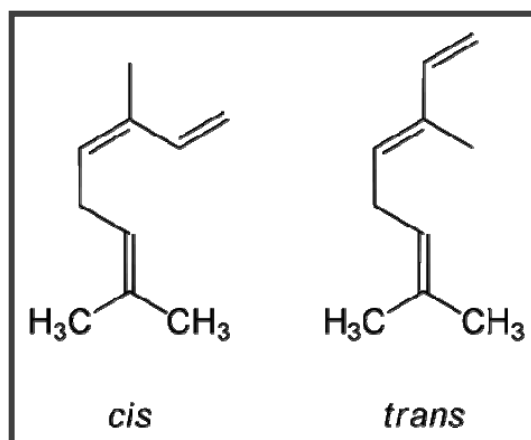


FIGURA 2.9. β -ocimeno.

O éster octanoato de etila (C₁₀H₂₀O₂) é um líquido de odor frutado floral, encontrado nos óleos essenciais de muitas frutas e em bebidas alcoólicas obtidas de frutas. É empregado na indústria alimentícia como *flavorizante* (SURBURG & PANTEN, 2006).

Pode-se, portanto, sugerir que estas três substâncias – hexanoato de etila, octanoato de etila e β -ocimene – conferem aos pequis, oriundos dos Estados de Minas Gerais e Maranhão, o aroma e sabor frutado, floral, bastante intenso e pungente.

No que se refere aos OEs das duas populações do Tocantins, verificou-se uma grande predominância de vários ésteres de cadeia curta que também irão conferir o aroma doce-fragrante, nestes pequis, destacando-se o isopentanoato de isopropila e o hexanoato de isopropila, que juntos totalizam 31% da concentração dos voláteis. Entretanto, a presença do *trans*- β -ocimeno (constituente majoritário), com concentrações, relativamente, maiores que nas demais populações amostradas (MG e TO), aliado ao fato de que essas populações apresentaram um menor teor de óleo (<0,2% - base seca), sugerem que as polpas destes pequis apresentam um aroma menos frutado e menos intenso.

2.4.3. COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA

Os resultados aqui encontrados, quando comparados com os da literatura, assemelham-se aos obtidos por DAMIANI *et al.* (2009), que trabalharam com amostras oriundas do Estado de Minas Gerais. As substâncias majoritárias encontradas, por esses autores, nos OEs da polpa de pequi, foram as mesmas aqui identificadas nos pequis do referido Estado (MG), com flutuações quanto às concentrações. Isto pode ser explicado devido às diferenças entre as épocas de coleta das amostras (safra anual). Quanto ao trabalho de MAIA *et al.* (2008), esses pesquisadores encontraram nos OEs de pequi, oriundos do Estado do Mato Grosso, 60 substâncias. Contudo, a maioria dos compostos identificados apresentou baixas concentrações, quando comparada com o componente majoritário, hexanoato de etila (52,9%). Nesse estudo, foram identificados dez terpenóides, cujas concentrações totalizam 1%; entretanto, o β -ocimeno não consta nesta lista. Essas divergências de

resultados podem ser justificadas de acordo com as diferenças geográficas e, possivelmente, genéticas.

2.4.4. ANÁLISE MULTIVARIADA

Considerando que o volume de dados originados das análises dos óleos essenciais contém informações, intrínsecas, de cada população amostrada. Ainda, que tais informações podem denotar uma distribuição geográfica, devido às variáveis químicas (dados), dois tipos de análises exploratórias foram realizadas: a Análise das Componentes Principais (ACP) e a Análise Hierárquica por Agrupamento (AHA).

2.4.4.1. Análise das Componentes Principais

A ACP foi realizada utilizando uma matriz 18x55. Os objetos (linhas) constituíram-se das 18 populações investigadas. As variáveis (colunas) foram as informações químicas da polpa do pequi: concentrações de óleos essenciais (base seca); concentrações das 53 substâncias identificadas nos OEs e teores de umidade. Um total de 14 Componentes Principais (PC) acumulou 99,7% da variância total. No entanto, neste estudo, foram consideradas as PC1 e PC3, como demonstrado na Figura 2.10.

A ACP forneceu informações discriminatórias e classificatórias das amostras. Demonstrando a disposição das mesmas, coletadas nos 18 Municípios. A componente principal PC1 contribuiu com 45,3% da variância total. Por esta componente pôde-se isolar o grupo de amostras de pequi, obtidas no Estado do Tocantins (quadrantes “Y” e “W”) ao se verificar que as mesmas se diferenciam das amostras coletadas nos outros Estados. Já a PC3, que explicou 9,0% da variância total, foi capaz de separar as amostras obtidas em Minas Gerais (quadrante “Z”) das obtidas do Maranhão (quadrantes “X” e “Y”). A análise das componentes principais, portanto, discriminou as amostras de pequi, quanto à composição química de seus óleos essenciais, de acordo com sua origem geográfica.

A Figura 2.11 mostra as influências dos pesos das variáveis consideradas para o estudo (numerados segundo o IK), justificando como ocorreram a classificação e discriminação das amostras.

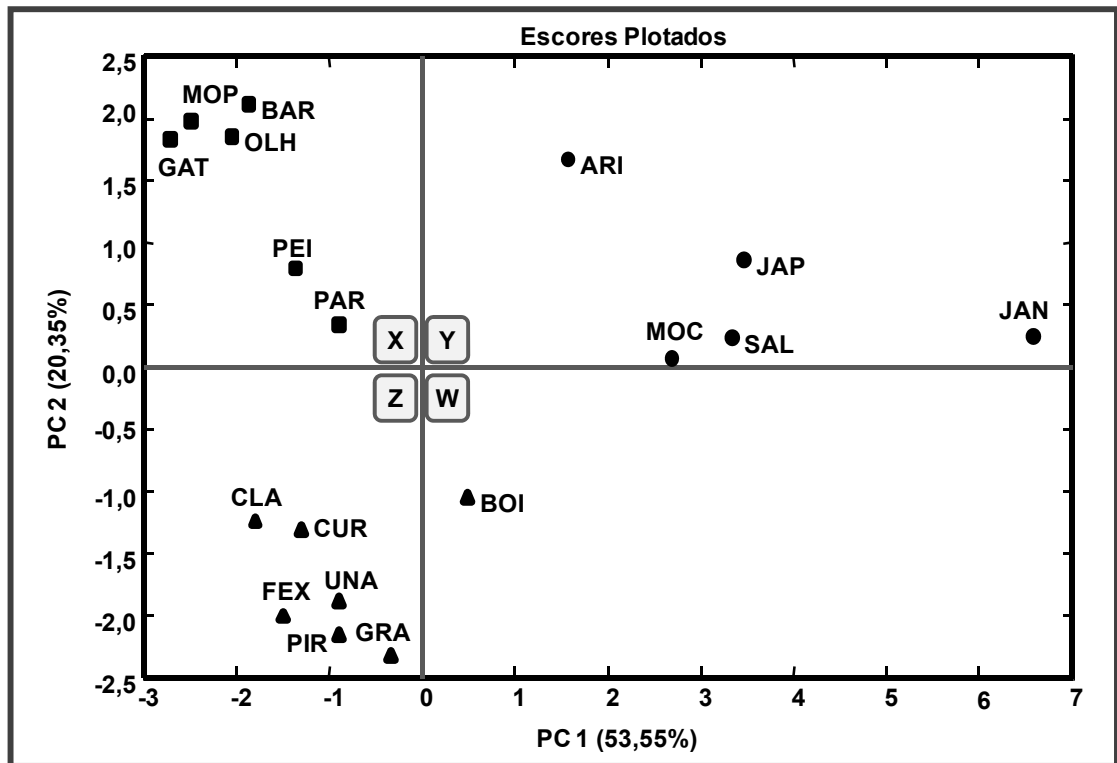


FIGURA 2.10. Escores das 18 populações amostradas dos Estados do MA, TO e MG. Considerando as variáveis obtidas, através de análises nos óleos essenciais da polpa de pequi.

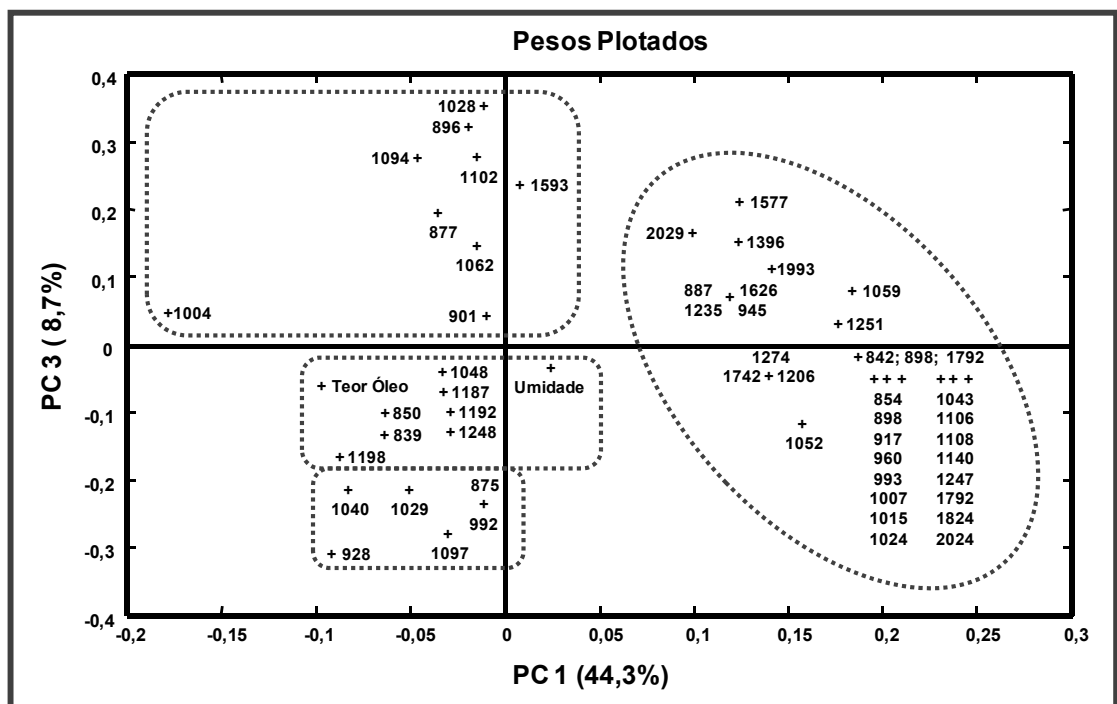


FIGURA 2.11. Pesos das variáveis, distribuídas na PCA, codificadas de acordo com o Índice de Kovats.

2.4.4.2. Análise Hierárquica por Agrupamento

O dendrograma obtido (Figura 2.12) confirma-se a formação de quatro agrupamentos.

Verificou-se que as amostras do Maranhão — localizadas no quadrante X (Figura 2.10), negativo para a PC1 e positivo quanto a PC3 — foram agrupadas (G1), em função dos maiores teores de: nonano, hexanoato de etila e butanoato 2-metilbutila

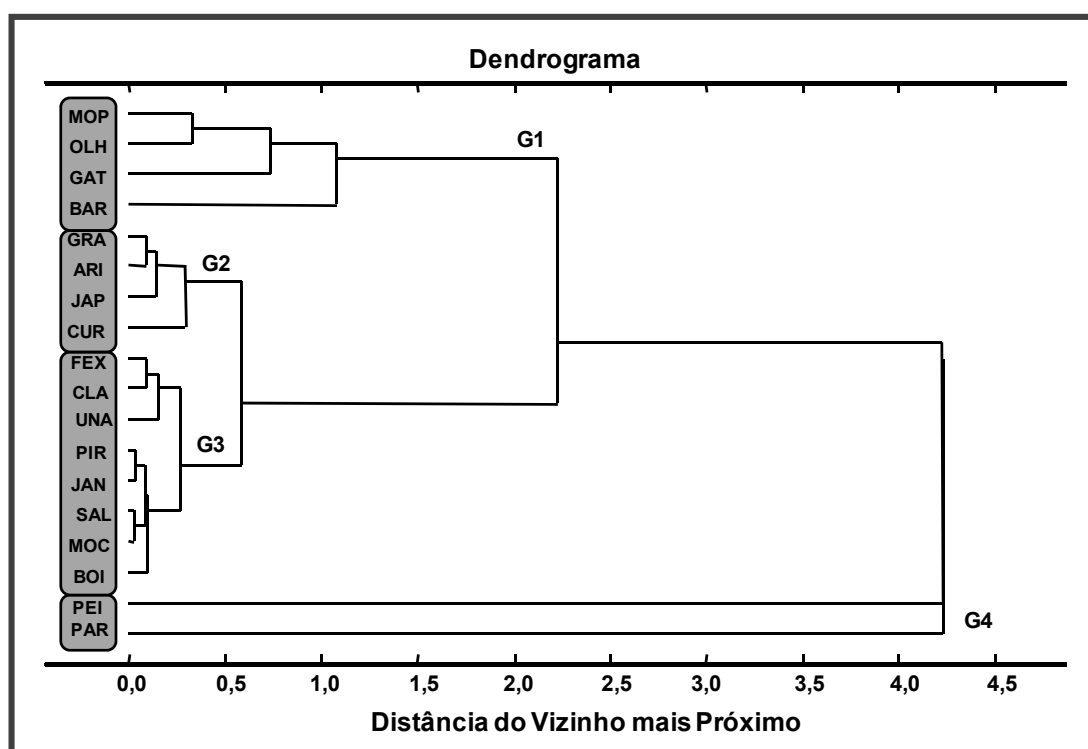


FIGURA 2.12. Dendrograma obtido pela AHA dos voláteis do pequi.

As amostras de Minas Gerais foram separadas em dois subgrupos, demonstrando características distintas entre os frutos de pequi deste Estado. O agrupamento G2 — Arinos, Curvelo, Grão Mogol e Japonvar — foi discriminado pelos teores mais elevados de hexanoato de metila, heptanoato de etila, ácido hexanóico e *cis*- β -ocimeno. Enquanto que as populações do grupo G3 — Bocaiúva, Claro dos Poções, Felixlândia, Januária, Montes Claros, Pirapora, Salinas e Unai — foram reunidas pelos maiores teores de umidade e de óleo essencial, bem como, dos constituintes: 2-metilbutanoato de etila, octanoato de etila e ésteres etílicos insaturados (but-2-enoato de etila, hex-2-enoato de etila e oct-2-enoato de etila).

As duas amostras do Tocantins foram agrupadas (G4) pelos teores de várias substâncias, tais como: o monoterpeneo *trans*- β -ocimeno; ésteres isopropílicos, destacando-se o isopentanoato de isopropila e hexanoato de isopropila; 2-metilbutanoato de isopentila e os ésteres etílicos, derivados de ácidos carboxílicos de cadeia mais longa (C₁₀ a C₁₆).

Na Figura 2.13, tem-se uma ilustração do mapa político brasileiro, dividido em Estados da Federação, no qual realizou a localização das 18 amostras.

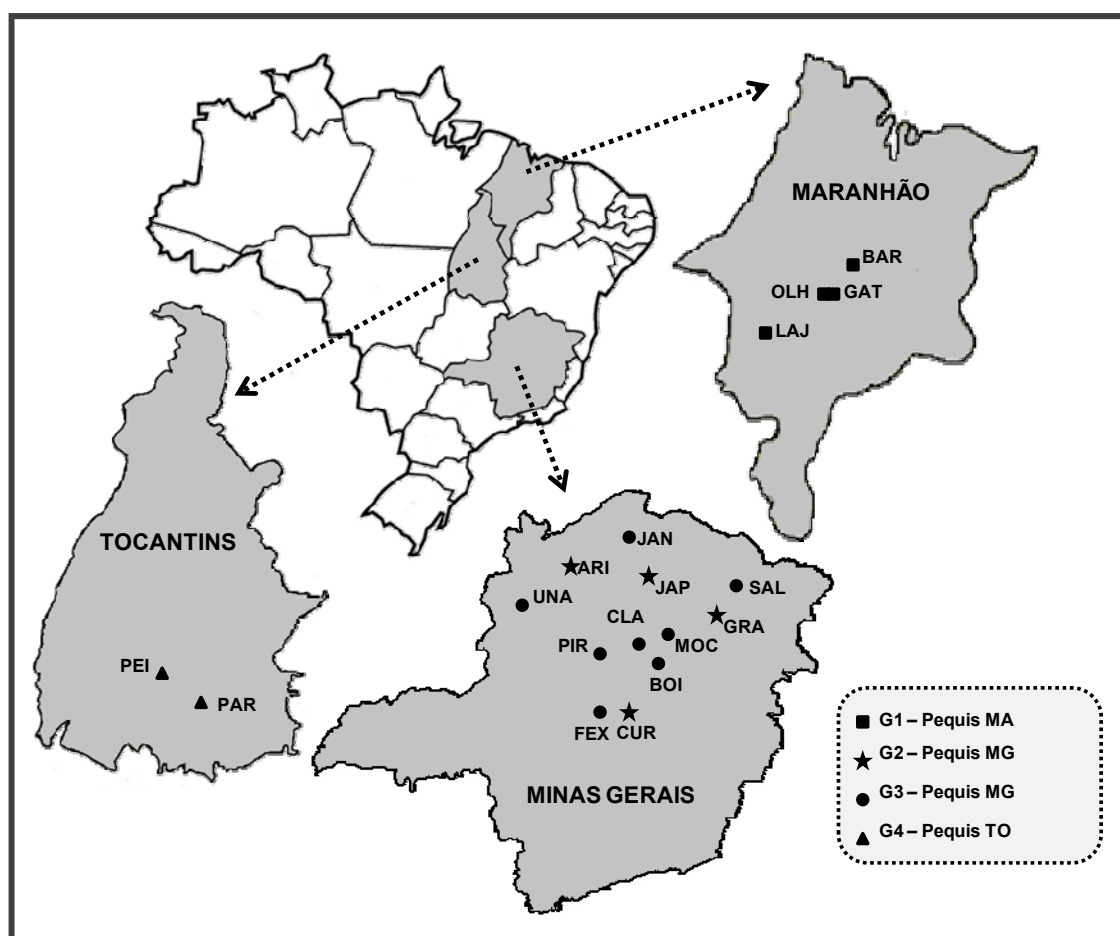


FIGURA 2.13. Mapa Político Brasileiro, dividido em Estados da Federação. Em destaque os estados de Minas Gerais, Maranhão e Tocantins, nos quais se encontram agrupadas as 18 populações de *Caryocar brasiliense* — segundo a concentração e composição química de seus óleos essenciais — de acordo com a Análise Multivariada (ACP e AHA).

Nesse mapa, é possível observar os quatro agrupamentos das amostras formados, obtidos com a análise multivariada: análise das componentes principais e análise hierárquica por agrupamentos. Tal fato demonstra que a referida análise possibilitou a classificação de amostras de pequis, segundo a composição química de seus óleos essenciais, como também, agrupá-las de acordo com a região produtora.

2.5. CONCLUSÕES

Verificou-se grande variação quanto à concentração de óleos essenciais na polpa de *Caryocar brasiliense*. Os pequis — oriundos dos Municípios Mineiros (Januária, Japonvar, Salinas e Montes Claros) e do Município Maranhense (Barra do Corda) — foram os que apresentaram concentrações mais elevadas de óleo essencial. Sugere-se, portanto, que os referidos frutos apresentam sabor e aroma mais intensos.

Os OEs do pequi são principalmente constituídos de ésteres e de β -ocimeno. Os ésteres majoritários são: hexanoato de etila (MA e MG); hexanoato de isopropila e 2-metilbutanoato de isopentila (TO).

Os ésteres etílicos de cadeia curta conferem aos frutos do pequi um sabor e aroma doce, frutado-floral, intensificado pelo monoterpeneo β -ocimeno. No entanto, a presença de ésteres de cadeia mais longa, aos quais se atribuem notas metálicas — em amostras do Estado do TO — sugere que esses pequis apresentam aroma e sabor menos frutados.

Através da análise multivariada (ACP e AHA) foi possível classificar os pequis de acordo com seu local de origem. Tal fato confirma que a composição de óleos essenciais sofre influências geográficas, ou seja edafoclimáticas, e/ou genéticas.

2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4th ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007. 804 p.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oils by as chromatography/mass spectroscopy**. Carol Stream: IL: Allured Publishing Corporation, 1995. 469 p.

AKISUE G. Aparelho extrator de óleo essencial: modificação do aparelho de Clevenger. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.1, n.2, p. 247–252, 1986.

ANGIONI, A.; BARRA, A.; CORONEO, V.; DESSI, S.; CABRAS, P. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4364–4370, 2006.

ARAUS, K.; UQUICHE, E.; DEL VALLE, J. M. A. Matrix effects in supercritical CO₂ extraction of essential oils from plant material. **Journal of Food Engineering**, v. 92, p. 438–447, 2009.

ASHURTS, P. R. **Food Flavoring**. 3rd ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, 1999.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.

BATISH, D. R.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K.; KAUR, S. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. **Forest Ecology and Management**, v. 256, p. 2166–2174, 2008.

BEAULIEU, J. C. & GRIMM, C. C. Identification of Volatile Compounds in Cantaloupe at various developmental stages using solid phase microextraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 1345–1352, 2001.

BICAS, J. L.; MOLINA, G.; DIONÍSIO, A. P.; BARROS, F. F. C.; WAGNER, R.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. **Food Research International**, *in press*, 2011.

BREDAEL, P. Retention indices of hydrocarbons on SE-30. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 5, p. 325–328, 1982.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223–253, 2004.

CERPA, M. G.; MATO, R. B.; COCERO, M. J. Modeling steam distillation of essential oils: application to lavandin super oil. **American Institute of Chemical Engineers Journal**, v. 54, n. 4, p. 909–917, 2008.

CHUN, M.; KIM, E. K.; YU, S. M.; OH, M. S.; MOON, K.; JUNG, J. H.; HONG, J. GC/MS combined with chemometrics methods for quality control of *Schizonepeta tenuifolia* Briq: determination of essential oils. **Microchemical Journal**, v. 97, p. 274–281, 2011.

COLE, R. A.; HABER, W. A.; SETZER, W. N. Chemical composition of essential oils of seven species of *Eugenia* from Monteverde, Costa Rica. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 877–886, 2007.

DAMIANI, C.; VILAS BOAS, E. V. B.; FERRI, P. H.; PINTO, D. M.; RODRIGUES, L. J. Volatile compounds profile of fresh-cut peki fruit stored under different temperatures. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 435–439, 2009.

DONELIAN, A.; CARLSON, L. H. C.; LOPESA, T. J.; MACHADO, R. A. F. Comparison of extraction of patchouli (*Pogostemon cablin*) essential oil with supercritical CO₂ and by steam distillation. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 48, p. 15–20, 2009.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A Review. **Phytotherapy Research**, Published online in Wiley InterScience, *in press*, 2007.

EL-SAYED, A. M.; HEPPELTHWAITE, V. J.; MANNING, L. M.; GIBB, A. R.; SUCKLING, D. M. Volatile constituents of fermented sugar baits and their attraction to Lepidopteran species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 953–958, 2005.

FÄLDT, J.; ARIMURA, G.; GERSHENZON, J.; TAKABAYASHI, J.; BOHLMANN, J. Functional identification of AtTPS03 as (E)-*b*-ocimene synthase: a monoterpene synthase catalyzing jasmonate- and wound-induced volatile formation in *Arabidopsis thaliana*. **Planta**, v. 216, p. 745–751, 2003.

FARHAT, A.; FABIANO-TIXIER, A. S.; MAATAOUI, M.; MAINGONNAT, J. F. ROMDHANE, M.; CHEMAT, F. Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: kinetic data, extract's global yield and mechanism. **Food Chemistry**, v. 125, p. 255–261, 2011.

FERREIRA, A. A. & AQUINO NETO, F. R. A destilação simulada na indústria do petróleo. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 478–482, 2005.

GALLORI, S.; FLAMINI, G.; BILIA, A. R.; MORELLI, I.; LANDINI, A.; VINCIERI, F. F. Chemical composition of some traditional herbal drug preparations: essential oil and aromatic water of costmary (*Balsamita suaveolens* Pers.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5907–5910, 2001.

GOLMAKANI, M. T.; REZAEI, K. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. **Food Chemistry**, v.109, p. 925–930, 2008.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology**, v. 86, p. 985–990, 1999.

HAN, S. Y.; PAN, Z. Y.; HUANG, D. F.; UEDA, M.; WANG, X. N.; LIN, Y. Highly efficient synthesis of ethyl hexanoate catalyzed by CALB-displaying *Saccharomyces cerevisiae* whole-cells in non-aqueous phase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 59, p. 168–172, 2009.

HARMON, A. D. Solid-phase microextraction for the analysis of aromas and Flavors. In: MARSILI, R., Ed. **Flavor, Fragrance and Odor Analysis**. New York: Marcel Dekker, p. 75–106, 2002.

HOWES, M. R.; SIMMONDS, M. S. J.; KITE, G. C. Evaluation of the quality of sandalwood essential oils by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1028, p. 307–312, 2004.

HUSSAIN, A. I.; ANWAR, F.; SHERAZI, S. T. H.; PRZYBYLSKI, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 108, p. 986–995, 2008.

ISIDOROV, V. A.; KRAJEWSKA U.; DUBIS, E. N.; JDANOVA, M. A. Partition coefficients of alkyl aromatic hydrocarbons and esters in a hexane–acetonitrile system. **Journal of Chromatography A**, v. 923, p. 127–136, 2001.

ISMAN, M. B. & MACHIAL, C. M. Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. **Naturally occurring bioactive compounds**, v. 3, p. 29–44, 2006.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, p. 603–608, 2000.

JORDÁN, M. J.; MARGARÍA, C. A.; SHAW, P. E.; GOODNER, K. L. Aroma Active components in aqueous kiwi fruit essence and kiwi fruit puree by GC-MS and multidimensional GC/GC-O. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p.5386–5390, 2002.

KHAJEH, M.; YAMINI, Y.; SHARIATI, S. Comparison of essential oils compositions of *Nepeta persica* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and steam distillation methods. **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, p. 227–232, 2010.

KORHONEN, I. O. O. Gas-liquid chromatographic analyses. XLVII. Retention increments of some lower saturated branched-chain, unsaturated and chlorinated esters of benzoic, 4-nitrobenzoic and 3,5-dinitrobenzoic acids on SE-30 and OV-351 capillary columns. **Journal of Chromatography A**, v. 360, p. 63–78, 1986.

KOYAMA, S.; YAMAGUCHI, Y.; TANAKA, S.; MOTOYOSHIYA, J. A New substance (yoshixol) with an interesting antibiotic mechanism from wood Oil of Japanese traditional tree (kiso-hinoki), *Chamaecyparis obtuse*. **General Pharmacology**, v. 28, n. 5, p. 797–807, 1997.

LAHLOU, M. Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential Oils. **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 435–448, 2004.

LAWRENCET, B. M. Essential oils: from agriculture to chemistry. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 10, p. 82–98, 2000.

LEFFINGWELL, J. C. & ALFORD, E. D. Volatile constituents of Perique Tobacco. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 4, n. 2, 2005.

LIMA, A.; SILVA, A. M. O.; TRINDADE, R. A.; TORRES, R. P.; MANCINI-FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695–698, 2007.

LINFORTH, R. S. T. Developments in instrumental techniques for food flavour evaluation: future prospects. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 2044–2048, 2000.

LUCCHESI, M. E.; CHEMAT, F.; SMADJA, J. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. **Journal of Chromatography A**, v. 1043, p. 323–327, 2004.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, M. H. L. Aroma volatiles of pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 574–576, 2008.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. G. B. Aroma volatiles from two fruit varieties of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). **Food Chemistry**, v. 85, p.195–197, 2004.

MARRIOTT, P. J.; SHELLIE, R.; CORNWELL, C. Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. **Journal of Chromatography A**, v. 936, p. 1–22, 2001.

MASANGO, P. Cleaner production of essential oils by steam distillation. **Journal of Cleaner Production**, v.13, p. 833–839, 2005.

MASOTTI, V.; JUTEAU, F.; BESSIERE, J. M.; VIANO, J. Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 7115–7121, 2003.

MCGORRIN, R. J. Character impact compounds: Flavors and off-flavors in foods. In: MARSILI, R., Ed. **Flavor, Fragrance and Odor Analysis**. New York: Marcel Dekker, p. 375–413, 2002.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 372–378, 2010.

OKOH, O. O.; SADIMENKO, A. P.; AFOLAYAN, A. J. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. **Food Chemistry**, v.120, p. 308–312, 2010.

PAOLINI, J.; BARBONI, T.; DESJOBERT, J. M.; DJABOU, N.; MUSELLI, A.; COSTA, J. Chemical composition, intraspecies variation and seasonal variation in essential oils of *Calendula arvensis* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, p. 865–874, 2010.

PARLIMENT, T. Solvent extraction and distillation techniques. In: MARSILI, R., Ed. **Flavor, Fragrance and Odor Analysis**. New York: Marcel Dekker, p. 1–23, 2002.

PENSUK, W.; PADUMANONDA, T.; PICHAENSOONTHON, C. Comparison of the chemical constituents in *Michelia alba* flower oil extracted by steam distillation, hexane extraction and enfleurage method. **Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine**, v. 5, n.1, p. 30–39, 2007.

PEPPARD, T. L. Volatile flavor constituents of *Monstera deliciosa*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 257-262, 1992.

PINO, J. A.; MESA, J.; MUÑOZ, Y.; MARTÍ, M. P.; MARBOT, R. Volatile Components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2213–2223, 2005.

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

POURMORTAZAVI, S. M. & HAJIMIRSADEGHI, S. S. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. **Journal of Chromatography A**. V. 1163, p. 2–24, 2007.

QIAN, M. & REINECCIUS, G. Potent aroma compounds in Parmigiano Reggiano cheese studied using a dynamic headspace (purge-trap) method. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, p. 252–259, 2003.

RAMOS, M. I. L.; UMAKI, M. C. S.; HIANE, P. A.; RAMOS FILHO, M. M. Efeito do cozimento convencional sobre os carotenóides provitamínicos “A” da polpa do piqui (*Caryocar brasiliense* camb). **Boletim CEPPA**, v. 19, n. 1, p. 23–32, 2001.

REISCHE, D. W.; LILLARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. Antioxidants in food lipids. In: Ahoh, C. C. & Min, B. D. Ed(s). **Chemistry, Nutrition and Biotechnology**. New York: Marcel Dekker, 1998.

REVERCHON, E. Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 10, p. 1–37, 1997.

RIBEIRO, R. F. **Pequi, o Rei do Cerrado**: roendo o fruto sertanejo por todos os lados. Belo Horizonte: REDE CERRADO/REDE/CAANM/CAMPO VALE, 2000. 62p.

SCHMIDT, E. Production of Essential Oils. In: BASER, K. H. C. & BUCHBAUER, G., Ed(s). **Handbook of Essential Oil: Science, Technology, and Applications**. Boca Raton: Taylor & Francis Group, p. 83–119, 2010.

SEFIDKON, F.; ABBASI, K.; KHANIKI, G. B. Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. **Food Chemistry**, v. 99, p. 19–23, 2006.

