



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Engenharia de Alimentos

SUIAN MOREIRA SANTOS FONTES

CURCUMA LONGA L: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESTUDO DA
CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

CAMPINAS

2018

SUIAN MOREIRA SANTOS FONTES

CURCUMA LONGA L: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESTUDO DA
CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em CIÊNCIAS DE ALIMENTOS.

Orientador: PROF^a. DR^a. HELENA TEIXEIRA GODOY

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA
PELA ALUNA SUIAN MOREIRA SANTOS
FONTES, E ORIENTADA PELA
PROF^a. DR^a. HELENA TEIXEIRA
GODOY

CAMPINAS

2018

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CNPq, 132498/2015-4

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

F737c Fontes, Suian Moreira Santos, 1986-
Cúrcuma longa L. : caracterização química e estudo da capacidade antioxidante / Suian Moreira Santos Fontes. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Helena Teixeira Godoy.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Cúrcuma. 2. Ácidos graxos. 3. Capacidade antioxidante. 4. Flavonóides.
I. Godoy, Helena Teixeira. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Turmeric : chemical characterization and antioxidant capacity study

Palavras-chave em inglês:

Turmeric
Fatty acids
Antioxidant capacity
Flavonoids

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Titulação: Mestra em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Helena Teixeira Godoy [Orientador]
Marcelo Alexandre Prado
Paulo Afonso da Costa

Data de defesa: 27-06-2018

Programa de Pós-Graduação: Ciência de Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Helena Teixeira Godoy
Orientadora

Prof. Dr. Marcelo Alexandre Prado
Membro Titular
FEA-UNICAMP

Dr. Paulo Afonso da Costa
Membro Titular
Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, agradeço a Deus por estar presente em minha vida em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis. Por se fazer fiel a cada pedido meu, me concedendo sabedoria para trilhar o meu caminho da melhor forma possível.

Todo o meu respeito e amor á Painho (Francisco José) e Mainha (Joselina) por sempre acreditar em mim, nos meus planos e ideais, fornecendo conselhos e orações sem medidas para que meu fardo fosse o mais leve possível. Obrigada por serem os meus pais.

A minha linda e querida irmã pelo incentivo e carinho, mesmo estando tão longe em quilometragem, sabia aquecer o meu coração.

Ao amor da minha vida, meu príncipe e marido Ramon Fontes por me segurar no chão e mostrar que a vida é bela para quem corre atrás dos seus sonhos. Por me mostrar diariamente que a persistência é a base da conquista, que o cansaço é apenas o pagamento de um trabalho bem feito e que por mais difícil que os obstáculos se apresentem, você sempre estará comigo me ajudando a supera-los. Te amo muito! Você é o meu maior exemplo.

Aos meus sogros Hélio e Conça por toda preocupação e aconchego nos momentos em que mais precisei. Muito obrigada.

À professora Helena, por me receber no meio dos seus de forma tão calorosa. Pela confiança e incentivo de que tudo iria dar certo. Obrigada por toda orientação, e pelas conversas descontraídas.

Aos meus novos amigos de laboratório, Tom, Dani, Fofinha (Thais), Maria Rosa, Polly, Taíse, Matheus, Michele Paludo, Michele Scarton, Gui, Let, Luquinhas, Cris, Driu, Nice e Marquinhos. Vocês são únicos. Jamais esquecerei de tudo que fizeram por mim. Por não me deixarem abater nos momentos de desespero, pelos conselhos, companhia e por tamanha amizade.

Aos técnicos do laboratório, Rodolfo, Marcela e Sr. Dirceu por me auxiliarem em toda a execução do meu experimento, desde a lavagem das vidrarias até a calibração e manuseio dos equipamentos. Sem vocês eu ainda estaria na bancada... kkk.

Aos amigos que conquistei em Campinas, da Unicamp e da igreja Nazareno de Barão Geraldo. Vocês também foram fundamentais para que a execução desse trabalho fosse possível.

E por fim, agradeço a Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências de Alimentos, ao Laboratório de Análises de Alimentos e ao CNPq pelo apoio financeiro e pela oportunidade de desenvolvimento do meu projeto.

RESUMO

A *Curcuma longa* L. também conhecida como açafrão da terra, é uma espécie de planta originária do continente asiático, sendo muito apreciada como especiaria na culinária pelas suas características organolépticas bem marcantes, como aroma e coloração intensa. Devido a essas características, seu uso tem sido expandido para a indústria de alimentos, sendo empregado como substituto de alguns corantes artificiais, embora pesquisas recentes têm demonstrado seu potencial na área da medicina. Até então, pouco se conhece sobre a composição química da cúrcuma comercializada no Brasil e sobre as substâncias bioativas associadas a capacidade antioxidante. Este trabalho tem como objetivo caracterizar a *Curcuma longa* L. distribuída comercialmente nas regiões sudeste e nordeste do Brasil, *in natura* e em pó, levando em consideração sua composição físico-química, o perfil dos ácidos graxos, perfil dos flavonoides e propriedades antioxidantes. Quanto a composição centesimal, os extratos da cúrcuma apresentaram aproximadamente de umidade (3-10%), cinzas (1,7-7%), proteína (7-10%), fibras totais (1-10%), carboidrato (61-73%) e lipídeos (2-5%). Dentre os ácidos graxos estudados, o ácido linoleico (18:2n-6*trans*) seguido do ácido oléico (18:1n-9*cis*), foram os majoritários para a maioria das amostras analisadas. Para a análise de flavonoides totais e avaliação da capacidade antioxidante, primeiramente foi otimizado o processo de extração, que ficou estabelecido com água e metanol (25:75). A caracterização dos flavonoides foi feita com a utilização do HPLC-DAD, utilizando coluna de fase-reversa C₁₈ e fase móvel composta por água acidificada (0,05% ác. acético) e metanol, utilizando a quercetina, kaempferol, rutina, apigenina, luteolina e narigenina a 10($\mu\text{g}/\text{mL}$) e a mirigenina a 0,32($\mu\text{g}/\text{mL}$) como padrões. A capacidade antioxidante foi avaliada por técnicas tradicionais como DPPH, FRAP, TEAC e ORAC, além das espécies reativas de oxigênio (ác. hipocloroso, peróxido de hidrogênio e ânion superóxido). As análises de capacidade antioxidante DPPH, FRAP, TEAC e ORAC, (equivalentes ao padrão trolox) demonstrou melhores resultados para a amostra 1 na maioria das técnicas realizadas. Dentre as amostras em pó comercial, a amostra 2 destacou-se positivamente apresentando os melhores resultados. Para a análise das espécies reativas, a amostra 1 demonstrou a melhor ação de inibição IC₅₀ para o ensaio de captação do