SELL, C. Chemistry of Essential Oils In: BASER, K. H. C. & BUCHBAUER, G., Ed(s). **Handbook of essential oils: science, technology, and applications**. Boca Raton: Taylor & Francis Group, p. 121–150, 2010.

SOUZA, E. C.; VILAS BOAS, E. V. B.; VILAS BOAS, B. M.; RODRIGUES, L. J.; PAULA, N. R. F. Qualidade e vida útil de pequi minimamente processado, armazenado sob atmosfera modificada. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1811–1817, 2007.

SMITH, J.; TUCKER, D.; ALTER, D.; WATSON, K.; JONES, G. Intraspecific variation in essential oil composition of *Eremophila longifolia* F. Muell. (Myoporaceae): evidence for three chemotypes. **Phytochemistry**, v. 71, p. 1521–1527, 2010.

SURBURG, H. & PANTEN, J. **Common Fragrance and Flavor Materials**. 5. ed. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006.

TAKEOKA, G. R.; BUTTERY, R. G.; FLATH, R. A. Volatile constituents of Asian Pear (*Pyrus serotina*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 1925–1929, 1992.

TELLEZ, M. R.; SCHRADER, K. K.; KOBASISY, M. Volatile components of the cyanobacterium *Oscillatoria perornata* (Skuja). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5989–5992, 2001.

TIGRINE-KORDJANI, N.; MEKLATI, B. Y.; CHEMAT, F. Microwave 'dry' distillation as an useful tool for extraction of edible essential oils. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 16, p. 141–147, 2006.

VALIM, M. F.; ROUSEFF, R. L.; LIN, J. Gas chromatographic-olfactometric characterization of aroma compounds in two types of cashew apple nectar. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 1010-1015, 2003.

WANG, Y.; YANG, C.; LI, S.; YANG, L.; WANG, Y.; ZHAO, J.; JIANG, Q. Volatile characteristics of 50 peaches and nectarines evaluated by HP-SPME with GC-MS. **Food Chemistry**, v. 116, p. 356-364, 2009.

WENQIANG, G.; SHUFEN, L.; RUIXIANG, Y.; SHAOKUN, T.; CAN, Q. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1558-1564, 2007.

3. TRIACILGLICERÍDIOS DO PEQUI

3.1. INTRODUÇÃO

Os triacilglicerídios (TAG), também denominados de triacilgliceróis ou triglicerídeos, fazem parte de um grupo de compostos designados lipídios (ARAÚJO, 2004). Os lipídios, no entanto, englobam um conjunto de substâncias, quimicamente diversas, solúveis em solventes orgânicos. Nos alimentos, são chamados de gorduras, quando sólidos, ou óleos, se líquidos, correspondendo ao seu estado físico a uma temperatura ambiente (MCCLEMENTS & DECKER, 2010). Em alguns casos, os TAGs ainda costumam ser denominados “óleos fixos”, visando evitar associações com os óleos voláteis (essenciais) (CIONI *et al.*, 2005; KÖKDIL & YILMAZ, 2005; SARAIVA *et al.*, 2010; SINGH *et al.*, 2001; ZAOUI *et al.*, 2002). Os TAG são as substâncias lipídicas mais abundantes em óleos e gorduras comestíveis, geralmente na faixa de 95-98% (m/m) (XENAKIS *et al.*, 2010).

Cerca de 80%, dos mais de 100 milhões de toneladas de óleos e gorduras comestíveis, produzidos anualmente em todo o mundo, são derivados de plantas e recebem a denominação de óleos vegetais. Os óleos vegetais desempenham importantes papéis funcionais e sensoriais em alimentos, agindo como portadores de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K). Eles também fornecem energia e ácidos graxos essenciais, ácidos linoléico e linolênico, responsáveis pelo crescimento. Constituem-se, ainda, em um importante insumo em indústrias alimentícias e um dos principais ingredientes utilizados para fabricar produtos de limpeza, cosméticos e produtos farmacêuticos (FASINA *et al.*, 2008;). Adicionalmente, devido à crescente demanda de energia e consciência ambiental, algumas pesquisas têm sido empreendidas a fim de produzir combustíveis alternativos, provenientes de fontes renováveis; tais como, os biocombustíveis, a partir de óleos vegetais

(LIN *et al.*, 2011; KOH & GHAZI, 2011; MEKHILEF *et al.*, 2011; MENDOW *et al.*, 2011; RAMADHAS *et al.*, 2004).

O pequi, *Caryocar brasiliense* Camb., é uma planta perene, que pode ser classificada como frutífera ou oleaginosa, em razão das suas características e maneiras de utilização (OLIVEIRA *et al.*, 2008). Como oleaginosa, da polpa do fruto é extraído um óleo bastante usado na culinária regional (ARAÚJO, 1995; RIBEIRO, 2000). É utilizado, ou possui potencialidades de emprego, na indústria cosmética (PIANOVSKI *et al.*, 2008a; PIANOVSKI *et al.*, 2008b); na indústria alimentícia (ARAÚJO, 1995; AVIDOS & FERREIRA, 2000; GARCIA *et al.*, 2007; AQUINO *et al.*, 2009a; AQUINO *et al.*, 2009b; AQUINO *et al.*, 2011); como produto medicinal (RODRIGUES & CARVALHO, 2001; FRANCO & BARROS, 2006; MIRANDA-VILELA *et al.*, 2009); como biocombustível (ABREU *et al.*, 2004; RAMOS & WILHELM, 2005; ANTONIOSI-FILHO, 2006; COUTINHO *et al.*, 2009; DEMIRBAS, 2009; LOPES & STEIDLE NETO, 2011); entre outros. No interior do fruto do pequi, encontra-se uma amêndoa comestível, também rica em óleo e pouco explorada comercialmente (RABÊLO *et al.*, 2008).

O desenvolvimento do presente trabalho teve por objetivos:

- Determinar a concentração de triacilglicerídios da polpa e amêndoa do pequi, *Caryocar brasiliense* Camb..
- Determinar a composição química dos triacilglicerídios da polpa do pequi, em amostras coletadas em 18 municípios do bioma Cerrado, abrangendo três Estados da Federação (MA, MG e TO).
- Verificar, fazendo uso de análise multivariada, reconhecimento de padrões classificadores dessas amostras; segundo as respectivas concentrações das substâncias constituintes (ácidos graxos) da polpa de pequi, nas 18 populações amostradas.
- Identificar populações de pequi que apresentam quimiótipos superiores, no que se refere à qualidade e à quantidade de seus constituintes graxos.

3.2. REVISÃO DE LITERATURA

3.2.1. LIPÍDIOS: – Conceito e Classificação –

Os lípidos são compostos orgânicos, essenciais para a estrutura e função das células vivas. Englobam uma grande variedade de substâncias, caracterizadas pela predominância de moléculas não-polares. A diversidade em características estruturais, juntamente com as distintas afinidades, hidrofóbicas ou hidrofílicas, são os parâmetros utilizados para a divisão dos lipídios em categorias. Uma classificação tradicional e abrangente baseia-se na divisão em lipídios com frações saponificáveis (lipídios acila) e não-saponificáveis. Os compostos saponificáveis são derivados dos ácidos graxos e compreendem, principalmente: os mono-, di- e triacilglicerídios; os fosfolipídios; os glicolipídios; as ceras e os ésteres de esteroi. A porção acila tem uma forte influência sobre a hidrofobicidade e reatividade destes compostos. Os lipídios insaponificáveis compreendem: os isoprenóides (carotenóides, terpenóides, esteróides) e os tocoferóis (TRANCHIDA *et al.*, 2007). Entretanto, segundo CHRISTIE (1982), em uma definição mais específica, lipídios são os ácidos graxos e seus derivados (ésteres ou amidas) e compostos biossinteticamente relacionados aos ácidos graxos.

3.2.2. ÁCIDOS GRAXOS: – Características Químicas e Nomenclatura –

As plantas, os animais e os microrganismos (fungos e bactérias) produzem ácidos graxos a partir de acetil-SCoA e malonil-SCoA, ou seja, rota biossintética do acetato-malonato (HARWOOD, 1996; MAGNUSON *et al.* 1993; THELEN & OHLROGGE, 2002; VLAEMINCK *et al.*, 2006; WHITE *et al.*, 2005). No entanto, a maioria dos ácidos graxos (AG), de ocorrência natural em plantas, possui um número par de carbonos e cadeia linear, devido ao processo biológico de alongamento da cadeia, no qual dois carbonos são adicionados a cada vez. Em geral, apresentam entre 12 e 22 carbonos, com 1 a 3 duplas ligações, na configuração *cis* (THELEN & OHLROGGE, 2002).

Aos ácidos graxos são atribuídas nomenclaturas sistemática, comum e abreviadas (CHRISTIE, 1982; MCCLEMENTS & DECKER, 2010). Muitos dos nomes comuns originaram-se da fonte da qual o ácido graxo foi isolado inicialmente. O nome usual foi empregado antes de ser conhecida a estrutura química de um ácido e refere-se à origem natural (VISENTAINER & FRANCO, 2006). O ácido palmítico (ácido hexadecanóico) foi primeiramente encontrado no óleo de palma, *Elaeis guineensis* (HENDERSON & OSBORNE, 2000); assim, como o nome oléico (ácido octadec-9-enóico), deriva-se do azeite de oliva, obtido da oliveira, *Olea europaea* L. (LOPEZ-HUERTAS, 2010).

Um sistema numérico pode ser utilizado para a abreviatura dos nomes. O primeiro número, nesse sistema, designa o número de carbonos, enquanto que o segundo, o número de duplas ligações. A posição da primeira dupla ligação é numerada por Δ (*delta*), de acordo com a numeração IUPAC. Deve-se destacar que em ácidos graxos polinsaturados, as duplas ligações não estão conjugadas, mas separadas por um carbono metilênico. Isso significa que as ligações duplas estão afastadas por três carbonos. Desse modo, é possível prever a posição de todas as ligações duplas, na maioria dos ácidos graxos insaturados de ocorrência natural, se a localização da primeira ligação dupla for conhecida (MCCLEMENTS & DECKER, 2010; ORDÓÑEZ, 2005). Adicionalmente, a posição da ligação dupla pode ser indicada através da expressão (n – x), onde x é o número de átomos de carbono que há desde a última ligação dupla ao grupo metila terminal. Anteriormente essa nomenclatura era denominada ω (*ômega*) (CHRISTIE, 1982).

Na Tabela 3.1 são apresentados alguns ácidos graxos, comumente encontrados em óleos alimentícios, seguidos de seus nomes sistemáticos (IUPAC), bem como suas nomenclaturas alternativas, porém, bastante empregada e, às vezes, preferidas.

Acima de 99% dos AG encontrados em plantas e animais são esterificados com o glicerol, dando origem a um grupo de composto denominados de triacilglicerídios. Os AG livres não são comuns em tecidos vivos, pois apresentam citotoxicidade devido a sua capacidade de romper a organização da membrana celular. Quando esterificados com o glicerol, sua atividade e toxidez diminuem (MCCLEMENTS & DECKER, 2010).

TABELA 3.1. Nomes sistemáticos, comuns e numéricos dos ácidos graxos naturalmente encontrados em alimentos de origem vegetal e animal

Ácidos Graxos Saturados			
Nome Sistemático (ácido)	Nome Comum	Abreviação Numérica	
dodecanóico	láurico	12:0	
tetradecanóico	mirístico	14:0	
hexadecanóico	palmitico	16:0	
octadecanóico	esteárico	18:0	
eicosanóico	araquídico	20:0	
Ácidos Graxos Insaturados			
Nome Sistemático (ácido)	Nome Comum	Abreviações Numéricas	
tetradec-9-enóico	miristoléico	14:1 Δ^9	14:1 (n-5); ω 5
hexadec-9-enóico	palmitoléico	16:1 Δ^9	16:1 (n-7); ω 7
octadec-9-enóico	oléico	18:1 Δ^9	18:1 (n-9); ω 9
octadec-9,12-dienóico	linoléico	18:2 Δ^9	18:2 (n-6); ω 6
octadec-9,12,15-trienóico	linolênico	18:3 Δ^9	18:3 (n-3); ω 3
icos-5,8,11,14-tetraenóico	araquidônico	20:4 Δ^5	20:4 (n-6); ω 6

3.2.3. TRIACILGLICERÍDIOS

– Características Químicas, Nomenclatura e Importância –

Os triacilglicerídios (TAG) são estruturalmente constituídos por uma molécula de glicerol esterificada a três moléculas de ácidos graxos (Figura 3.1). Podem ser produzidos artificialmente pela reação entre o propano-1,2,3-triol (glicerol) e ácidos graxos (Figura 3.2). Os ácidos graxos contribuem com 94–96% da massa total de uma molécula de triacilglicerídeo (GÜNER *et al.*, 2006; MU & HOY, 2004; XENAKIS *et al.*, 2010).

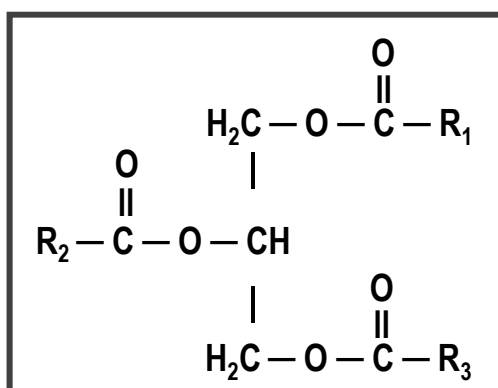


FIGURA 3.1. Estrutura geral de uma molécula de triacilglicerídeo.

Onde: R₁, R₂ e R₃ são grupos alquilas.

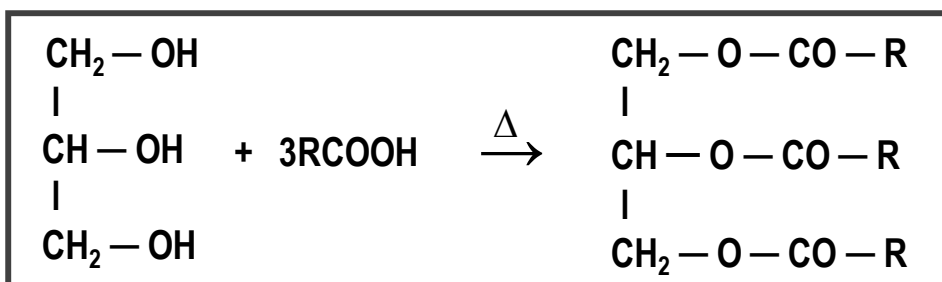


FIGURA 3.2. Esquema geral de uma reação de síntese de triacilglicerídios.

Sendo R é um grupo alquila e Δ = calor.

Os TAGs podem ser nomeados por vários sistemas diferentes. Em geral, sua nomenclatura se baseia nos nomes comuns atribuídos aos ácidos graxos, constituintes (MARTÍNEZ-FORCE *et al.*, 2004). A Tabela 3.2 exemplifica algumas nomenclaturas empregadas para as moléculas de TAG.

TABELA 3.2. Alguns exemplos de nomenclatura dos triacilglicerídios

TAG homogêneos: constituídos de três ácidos graxos iguais	
Por exemplo:	ácido esteárico (St)
Nomenclaturas Comuns	Nomenclaturas Abreviadas
triestearoil glicerol	StStSt
triestearina	18:0-18:0-18:0
glicerol-triestearato	
TAG heterogêneos: constituídos de diferentes ácidos graxos	
Por exemplo:	palmítico (P), oléico (O) e esteárico (St) localização estereoespecífica não identificada
Nomenclaturas Comuns	Nomenclaturas Abreviadas
palmitoil-oleoil-estearoil glicerol	POSt
palmito-oleo-estearina	16:0-18:1-18:0
glicerol-palmito-oleo-estearato	

As bactérias, os fungos e leveduras, as plantas e os animais têm a capacidade de sintetizar triacilglicerídios; uma função necessária ao metabolismo destes seja em períodos de excesso ou de estresse nutricional. Em organismos eucariontes, os TAG são reservas de energia, fonte de ácidos graxos essenciais (linoléico, linolênico e araquidônico) e precursores para a

biossíntese de fosfolipídios (COLEMAN & LEE, 2004; SMIT *et al.*, 2004); como também, de prostaglandinas, com seus efeitos sobre a inflamação e outros estados patológicos (CHRISTIE, 2010).

Deve-se ainda destacar, que os TAG, principalmente a partir de fontes vegetais, também são matérias-primas extremamente importantes para as indústrias de alimentos, cosmética e farmacêutica (FUCHS *et al.*, 2011; GHOTRA *et al.*, 2002; SATO, 2001). Portanto, métodos que permitam a sua rápida análise são de grande relevância.

3.2.4. ANÁLISE DE TRIACILGLICERÍDIOS

O procedimento analítico para a determinação de triacilglicerídios envolve três etapas: extração, quantificação e identificação. A extração envolve o uso de solventes e um sistema extrator, enquanto que as etapas de quantificação e identificação podem ser realizadas através do emprego da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CARRASCO-PANCORBO *et al.*, 2009).

3.2.4.1. Métodos de Extração

Independente de qual seja a metodologia empregada, na análise de triacilglicerídios; a primeira etapa, normalmente, é a extração. Apesar de parecer trivial, esse é um ponto muito importante, uma vez que os TAG não são extraídos com facilidade, pois os mesmos encontram-se no interior dos tecidos do material biológico original e, às vezes, associados à outras substâncias (FUCHS *et al.*, 2011).

A extração de TAG de materiais vegetais é geralmente realizada com solventes, tais como éter etílico, éter de petróleo e hexano, seguida da remoção destes solventes por evaporação ou destilação. O resíduo obtido não é unicamente constituído de TAG, mas por todos os compostos, que nas condições empregadas, possam ser extraídos pelo solvente. Estes conjuntos incluem os ácidos graxos livres, os ésteres de ácidos graxos (mono e diglicerídeos), as lecitinas, as ceras, os carotenóides, a clorofila e outros pigmentos, além dos esteróis, fosfatídios, vitaminas lipossolúveis, óleos

essenciais; mas em quantidades relativamente pequenas, que não chegam a representar uma diferença significativa na determinação de TAG (IAL, 2008).

Além do emprego de solventes alguns equipamentos têm sido utilizados como instrumentos de extração da matéria graxa, ou seja, de triacilglicerídeos de amostras sólidas. Em 1879, foi desenvolvido por Frans Von Soxhlet, um equipamento que recebeu a denominação de Extrator tipo Soxhlet (Figura 3.3). A extração, nesse equipamento, inicia ao se introduzir a amostra num papel de filtro (forma cilíndrica), dentro do Soxhlet. O solvente é aquecido num balão de fundo redondo, originando vapor. O vapor, proveniente do solvente, passa para o condensador onde é resfriado, passando ao estado líquido e enchendo o receptáculo extrator, até atingir o nível do tubo lateral. Ao longo do tempo, o solvente lixivia os compostos solúveis presentes na amostra e após vários ciclos obtém-se o extrato final. Essa técnica apresenta algumas vantagens atrativas. O sistema permanece a uma temperatura relativamente elevada por efeito do calor aplicado no balão de destilação, o que melhora a eficiência da extração. Não é necessário filtrar o extrato, após a lixiviação da amostra. Pode ser considerada uma metodologia simples, que requer pouco treinamento; permite várias extrações simultâneas em paralelo, que são facilitadas pelo baixo custo relativo do equipamento básico. Algumas das desvantagens do uso do Soxhlet referem-se ao longo tempo necessário para a extração, como também, seu sistema extrator apresenta dificuldades de automatização, entre outras (CASTRO & PRIEGO-CAPOTE, 2010; LUQUE-GARCIA & CASTRO, 2004).

Uma melhoria no sistema de extração com base no Soxhlet é o Soxtec, que foi desenvolvido na década de 1970 e comercializado a partir de 1982 (SPORRING *et al.*, 2005). O Soxtec é um equipamento, automático ou semi-automático, que envolve três etapas. Inicialmente, um cartucho contendo a matriz oleaginosa é imerso no solvente, em ebulição. Após determinado tempo (1 a 2 h), o cartucho é então levantado para que o refluxo do solvente possa lavar os últimos vestígios de óleo. A etapa seguinte consiste na concentração da amostra no próprio extrator. Essa metodologia também é de fácil operacionalização, apresentando como principal vantagem o menor tempo de extração, bem como um menor consumo de solvente (KHAN *et al.*, 2005; MORRISON, 1990). Além disso, o Soxtec melhora a eficiência de extração de

analitos fortemente vinculados à matriz sólida, pois a transferência destes para a parte líquida (solvente) é, altamente, favorecida durante a fase de ebulição. No geral, a eficiência de extração é equivalente ao obtido com o Soxhlet convencional (CASTRO & GARCÍA-AYUSO, 1998). A Figura 3.4 ilustra o esquema de extração, em três etapas, em um extrator tipo Soxtec.

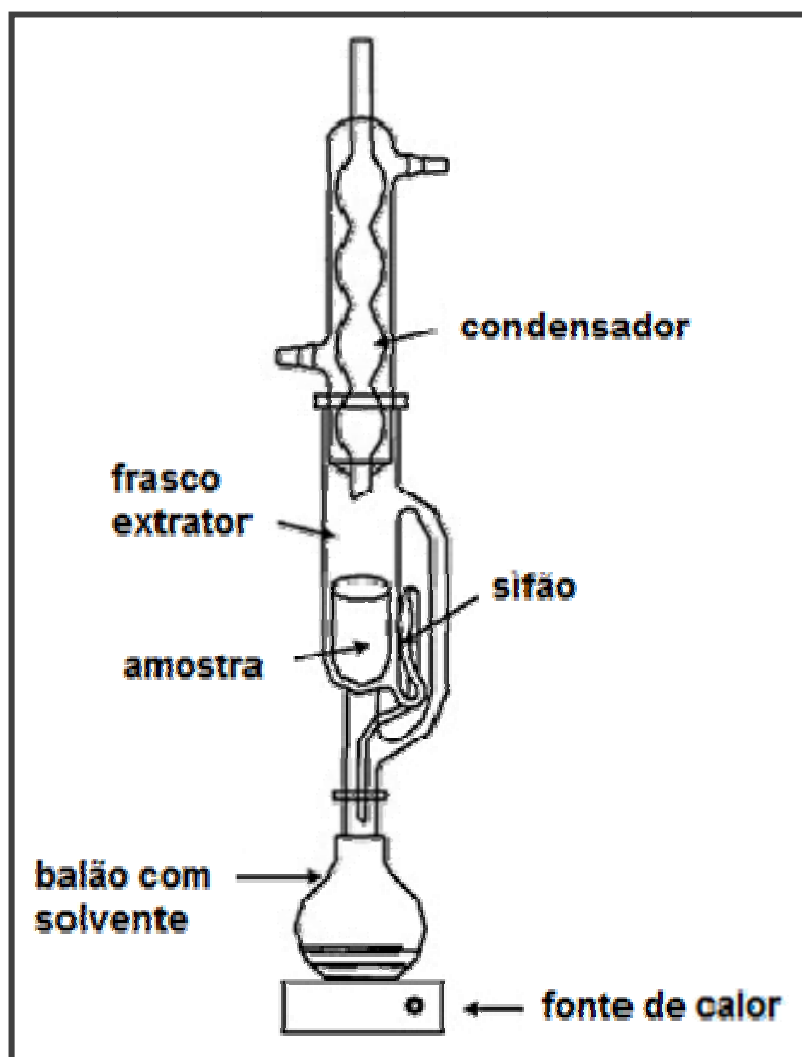


FIGURA 3.3. Extrator tipo Soxhlet.

3.2.4.2. Análise Espectroscópica no Infravermelho Médio

A espectroscopia no infravermelho médio (EIVM) é uma técnica analítica adaptada para o estudo de compostos orgânicos. Os modos vibracionais característicos de cada grupo funcional dão origem a bandas no espectro de infravermelho, em frequências específicas. A interpretação dos espectros é realizada por meio da correlação dessas bandas de absorção com seus

respectivos grupos funcionais, possibilitando a caracterização da amostra em questão (BARBOSA, 2007; BARTH, 2007).

FIGURA 3.4. Esquema de um sistema de extração de matéria graxa em equipamento tipo Soxtec.

A EIVM é adequada para a análise de óleos comestíveis. É considerada uma técnica analítica rápida e de fácil uso, pois não é necessário tratamento prévio da amostra (PINTO *et al.*, 2010; WILSON & TAPP, 1999). Tem sido comumente empregada em análise de óleos vegetais para identificar os diferentes grupos funcionais (AHMED *et al.*, 2005; SHERAZI *et al.*, 2009); para detectar adulterações (GURDENIZ & OZEN, 2009; ROHMAN & MAN, 2010); para monitorar processos oxidativos e outras reações de degradação (GUILLÉN & CABO, 2002); para discriminar amostras de diferentes regiões

produtoras (TAPP *et al.*, 2003) e de diferentes origens botânicas (YANG *et al.*, 2005), entre outras.

3.2.4.3. Derivatização

A derivatização do analito é empregada em muitas metodologias que utilizam a análise cromatográfica em fase gasosa (CG) como etapa determinante. A derivatização aumenta a volatilidade do analito, melhora as características cromatográficas de uma substância, diminuindo a sua polaridade e/ou aumenta a sensibilidade de detecção do analito em questão. Sem a disponibilidade de um arsenal de reagentes de derivatização adequados; a aplicabilidade da cromatografia em fase gasosa, em química analítica, seria drasticamente reduzida (WELLS, 1999).

Antes dos TAG serem analisados por CG, é necessário convertê-los para derivados não polares de baixa massa molecular, tais como os ésteres metílicos. A preparação de ésteres metílicos, derivados de TAG é uma das reações mais comuns realizadas por analistas de lipídios (CHRISTIE, 1993). Uma metodologia, comumente, utilizada é a transesterificação ou alcoólise; que pode ser definida como a reação entre um óleo vegetal (ou gordura animal) e um álcool, geralmente o metanol, para formar ésteres e glicerol. Uma vez que essa reação é reversível, álcool em excesso é usado para deslocar o equilíbrio para a formação dos produtos (HELWANI *et al.*, 2009; SINGH & SINGH, 2010; LEUNG *et al.*, 2010). Na Figura 3.5 tem-se um esquema geral de uma reação de transesterificação.

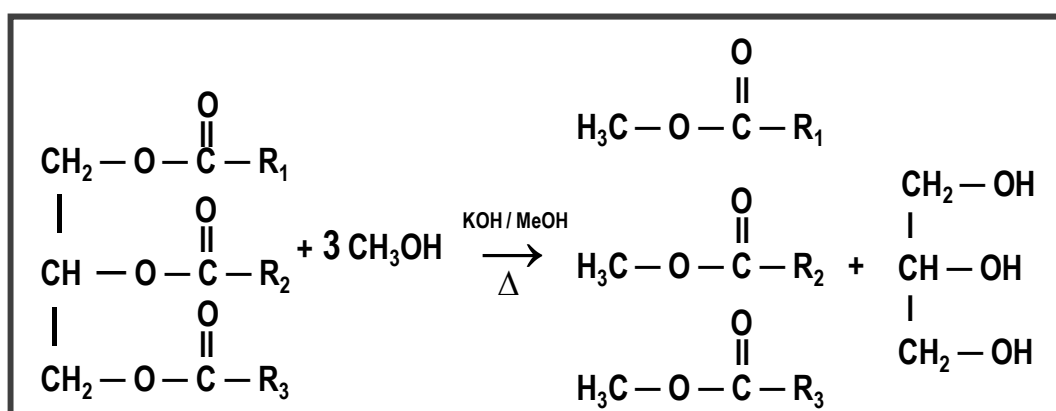


FIGURA 3.5. Esquema geral de uma reação de transesterificação. Onde: R₁, R₂ e R₃ são grupos alquílias e Δ = calor.

3.2.4.4. Cromatografia Gasosa / Espectrometria de Massas

O desenvolvimento inicial da cromatografia gasosa está extremamente interligado com a análise de lipídios. Esta técnica de separação superou, no decorrer dos anos, outras técnicas, especialmente com relação ao perfil de ácidos graxos nas moléculas de triacilglicerídios; podendo ser considerada como a principal responsável pelo conhecimento da composição dos lipídios nos últimos anos (VISENTAINER & FRANCO, 2006).

Na década de 1970, a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) surgiu como uma ferramenta para a identificação estrutural de lipídios. Assim, tornaram-se disponíveis bases de dados (bibliotecas), contendo informações estruturais de ésteres metílicos, obtidos de ácidos graxos (CARRASCO-PANCORBO *et al.*, 2009).

A maioria das aplicações de CG-EM utiliza cromatografia gasosa com um detector de massas quadrupolo e ionização por impacto de elétrons (RAGUNATHAN *et al.*, 1999). Nessa técnica, os compostos orgânicos na fase de vapor são bombardeados por elétrons e formam-se íons carregados positivamente, os quais se fragmentam de diferentes maneiras, formando entidades menores ionizadas. Estes íons são propelidos através de um campo magnético intenso e são separados de acordo com a relação massa e carga (m/z). Os íons são coletados em sequência, ou seja, de acordo com o aumento gradativo da relação massa/carga, em um sistema de detecção adequado e são apresentados como picos em um gráfico (espectro). Ao maior pico, ou pico base, no espectro é dado, arbitrariamente o valor de 100 e a intensidade dos demais são normalizadas de acordo com este valor, para que os dados possam ser apresentados de uma maneira uniforme. O íon com maior valor m/z é, às vezes, o mesmo da molécula original ionizada e é denominado o pico do íon molecular. Com instrumentos de alta resolução, as massas de cada íons individualmente podem ser medidas com precisão para se determinar a fórmula molecular do composto (CHRISTIE, 2011a; MILLER, 2005).

A CG-EM é uma das técnicas de análise mais utilizadas. Isso se deve à excelente informação qualitativa obtida e à alta sensibilidade inerente à espectrometria de massas. Embora essa técnica tem sido usada para fins qualitativos; pode-se ainda empregá-la, com objetivos quantitativos (RAGUNATHAN *et al.*, 1999).

No espectro de massas de ésteres de ácidos carboxílicos alifáticos de cadeia abertas; tais como, os ésteres metílicos de ácidos graxos; comumente, observa-se o pico do íon molecular de intensidade apreciável. Quando esses ésteres são derivados de ácidos graxos de cadeia saturada, o pico mais intenso e característico é devido ao rearranjo de McLafferty, com quebra da ligação β em relação ao grupo C=O (Figura 3.6). Assim, o éster metílico de um ácido alifático, saturado, não ramificado; no carbono α produz um pico intenso (pico base) m/z 74 (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

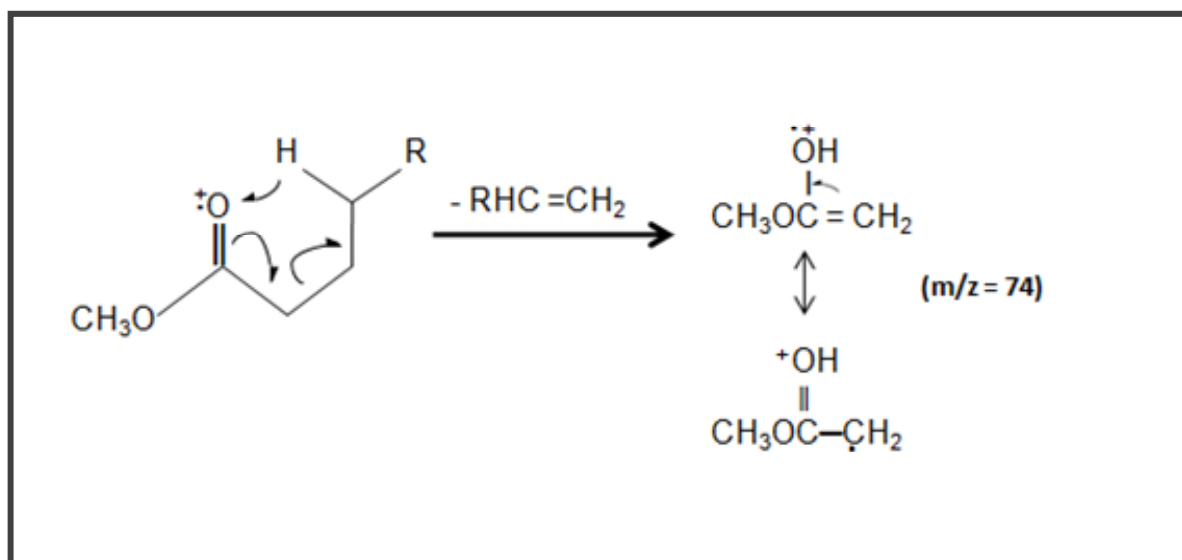


FIGURA 3.6. Esquema do processo de fragmentação de ésteres metílicos de ácidos graxos, evidenciando o fragmento oriundo do Rearranjo de McLafferty ($m/z = 74$). Em que R = grupo alquil.

Entretanto, os espectros de massas, por impacto de elétrons, para ésteres metílicos derivados de ácidos monoinsaturados são mais informativos. O pico do íon molecular é claramente visível; como também os picos $[M-32]^+$, que representa a perda do metanol, e $[M-74]^+$, que representa a perda do íon resultante do rearranjo de McLafferty. Neste caso, o pico base é, normalmente, $m/z = 55$ $[C_4H_7]^+$. Também, algumas características são comuns nos espectros de massas a partir de ésteres de ácidos graxos dienóicos. O íon molecular é facilmente identificado. Íons de hidrocarboneto de fórmula geral $[C_nH_{2n-3}]^+$ dominam a faixa de baixa massa [$m/z = 67, 81, 95, 109, 123$ etc.] (HALLGREN *et al.*, 1959).

3.2.5. ÓLEO DE PEQUI

3.2.5.1. Importância, Uso e Potencialidades

Tanto da polpa, como da amêndoa, dos frutos do pequi são extraídos um óleo que tem demonstrado grande versatilidade quanto ao seu emprego; que vão desde a alimentação até a indústria cosmética (ARAÚJO, 1995).

Na culinária regional é muito utilizado na composição de variados pratos (LIMA *et al.*, 2007). A extração do óleo da polpa de pequi é geralmente realizada artesanalmente, submetendo a polpa do fruto a um cozimento intensivo com água e separando o óleo sobrenadante (FACIOLLI & GONÇALVES, 2008). Entretanto, algumas pesquisas têm sido empreendidas com o objetivo de viabilizar esse processo, industrialmente (GARCIA *et al.*, 2007; GONÇALVES, 2007; AQUINO *et al.*, 2009a; AQUINO *et al.*, 2009b; MARIANO *et al.*, 2009; AQUINO *et al.*, 2011).

A medicina popular tem atribuído, ao óleo de pequi, propriedades curativas (RODRIGUES & CARVALHO, 2001; MENDES & CARLINI). Esse valor terapêutico vem sendo pesquisado e alguns experimentos científicos atestam sua real eficácia. Nesse sentido, deve-se mencionar os estudos de MIRANDA-VILELA *et al.* (2009) que conferiram ao óleo de pequi (*C. brasiliense*) efeitos anti-inflamatórios e redutores de colesterol. É, ainda, digno de nota citar pesquisas sobre propriedades medicinais do óleo de pequi, obtido de outra espécie (*Caryocar coriaceum*), que apresentou propriedades cicatrizantes de feridas e atividade anti-inflamatória tópica (OLIVEIRA *et al.*, 2010; BATISTA *et al.*, 2010). Nesse sentido, SARAIVA *et al.* (2010) concluíram que o óleo fixo da polpa do pequi é um potencial medicamento herbal a ser empregado no tratamento de doenças inflamatórias da pele. Outros estudos evidenciaram que o óleo fixo de pequi (*C. coriaceum*) apresenta atividade gastroprotetora; justificando seu uso, na medicinal popular, para o tratamento de feridas e úlceras gástricas (QUIRINO *et al.*, 2009).

Segundo alguns pesquisadores o óleo de pequi apresenta, também, potencialidades de uso para a produção de biocombustíveis e lubrificantes (ABREU *et al.*, 2004; ANTONIOSI-FILHO, 2006; COUTINHO *et al.*, 2009; DEMIRBAS, 2009; LOPES & STEIDLE NETO, 2011; RAMOS & WILHELM, 2005).

A aplicabilidade cosmetológica do óleo de pequi em formulações tópicas, também, tem sido objeto de estudo. Para tal, pode-se citar os trabalhos de PIANOVSKI *et al.* (2008a; 2008b).

3.2.5.2. Composição de Triacilglicerídios no Óleo de Pequi

Provavelmente devido à importância econômica do *Caryocar brasiliense* e à classificação agrônômica da espécie como oleaginosa, o teor de óleo e a composição triacilglicerídica da polpa e da amêndoa do pequi têm sido de interesse, ao longo dos anos, pelos pesquisadores. O trabalho de HANDRO & BARRADAS (1971), citado em ARAÚJO (1995) é, possivelmente, o primeiro relato nesse sentido; inclusive, já empregando técnicas analíticas envolvendo a cromatografia gasosa.

Com base na matéria seca, foram encontrados, aproximadamente, 57% de óleo, tanto na polpa como na amêndoa do *C. brasiliense* (LIMA *et al.*, 2007). Ainda, em um trabalho mais recente, identificou-se teores de lipídios, na amêndoa do pequi, em torno de 52% (SOUSA *et al.*, 2011).

De acordo com FACIOLI & GONÇALVES (1998), a composição triacilglicerídica do óleo de sua polpa é, na sua maior parte, constituída por ácido oléico (53,9%) e ácido palmítico (40,2%). Em uma investigação posterior (GARCIA *et al.*, 2007), foram obtidos os seguintes resultados: ácido oléico (54,0%), ácido palmítico (41,1%), ácido mirístico (0,2%), ácido palmitoléico (0,5%), ácido esteárico (1,9%), ácido vacênico (0,3%), ácido linoléico (0,9%), ácido araquidônico (0,2%), ácido gadoléico (0,7%) e ácido eicos-11-enóico (0,2%). No entanto, em estudos envolvendo cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem, com ionização por *electrospray*, revelaram a composição triacilglicerídica no óleo da polpa do pequi. Nesse trabalho, os ácidos graxos majoritários foram palmítico (44,2%) e oléico (51,7%). Enquanto que as principais moléculas de triacilglicerídios identificadas foram: trioleil glicerol (5,6%), palmitoil dioleil glicerol (46,6%), dioleil estearoil glicerol (0,52%) e dipalmitoil oleil glicerol (45,2%); representando, aproximadamente, 97,4% do total de TAG (SEGALL *et al.*, 2006). Adicionalmente, MIRANDA-VILELA & GRISOLIA (2009), utilizando espectroscopia de RMN, encontraram como componentes principais do extrato hexânico da polpa de *C. brasiliense* (óleo de pequi), após derivatização e

obtenção de ésteres metílicos (reação de esterificação: BF_3 – metanol), os ésteres de ácidos graxos saturados (palmitato = 41%) e insaturados (oleato = 54%).

Desses estudos, embora ocorram algumas divergências, pode-se verificar que os pesquisadores são praticamente unânimes no fato de que os ácidos graxos majoritários nos TAG, da polpa e da amêndoa do pequi, são o palmítico e o oléico.

3.3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.3.1. MATERIAL VEGETAL

As coletas das amostras foram realizadas nos Estados do Maranhão, Minas Gerais e Tocantins. Foram coletadas amostras de 18 populações, entre os meses de dezembro de 2009 e janeiro de 2010.

A escolha dos locais de coleta foi, prioritariamente, o Estado de Minas Gerais, o qual tem o Bioma Cerrado equivalente a 57% do total da área ocupada pelas demais vegetações (41% Mata Atlântica e 2% Caatinga), que corresponde a 16% de todo o Cerrado Nacional (IBGE, 2004). As aquisições das amostras, em Minas Gerais (12 populações), abrangeram: a Região Central (Curvelo e Felixlândia); a Região do Noroeste de Minas (Arinos e Unaí) e a Região do Norte de Minas (Bocaiúva, Claro dos Poções, Grão Mogol, Januária, Japonvar, Montes Claros, Pirapora e Salinas) – fronteira ao Bioma Caatinga. A distância aproximada entre os municípios foi em torno de 100 km.

A seleção dos demais locais de aquisição de amostras, Estados do Maranhão e do Tocantins, levou-se em conta a representatividade, no que diz respeito ao Bioma Cerrado; ou seja, 65% e 91% do total da área ocupada pelas vegetações e 11% e 12% de todo Cerrado Nacional, respectivamente (IBGE, 2004); como também as, prováveis, diferenças geográficas. Deve-se destacar que o Cerrado do Estado do Maranhão situa-se em região de fronteira com a Floresta Amazônica.

A coleta dos frutos, após queda natural, foi realizada nos Municípios, em áreas com pouca interferência antrópicas, em horários matutinos. Após a coleta, os frutos foram acondicionados em caixas térmicas com gelo e transportados para o Departamento de Química (DEQ) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), onde foram armazenados, com a casca, em freezer à temperatura de congelamento de -18°C até que se procedessem as análises. De maneira aleatória dividiu-se as amostras em três lotes: dois lotes de ± 4 kg, análise de carotenóides (Capítulo 1) e de óleos fixos e um lote com ± 12 kg, análise de óleos essenciais (Capítulo 2). Testemunhas de cada uma das

populações foram herborizadas (exsicata e carpoteca) e incorporadas ao acervo do Herbário VIC do Departamento de Biologia Vegetal (DBV) da UFV. As populações e os detalhes de coleta estão sumarizados na Tabela 3.3.

TABELA 3.3. Populações de *Caryocar brasiliense*, código das amostras, data da coleta dos frutos, dados geográficos* e Registro no Herbário DBV/UFV

Estado	Cidade	Código	Data Coleta (mês/ano)	Latitude	Longitude	Número Registro
MA	Barra do Corda	BAR	01/2010	05°37'30"	45°07'30"	VIC32272
	Grajaú (Gato Preto)	GAT	01/2010	05°52'30"	46°07'30"	VIC32271
	Grajaú (Olhos D'Água)	OLH	01/2010	05°52'30"	46°07'30"	VIC32273
	Lajeado Novo	MOP	01/2010	06°07'30"	47°07'30"	VIC32270
MG	Arinos	ARI	12/2009	15°56'15"	46°03'45"	VIC34071
	Bocaiúva	BOI	12/2009	17°03'45"	43°48'45"	VIC34077
	Claro dos Poços	CLA	01/2010	17°03'45"	44°11'15"	VIC34082
	Curvelo	CUR	01/2009	18°48'45"	44°26'15"	VIC34079
	Felixlândia	FEX	01/2010	18°48'45"	44°56'15"	VIC34080
	Grão Mogol	GRA	01/2010	16°33'45"	42°56'15"	VIC34073
	Januária	JAN	12/2009	15°26'15"	44°18'45"	VIC 31602
	Japonvar	JAP	12/2009	15°56'15"	44°18'45"	VIC 31601
	Montes Claros	MOC	01/2010	16°41'15"	43°48'45"	VIC34081
	Pirapora	PIR	01/2010	17°18'45"	44°56'15"	VIC34072
	Salinas	SAL	01/2010	16°11'15"	42°18'45"	VIC33269
Unaí	UNA	01/2010	16°18'45"	46°56'15"	VIC34076	
TO	Paraná	PAR	12/2009	12°37'30"	47°52'30"	VIC34078
	Peixe	PEI	12/2009	12°07'30"	48°37'30"	VIC34075

* Dados obtidos através de <http://www.cdbrasil.cnpm.embrapa.br>; em 12/08/2010.

3.3.2. ANÁLISE DE TRIACILGLICERÍDIOS NO PEQUI

A análise de triacilglicerídeos no óleo fixo da polpa do pequi compreendeu as etapas de extração, derivatização, identificação e

quantificação, tanto do teor de óleo como da composição deste, para cada uma das 18 populações investigadas, em triplicata.

Quanto às amêndoas, foram selecionadas seis populações, dentre as 18 populações amostradas; sendo duas representantes de cada Estado. A análise consistiu na extração do óleo fixo (TAG) das amêndoas, de cada uma das seis populações selecionadas, seguido de sua quantificação, por gravimetria; também, em triplicata.

Os procedimentos analíticos foram realizados no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos – LASA, do Departamento de Química da UFV. Realizaram-se as análises utilizando a ordem de aquisição das amostras, com o objetivo de que as mesmas estivessem em condições semelhantes, no que se refere ao menor tempo possível de congelamento.

Os reagentes utilizados nas etapas de extração dos lipídios e subsequentes reações de derivatização foram de grau analítico PA (VETEC Química Fina Ltda.). Nas análises cromatográficas, empregou-se solvente (fase móvel) de grau cromatográfico (TEDIA-USA). Os padrões de ésteres metílicos usados foram da marca Sigma-Aldrich (99,9% de pureza). Todos os procedimentos analíticos foram realizados em triplicata e os resultados, expressos de acordo com a média aritmética destes, seguidos de seu desvio padrão.

3.3.2.1. Preparo das Amostras – Obtenção da Polpa e Amêndoa

Para se proceder às análises foi necessário, o descongelamento dos frutos, seguido do despulpamento dos pirênios, após a eliminação da casca (exocarpo). Tanto a retirada da casca, quanto o despulpamento foram realizados, manualmente, com o uso de luvas de látex, empregando-se, para tal, facas afiadas de aço-inoxidável.

No que se refere à obtenção das amêndoas, Após o despulpamento dos pirênios, estes foram colocados para secar, em bandejas plásticas, à temperatura ambiente por 48 horas. Procedeu-se a extração da amêndoa do interior da semente (pirênio), após sua quebra ao meio, com o auxílio de pinça de aço-inox.

3.3.2.2. Extração dos Triacilglicerídios

A. Preparo das Amostras:

As amostras de polpa e de amêndoa obtidas foram trituradas em mini processador de alimentos (modelo HC31; marca Black & Decker). Dividiram-se as amostras trituradas e homogeneizadas em três porções de aproximadamente 5,000 g (análises em triplicata). Cada porção foi acondicionada em cartuchos de celulose 30 x 80 mm (diâmetro interno e altura) e levadas à estufa a 105 °C, durante 3 h. Após transcorrido esse tempo as amostras foram resfriadas em dessecador e submetidas à extração.

B. Sistema de Extração:

A extração foi realizada em um equipamento (extrator tipo Soxtec – Figura 3.7); sendo o hexano, empregado como solvente. A água de alimentação dos condensadores era resfriada e mantida a 10 °C, em banho termocriostático, equipado com bomba de vazão 6 L min⁻¹ (marca MicroQuímica, modelo MQBTC99-20). Depois de transcorrido o tempo necessário para a extração de lipídios, os extratos eram concentrados (eliminação do solvente) e se procedia à determinação da massa de cada óleo, em balança analítica (Bel Engineering – Mark 150A).

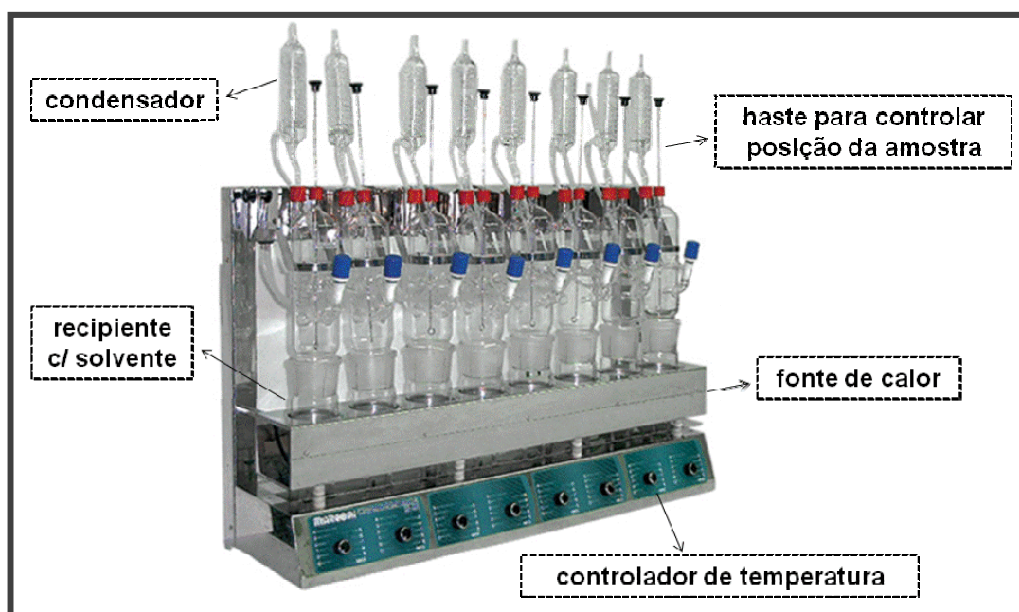


FIGURA 3.7. Extrator de matéria graxa (oito conjuntos), contínuo por imersão a quente; marca Marconi, modelo MA 491.

C. Estudo do Tempo de Extração:

Como objetivo de determinar o tempo necessário para a extração de lipídios em cada uma das diferentes amostras (polpa e amêndoa de pequi); realizou-se um estudo prévio do tempo ótimo de extração, no sistema proposto (extrator tipo Soxtec - hexano). Esse estudo baseou-se no trabalho de SILVÉRIO *et al.* (2006) e consistiu na extração dos lipídios das amostras, polpa e amêndoa, em intervalos de 1 hora. As massas dos óleos extraídos, a cada tempo, foram determinadas gravimetricamente. A extração foi interrompida quando se verificou a quase inexistência de resíduos de extração. Para tal foi escolhida uma população de cada um dos três Estados investigados e esse experimento foi conduzido em triplicata.

D. Determinação do Teor de Óleo:

Após se determinar o tempo de extração de lipídios para as amostras de pequi, realizou-se a extração de óleo da polpa nas 18 populações amostradas. Os rendimentos foram expressos em relação à massa de matéria seca. Determinou-se, então, a umidade da polpa e da amêndoa do pequi, através da secagem de três alíquotas de aproximadamente 2,000 g, pelo método padrão da estufa 105 ± 3 °C, durante 24 horas, de acordo com IAL (2008).

3.3.2.3. Análise no Infravermelho Médio

Os extratos hexânicos (óleo da polpa e amêndoa do pequi) foram submetidos à análise por espectroscopia no infravermelho, em um equipamento VARIAN 660-IR; dotado de acessório para espectroscopia de reflectância total atenuada modelo gladiATR, marca PIKE Technologies; na região de 4000 a 500 cm^{-1} .

3.3.2.4. Derivatização

Visando analisar os AG componentes dos TAG do óleo da polpa do pequi, por CG-EM, foram obtidos seus respectivos ésteres metílicos. A metodologia de preparo destes derivados foi a descrita em JHAM *et al.* (1982), com algumas modificações. A primeira etapa consistiu na hidrólise dos triacilglicerídios, em que se tomou 10,00 mg do extrato hexânico e acondicionou em um balão de fundo redondo (capacidade 5 mL). Adicionou-se 1 mL de solução de KOH em MeOH

(0,5 mol L⁻¹) e aqueceu a 100 °C por 1 h, sob refluxo. A segunda etapa, esterificação, foi realizada ao se adicionar 400 µL de solução de HCl (36%) em metanol (4:1, v/v), mantendo-se a temperatura a 100 °C, por 1 h. Procedeu-se, finalmente, à extração dos ésteres metílicos; em que, após o resfriamento, acrescentou-se 2,0 mL de H₂O destilada e, em seguida, os derivados obtidos foram extraídos com CH₂Cl₂, diclorometano, (2 x 3,0 mL). Após a extração, a fase orgânica foi secada com MgSO₄ anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotativo. O resíduo obtido, após completa remoção do solvente foi redissolvido em 1,00 mL de CH₂Cl₂ e analisado por CG-EM.

3.3.2.5. Cromatografia Gasosa / Espectrometria de Massas

Para a identificação e quantificação dos ésteres metílicos, presentes nas amostras de óleo, após a derivatização; fez-se uso de um aparelho Shimadzu GCMS-PQ5050A, equipado com coluna de polietilenoglicol, tipo Carbowax (30 m × 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 µm). As condições cromatográficas foram: gás de arraste He com fluxo de 1,8 mL min⁻¹; temperatura do injetor 220 °C, temperatura inicial da coluna 160 °C, isoterma por 2 min., seguido de aquecimento a 2 °C min⁻¹ até 200 °C, seguido de aquecimento a 10 °C min⁻¹ até 240 °C; volume de injeção 1,0 µL (1% m/v em CH₂Cl₂); razão de *split* 1:10; pressão da coluna 100 kPa; temperatura da interface 240 °C; ionização por impacto de elétrons (70 eV); amplitude de varredura de 30 a 600 u. Na identificação foram feitas comparações dos tempos de retenção, com padrões de ésteres metílicos e, ainda, dos espectros de massas com o banco de dados da biblioteca WILEY (WILEY 330.000). A quantificação foi realizada por padronização externa, utilizando-se padrões dos ésteres metílicos majoritários: palmitato e oleato.

3.3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

3.3.3.1. Análise de Variância

Para estudar as médias das 18 populações, considerando a variável resposta – teor de óleo fixo da polpa, foram realizadas análises de variância (nível de significância de 5%). Para esta variável, na qual se detectaram diferenças significativas, foi utilizado o teste de Duncan, para identificar quais

populações diferiram significativamente entre si. A análise de variância foi realizada com o programa estatístico livre ASSISTAT Versão 7.6 beta (2011).

3.3.3.2. Análise Multivariada

As informações obtidas (dados) foram dispostas em uma matriz constituída de variáveis (colunas), tais como: umidade; teor de óleo fixo da polpa (lipídios), na base seca e na base úmida; concentração dos ácidos graxos constituintes (% de área); relação entre o teor de ácidos graxos saturados e insaturados; concentração dos ácidos graxos majoritários, palmítico e oléico (mg g^{-1} de óleo); concentração dos ácidos graxos majoritários (g por 100 g de polpa) base úmida e seca dos municípios os quais se procedeu a coleta das amostras. Essas variáveis totalizaram 16 colunas. Os objetos dessa matriz foram as 18 populações amostradas (linhas) dos três diferentes Estados da Federação (MA, MG e TO). A matriz foi auto-escalorada e em seguida procedeu-se à Análise das Componentes Principais e Análise Hierárquica por Agrupamento. Deve-se destacar que o AHA (*cluster*) foi realizado utilizando o algoritmo de médias. Os dados foram processados em um programa MATLAB, versão 5.3; empregando pacote quimiométrico PLS_Toolbox, versão 2.0.

3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1. ESTUDO DO MELHOR TEMPO DE EXTRAÇÃO

Na determinação do tempo ótimo de extração de lipídios da polpa e da amêndoa do pequi (*C. brasiliense*), em equipamento tipo Soxtec e empregando-se o hexano como solvente, registrou-se a massa de óleo extraída a cada intervalo de 1 hora, totalizando 5 horas. Os dados obtidos encontram-se listados na Tabela 3.4.

TABELA 3.4. Massas de óleo extraídas a partir de 5,00 g de amostras, polpa e amêndoa de pequi (*C. brasiliense*), em equipamento tipo Soxtec e hexano como solvente, durante 5 horas

Tempo (h)	Grajaú (Gato Preto) – MA		Januária – MG		Paraná – MG		% Extração média
	Massa Óleo Polpa (g)	% Extração	Massa Óleo Polpa (g)	% Extração	Massa Óleo Polpa (g)	% Extração	
0	0,00 ±0,00	0,0	0,00 ±0,00	0,0	0,00 ±0,00	0,0	0,0
1	0,97 ±0,05	81,8	1,17 ±0,04	76,5	0,99 ±0,02	78,8	79,0 ±2,7
2	1,14 ±0,06	96,1	1,45 ±0,05	94,8	1,20 ±0,02	96,0	95,6 ±0,7
3	1,16 ±0,06	97,7	1,49 ±0,05	97,3	1,22 ±0,03	97,9	97,6 ±0,3
4	1,18 ±0,06	98,2	1,52 ±0,05	99,3	1,24 ±0,04	99,5	99,0 ±0,7
5	1,19 ±0,06	100,0	1,53 ±0,05	100,0	1,25 ±0,02	100,0	100,0

Tempo (h)	Grajaú (Gato Preto) – MA		Januária – MG		Paraná – MG		% Extração média
	Massa Óleo Amêndoa (g)	% Extração	Massa Óleo Amêndoa (g)	% Extração	Massa Óleo Amêndoa (g)	% Extração	
0	0,00 ±0,00	0,0	0,00 ±0,00	0,0	0,00 ±0,00	0,0	0,0
1	1,13 ±0,09	71,1	1,26 ±0,05	69,6	1,21 ±0,01	70,8	70,5 ±0,8
2	1,35 ±0,06	84,9	1,51 ±0,06	83,1	1,49 ±0,02	87,1	85,0 ±2,0
3	1,47 ±0,04	92,5	1,69 ±0,03	93,1	1,59 ±0,05	93,0	92,9 ±0,3
4	1,53 ±0,04	96,2	1,76 ±0,02	97,2	1,66 ±0,04	96,9	96,8 ±0,5
5	1,59 ±0,04	100,0	1,81 ±0,04	100,0	1,71 ±0,03	100,0	100,0

Deve-se registrar que a interrupção na extração foi feita ao se verificar um esgotamento da amostra, ou seja, a constatação de que o teor de óleo ia se escasseando à medida que a amostra era submetida às sucessivas extrações.

A construção de uma curva (Figura 3.8), tempo *versus* porcentagem de extração, para cada uma das amostras analisadas, polpa e amêndoa, auxiliou na evidenciação do tempo de extração necessário, que correspondeu ao ponto, na curva, a partir do qual a mesma apresentou uma tendência constante. As amostras de polpa e amêndoa selecionadas referem-se às populações, representantes de cada um dos três Estados da Federação (MA, MG e TO), aqui investigados.

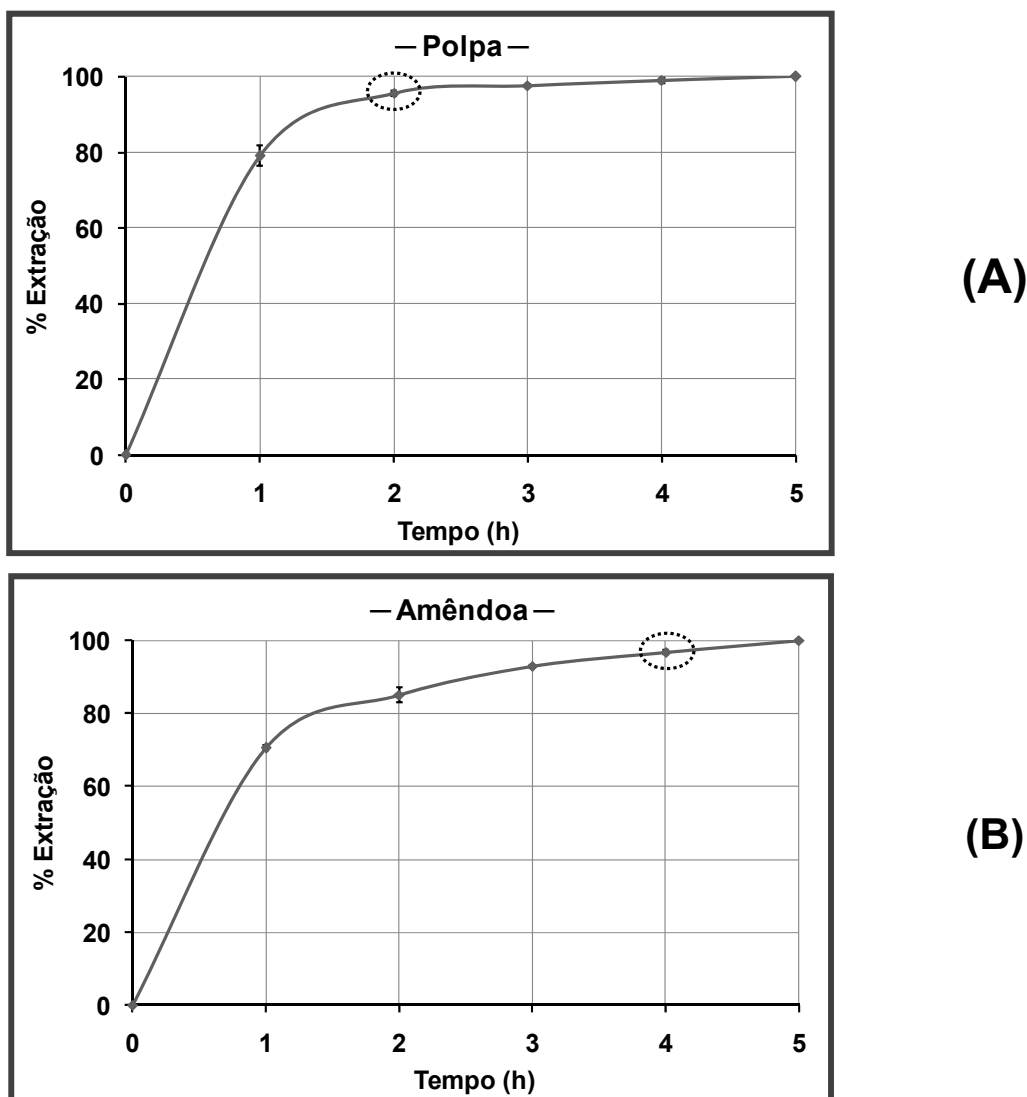


FIGURA 3.8. Porcentagem de extração de óleo de *Caryocar brasiliense* em função do tempo: **(A)** da polpa e **(B)** da amêndoa.

Pôde-se, portanto, observar que 2 h de extração de 5,00 g de amostra de polpa de pequi, em equipamento Soxtec e solvente hexano, foi um tempo suficiente para extrair, aproximadamente, 96% do total de lipídios desse tipo de

amostra. No entanto, para a extração dos lipídios das amêndoas de pequi, valores dessa magnitude foram alcançados somente após 4 h de extração. Isso mostra que o tipo de amostra influencia o tempo de extração com hexano em equipamento extrator de matéria graxa tipo Soxtec.

Após este estudo, padronizaram-se as subseqüentes extrações, estabelecendo-se que 2 h é um tempo necessário para a extração de TAGs da polpa do pequi.

3.4.2. CONCENTRAÇÃO DE TRIACILGLICERÍDIOS

Após a extração de lipídios da amêndoa do pequi, determinou-se a concentração dos mesmos, nas seis populações amostradas, as quais foram objetos de estudo do tempo ótimo de extração. A Tabela 3.5 apresenta os teores de óleo fixo, na amêndoa de *C. brasiliense* oriundas de Municípios dos três Estados (MA, MG, TO) investigados.

TABELA 3.5. Teor de óleo fixo (TAG), na base úmida e seca e teor de umidade da amêndoa do *C. brasiliense*

Amostra		[C] de TAG (%) Base Úmida	[C] de TAG (%) Base Seca	Umidade (%)
MARANHÃO	Grajaú	30,17 ±0,99	46,66 ±2,36	35,30 ±1,66
	Barra do Corda	32,14 ±1,25	50,43 ±2,13	36,27 ±1,43
	Média	31,16 ±1,31	48,55 ±3,12	35,79 ±0,58
MINAS GERAIS	Januária	35,21 ±1,05	53,44 ±1,59	34,12 ±0,13
	Japonvar	31,93 ±0,77	51,18 ±1,23	37,61 ±0,78
	Média	33,57 ±1,97	52,31 ±1,78	35,87 ±1,97
TOCANTINS	Paranã	45,96 ±3,38	53,24 ±3,92	13,63 ±0,15
	Peixe	33,76 ±1,22	39,12 ±1,42	13,74 ±0,22
	Média	39,86 ±7,05	46,18 ±8,17	13,68 ±0,18
MÉDIA GERAL		34,86 ±4,49	49,01 ±3,09	

O teor médio de lipídios, na base seca, encontrado para a amêndoa do pequi foi igual a 49%, assemelha-se aos encontrados para outras amêndoas

Nacionais; tais como a castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) com 45% (COSTA *et al.*, 2009) e a amêndoa do Baru (*Dipteryx alata* Vog.) com 43% (SOUSA *et al.*, 2011).

Já na Tabela 3.6, encontram-se listados os teores de TAGs na polpa de *C. brasiliense* para as 18 populações amostradas.

TABELA 3.6. Teor de óleo fixo (base seca e úmida) e teor de umidade da polpa do *Caryocar brasiliense*

Estado	Amostra		[C] de TAG (%)	[C] de TAG (%)	Umidade (%)
			Base Úmida*	Base Seca*	
MA	Barra do Corda	BAR	22,13 ^{gh} ±1,37	54,28 ^{bc} ±3,35	59,2 ±0,52
	Grajaú (Gato Preto)	GAT	36,98 ^a ±0,35	66,60 ^a ±0,64	44,5 ±0,38
	Grajaú (Olhos D'Água)	OLH	±1,02	±2,06	50,4 ±0,31
	Lajeado Novo	MOP	29,61 ^b	59,64 ^b	
MG	Arinos	ARI	27,60 ^{bc} ±1,49	58,88 ^b ±3,18	53,1 ±1,65
	Bocaiúva	BOI	24,90 ^{de} ±0,64	53,16 ^{cd} ±1,36	53,2 ±0,44
	Claro dos Poções	CLA	17,63 ⁱ ±0,84	41,71 ^h ±1,99	57,7 ±0,71
	Curvelo	CUR	±2,11	±3,93	46,4 ±0,59
	Felixlândia	FEX	27,88 ^{bc}	51,97 ^{de}	
	Grão Mogol	GRA	22,45 ^{fg} ±1,80	47,23 ^{fg} ±3,79	52,5 ±1,61
	Januária	JAN	26,69 ^{cd} ±1,38	52,94 ^{cd} ±2,73	49,6 ±1,25
	Japonvar	JAP	25,85 ^{cd} ±2,01	55,38 ^{bc} ±4,30	53,3 ±0,12
	Montes Claros	MOC	28,25 ^{bc} ±0,63	68,77 ^a ±1,54	58,9 ±1,28
	Pirapora	PIR	23,87 ^{ef} ±1,49	57,66 ^{bc} ±3,59	58,6 ±1,19
	Salinas	SAL	19,88 ^h ±1,13	51,64 ^{de} ±2,93	61,5 ±1,50
	Unai	UMA	23,90 ^{ef} ±0,57	48,40 ^{ef} ±1,16	50,6 ±1,92
TO	Paraná	PAR	19,91 ^{hi} ±1,70	44,65 ^{gh} ±3,80	55,4 ±1,38
	Peixe	PEI	22,18 ^{gh} ±1,18	43,68 ^{gh} ±2,33	49,2 ±1,52
Média			24,86 ±4,39	53,65 ±7,21	53,7 ±4,68
Coeficiente de Variação (CV)			17,7%	13,4%	8,72%

*Médias, dentro de uma mesma coluna, seguidas de uma mesma letra sobrescrita, não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan.

A concentração média de óleo da polpa de pequi, na base seca, igual a 54%, confirma ser essa uma planta oleaginosa, principalmente quando comparada com o fruto do abacateiro (*Persea americana*), considerado rico em lipídios, que, segundo VILLA-RODRÍGUEZ *et al.* (2011), apresenta teores de óleo em torno de 58%. Pode-se, ainda, considerar o teor de óleo da polpa de pequi superior à concentração de óleo em algumas sementes oleaginosas, tais como, a soja (*Glycine max*), na qual o teor de óleo é de aproximadamente 20% (PADGETT *et al.*, 1995) e o amendoim (*Arachis hypogaea*) com teores de 48% (SOUSA *et al.*, 2011).

Verificou-se relativa variação no teor de óleo, entre as populações aqui estudadas, tanto na base úmida como na base seca, apresentando um coeficiente de variação (CV) em torno de 18% e 13%. De acordo com a ANOVA, verificou-se que as populações mais ricas em teor de óleo fixo são as populações do Estado do Maranhão e, particularmente, amostras oriundas dos Municípios mineiros de Januária e Japonvar.

3.4.3. ESPECTROS NO INFRAVERMELHO

Na Figura 3.9 são apresentados os espectros, no infravermelho, dos extratos hexânicos, da polpa e da amêndoa do pequi; visando obter informações sobre a composição química desses extratos.

Os espectros obtidos foram semelhantes; tanto entre as amostras de óleo de amêndoa, como entre as amostras de óleo de polpa. Portanto, escolheu-se para fins ilustrativos, aleatoriamente, o óleo da amêndoa de pequi, originário do município de Peixe-TO, entre as seis populações amostradas. Seguindo a mesma linha, o espectro obtido do óleo da polpa de pequi, do município de Arinos-MG, foi o escolhido como representante das 18 populações aqui amostradas.

De acordo com a literatura (BARBOSA, 2007), os espectros apresentados na Figuras 3.9 foram considerados como típicos de óleos vegetais comestíveis, constituídos por moléculas de triacilglicerídios.

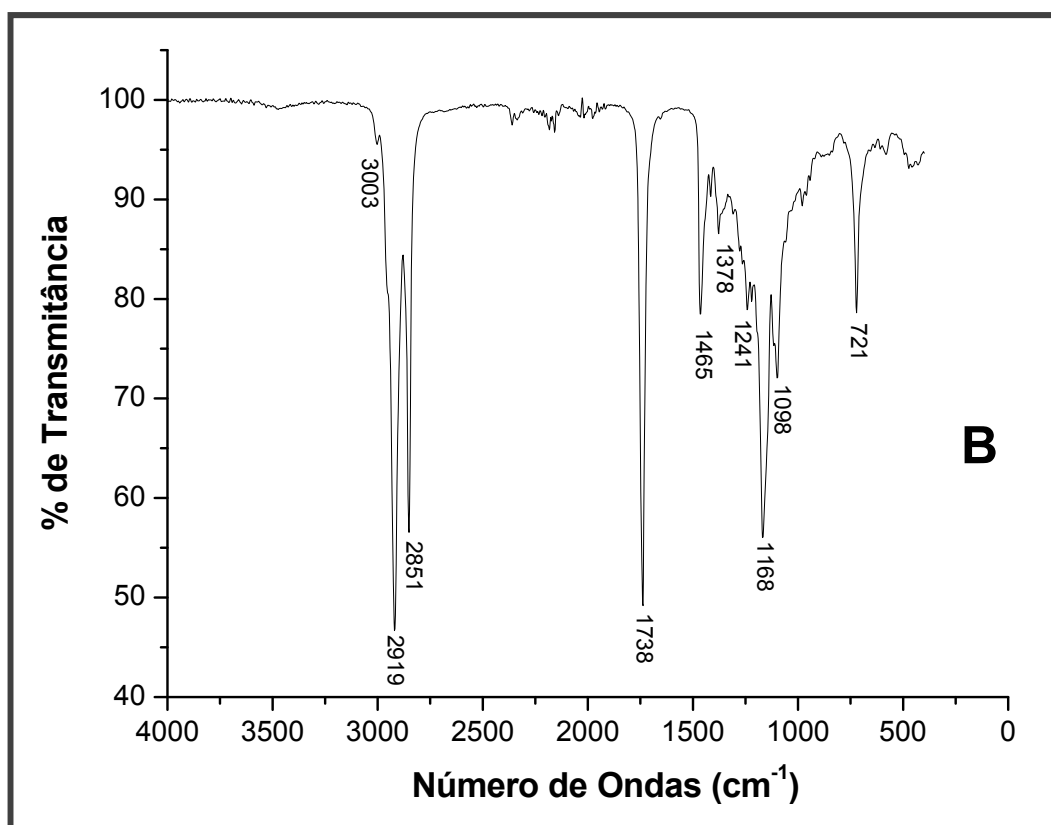
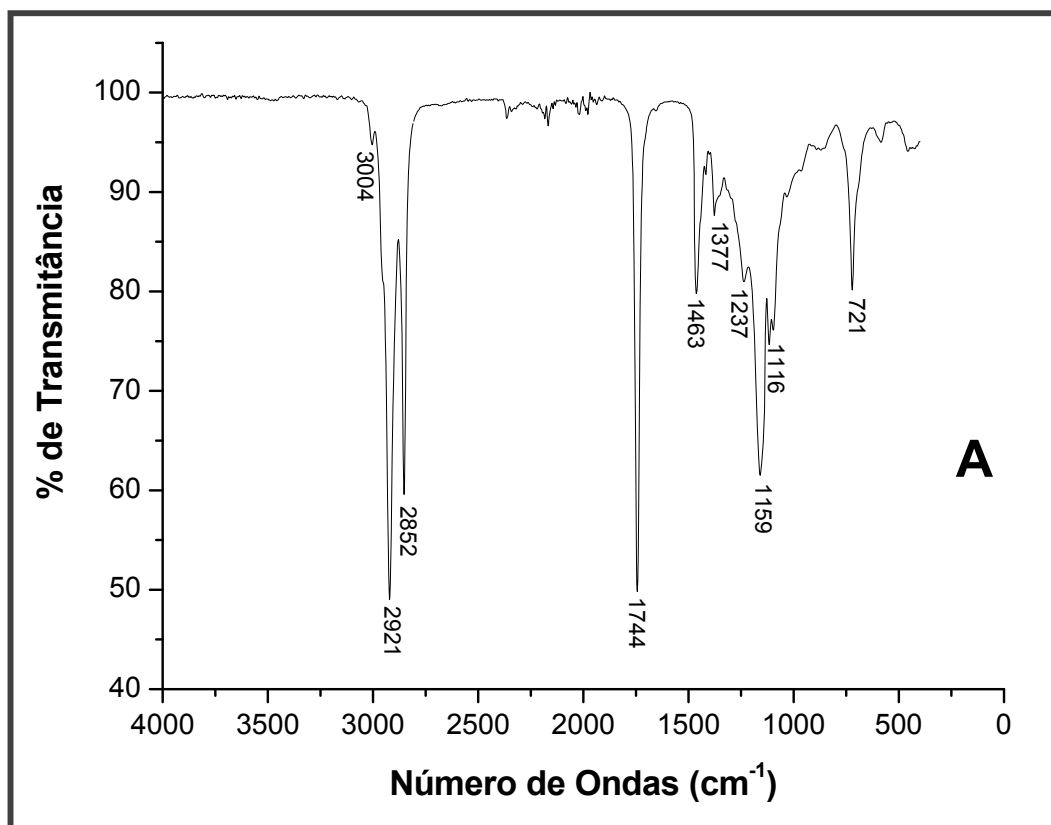


FIGURA 3.9. Espectros no infravermelho de extratos hexânicos, da amêndoa (**A**) e da polpa (**B**), do *Caryocar brasiliense*.

As bandas subsequentes [2.921, 2.852 cm^{-1} (A) e 2.919, 2.851 cm^{-1} (B)] referem-se aos estiramentos de C-H de carbono sp^3 , ou seja, grupamentos CH, CH_2 e CH_3 comuns em várias classes de compostos alifáticos como os ésteres graxos (SILVERSTEIN *et al.*, 2007). As bandas de absorção [1.744 cm^{-1} (A) e 1.738 cm^{-1} (B)] representam o estiramento C=O da carbonila, comuns nos ácidos graxos. As absorções [1463 cm^{-1} (A) e 1.465 cm^{-1} (B)] correspondem às bandas de deformação angular no plano, simétricas (CH_2) e assimétricas (CH_3); já, [1.377 cm^{-1} (A) e 1.378 cm^{-1}] (B) são bandas de deformação angular no plano, simétricas (CH_3). As bandas [1.237, 1.159, 1.116 cm^{-1} (A) e 1.241, 1.168, 1.098 cm^{-1} (B)] são atribuídas como sendo correspondentes ao estiramento C-O de éster. Finalmente, a banda de absorção [721 cm^{-1} (A e B)] corresponde à deformação angular no plano, tipo balanço (ρ), característico de compostos com grupamentos $[\text{CH}_2]_n$, com $n \geq 4$ (BARBOSA, 2007).

Ainda, a ausência da banda larga (tipo “sino”) de estiramento de O-H, entre 3400 – 2500 cm^{-1} , indica que as amostras, praticamente, não possuem ácidos graxos livres.

3.4.4. IDENTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS

Como anteriormente dito, a identificação das substâncias componentes dos TAG do óleo de pequi foi realizada, após derivatização e obtenção de ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG). A reação de transesterificação (derivatização) apresentou um rendimento médio de 93%.

Nas Figuras 3.10 e 3.11 encontram-se os cromatogramas de íons totais (CIT) para os ésteres metílicos obtidos no óleo (extratos hexânicos) da polpa e da amêndoa de pequi, respectivamente. Para fins ilustrativos, foram apresentados os cromatogramas, CG-EM por impacto de elétrons, de apenas três populações, representantes de cada um dos Estados; Maranhão (**A**), Minas Gerais (**B**) e Tocantins (**C**); investigados. Os CIT obtidos para o óleo da polpa do pequi, nas 18 populações amostradas, revelaram a presença de cinco picos, com tempos de retenção (TR) e intensidades similares; sugerindo serem as mesmas substâncias.

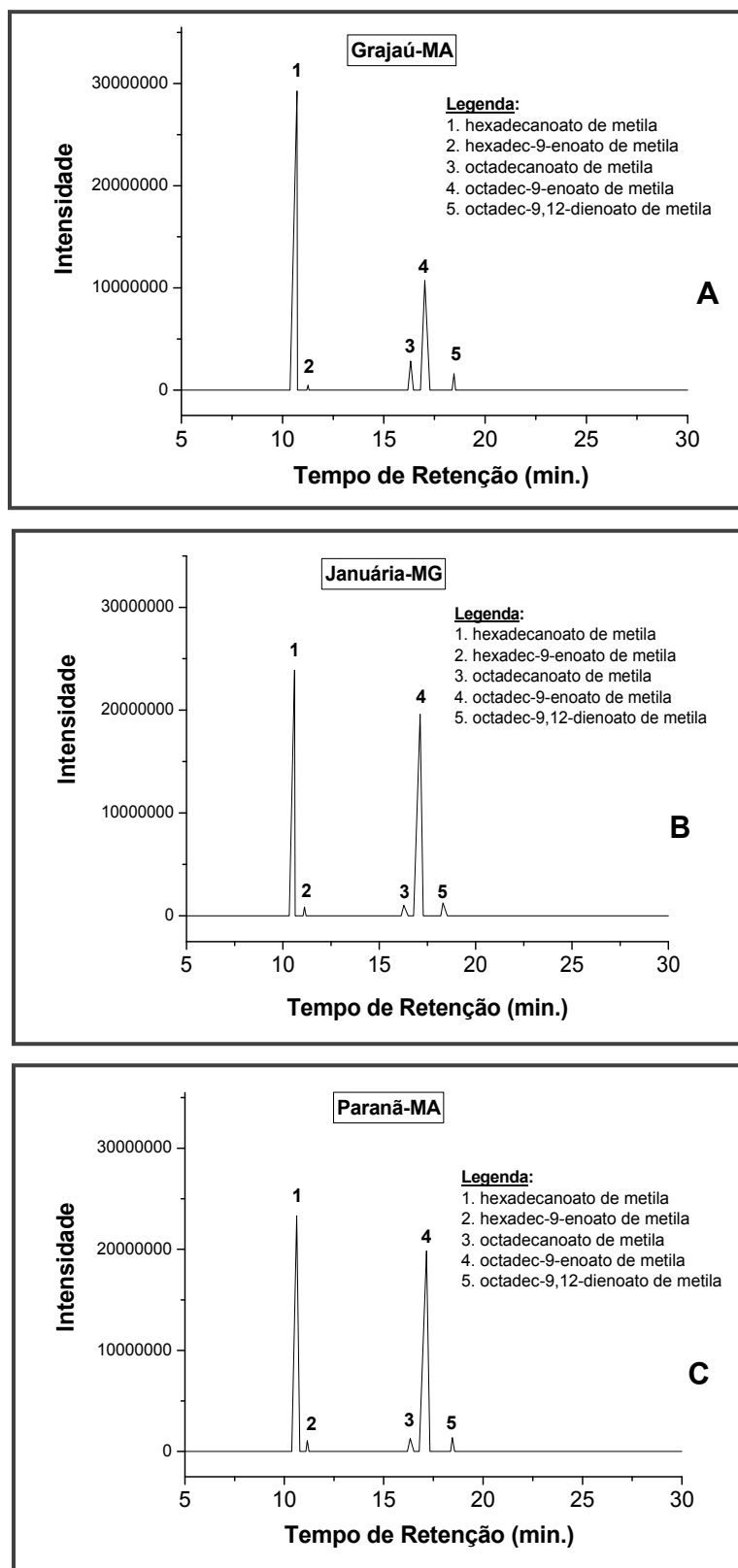


FIGURA 3.10. Cromatogramas de Íons Totais (CIT) de éteres metílicos, derivados do óleo (extrato hexânico) da polpa de pequi: **(A)** Maranhão, **(B)** Minas Gerais e **(C)** Tocantins.

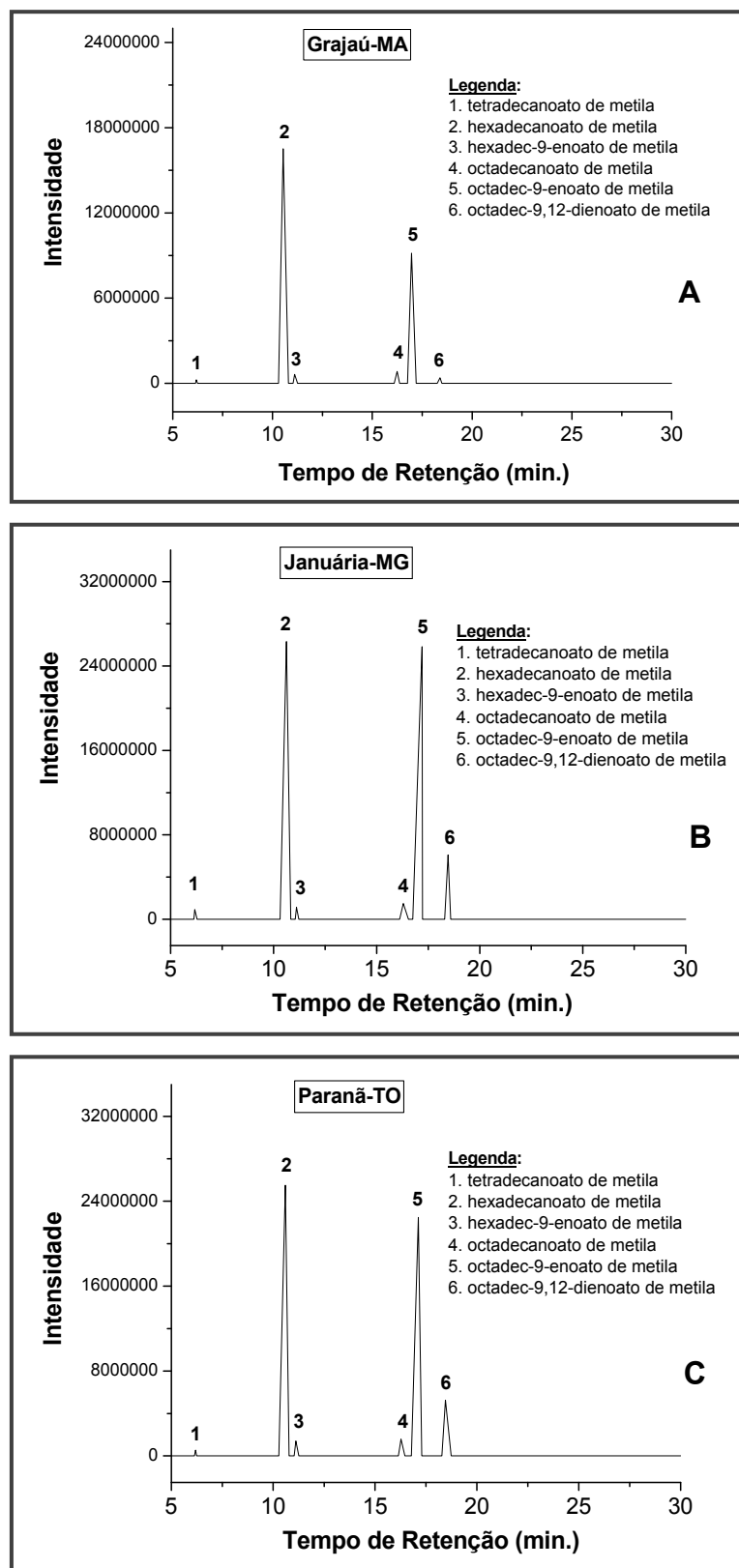


FIGURA 3.11. Cromatogramas de Íons Totais (CIT) de éteres metílicos, derivados do óleo (extrato hexânico) da amêndoa do pequi: **(A)** Maranhão, **(B)** Minas Gerais e **(C)** Tocantins.

Para fins comparativos, deu-se continuidade às análises dos extratos hexânicos do óleo de amêndoa, das seis populações, as quais foram empregadas na avaliação do tempo e desempenho do sistema de extração (Soxtec/hexano). Deve-se ressaltar que cinco picos dos seis, encontrados nos CIT dos ésteres metílicos obtidos para o óleo de amêndoa, apresentaram TR similares aos encontrados no CIT do óleo da polpa, sugerindo serem as mesmas substâncias.

Adicionalmente, após análise dos cromatogramas apresentados, verificou-se que dois compostos são, majoritariamente, componentes das moléculas de triacilglicerídios do óleo de polpa e de amêndoa de pequi. Esses compostos foram identificados como sendo: o ácido hexadecanóico (palmítico ou C16:0) e o ácido octadec-9-enóico (oléico ou C18:1 Δ^9). A identificação foi realizada através da comparação dos TR com os padrões de ésteres metílicos; através do banco de dados da biblioteca WILEY; como também, pela análise e comparação dos espectros obtidos com dados da bibliografia (CHRITIE, 2011a; CHRITIE, 2011b; CHRITIE, 2011c; CHRITIE, 2011d; HALLGREN *et al.*, 1959).

Nas Figuras 3.12 e 3.13 encontram-se os espectros de massas, por impacto de elétrons, obtidos dos ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG), saturados e insaturados, aqui identificados, respectivamente.

Os espectros obtidos podem ser considerados, característicos de EMAG. Nos espectros de EMAG saturados (Figura 3.11), observaram-se os picos do íon molecular: $m/z = 242$ (**A**), $m/z = 270$ (**B**) e $m/z = 298$ (**C**); como também, o pico base típico, oriundo do rearranjo de McLafferty: $m/z = 74$.

Quanto aos espectros dos EMAG insaturados, apresentados na Figura 3.12, foram também identificados os picos dos íons moleculares; $m/z = 268$ (**A**), $m/z = 296$ (**B**) e $m/z = 294$ (**C**). Foram, ainda, observados o pico do rearranjo de McLafferty ($m/z = 74$) e os picos $[M - 74]^+$, ou seja, $m/z = 194$ (**A**), $m/z = 222$ (**B**) e $m/z = 220$ (**C**). Outro íon característico é o $[M - 116]^+$, neste caso representados por $m/z = 180$ (**A**), $m/z = 152$ (**B**) e $m/z = 150$ (**C**), formados pela perda de um fragmento que contém o grupo carboxila por clivagem entre os carbonos 5 e 6, com a adição de um átomo de hidrogênio reorganizados, ou seja, $[M - C_6H_{12}O_2]^+$.

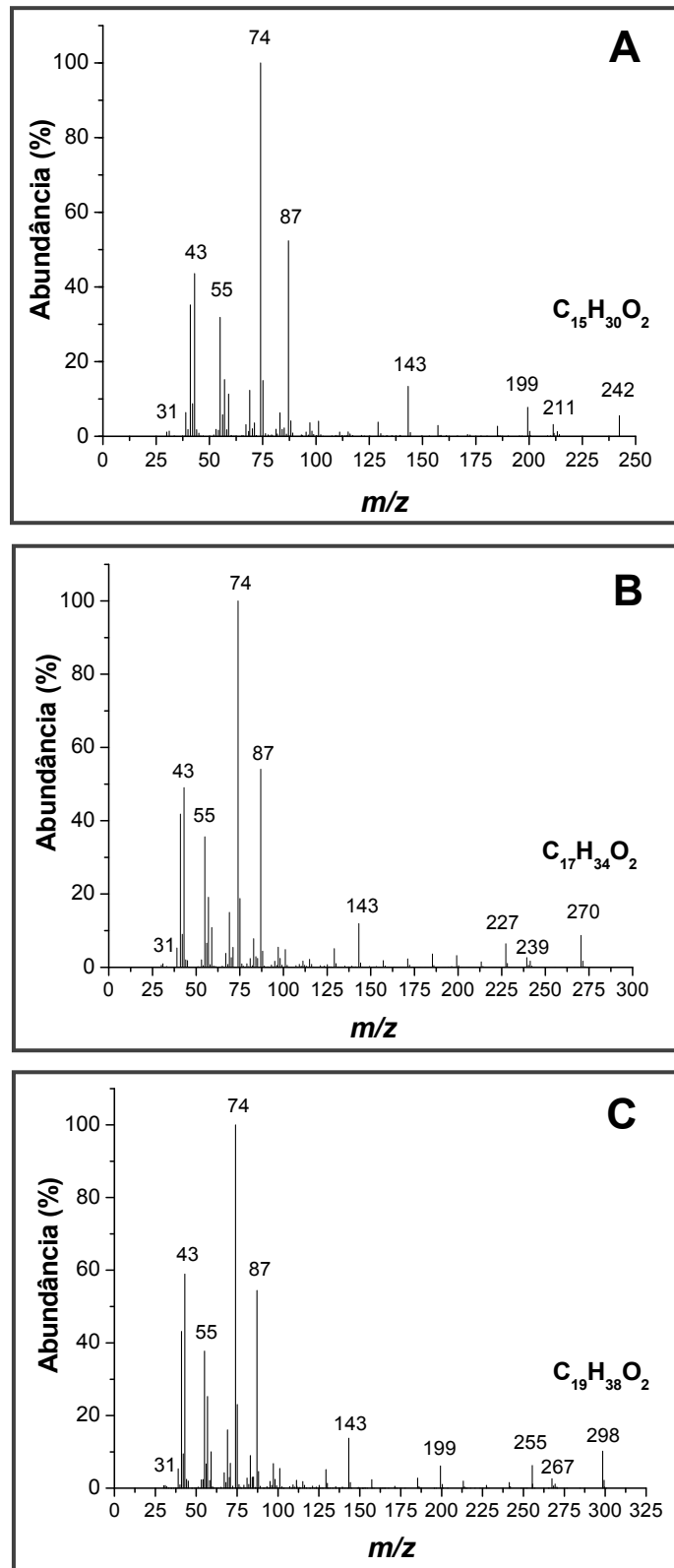


FIGURA 3.12. Espectros de massas de ésteres metílicos derivados dos ácidos graxos saturados identificados no óleo da polpa de pequi (**B** e **C**) e óleo da amêndoa (**A**, **B** e **C**).

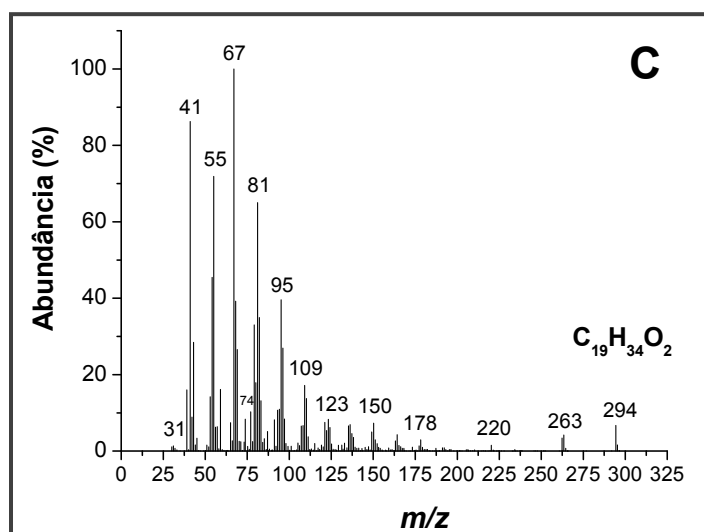
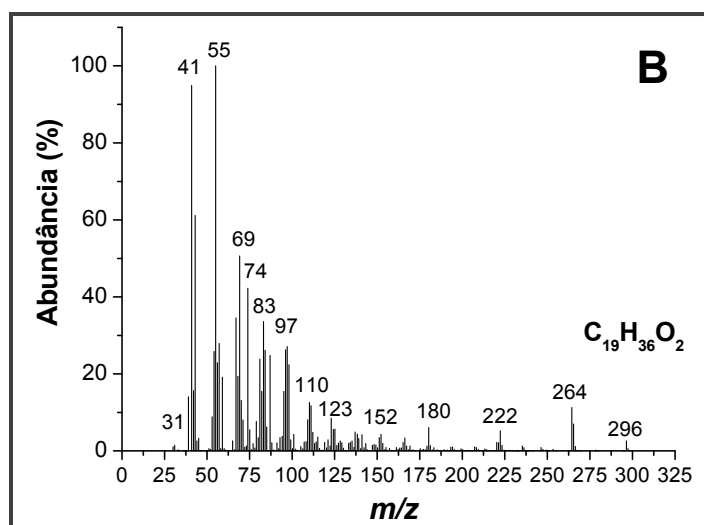
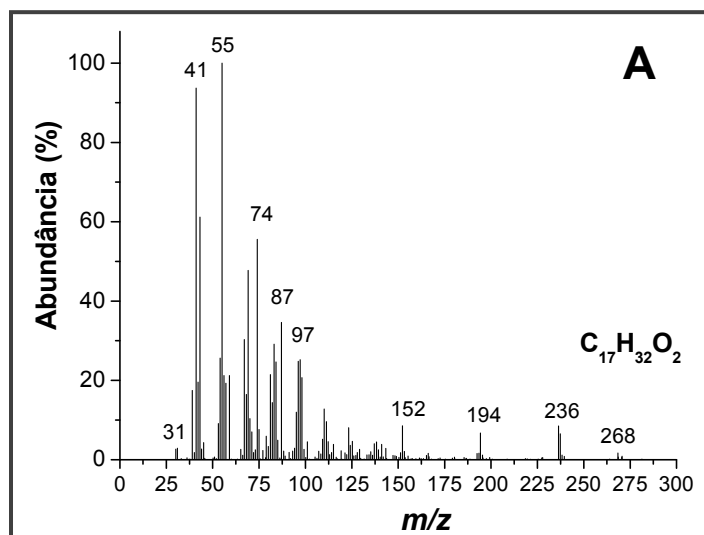


FIGURA 3.13. Espectros de massas de ésteres metílicos derivados dos ácidos graxos insaturados, monoenóicos (**A** e **B**) e dienóicos (**C**), identificados no óleo da polpa e da amêndoa de pequi.

Em contraste com os espectros de EMAG saturados, os íons $[C_nH_{2n-1}]^+$ foram abundantes nos espectros de EMAG insaturados monoenólicos (**A** e **B**); sendo $m/z = 55$, o pico base. No entanto, no espectro de EMAG insaturado dienólico (**C**), observou que os íons que dominam a faixa de menor massa são os hidrocarbonetos de fórmula geral $[C_nH_{2n-3}]^+$, ou seja, $m/z = 67$ (pico base), $m/z = 81$, $m/z = 95$, $m/z = 109$, $m/z = 123$.

EMAG insaturados monoenólicos (**A** e **B**); sendo $m/z = 55$, o pico base. No entanto, no espectro de EMAG insaturado dienólico (**C**), observou que os íons que dominam a faixa de menor massa são os hidrocarbonetos de fórmula geral $[C_nH_{2n-3}]^+$, ou seja, $m/z = 67$ (pico base), $m/z = 81$, $m/z = 95$, $m/z = 109$, $m/z = 123$.

Desta forma, o óleo da polpa de pequi é constituído de cinco substâncias: ácidos palmítico (C16:0), palmitoléico (C16:1 Δ^9), esteárico (C18:0), oléico (C18:1 Δ^9) e linoléico (C18:2 $\Delta^{9,12}$). Enquanto que o óleo da amêndoa, além dessas substâncias, é ainda composto de ácido mirístico (C14:0). A composição dos óleos de pequi, polpa e amêndoa, no que se refere às substâncias identificadas, assemelham-se muito com a de outros óleos comestíveis, obtidos de espécies vegetais (CAHOON & SCHMID, 2008; LEE *et al.*, 1998; KIM *et al.*, 2010).

3.4.5. QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS

Embora o método da normalização apresente alguns inconvenientes, pois nem todos os ácidos graxos fornecem a mesma resposta no detector de massas; neste trabalho, ele foi considerado para efeitos de comparação entre as populações estudadas e utilizado na análise multivariada.

Na Tabela 3.7 são apresentadas as concentrações, pelo método da normalização, dos ácidos graxos constituintes do óleo da polpa do pequi, para as 18 populações amostradas. Vale ressaltar que esse método se baseia na porcentagem da área relativa de um determinado ácido graxo em relação à área total de todos os ácidos graxos que eluíram da coluna.

TABELA 3.7. Concentração de ácidos graxos (normalização), constituintes das moléculas de triacilglicerídios do óleo da polpa do pequi (extrato hexânico), nas 18 populações amostradas

Estado	Código Amostra	Concentração dos Ácidos Graxos (%)				
		C16:0	C16:1 Δ^9	C18:0	C18:1 Δ^9	C18: 2 $\Delta^{9,12}$
MA	BAR	39,05 \pm 1,82	0,38 \pm 0,04	0,98 \pm 0,07	59,38 \pm 1,73	0,20 \pm 0,08
	GAT	38,94 \pm 2,07	0,26 \pm 0,03	1,13 \pm 0,08	58,94 \pm 3,82	0,74 \pm 0,07
	OLH	46,13 \pm 3,20	0,44 \pm 0,04	1,08 \pm 0,08	51,90 \pm 3,78	0,45 \pm 0,03
	MOP	44,50 \pm 2,77	0,62 \pm 0,07	0,73 \pm 0,10	53,53 \pm 3,08	0,62 \pm 0,05
MG	ARI	50,09 \pm 1,84	1,21 \pm 0,14	1,03 \pm 0,08	47,42 \pm 1,76	0,24 \pm 0,03
	BOI	39,95 \pm 0,91	0,79 \pm 0,11	1,44 \pm 0,18	57,41 \pm 0,67	0,41 \pm 0,05
	CLA	40,24 \pm 1,59	0,62 \pm 0,09	1,32 \pm 0,15	57,65 \pm 1,36	0,16 \pm 0,07
	CUR	49,27 \pm 1,98	0,68 \pm 0,09	1,42 \pm 0,15	48,62 \pm 1,75	0,00 \pm 0,00
	FEX	47,65 \pm 3,53	0,53 \pm 0,08	1,03 \pm 0,12	50,62 \pm 3,21	0,17 \pm 0,02
	GRA	47,72 \pm 2,29	0,30 \pm 0,01	1,11 \pm 0,04	50,76 \pm 2,30	0,10 \pm 0,02
	JAN	41,19 \pm 1,38	0,68 \pm 0,02	1,18 \pm 0,11	56,57 \pm 1,19	0,38 \pm 0,04
	JAP	49,09 \pm 5,35	0,45 \pm 0,05	1,24 \pm 0,13	49,10 \pm 5,11	0,12 \pm 0,01
	MOC	42,32 \pm 0,73	0,70 \pm 0,08	1,51 \pm 0,12	55,28 \pm 0,49	0,19 \pm 0,02
	PIR	49,29 \pm 0,47	0,83 \pm 0,06	1,31 \pm 0,08	48,54 \pm 0,41	0,03 \pm 0,01
	SAL	40,40 \pm 2,40	0,60 \pm 0,05	1,28 \pm 0,21	57,12 \pm 2,28	0,60 \pm 0,07
	UNA	47,92 \pm 0,25	0,62 \pm 0,05	1,52 \pm 0,05	49,80 \pm 0,25	0,15 \pm 0,01
TO	PAR	50,98 \pm 5,05	0,57 \pm 0,04	1,81 \pm 0,20	46,27 \pm 3,75	0,37 \pm 0,03
	PEI	43,16 \pm 1,91	0,45 \pm 0,02	1,33 \pm 0,08	54,92 \pm 1,71	0,13 \pm 0,02
Média		44,88 \pm4,42	0,60 \pm0,21	1,25 \pm0,24	52,99 \pm4,32	0,28 \pm0,21

Verificou-se que os dois compostos majoritários, ácidos palmítico e oléico, somam juntos, aproximadamente, 98% da composição triacilglicerídica do óleo da polpa do pequi.

O gráfico de barras – separando as substâncias identificadas em dois grupos, constituídos dos ácidos graxos saturados (ácidos palmítico e esteárico) e insaturados (ácidos palmitoléico, oléico e linoléico) – é apresentado na Figura 3.14. Observou-se uma proporção próxima entre as concentrações de AG saturados e insaturados, nas 18 populações amostradas. A relação média obtida entre o teor de ácidos graxos saturados (TAGS) e o teor de ácidos graxos insaturados (TAGI) é de 0,85. Ao se comparar esse valor com os apresentados em alguns óleos vegetais comestíveis (soja, gergelim, canola, coco e azeite de oliva), verificou-se que é relativamente alto. Segundo a pesquisa de LEE *et al.* (1998), dentre os óleos citados, a média da relação TAGS/TAGI = 0,85, aqui obtida para o óleo da polpa do pequi, só não é

superior à da gordura de coco (*Cocos nucifera*), que alcançou um valor de 1,4. Ainda, contrapondo-se o óleo da polpa de pequi, com o azeite de dendê, também denominado de óleo de palma (*Elaeis guineensis*), esse óleo vegetal apresentou um valor igual a 0,75 (BORA *et al.*, 2003). Adicionalmente, a manteiga de cacau (*Theobroma cacao*) apresentou, segundo os estudos de FACIOLI & GONÇALVES (1998), a relação TAGS/TAGI = 1,14. Tais resultados confirmam que o óleo da polpa de pequi apresenta um perfil de ácidos graxos similar aos demais óleos vegetais alimentícios tropicais, os quais, geralmente, apresentam quantidades elevadas de ácidos graxos saturados (MCCLEMENTS & DECKER, 2010). Isso, possivelmente, se explica, devido ao fato de que plantas típicas de climas tropicais, tais como o *C. brasiliense*, apesar de ricas em ácidos graxos saturados, não apresentam dificuldades em manter a fluidez nas membranas, devido às elevadas temperaturas ambientais; ao contrário de outras culturas, adaptadas a ambientes com baixas temperaturas. Além do que, óleos vegetais com altos valores de ácidos graxos saturados possuem elevada estabilidade oxidativa (CAHOON & SCHMID, 2008).

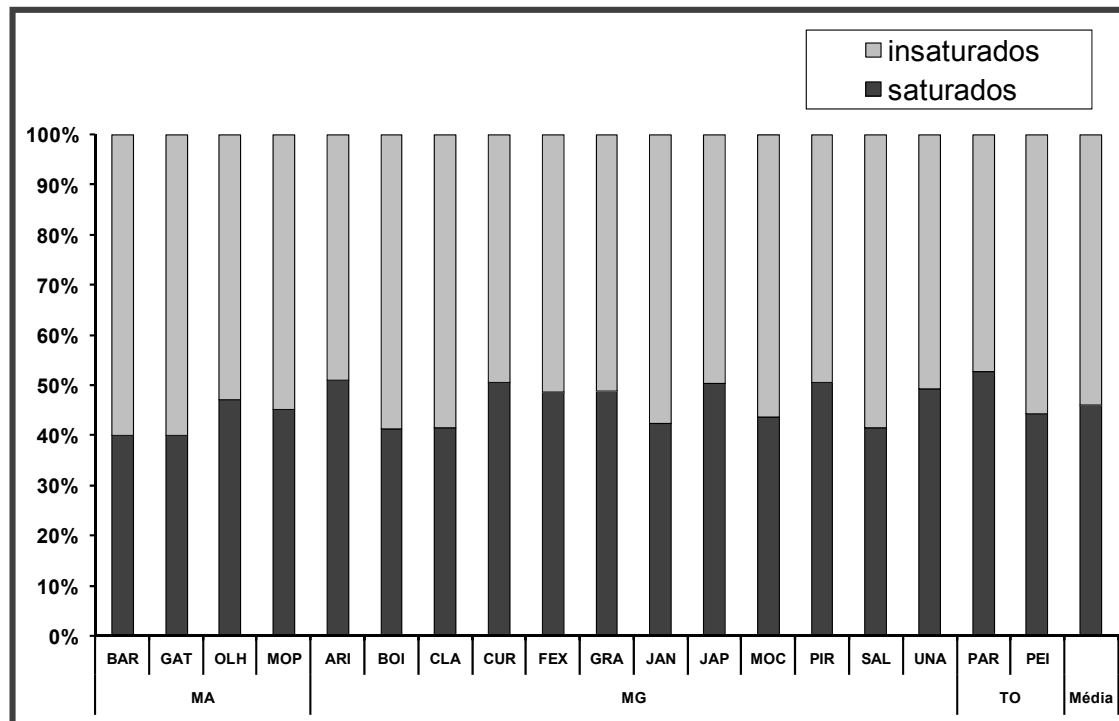


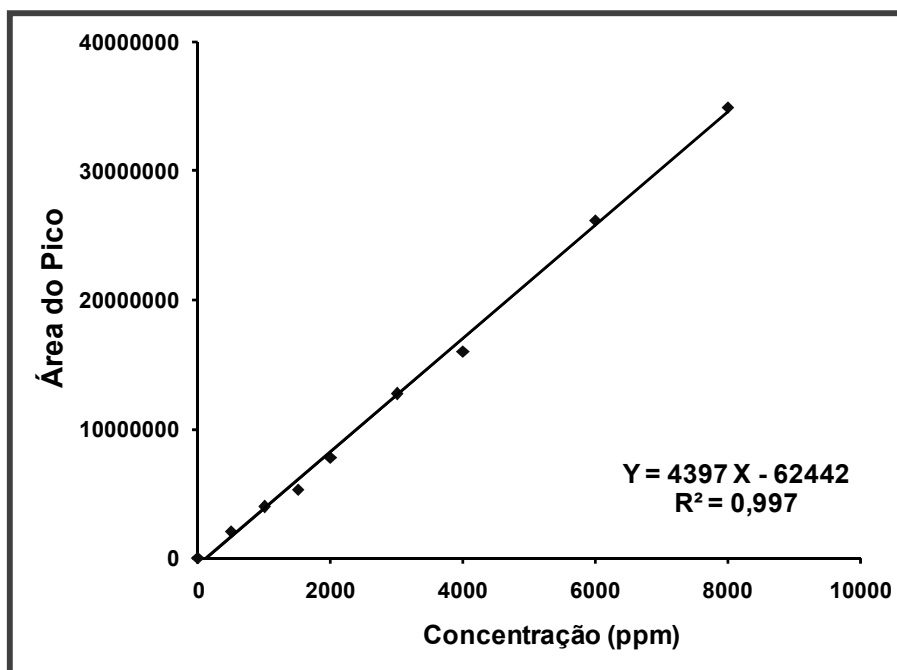
FIGURA 3.14. Concentração de ácidos graxos, saturados e insaturados, no óleo da polpa do pequi (*C. brasiliense*).

Na Tabela 3.8 é apresentada a relação entre os teores de AG saturados e insaturados (TAGS/TAGI) das 18 populações amostradas.

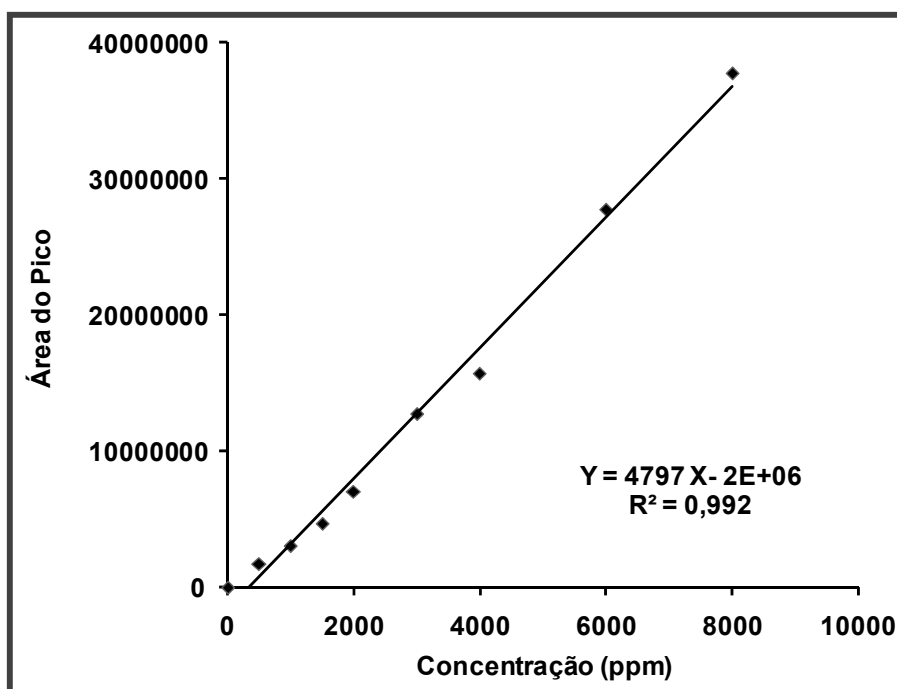
TABELA 3.8. Relação entre o teor de ácidos graxos saturados e insaturados no óleo da polpa do pequi

Estado	Amostra/Código		Concentração Substâncias (%)		
			AG Saturados	AG Insaturados	TAGS/TAGI
MA	Barra do Corda	BAR	40,03 ±1,89	60,56 ±1,85	0,67
	Grajaú (Gato Preto)	GAT	40,07 ±2,15	60,81 ±3,92	0,67
	Grajaú (Olhos D'Água)	OLH	47,21 ±3,28	53,43 ±3,85	0,89
	Lajeado Novo	MOP	45,23 ±2,87	54,88 ±3,20	0,83
MG	Arinos	ARI	51,12 ±1,92	48,69 ±1,93	1,05
	Bocaiúva	BOI	41,39 ±1,09	59,26 ±0,83	0,71
	Claro dos Poções	CLA	41,56 ±1,74	59,13 ±1,52	0,71
	Curvelo	CUR	50,69 ±2,13	50,04 ±1,84	1,03
	Felixlândia	FEX	48,68 ±3,65	51,82 ±3,31	0,95
	Grão Mogol	GRA	48,83 ±2,33	51,97 ±2,33	0,95
	Januária	JAN	42,37 ±1,49	58,13 ±1,25	0,74
	Japonvar	JAP	50,33 ±5,48	50,46 ±5,17	1,01
	Montes Claros	MOC	43,83 ±0,85	56,98 ±0,59	0,78
	Pirapora	PIR	50,60 ±0,55	49,88 ±0,48	1,02
	Salinas	SAL	41,68 ±2,61	59,00 ±2,40	0,71
	Unai	UNA	49,44 ±0,30	51,47 ±0,31	0,98
TO	Paraná	PAR	52,79 ±5,25	48,45 ±3,82	1,12
	Peixe	PEI	44,49 ±1,99	56,38 ±1,75	0,80
Média			46,13 ±4,30	54,52 ±4,31	0,85 ±0,15

A Figura 3.15 ilustra as curvas e as equações utilizadas na quantificação das substâncias majoritárias identificadas no óleo da polpa do pequi, ácido palmítico e ácido oléico, pelo método de padrão externo.



A



B

FIGURA 3.15. Correlações lineares entre as concentrações de ésteres metílicos dos ácidos graxos majoritários – ácido palmítico **(A)** e ácido oléico **(B)** – com a área dos picos correspondentes.

Já, na Tabela 3.9 são apresentadas as concentrações, em mg g^{-1} de óleo, desses ácidos graxos majoritários. Já a Tabela 3.10 informa a concentração dessas substâncias, em 100 g de polpa de pequi.

TABELA 3.9. Concentração de ácidos graxos majoritários, ácidos palmítico e oléico, no óleo da polpa do pequi (*C. brasiliense*)

Estado	Amostra/ Código		Concentração Substâncias (mg g ⁻¹ de óleo)		
			C16:0	C18:1 Δ9	TOTAL
MA	Barra do Corda	BAR	404,4 ±29,5	554,5 ±20,3	958,8 ±49,8
	Grajaú (Gato Preto)	GAT	402,7 ±15,2	579,0 ±30,4	981,7 ±45,6
	Grajaú (Olhos D'Água)	OLH	460,0 ±20,0	514,1 ±28,6	974,2 ±28,6
	Lajeado Novo	MOP	428,8 ±27,5	556,1 ±37,9	984,9 ±65,4
MG	Arinos	ARI	495,6 ±18,2	483,3 ±28,0	978,9 ±46,2
	Bocaiúva	BOI	397,3 ±25,0	562,0 ±17,9	959,2 ±42,9
	Claro dos Poções	CLA	398,8 ±29,6	567,1 ±37,2	965,8 ±66,8
	Curvelo	CUR	490,0 ±18,8	467,1 ±19,6	957,1 ±38,4
	Felixlândia	FEX	462,6 ±12,4	500,2 ±19,2	962,9 ±31,6
	Grão Mogol	GRA	467,0 ±22,4	505,5 ±31,5	972,5 ±53,9
	Januária	JAN	436,4 ±20,5	545,5 ±13,5	981,9 ±34,0
	Japonvar	JAP	464,2 ±19,0	501,3 ±19,2	965,5 ±38,2
	Montes Claros	MOC	426,2 ±23,8	553,2 ±17,7	979,4 ±41,5
	Pirapora	PIR	483,3 ±28,6	482,1 ±20,2	965,4 ±48,8
	Salinas	SAL	416,0 ±17,2	567,0 ±22,1	982,9 ±39,3
	Unaí	UNA	467,8 ±30,7	495,8 ±21,0	963,6 ±51,7
TO	Paraná	PAR	514,7 ±26,9	459,7 ±19,5	974,4 ±46,4
	Peixe	PEI	415,9 ±27,0	548,2 ±30,7	964,1 ±57,7
Média			446,2 ±36,8	524,5 ±38,4	970,7 ± 9,3
CV			8,2%	7,3%	1,0%

Ao analisar os dados apresentados na Tabela 3.9, verificou-se que os coeficientes de variação obtidos, tanto para a concentração de ácido palmítico como, de ácido oléico, apresentaram valores relativamente baixos; o que indica pequena variação da composição química do óleo da polpa de pequi, nas 18 populações amostradas, no que se refere às concentrações desses ácidos graxos. No entanto, a Tabela 3.10 é mais sugestiva, uma vez que as concentrações dessas substâncias foram calculadas e apresentadas em 100 g

de polpa. Pôde-se observar, neste caso, que os coeficientes de variação assumiram valores mais elevados. De acordo com CAHOON & SCHMID (2008) variações na composição de TAG são, em geral, de origem genética.

TABELA 3.10. Concentração de ácidos graxos majoritários, ácidos palmítico e oléico, na polpa do pequi (*C. brasiliense*)

População			Concentração (g/100 g de polpa)			
			Ácido Palmítico		Ácido Oléico	
			BU	BS	BU	BS
MA	Barra do Corda	BAR	8,95	21,95	12,27	30,10
	Grajaú (Gato Preto)	GAT	14,89	26,82	21,41	38,56
	Grajaú (Olhos D'Água)	OLH	13,62	27,43	15,22	30,66
	Lajeado Novo	MOP	11,83	25,25	15,35	32,74
MG	Arinos	ARI	12,34	26,34	12,04	25,69
	Bocaiúva	BOI	7,00	16,57	9,91	23,44
	Claro dos Poções	CLA	11,12	20,72	15,81	29,47
	Curvelo	CUR	11,00	23,14	10,49	22,06
	Felixlândia	FEX	12,35	24,49	13,35	26,48
	Grão Mogol	GRA	12,07	25,86	13,07	27,99
	Januária	JAN	12,33	30,01	15,41	37,51
	Japonvar	JAP	11,08	26,77	11,97	28,91
	Montes Claros	MOC	8,47	22,01	11,00	28,57
	Pirapora	PIR	11,55	23,39	11,52	23,33
	Salinas	SAL	8,28	18,57	11,29	25,31
	Unaí	UNA	10,38	20,43	11,00	21,66
TO	Paraná	PAR	12,45	28,81	11,12	25,73
	Peixe	PEI	9,85	22,06	12,98	29,08
Média			11,09 ±1,99	23,92 ±3,59	13,07 ±2,77	28,18 ±4,72
CV			17,9%	15,0%	21,2%	16,7%

Essa composição química do óleo da polpa de pequi – cerca de 97% constituído de ácidos palmítico e oléico – confere, ao mesmo, características nutracêuticas singulares. De acordo com KRIS-ETHERTON (1999) e LOPEZ-HUERTAS (2010), existe vasta evidência científica demonstrando que a composição da gordura, na dieta, afeta à modulação de concentrações de lipídios no sangue. Quanto ao ácido oléico, os efeitos mais notáveis são descritos em estudos, nos quais a substituição isocalórica de 5% da energia proveniente de gordura saturada (ácidos graxos saturados) por ácido oléico foi testado; em que foi estimada uma redução de risco de doença cardíaca

coronariana de 20-40%, principalmente através de redução de colesterol tipo LDL (lipoproteína de baixa densidade). Ainda, deve-se destacar que nos seres humanos, uma substituição na dieta de triacilglicerídios saturados por TAG constituídos de palmitato-oleato tem um efeito benéfico sobre a prevenção da trombogênese (GERMAN & DILARD, 2004).

Já quanto aos elevados teores de ácido palmítico, em torno de 11% da polpa, imprimem, ao óleo da polpa de pequi, uma melhor estabilidade oxidativa e aumentam a temperatura de fusão do mesmo. Essa última característica favorece a utilização dos mesmos em produtos de confeitaria e fabricação de margarinas (CAHOON & SCHMID, 2008).

Para a planta, esta composição de TAG não apresenta problemas quanto à fluidez nas membranas (CAHOON & SCHMID, 2008). Ainda, deve-se destacar que o pequizeiro é uma planta arbórea (6 a 10 m de altura) e, segundo BONAVENTURE *et al.* (2006), a presença de ácido palmítico, nos tecidos dos vegetais, é essencial para o seu crescimento e desenvolvimento.

3.4.6. ANÁLISE MULTIVARIADA

3.4.6.1. Análise das Componentes Principais – ACP

A Análise das Componentes Principais foi realizada, utilizando-se uma matriz 18x16, na qual os objetos (linhas) foram as 18 populações investigadas. As variáveis (16 colunas) constituíram-se das informações químicas, no que diz respeito aos óleos fixos da polpa do pequi: teores de triacilglicerídios, na base seca e úmida (Tabela 3.6); teor de umidade (Tabela 3.6); concentrações, método da normalização, em % de área dos cinco ácidos graxos constituintes do óleo da polpa (Tabela 3.7); concentrações dos componentes majoritários no óleo fixo da polpa, ácido palmítico e ácido oléico (mg g^{-1} de óleo), bem como a soma dessas concentrações (Tabela 3.9); concentrações de ácidos palmítico e oléico na polpa, com base na matéria seca e úmida (Tabela 3.10) e, finalmente, da relação entre o teor de ácidos graxos saturados e insaturados (Tabela 3.8). O gráfico de escores obtido com a ACP encontra-se na Figura 3.16.

Ao se analisar o gráfico de escores verificou-se que as componentes PC1 e PC2 representam 73,5% da variância total dos dados e forneceram informações discriminatórias das amostras. Através desse gráfico – bem como

da Figura 3.17, que ilustra a distribuição dos pesos das variáveis responsáveis pela classificação das 18 populações amostradas – observou-se a formação de dois agrupamentos ao se traçar uma linha pontilhada **AB**, dividindo os quatro quadrantes em duas partes.

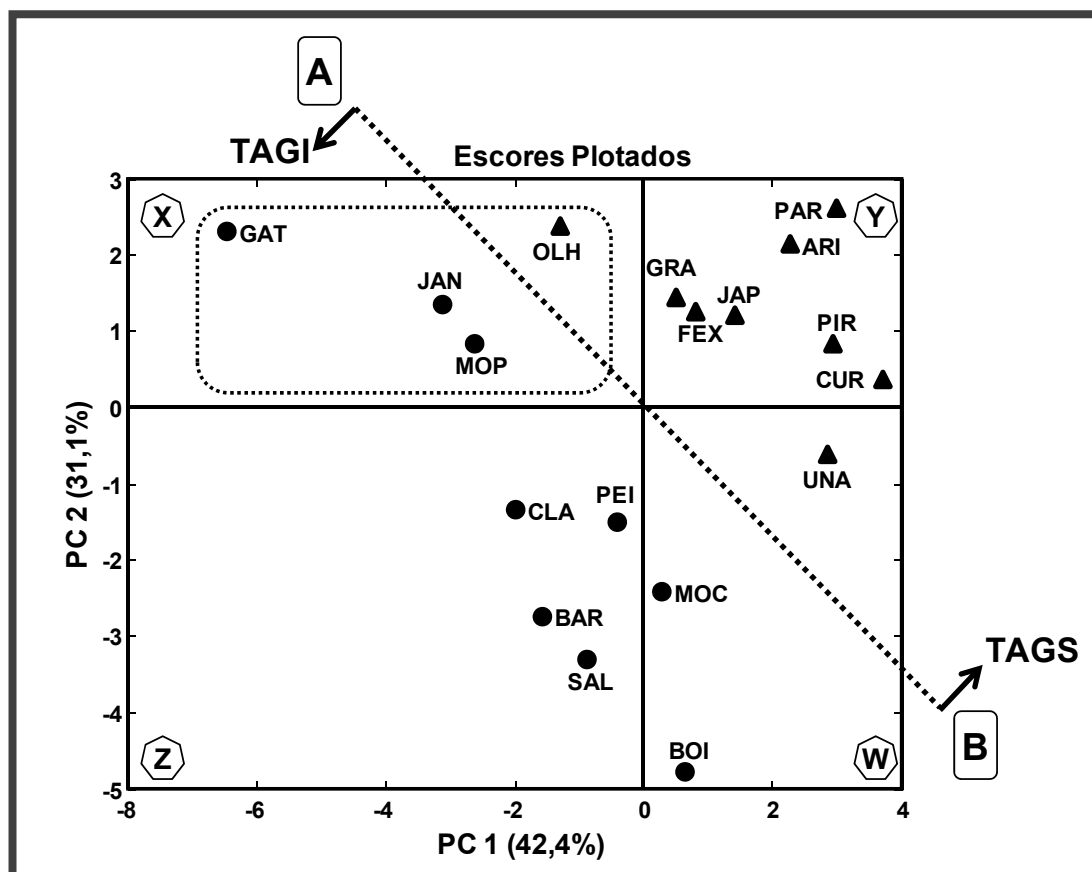


FIGURA 3.16. Gráfico de Escores das 18 populações considerando os óleos fixos da polpa do *Caryocar brasiliense*.

Onde: ● = grupo com TAGS/TAGI entre 0,67 a 0,83;

▲ = grupo com TAGS/TAGI entre 0,87 – 1,12..

As populações dos municípios [Grajaú – Olhos D’Água (Maranhão); Arinos, Curvelo, Felixlândia, Grão Mogol, Japonvar, Pirapora, Unaí (Minas Gerais) e Paranã (Tocantins)] representam as cidades, nas quais a relação entre os teores de ácidos graxos saturados e insaturados alcançou os maiores valores ($0,89 \leq \text{TAGS/TAGI} \leq 1,12$). Já o segundo grupo, formado pelos municípios [Barra do Corda, Grajaú – Gato Preto, Lajeado Novo (Maranhão); Claro dos Poções, Bocaiúva, Januária, Montes Claros, Salinas (Minas Gerais);

Peixe (Tocantins)] são as populações que apresentaram os menores valores para a relação TAGS/TAGI, ou seja, $0,67 \leq \text{TAGS/TAGI} \leq 0,83$.

Ainda, com a ACP verificou-se que no primeiro quadrante **X** foram agrupadas quatro populações, segundo os elevados rendimentos de óleo apresentados em sua polpa: três populações do Estado do Maranhão [Município de Grajaú – Localidade Olhos D'Água (59,6%) e Localidade Gato Preto (66,60%) e Município de Lajeado Novo (58,9%)] e uma população do Estado de Minas Gerais [Município de Januária (68,8%)].

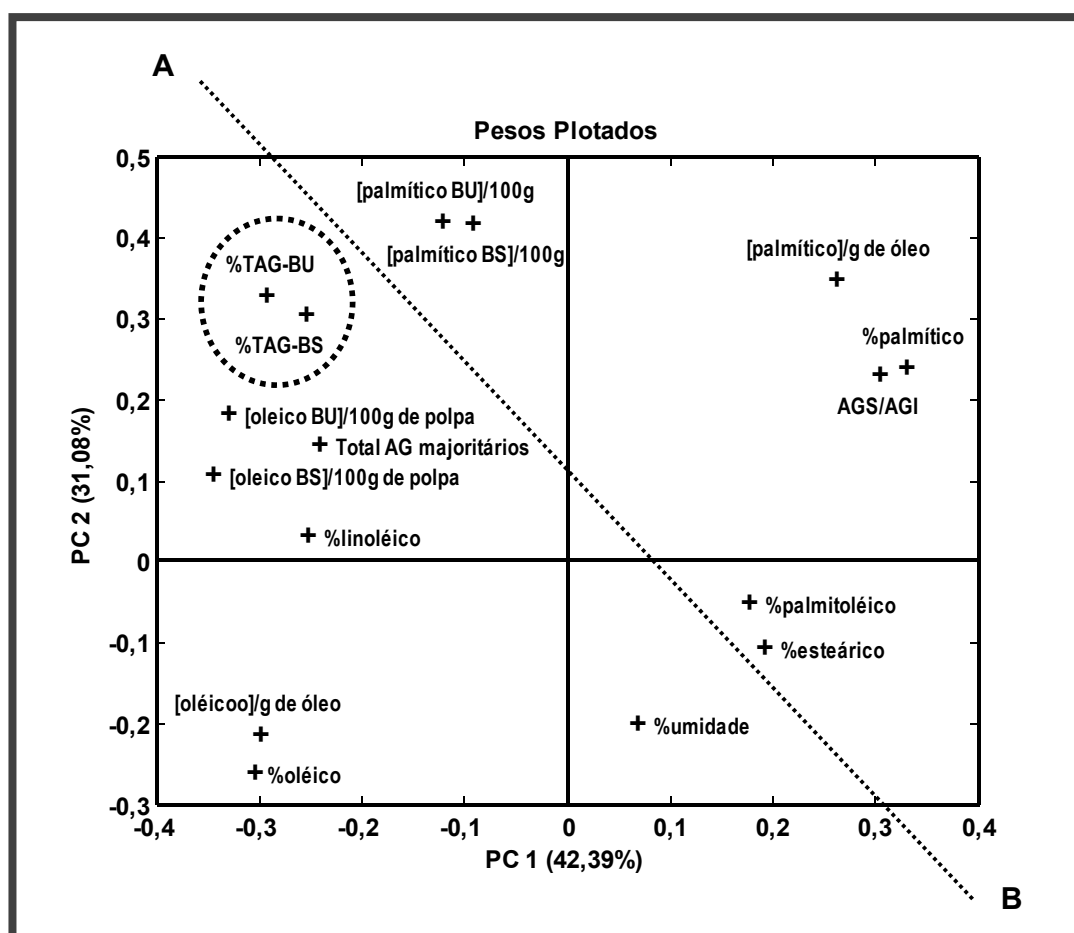


FIGURA 3.17. Pesos das variáveis, distribuídas na ACP.

Adicionalmente, pôde-se confirmar que a relação entre a concentração de ácidos graxos saturados e insaturados é uma importante variável na caracterização físico-química de óleos vegetais.

3.4.6.2. Análise Hierárquica por Agrupamento – AHA

A Figura 3.18 ilustra o dendrograma obtido com a AHA.

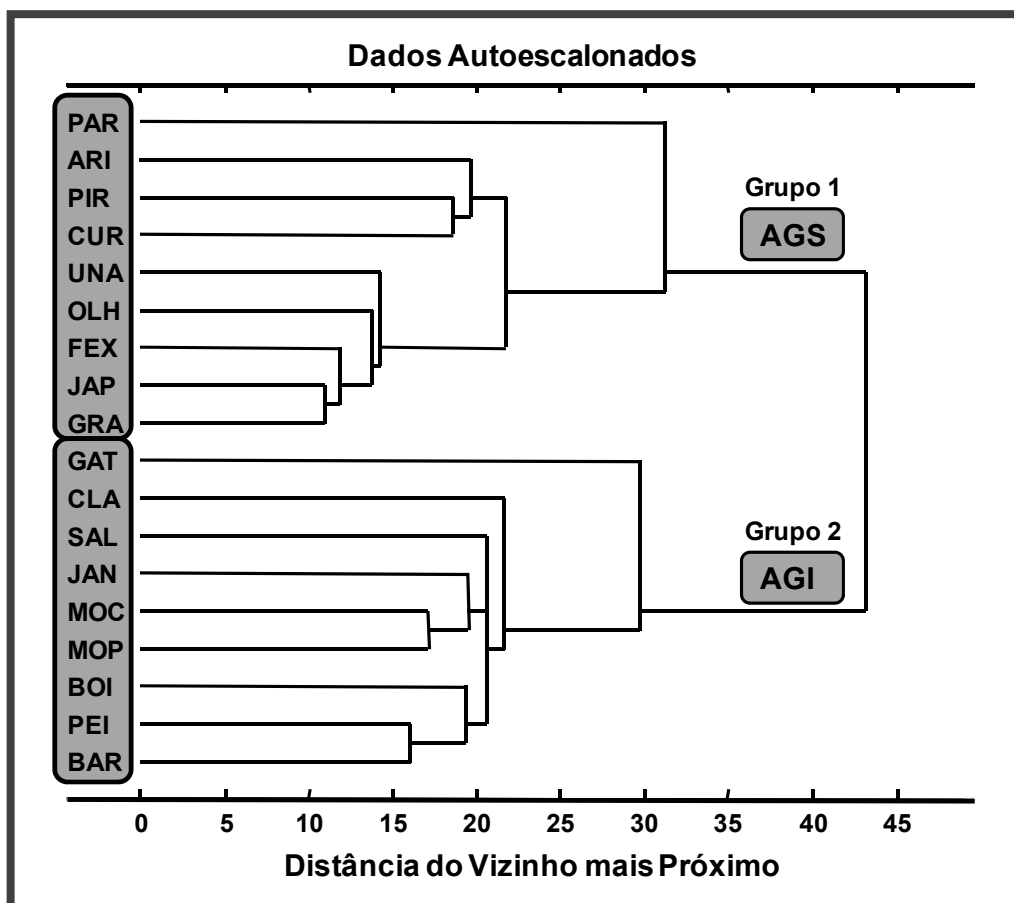


FIGURA 3.18. Dendrograma obtido pela Análise Hierárquica por Agrupamento, dos óleos fixos da polpa do *C. brasiliense*. Onde as populações foram classificadas em:

AGS = maiores teores de ácidos graxos saturados;

AGI = maiores teores de ácidos graxos insaturados.

Conforme discutido nos gráficos de escores e pesos (Figuras 3.15 e 3.16), as 18 populações amostradas foram reunidas em dois grupos, quanto à saturação e insaturação dos ácidos graxos esterificados às moléculas de TAG, constituintes do óleo da polpa de *C. brasiliense*. Esses agrupamentos são confirmados, também, através da AHA, onde se visualizam os dois grupos formados no gráfico tipo dendrograma (Figura 3.17).

A Figura 3.19 apresenta o Mapa Político Brasileiro, dividido em Estados da Federação, em que se procedeu à localização das 18 populações. Nesse mapa é demonstrada a classificação das amostras quanto ao teor e à composição química dos triacilglicerídios da polpa de pequi, segundo a análise quimiométrica – Análise Multivariada (ACP e AHA).

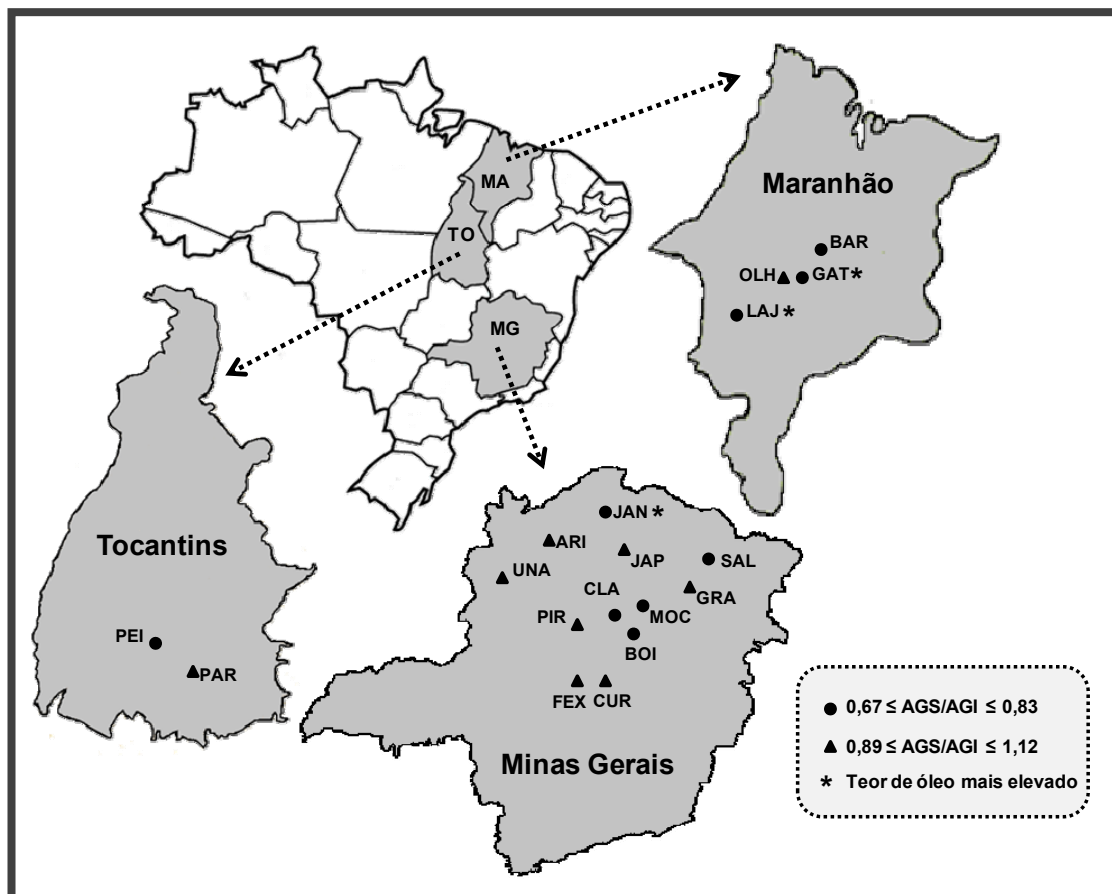


FIGURA 3.19. Mapa Político Brasileiro, dividido em Estados da Federação.

Em destaque os estados de Minas Gerais, Maranhão e Tocantins, nos quais se encontram agrupadas as 18 populações amostradas de *Caryocar brasiliense*, segundo a concentração e composição química dos triacilglicerídios de sua polpa, de acordo com a Análise Multivariada (ACP e AHA).

3.5. CONCLUSÕES

O estudo do tempo possibilitou otimizar o processo de extração de triacilglicerídios (TAG), no sistema proposto (Soxtec/hexano), através da determinação do tempo necessário para extração de lipídios, na polpa (2 h) e na amêndoa (4 h) de pequi (*Caryocar brasiliense*); podendo-se, também, verificar que o tipo de amostra influencia o tempo de extração.

Os teores médios de TAG na polpa e amêndoa (53,7% e 49,0%, respectivamente), confirmam ser o pequi uma espécie oleaginosa. Ainda, a ausência de ácidos graxos livres e a constituição química, rica em ácidos graxos, oléico e palmítico (98% dos TAG), adéquam o emprego desses óleos para uso alimentício, entre outras potencialidades. Embora em menores concentrações, a presença de ácido graxo essencial linoléico ($\omega 6$) contribui para acentuar a qualidade nutricional dos mesmos.

De acordo com a ANOVA, as populações oriundas do Estado do Maranhão destacaram-se quanto ao teor de TAG na polpa do pequi, juntamente com o Município mineiro de Januária. No entanto, os pequis de Bocaiúva-MG apresentaram menores teores de TAG.

O estudo quimiométrico, Análise das Componentes Principais (ACP) e Análise Hierárquica por Agrupamento, agruparam as 18 populações amostradas em dois grupos, segundo a razão entre o teor de ácidos graxos saturados e insaturados (TAGS/TAGI), não sendo possível separá-las segundo a localização geográfica. O que confirma ser essa relação importante na caracterização química de óleos e gorduras de uso alimentício. A ACP também identificou que as populações de Grajaú-MA (localidade Gato Preto), Lajeado Novo-MA e Januária-MG podem ser consideradas, dentre as populações amostradas, com quimiótipos superiores quanto à composição e ao teor de óleos fixos.

3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AHMED, M. K.; DAUN, J. K.; PRZYBYLSKI, R. FT-IR based methodology for quantitation of total tocopherols, tocotrienols and plastochromanol-8 in vegetable oils. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, p. 359–364, 2005.

ANTONIOSI-FILHO, N. R. Biodiesel: a oportunidade para Goiás praticar o desenvolvimento sustentado. **Revista UFG**, v. 8, n.1, p. 30–33, 2006.

AQUINO, L. P.; BORGES, S. V.; QUEIROZ, F.; ANTONIASSI, R.; CIRILLO, M. A. Extraction of oil from pequi fruit (*Caryocar Brasiliense*, Camb.) using several solvents and their mixtures. **Grasas y Aceites**, v. 62, n. 3, p.245-252, 2011.

AQUINO, L. P.; FERRUA, F. Q.; BORGES, S. V.; ANTONIASSI, R.; CORREA, J. L. G.; CIRILLO, M. A. Influência da secagem do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) na qualidade do óleo extraído. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 354–357, 2009a.

AQUINO, L. P.; FERRUA, F. Q.; BORGES, S. V.; CIRILLO, M. A.; VIEIRA, A. P. Influência do pré-tratamento da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) no rendimento do extrato lipídico. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, n. 2, p. 289–294, 2009b.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. 3. ed. rev. ampl. Viçosa: UFV, 2004. 478 p.

ARAÚJO, F. D. A review of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) – an economically valuable species of the central Brazilian cerrados. **Economic Botany**, v. 49, n. 1, p. 40–48, 1995.

AVIDOS, M. F. D. & FERREIRA, L. T. Frutos dos cerrados - preservação gera muitos frutos. **Biotecnologia - Ciência & Desenvolvimento**, v. 3, n. 15, p. 36–41, 2000.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no Infravermelho na Caracterização de Compostos Orgânicos**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 189 p.

BARTH, A. Infrared spectroscopy of proteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1767, p. 1073–1101, 2007.

BATISTA, J. S.; SILVA, A. E.; RODRIGUES, C. M. F.; COSTA, K. M. F. M.; OLIVEIRA, A. F.; PAIVA, E. S.; NUNES, F. V. A.; OLINDA, R. G. Avaliação da atividade cicatrizante do óleo de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm) em feridas cutâneas produzidas experimentalmente em ratos. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.3, p. 441–447, 2010.

BONAVENTURE, G.; SALAS, J. J.; POLLARD, M. R.; OHLROGGE, J. B. Disruption of the *FATB* gene in arabidopsis demonstrates an essential role of saturated fatty acids in plant growth. **The Plant Cell**, v. 15, p. 1020–1033, 2003.

BORA, P. S.; ROCHA, R. V. M.; NARAIN, N.; MOREIRA-MONTEIRO, A. C.; MOREIRA, R. A. Characterization of principal nutritional components of Brazilian oil palm (*Eliaes guineensis*) fruits. **Bioresource Technology**, v. 87, p. 1–5, 2003.

CAHOON, E. B. & SCHMID, K. M. Metabolic engineering of the content and fatty acid composition of vegetable oils. Chapter 7. **Advances in Plant Biochemistry and Molecular Biology**, v. 1, p. 161-200, 2008.

CASTRO, M. D. L. & PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 2383–2389, 2010.

CASTRO, M. D. L. & GARCÍA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**, v. 369, p. 1–10, 1998.

CARRASCO-PANCORBO, A.; NAVAS-IGLESIAS, N.; CUADROS-RODRÍGUEZ, L. From lipid analysis towards lipidomics. a new challenge for the analytical chemistry of the 21st century. Part I: Modern lipid analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 263–278, 2009.

COSTA, J. M. C.; GUERRA, K. T.; MAIA, G. A.; ROCHA, E. M. F. F. Avaliação físico-química e microbiológica da amêndoa da Castanha de caju. **Publicatio UEPG**, v. 15, n. 3, p. 181–187, 2009.

CHRISTIE, W. W. **Lipid Analysis**. 2. ed. Oxford: Pergamon Press, 1982. 207p.

CHRISTIE, W. W. **Mass spectrometry of fatty acids – a beginner's guide Part 1**. Invergowrie: Scottish Crop Research Institute – The Lipid Library, 2011a. 4 p.

CHRISTIE, W. W. **Mass spectra of methyl esters of fatty acids: Part 1. Normal saturated fatty acids**. Invergowrie: Scottish Crop Research Institute – The Lipid Library, 2011b. 5 p.

CHRISTIE, W. W. **Mass spectra of methyl esters of fatty acids: Part 3. Monoenoic fatty acids**. Invergowrie: Scottish Crop Research Institute – The Lipid Library, 2011c. 5 p.

CHRISTIE, W. W. **Mass spectra of methyl esters of fatty acids: Part 4. Dienoic fatty acids**. Invergowrie: Scottish Crop Research Institute – The Lipid Library, 2011d. 5 p.

CHRISTIE, W. W. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. In: CHRISTIE, W.W. Ed. **Advances in Lipid Methodology – Two**. Dundee: Oily Press, 1993.

CHRISTIE, W. W. **What lipids do:** their biological functions. Invergowrie: Scottish Crop Research Institute – The Lipid Library, 2010. 12 p.

CIONI, P. L.; FLAMINI, G.; CAPONI, C.; CECCARINI, L.; MORELLI, I. Analysis of volatile fraction, fixed oil and tegumental waxes of the seeds of two different cultivars of *Helianthus annuus*. **Food Chemistry**, v. 90, p. 713–717, 2005.

COLEMAN, R. A. & LEE, D. P. Enzymes of triacylglycerol synthesis and their regulation. **Progress in Lipid Research**, v. 43, p. 134–176, 2004.

COUTINHO, C. M.; CHIU, M. C.; BASSO, R. C.; RIBEIRO, A. P. B.; GONÇALVES, L. A. G.; VIOTTO, L. A. State of art of the application of membrane technology to vegetable oils: A review. **Food Research International**, v. 42, p. 536–550, 2009.

DEMIRBAS, A. Progress and recent trends in biodiesel fuels. **Energy Conversion and Management**, v. 50, p. 14–34, 2009.

FACIOLI, N. L. & GONÇALVES, L. A. G. Modificação por via enzimática da composição triglicéridica do óleo de piqui (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Química Nova**, v.21, n.1, p.16–19, 1998.

FASINA, O. O.; CRAIG-SCHMIDT, M.; COLLEY, Z.; HALLMAN, H. Predicting melting characteristics of vegetable oils from **fatty acid composition**. **Food Science and Technology**, v. 41, p. 1501–1505, 2008.

FRANCO, E. A. P. & BARROS, R. F. M. Uso e diversidade de plantas medicinais no Quilombo Olho D'água dos Pires, Esperantina, Piauí. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 78-88, 2006.

FUCHS, B.; SÜß, R.; TEUBER, K.; EIBISCH, M.; SCHILLER, J. Lipid analysis by thin-layer chromatography—A review of the current state. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 2754–2774, 2011.

GARCIA, C. C.; FRANCO, P. I. B. M.; ZUPPA, T. O.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; LELES, M. I. G. Thermal stability studies of some cerrado plant oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 87, n. 3, p. 645–648, 2007.

GERMAN, J. B. & DILLARD, C. J. Saturated fats: what dietary intake? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, p. 550-559, 2004.

GHOTRA, B. S.; DYAL, S. D.; NARINE, S. S. Lipid shortenings: a review. **Food Research International**, v. 35, p. 1015–1048, 2002.

GONÇALVES, G. A. S.; VILAS BOAS, E. V. B.; RESENDE, J. V.; MACHADO, A. L. L.; VILAS BOAS, B. M. Qualidade dos frutos do pequizeiro submetidos a diferentes tempos de cozimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 2, p. 377–385, 2011.

GUILLÉN, M. A. D. & CABO, N. Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. **Food Chemistry**, v. 77, p. 503–510, 2002.

GÜNER, F. S.; YAĞCI, Y.; ERCIYES, A. T. Polymers from triglyceride oils. **Progress in Polymer Science**, v. 31, p. 633–670, 2006.

GURDENIZ, G. & OZEN, B. Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data. **Food Chemistry**, v. 116, p. 519–525, 2009.

HALLGREN, B.; RYHAGE, R.; STENHAGEN, E. The mass spectra of methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenate. **Acta Chemica Scandinavica**, v. 14, n. 4, p. 845–847, 1959.

HARWOOD, J. L. Recent advances in the biosynthesis of plant fatty acids. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1301, p. 7–56, 1996.

HELWANI, Z.; OTHMAN, M. R.; AZIZ, N.; KIM, J.; FERNANDO, W. J. N. Solid heterogeneous catalysts for transesterification of triglycerides with methanol: A review. **Applied Catalysis A: General**, v. 363, p. 1–10, 2009.

HENDERSON, J. & OSBORNE, D. J. The oil palm in all our lives: how this came about. **Endeavour**, v. 24, n. 2, p. 63–68, 2000.

IAL – Instituto Adolfo Lutz. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 1. ed. digital. versão eletrônica. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Mapa de Biomas do Brasil**. Brasília, 2004.

JHAM, G. N., TELLES, F. F. F., CAMPOS, L. G. Use of aqueous HCl/MeOH as esterification reagent for analysis of fatty acids derived from soybean lipids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.59, n.3, p. 132–133, 1982.

KHAN, Z.; TROQUET, J.; VACHELARD, C. Sample preparation and analytical techniques for determination of polyaromatic hydrocarbons in soils. **International Journal of Environment Science and Technology**, v. 2, n. 3, p. 275–286, 2005.

KIM, J.; KIM, D. N.; LEE, S. H.; YOO, S. H.; LEE, S. Correlation of fatty acid composition of vegetable oils with rheological behavior and oil uptake. **Food Chemistry**, v. 118, p. 398–402, 2010.

KRIS-ETHERTON, P. M. Monounsaturated Fatty Acids and Risk of Cardiovascular Disease. **Circulation Journal of the American Heart Association**, v. 100, p. 1253–1258, 1999.

KOH, M. Y. & GHAZI, T. I. M. A review of biodiesel production from *Jatropha curcas* L. oil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 2240–2251, 2011.

KÖKDIL, G. & YILMAZ, H. Analysis of the fixed oils of the genus *Nigella* L. (Ranunculaceae) in Turkey. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, p. 1203–1209, 2005.

LEE, D. S.; NOH, B. S.; BAE, S. Y.; KIM, K. Characterization of fatty acids composition in vegetable oils by gas chromatography and chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 358, p. 163–175, 1998.

LEUNG, D. Y. C.; WU, X.; LEUNG, M. K. H. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. **Applied Energy**, v. 87, p. 1083–1095, 2010.

LIMA, A.; SILVA, A. M. O.; TRINDADE, R. A.; TORRES, R. P.; MANCINI-FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695–698, 2007.

LIN, L.; CUNSHAN, Z.; VITTAYAPADUNG, S.; XIANGQIAN, S.; MINGDONG, D. Opportunities and challenges for biodiesel fuel. **Applied Energy**, v. 88, p. 1020–1031, 2011.

LOPES, D. C. & STEIDLE NETO, A. J. Simulation models applied to crops with potential for biodiesel production. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 75, p. 1–9, 2011.

LOPEZ-HUERTAS, E. Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. **Pharmacological Research**, v. 61, p. 200–207, 2010.

LUQUE-GARCÍA, J. L. & CASTRO, M. D. L. Focused microwave-assisted Soxhlet extraction: devices and applications. **Talanta**, v. 64, p. 571–577, 2004.

MAGNUSON, K.; JACKOWSKI, S.; ROCK, C.; CRONAN-JR, J. E. Regulation of fatty acid biosynthesis in *Escherichia coli*. **Microbiological Reviews**, v. 57, n. 3, p. 522–542, 1993.

MARIANO, R. G. B.; COURI, S.; FREITAS, S. P. Enzymatic technology to improve oil extraction from *Caryocar brasiliense* Camb (pequi) pulp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 3, p. 637–643, 2009.

MARTÍNEZ-FORCE, E.; RUIZ-LÓPEZ, N.; GARCÉS, R. The determination of the asymmetrical stereochemical distribution of fatty acids in triacylglycerols. **Analytical Biochemistry**, v. 334, p. 175–182, 2004.

MCCLEMENTS, D. J. & DECKER, E. A. Lipídios. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.

MEKHILEF, S.; SIGA, S.; SAIDUR, R. A review on palm oil biodiesel as a source of renewable fuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 1937–1949, 2011.

MENDOW, G.; MONELLA, F. C.; PISARELLO, M. L.; QUERINI C. A. Biodiesel production from non-degummed vegetable oils: Phosphorus balance throughout the process. **Fuel Processing Technology**, v. 92, p. 864–870, 2011.

MENDES, F. R. & CARLINI, E. A. Brazilian plants as possible adaptogens: An ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, p. 493–500, 2007.

MILLER, J. M. **Chromatography – Concepts and Contrasts**. 2. ed. Madison: Wiley-Interscience, 2005. 490 p.

MIRANDA-VILELA, A. L. & GRISOLIA, C. K. Characterization of the major nutritional components of *Caryocar brasiliense* fruit pulp by NMR spectroscopy. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2310–2313, 2009.

MIRANDA-VILELA, A. L.; PEREIRA, L. C. S.; GONÇALVES, C. A.; GRISOLIA, C. K. Pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp oil reduces exercise-induced inflammatory markers and blood pressure of male and female runners. **Nutrition Research**, v. 29, p. 850–858, 2009.

MORRISON, W. H. An Evaluation of the Soxtec System for Oil Determination in Soybeans. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 67, n. 7, p. 431–432, 1990.

MU, H. & HOY, C. E. The digestion of dietary triacylglycerols. **Progress in Lipid Research**, v. 43, p.105–133, 2004.

OLIVEIRA, M. E. B.; GUERRA, N. B.; BARROS, L. M.; ALVES, R. E. **Aspectos Agronômicos e de Qualidade do Pequi**. Embrapa Agroindústria Tropical: Fortaleza, 2008. 32 p.

OLIVEIRA, M. L. M.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S.; TOMÉ, A. R.; MOTA, E. F.; LIMA-VERDE, I. A.; PINHEIRO, F. G. M.; CAMPELLO, C. C.; MORAIS, S. M. In vivo topical anti-inflammatory and wound healing activities of the fixed oil of *Caryocar coriaceum* Wittm. seeds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, p. 214–219, 2010.

ORDÓÑEZ, J. A. P.; RODRIGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnología de Alimentos: componentes dos alimentos e processos**. v. 1, Porto Alegre: Artmed, 2005.

PADGETTE, S. R.; TAYLOR, N. B.; NIDA, D. L.; BAILEY, M. R.; MACDONALD, J.; HOLDEN, L. R.; FUCHS, R. L. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. **The Journal of Nutrition**, v. 22, n. 3166, p. 701-716, 1996.

PIANOVSKI, A. R.; VILELA, A. F. G.; LIMA, C. G.; SILVA, K. K.; CARVALHO, V. F. M.; MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões múltiplas O/A/O com óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n.2, p. 155–159, 2008.

PIANOVSKI, A. R.; VILELA, A. F. G.; SILVA, A. A. S.; LIMA, C. G.; SILVA, K. K.; CARVALHO, V. F. M.; MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M. Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 2, p. 249–259, 2008.

PINTO, R. C.; LOCQUET, N.; EVELEIGH, L.; RUTLEDGE, D. N. Preliminary studies on the mid-infrared analysis of edible oils by direct heating on an ATR diamond crystal. **Food Chemistry**, v. 120, p. 1170–1177, 2010.

RABÊLO, A. M. S.; TORRES, M. C. L.; GERALDINE, R. M.; SILVEIRA, M. F. A. Extração, secagem e torrefação da amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 868–871, 2008.

RAGUNATHAN, N.; KROCK, K. A. ; KLAWUN, C.; SASAKI, T. A.; WILKINS, C. L. Gas chromatography with spectroscopic detectors. **Journal of Chromatography A**, v. 856, p. 349–397, 1999.

RAMADHAS, A. S.; JAYARAJ, S.; MURALEEDHARAN, C. Use of vegetable oils as I.C. engine fuels — a review. **Renewable Energy**, v. 29, p. 727–742, 2004.

RAMOS, L. P. & WILHELM, H. M. Current Status of Biodiesel Development in Brazil. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 121, p. 807–819, 2005.

RIBEIRO, R. F. **Pequi – O Rei do Cerrado**: roendo o fruto sertanejo por todos os lados. Belo Horizonte: REDE CERRADO/REDE/CAANM/CAMPO VALE, 2000. 62p.

RODRIGUES, V. E. G. & CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na Região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 1, p.102–123, 2001.

ROHMAN, A. & MAN, Y. B. C. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. **Food Research International**, v. 43, p. 886–892, 2010.

SARAIVA, R. A.; ARARUNA, M. K. A.; OLIVEIRA, R. C.; MENEZES, K. D. P.; LEITE, G. O.; KERNTOPF, M. R.; COSTA, J. G. M.; ROCHA, J. B. T.; TOMÉ, A. R.; CAMPOS, A. R.; MENEZES, I. R. A. Topical anti-inflammatory effect of *Caryocar coriaceum* Wittm. (Caryocaraceae) fruit pulp fixed oil on mice ear edema induced by different irritant agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 3, p. 504-510, 2010.

SATO, K. Crystallization behaviour of fats and lipids - a review. **Chemical Engineering Science**, v. 56, p. 2255–2265, 2001.

SEGALL, S. D; ARTZ, W. E.; RASLAN, D. S.; FERRAZ, V. P.; TAKAHASHI, J. A. Triacylglycerol analysis of pequi (*Caryocar brasiliensis* Camb.) oil by electrospray and tandem mass spectrometry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 445-452, 2006.

SHERAZI, S. T. H.; TALPUR, M. Y.; MAHESAR, S. A.; KANDHRO, A. A.; ARAIN, S. Main fatty acid classes in vegetable oils by SB-ATR-Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. **Talanta**, v. 80, p. 600–606, 2009.

SILVÉRIO, F. O.; BARBOSA, L. C. A.; GOMIDE, J. L.; REIS, F. P.; PILÓ-VELOSO, D. Metodologia de extração e determinação do teor de extrativos em madeira de eucalipto. **Revista Árvore**, v.30, n. 6, p. 1009–1016, 2006.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SINGH, S. P. & SINGH, D. Biodiesel production through the use of different sources and characterization of oils and their esters as the substitute of diesel: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 200–216, 2010.

SINGH, S.; REHAN, H. M. S.; MAJUMDAR D. K. Effect of *Ocimum sanctum* fixed oil on blood pressure, blood clotting time and pentobarbitone-induced sleeping time. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, p. 139–143, 2001.

SMIT, E. N.; MUSKIET, F. A. J.; BOERSMA, E. R. The possible role of essential fatty acids in the pathophysiology of malnutrition: a review. **Prostaglandins. Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.71, p.241–250, 2004.

SOUSA, A. G. O.; FERNANDES, D. C.; ALVES, A. M.; FREITAS, J. B.; NAVES, M. M. V. Nutritional quality and protein value of exotic almonds and nut from the Brazilian Savanna compared to peanut. **Food Research International**, v. 44, p. 2319–2325, 2011.

SPORRING, S.; BOWADT, S.; SVENSMARK, B.; BJÖRKLUND, E. Comprehensive comparison of classic Soxhlet extraction with Soxtec extraction. ultrasonication extraction. supercritical fluid extraction. microwave assisted extraction and accelerated solvent extraction for the determination of polychlorinated biphenyls in soil. **Journal of Chromatography A**, v. 1090, p. 1–9, 2005.

TAPP, H. S.; DEFERNEZ, M.; KEMSLEY, E. K. FTIR spectroscopy and multivariate analysis can distinguish the geographic origin of extra virgin olive oils. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 6110-6115, 2003.

THELEN, J. J. & OHLROGGE, J. B. Metabolic Engineering of Fatty Acid Biosynthesis in Plants. **Metabolic Engineering**, v. 4, p.12–21, 2002.

TRANCHIDA, P. Q.; DONATO, P.; DUGO, P.; DUGO, G.; MONDELLO, L. Comprehensive chromatographic methods for the analysis of lipids. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 3, p. 191–205, 2007.

VISENTAINER, J. V. & FRANCO, M. R. B. **Ácidos Graxos em Óleos e Gorduras: Identificação e Quantificação**. São Paulo: Varela, 2006. 120 p.

VILLA-RODRÍGUEZ, J. A.; MOLINA-CORRAL, F. J.; AYALA-ZAVALA, J. F.; OLIVAS, G. I.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of 'Hass' avocado. **Food Research International**, v. 44, p. 1231–1237, 2011.

VLAEMINCK, B.; FIEVEZ, V.; CABRITA, A. R. J.; FONSECA, A. J. M.; DEWHURST, R. J. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 131, p. 389–417, 2006.

WELLS, R. J. Recent advances in non-silylation derivatization techniques for gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 843, p. 1–18, 1999.

WHITE, S. W.; ZHENG, J.; ZHANG, Y. M.; ROCK, C. O. The structural biology of type II fatty acid biosynthesis. **Annual Review of Biochemistry**, v. 74, p. 791–831, 2005.

WILSON, R. H. & TAPP, H. S. Mid-infrared spectroscopy for food analysis: recent new applications and relevant developments in sample presentation methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, n. 2, p. 85–93, 1999.

XENAKIS, A.; PAPADIMITRIOU, V.; SOTIROUDIS, T. G. Colloidal structures in natural oils. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 15, p. 55–60, 2010.

YANG, H.; IRUDAYARAJ, J.; PARADKAR, M. M. Discriminant analysis of edible oils and fats by FTIR, FT-NIR and FT-Raman spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 93, p. 25–32, 2005.

ZAOUI, A.; Y.; CHERRAH, MAHASSINI, N.; ALAOUI, K.; AMAROUCH, H.; HASSAR, M. Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. **Phytomedicine**, v. 9, p. 69–74, 2002.

CONCLUSÃO GERAL

O teor de umidade da polpa do pequi (*Caryocar brasiliense*), dentre as demais características químicas aqui obtidas para as 18 populações amostradas, foi a que teve uma menor variação; apresentando um coeficiente de variação em torno 8,7%. Coeficiente de variação dessa magnitude é muito comum quando se trata de replicatas de amostras biológicas.

As 18 populações de pequi apresentaram significativas diferenças, no que se refere aos teores de carotenóides com atividade provitamina A (CPVA). No entanto, essas diferenças foram menores entre amostras situadas mais próximas uma das outras. Provavelmente, isso se deve às semelhanças edafoclimáticas, bem como à possibilidade de haver um maior fluxo gênico entre essas populações.

Os pequis da cidade Norte Mineira, Januária, apresentaram altos teores de CPVA. Além de destacá-los como fontes de vitamina A, estes pequis também apresentaram teores elevados dos demais carotenóides. Deve-se, portanto, sugerir-los como componentes de estudos de formação de bancos de germoplasma, interessados na seleção de espécies que apresentem genótipos/quimiótipos superiores quanto ao teor desses nutrientes.

Através da ACP e AHA foi possível agrupar as amostras, através do teor decrescente de CPVA. Ainda, foi possível reunir as amostras oriundas do Estado do Maranhão em um único agrupamento e classificá-las pelos baixos teores de CPVA encontrados em sua polpa. Foi, também, evidenciado um grupo de amostras – Januária, Japonvar, Arinos, Salinas e Montes Claros – as quais se apresentaram superiores, quanto ao teor desses pigmentos (nutrientes).

Os carotenóides identificados na polpa do pequi (*C. brasiliense*) foram: neoxantina, violaxantina, luteína, zeaxantina, β -criptoxantina e β -caroteno. Sendo neoxantina e β -caroteno, os componentes majoritários. O pequi pode ser indicado como fonte dos carotenóides (xantofilas) zeaxantina-luteína, considerados como quimiopreventivos de doenças oftálmicas como a catarata e DMI (degeneração macular, relacionada à idade).

Verificou-se grande variação quanto à concentração de óleos essenciais na polpa de *Caryocar brasiliense*. Os pequis — oriundos dos Municípios Mineiros (Januária, Japonvar, Salinas e Montes Claros) e do Município Maranhense (Barra do Corda) — foram os que apresentaram concentrações mais elevadas de óleo essencial. Sugere-se, portanto, que os referidos frutos apresentam sabor e aroma mais intensos.

Os OEs do pequi são principalmente constituídos de ésteres e de β -ocimeno. Os ésteres majoritários são: hexanoato de etila (MA e MG); hexanoato de isopropila e 2-metilbutanoato de isopentila (TO).

Os ésteres etílicos de cadeia curta conferem aos frutos do pequi um sabor e aroma doce, frutado-floral, intensificado pelo monoterpeneo β -ocimeno. No entanto, a presença de ésteres de cadeia mais longa, aos quais se atribuem notas metálicas — em amostras do Estado do TO — sugere que esses pequis apresentam aroma e sabor menos frutados.

Através da análise multivariada (ACP e AHA) foi possível classificar os pequis de acordo com seu local de origem. Tal fato confirma que a composição de óleos essenciais sofre influências geográficas, ou seja edafoclimáticas, e/ou genéticas.

O estudo do tempo possibilitou otimizar o processo de extração de triacilglicerídios (TAG), no sistema proposto (Soxtec/hexano), através da determinação do tempo necessário para extração de lipídios, na polpa (2 h) e na amêndoa (4 h) de pequi (*Caryocar brasiliense*); podendo-se, também, verificar que o tipo de amostra influencia o tempo de extração.

Os teores médios de TAG na polpa e amêndoa (53,7% e 49,0%, respectivamente), confirmam ser o pequi uma espécie oleaginosa. Ainda, a ausência de ácidos graxos livres e a constituição química, rica em ácidos graxos, oléico e palmítico (98% dos TAG), adéquam o emprego desses óleos para uso alimentício, entre outras potencialidades. Embora em menores concentrações, a presença de ácido graxo essencial linoléico (ω 6) contribui para acentuar a qualidade nutricional dos mesmos.

De acordo com a ANOVA, as populações oriundas do Estado do Maranhão destacaram-se quanto ao teor de TAG na polpa do pequi, juntamente com o Município mineiro de Januária. No entanto, os pequis de Bocaiúva-MG apresentaram menores teores de TAG.

O estudo quimiométrico, Análise das Componentes Principais (ACP) e Análise Hierárquica por Agrupamento, agruparam as 18 populações amostradas em dois grupos, segundo a razão entre o teor de ácidos graxos saturados e insaturados (TAGS/TAGI), não sendo possível separá-las segundo a localização geográfica. O que confirma ser essa relação importante na caracterização química de óleos e gorduras de uso alimentício. A ACP também identificou que as populações de Grajaú-MA (localidade Gato Preto), Lajeado Novo-MA e Januária-MG podem ser consideradas, dentre as populações amostradas, com quimiótipos superiores quanto à composição e ao teor de óleos fixos.

APÊNDICE

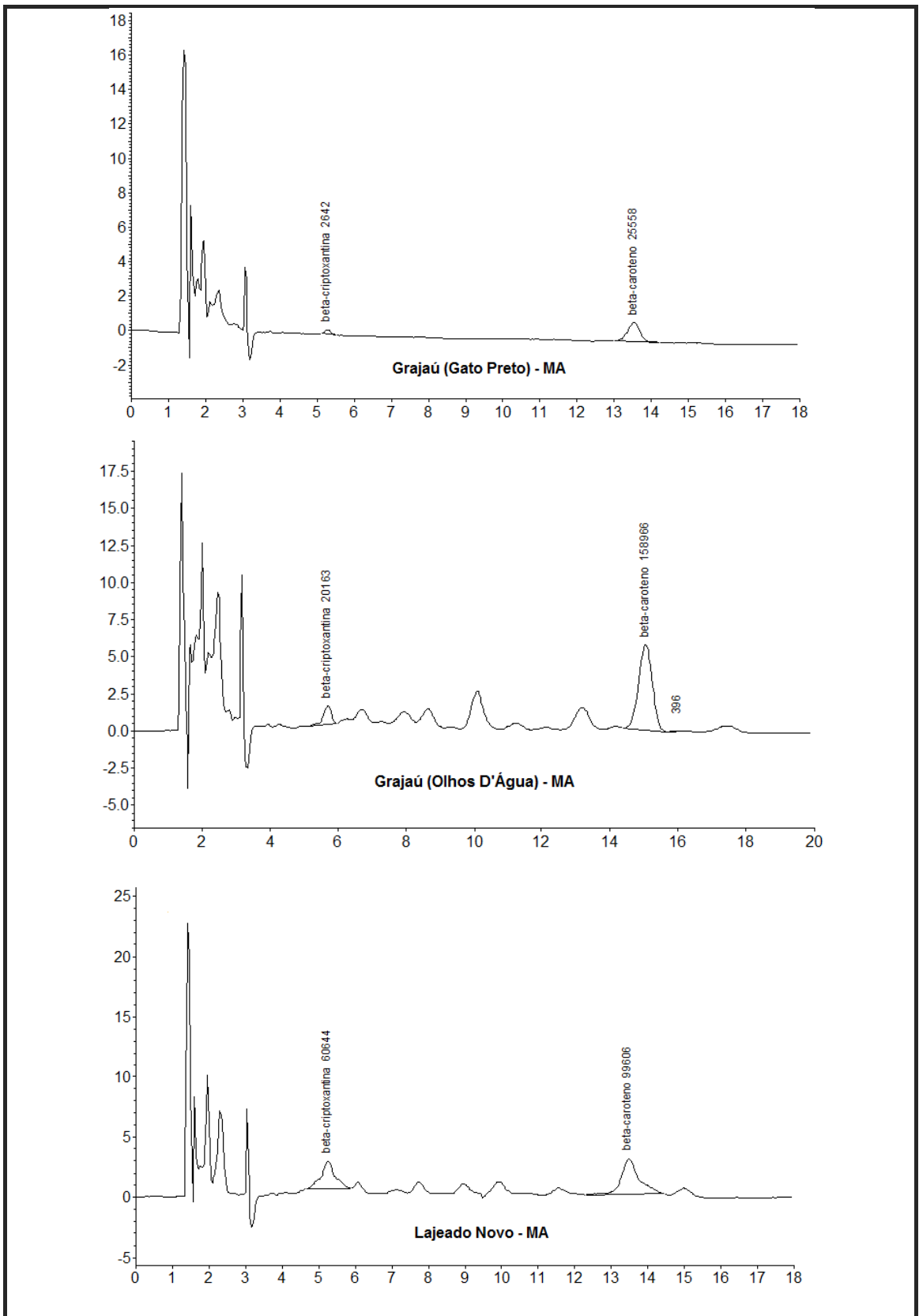
– APÊNDICE A –

CROMATOGRAMAS OBTIDOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA, ACOPLADA AO DETECTOR DE ARRANJO DE DIODOS DE CAROTENÓIDES PROVITAMINA A DA POLPA DO PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.)

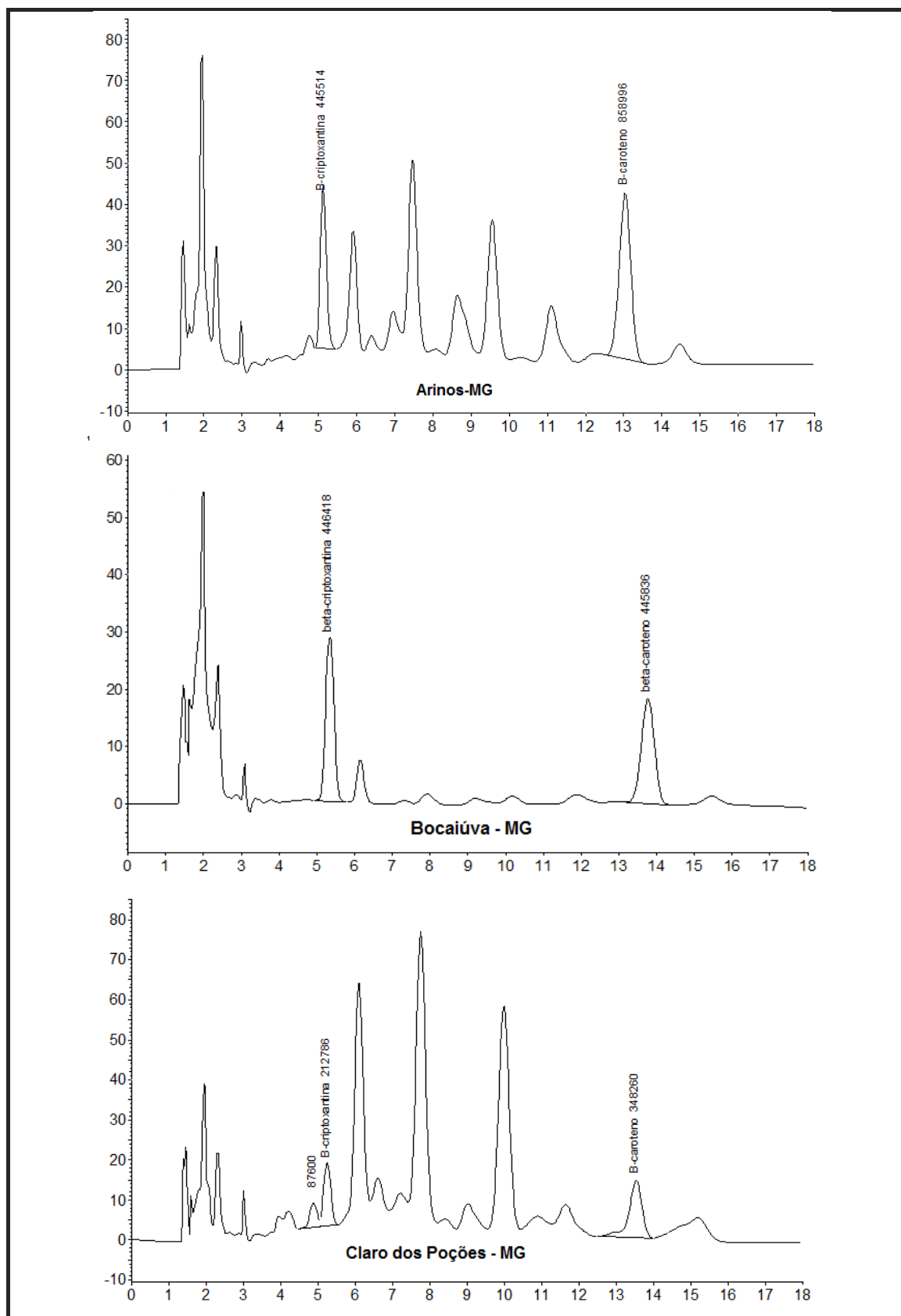
Condições Cromatográficas:

- Sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE);
- Equipamento SHIMADZU composto de:
 - ✓ bomba de alta pressão (LC-10VP);
 - ✓ injetor automático com *loop* de 50 μ L (SIL-10 AF);
 - ✓ coluna cromatográfica FR C18 (Phenomenex 250 mm x 4,6 mm), munida de coluna de guarda C18 (Phenomenex ODS 4 mm x 3 mm);
 - ✓ detector espectrofotométrico de arranjos de diodos;
 - ✓ *software* para controle de até quatro sistemas (Class Vp 6.1);
 - ✓ fase móvel metanol: acetato de etila: acetonitrila (80:10:10);
 - ✓ fluxo da fase móvel: 2,0 mL/minuto – eluição isocrática;
 - ✓ tempo de corrida: 20 minutos;
 - ✓ leitura dos cromatogramas em comprimento de onda de 450 nm.

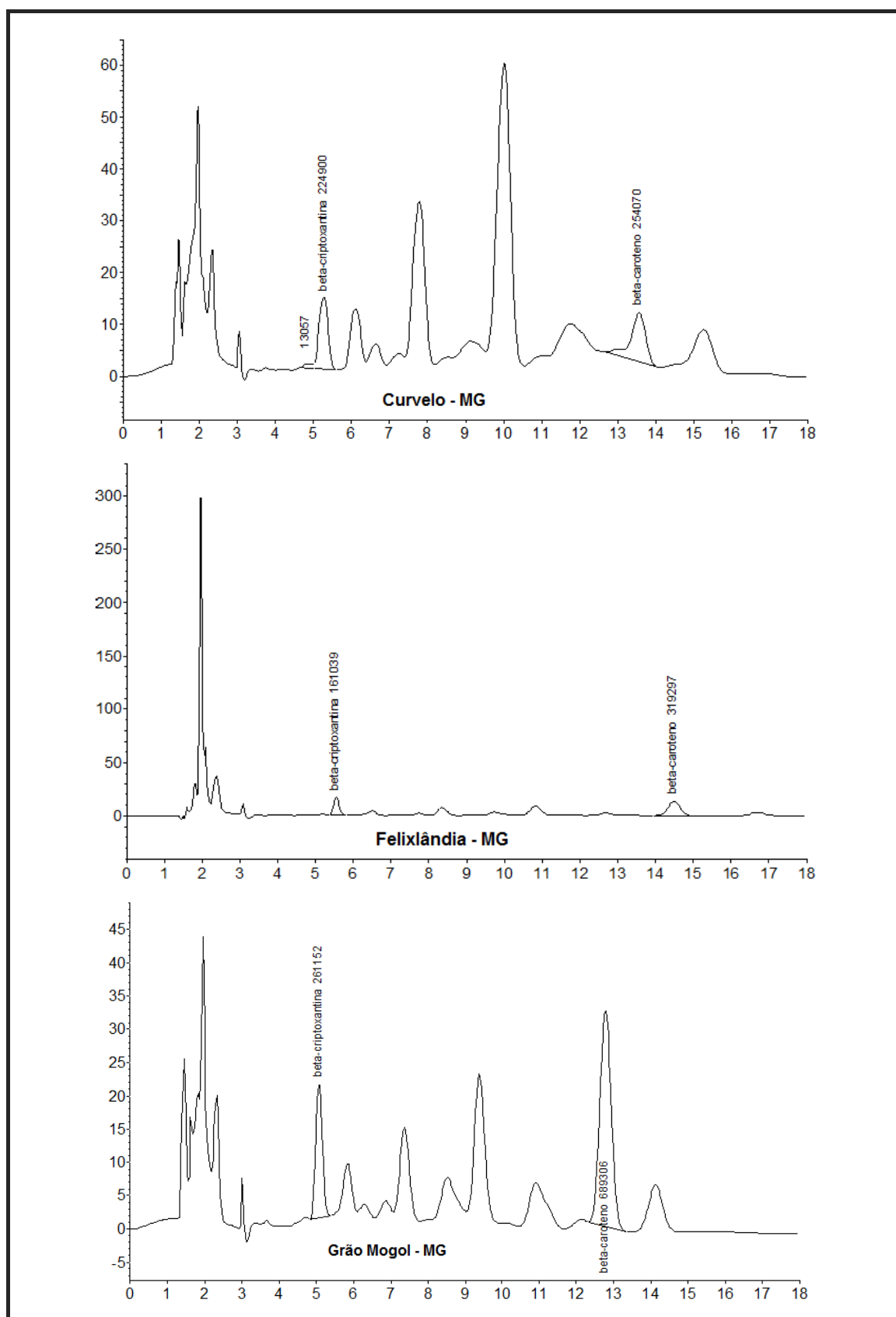
**Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD de CPVA da Polpa do Pequi
(*Caryocar Brasiliense* Camb.) de Populações do Estado de Maranhão**



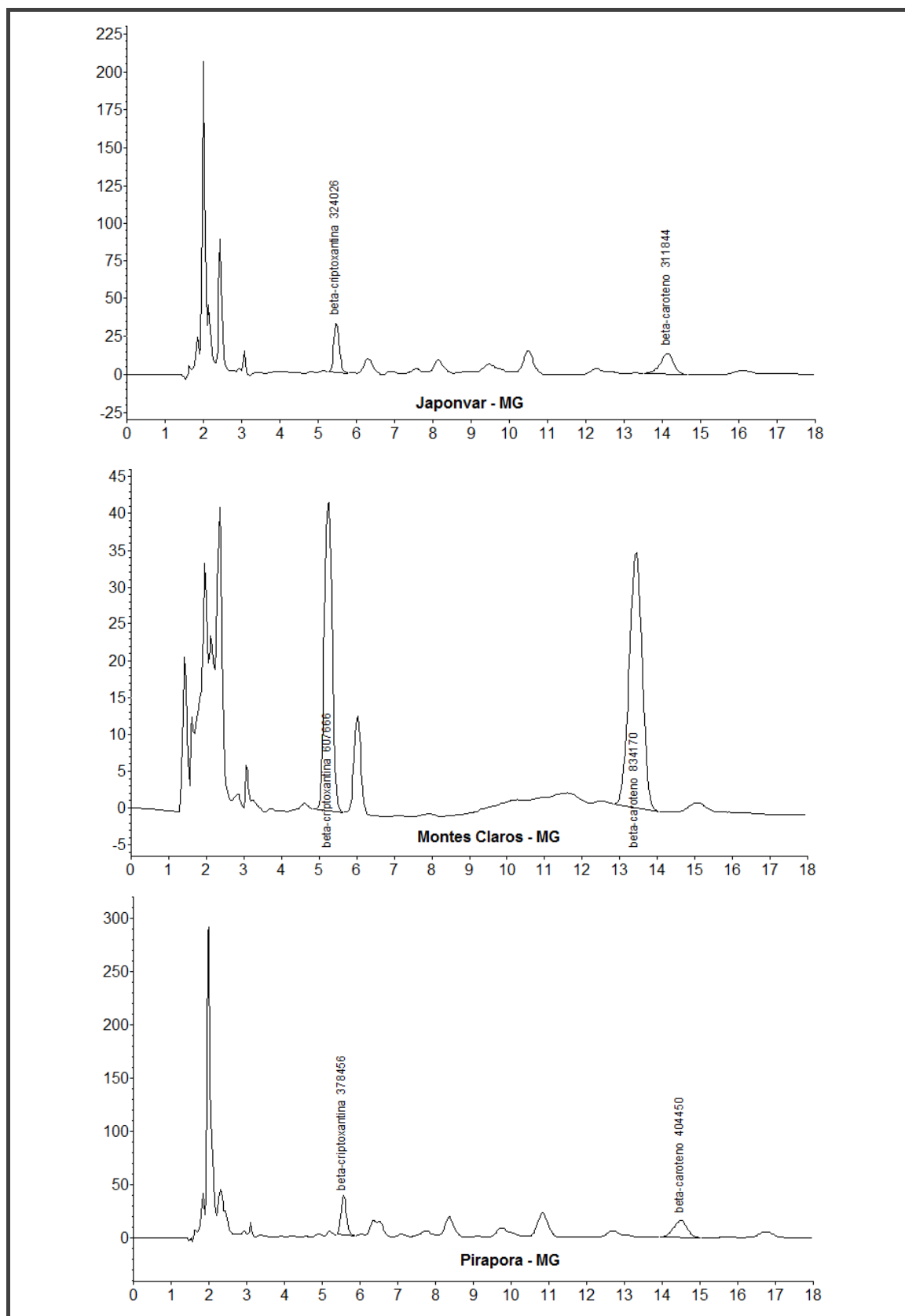
**Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD de CPVA da Polpa do Pequi
(*Caryocar Brasiliense* Camb.) de Populações do Estado de Minas Gerais**



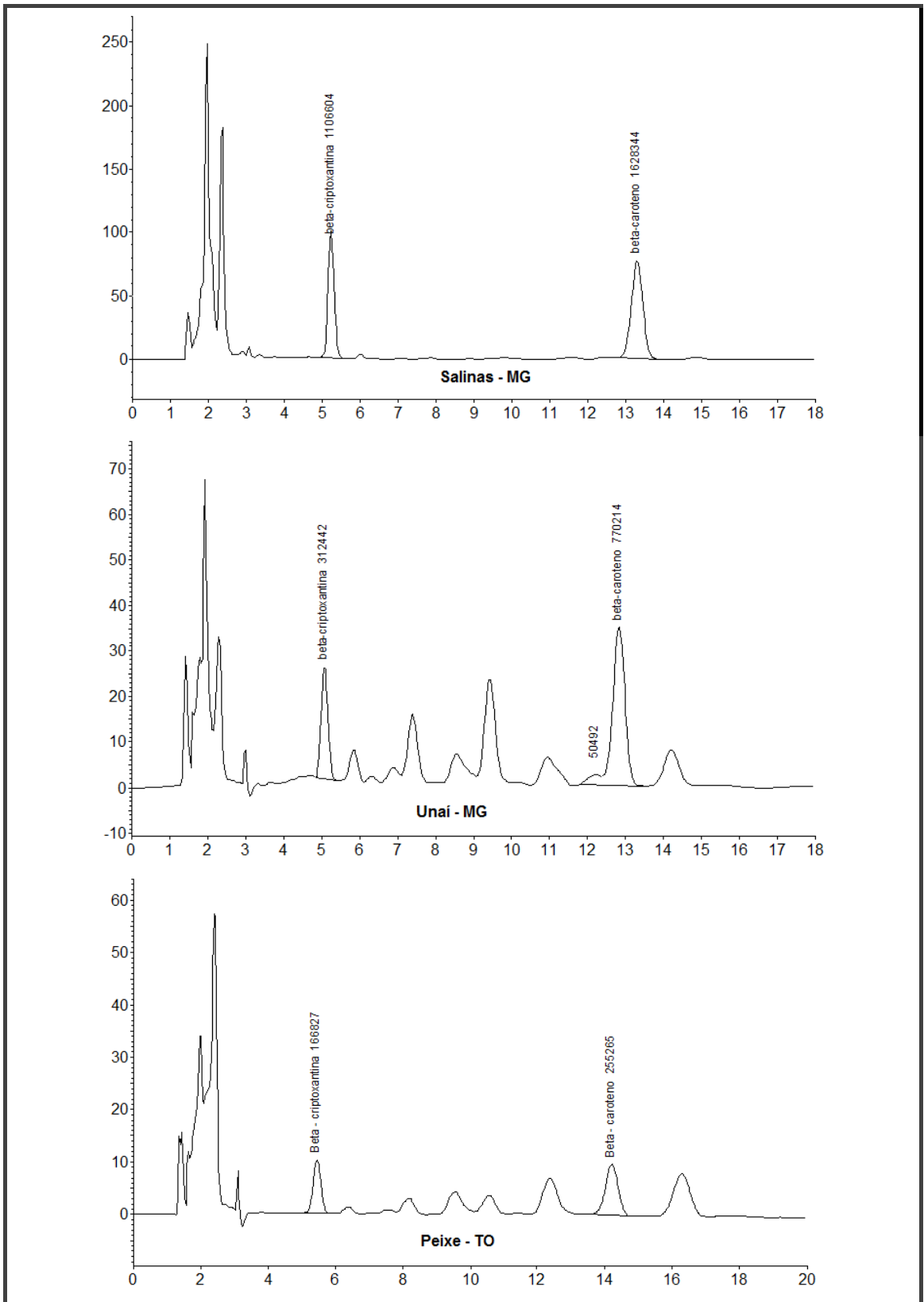
**Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD de CPVA da Polpa do Pequi
(*Caryocar Brasiliense* Camb.) de Populações do Estado de Minas Gerais**



**Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD de CPVA da Polpa do Pequi
(*Caryocar Brasiliense* Camb.) de Populações do Estado de Minas Gerais**



Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD de CPVA da Polpa do Pequi de Populações do Estado de Minas Gerais e Tocantins

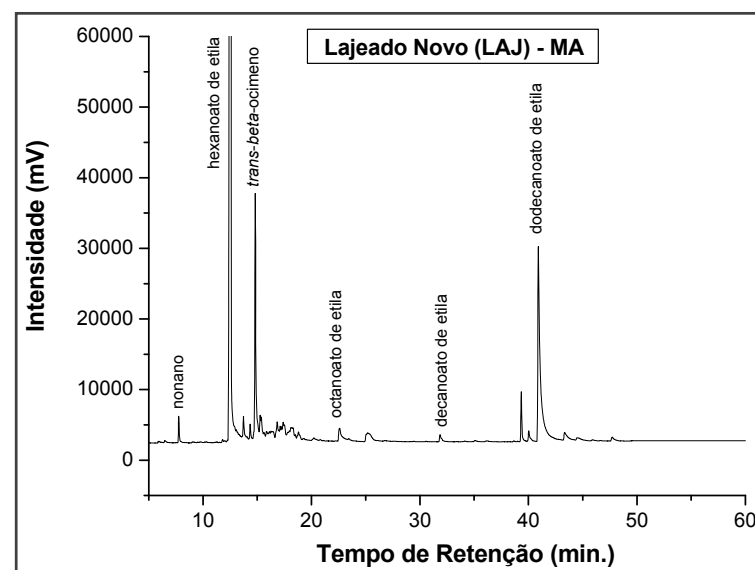
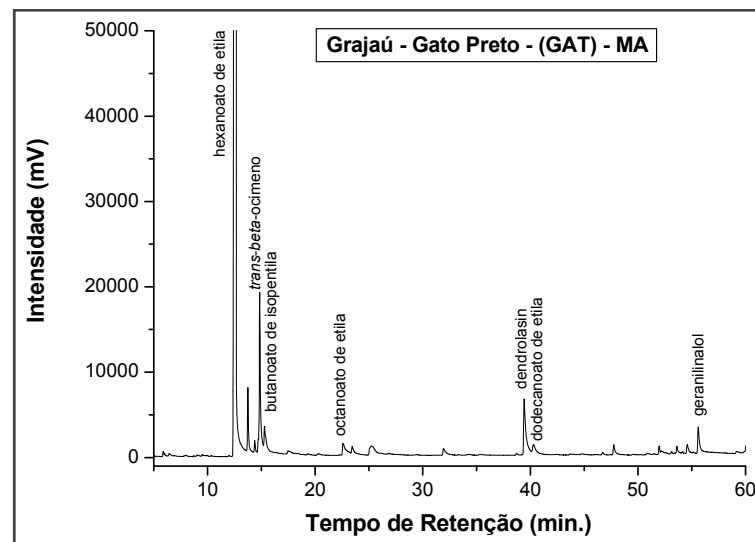
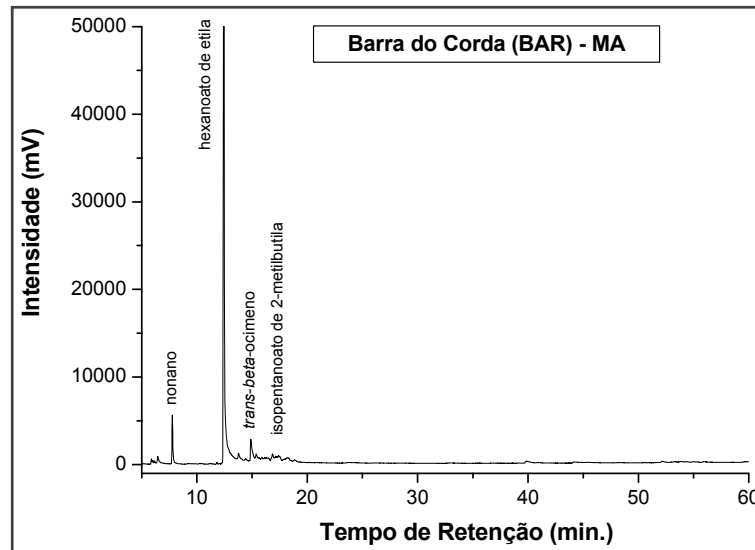


— APÊNDICE B —
CROMATOGRAMAS GASOSOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS
DA POLPA DO PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.)

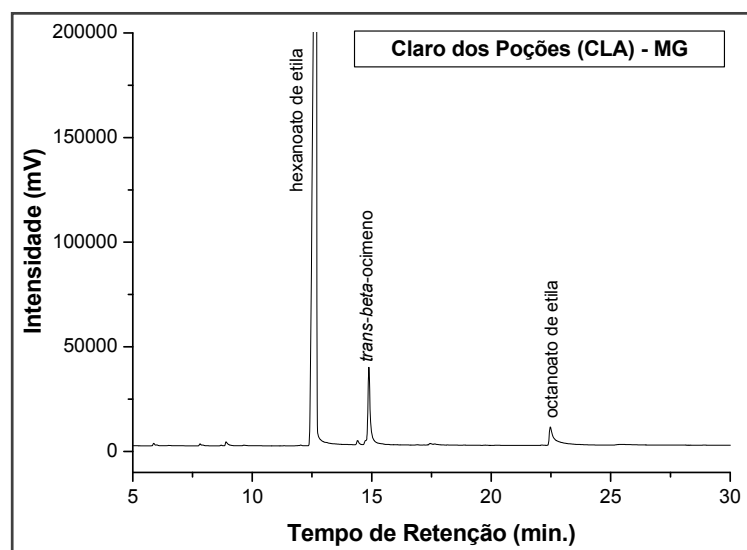
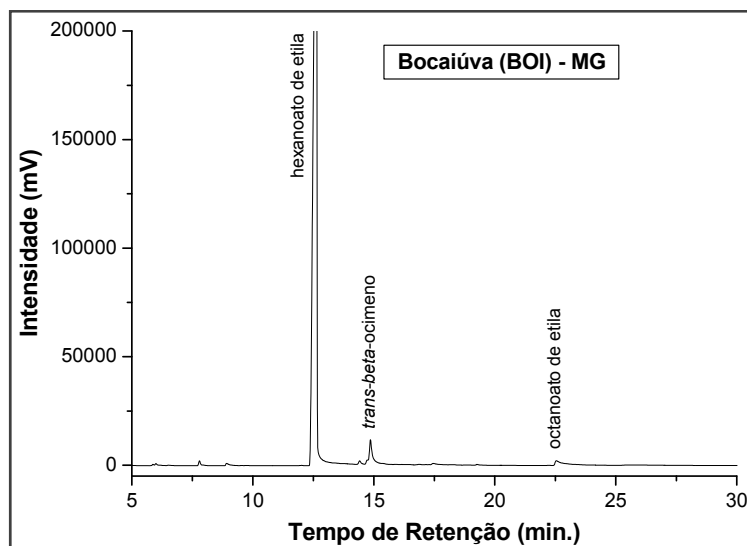
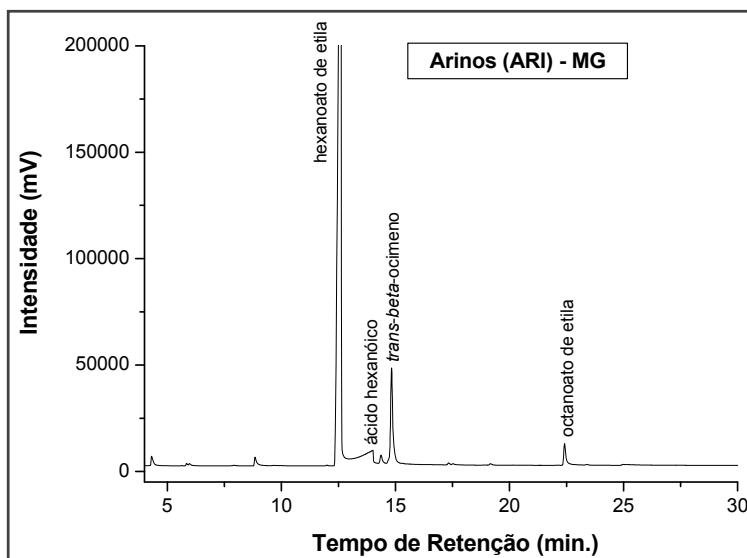
Condições Cromatográficas:

- Cromatógrafo a gás Shimadzu GC-17A, equipado com detector de ionização de chama (DIC) e coluna capilar de sílica fundida tipo DB-5 (30 m × 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 μm).
- Gás de arraste nitrogênio (N_2), sob fluxo de 1,8 mL min^{-1} ;
- Temperatura do injetor 220 °C;
- Temperatura do detector 240 °C;
- Temperatura inicial da coluna de 40 °C (mantida por 4 min.), seguida de aquecimento a uma proporção de 3 °C min^{-1} até atingir 240 °C, mais isoterma por 10 min;
- Volume de injeção 1,0 μL (1% m/v em CH_2Cl_2 – diclorometano);
- Razão de *split* 1:10;
- Pressão da coluna 113 kPa.

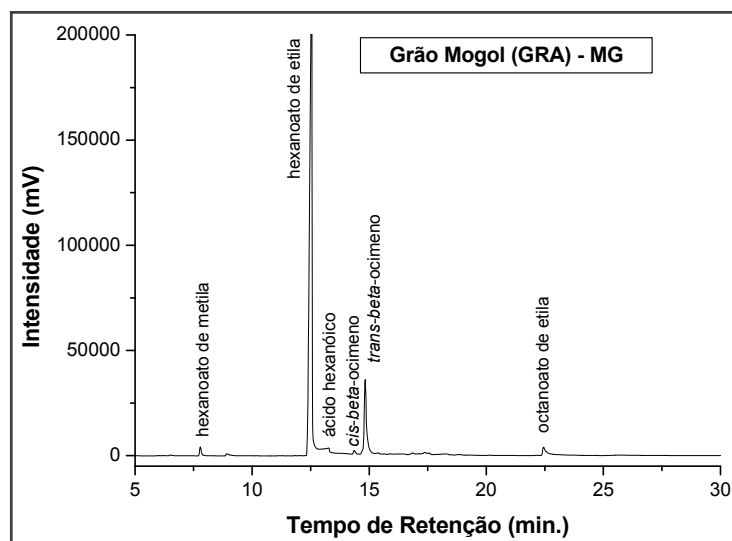
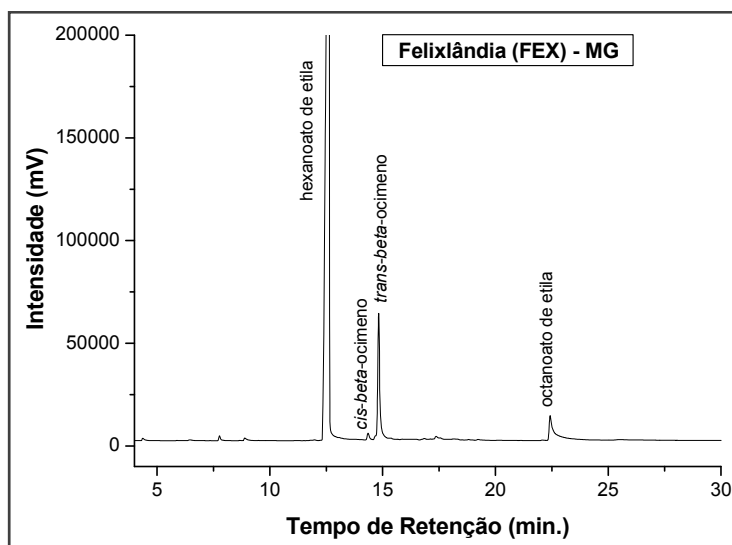
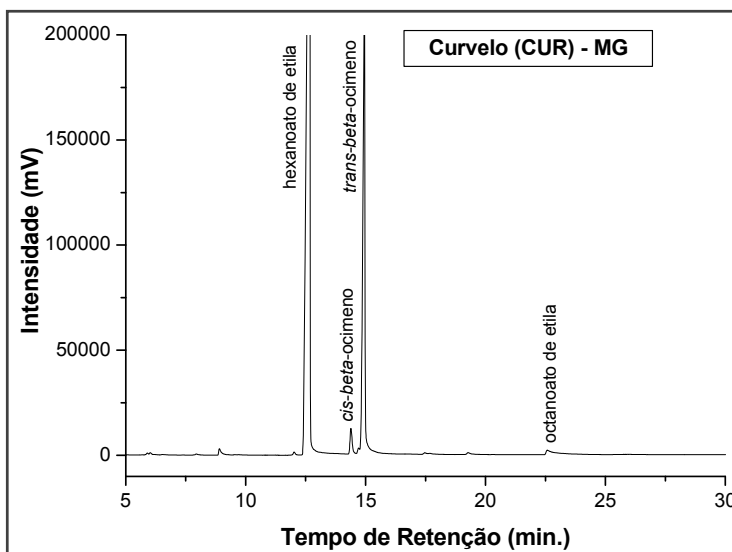
**Cromatogramas Gasosos de Óleos Essenciais da Polpa do Pequi
(*C. brasiliense*) de Populações do Estado do Maranhão**



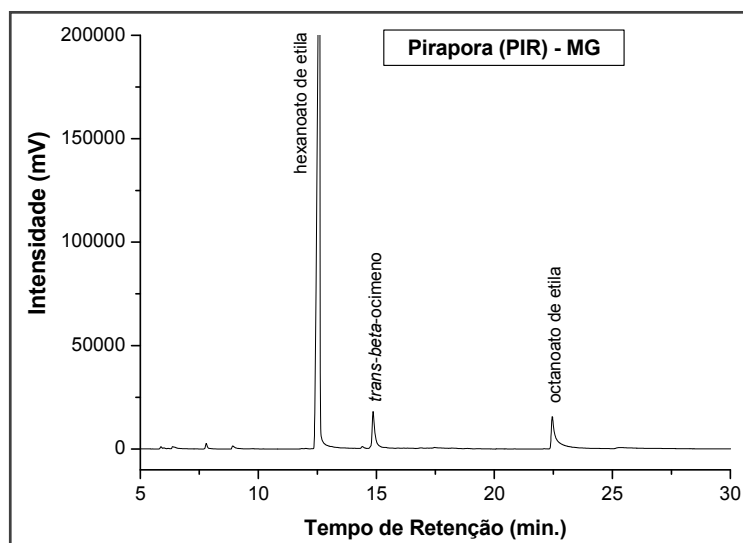
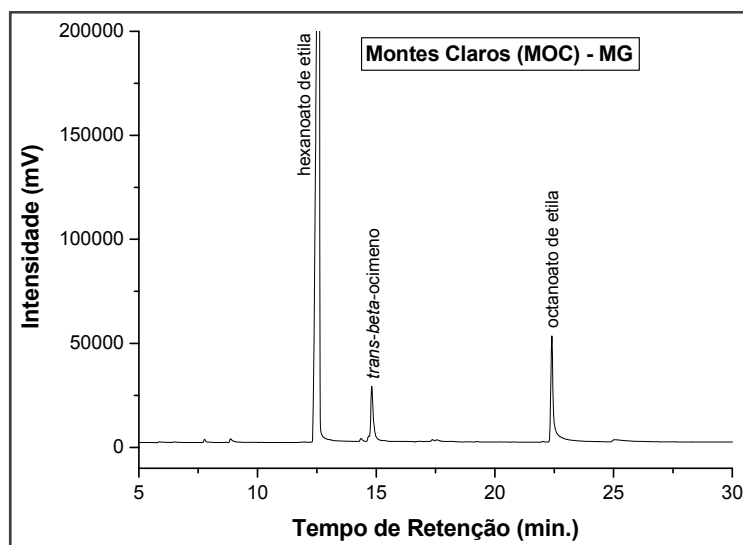
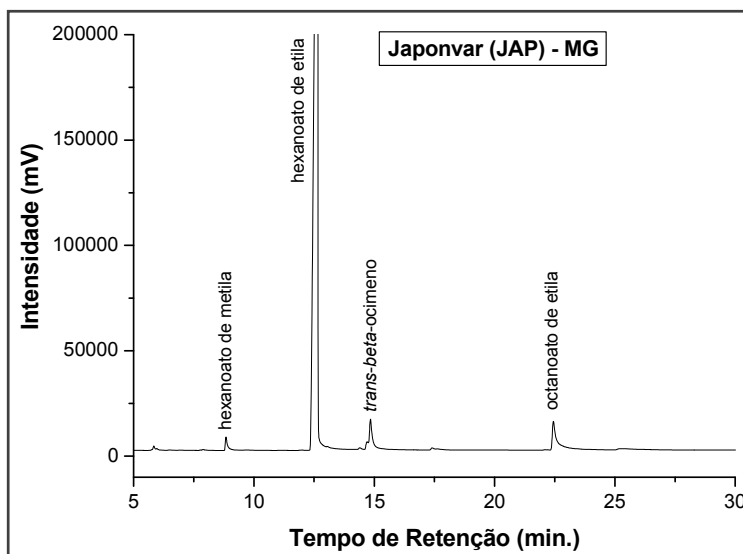
Cromatogramas Gasosos de Óleos Essenciais da Polpa do PEQUI (*C. brasiliense*) de Populações do Estado de Minas Gerais



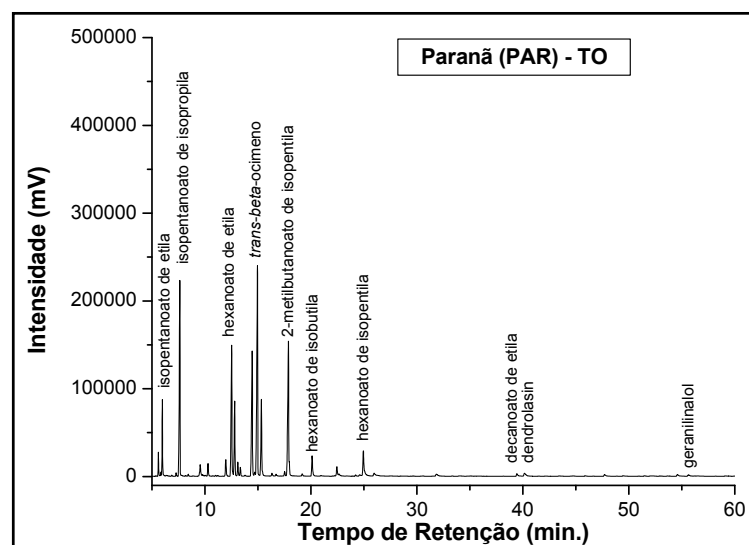
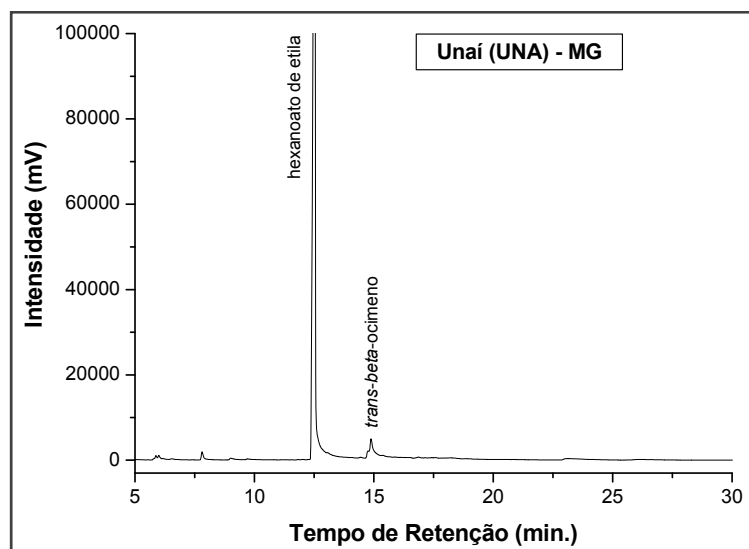
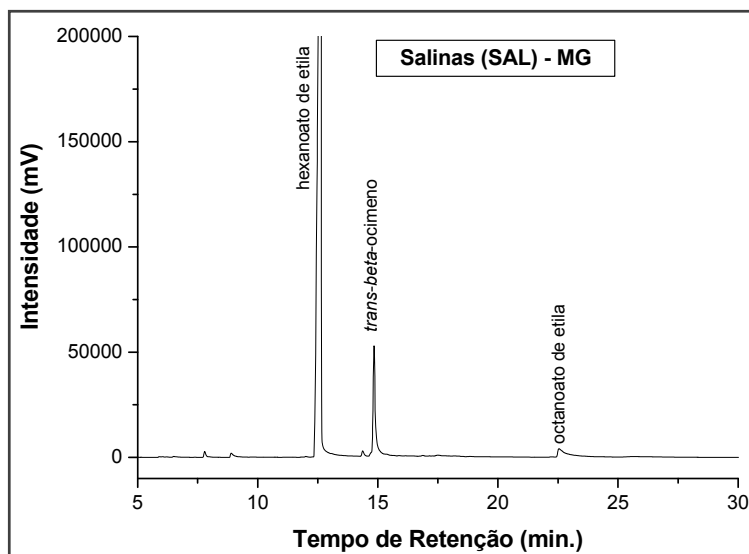
Cromatogramas Gasosos de Óleos Essenciais da Polpa do PEQUI (*C. brasiliense*) de Populações do Estado de Minas Gerais



Cromatogramas Gasosos de Óleos Essenciais da Polpa do PEQUI (*C. brasiliense*) de Populações do Estado de Minas Gerais



Cromatogramas Gasosos de Óleos Essenciais da Polpa do PEQUI (*C. brasiliense*) de Populações dos Estados de Minas Gerais e Tocantins



— APÊNDICE C —

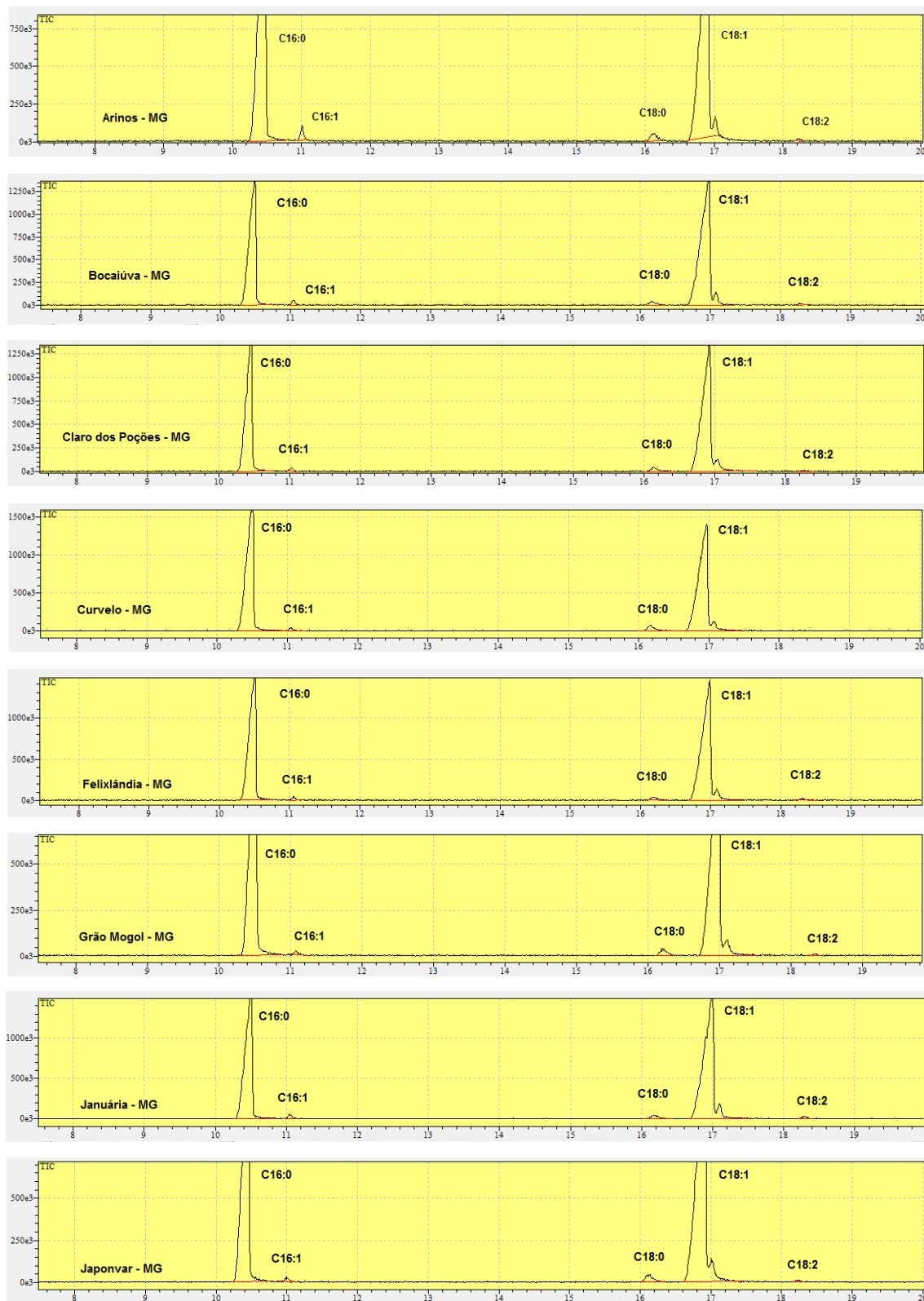
CROMATOGRAMAS GASOSOS DE ÉSTERES METÁLICOS DERIVATIZADOS DE ÓLEOS FIXOS (EXTRATO HEXÂNICO) DA POLPA DO PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.)

Condições Cromatográficas:

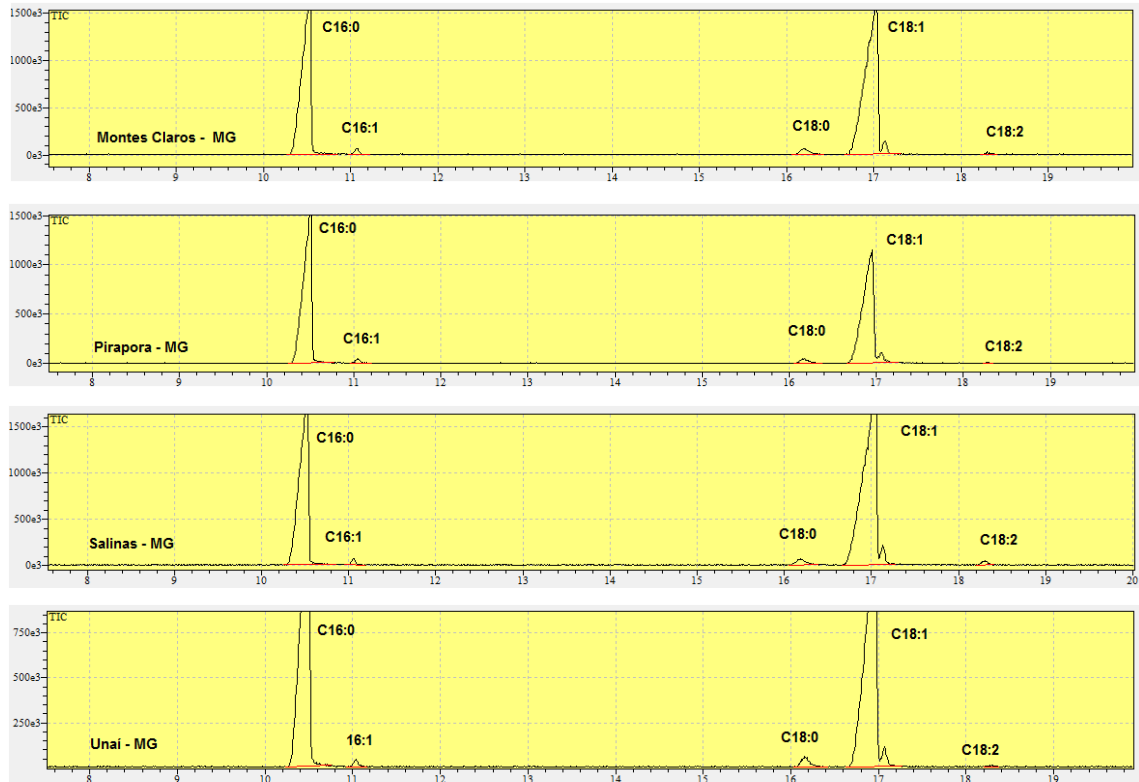
Aparelho Shimadzu GCMS-PQ5050A, equipado com coluna de polietilenoglicol, tipo Carbowax (30 m × 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 μm).

- Gás de arraste He, com fluxo de 1,8 mL min⁻¹;
- Temperatura do injetor 220 °C;
- Temperatura inicial da coluna 160 °C, isoterma por 2 min, seguido de aquecimento a 2 °C min⁻¹ até 200 °C, seguido de aquecimento a 10 °C min⁻¹ até 240 °C;
- Volume de injeção 1,0 μL (1% m/v em CH₂Cl₂);
- Razão de *split* 1:10;
- Pressão da coluna 100 kPa;
- Interface: temperatura de 240 °C, ionização por impacto de elétrons (70 eV) e amplitude de varredura de 30 a 600 u.

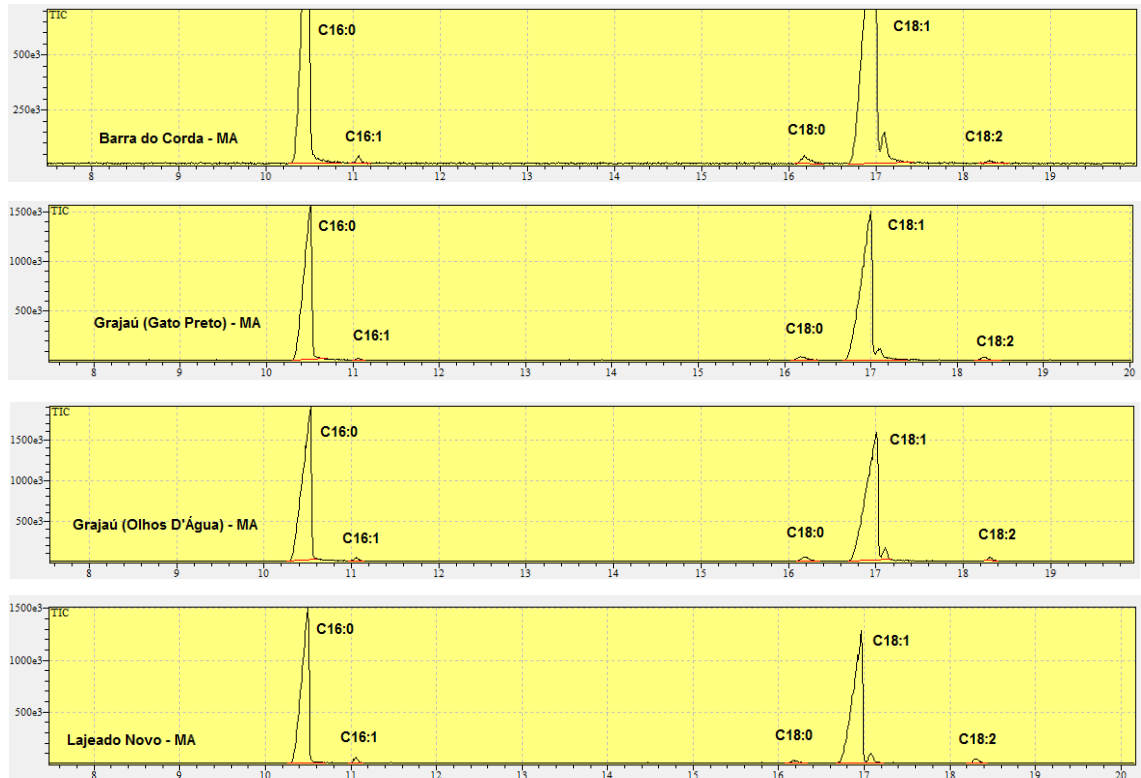
**CROMATOGRAMAS GASOSOS DE ÉSTERES METÍLICOS DE ÓLEOS FIXOS
(EXTRATO HEXÂNICO) DA POLPA DO PEQUI (*C. brasiliense*) DE POPULAÇÕES
DO ESTADO DE MINAS GERAIS**



CROMATOGRAMAS GASOSOS DE ÉSTERES METÍLICOS DERIVATIZADOS DE ÓLEOS FIXOS (EXTRATO HEXÂNICO) DA POLPA DO PEQUI (*C. brasiliense*) DE POPULAÇÕES DO ESTADO DE MINAS GERAIS



CROMATOGRAMAS GASOSOS DE ÉSTERES METÍLICOS DERIVATIZADOS DE ÓLEOS FIXOS (EXTRATO HEXÂNICO) DA POLPA DO PEQUI (*C. brasiliense*) DE POPULAÇÕES DO ESTADOS DO MARANHÃO



CROMATOGRAMAS GASOSOS DE ÉSTERES METÍLICOS DERIVATIZADOS DE ÓLEOS FIXOS (EXTRATO HEXÂNICO) DA POLPA DO PEQUI (*C. brasiliense*) DE POPULAÇÕES DO ESTADOS DO TOCANTINS

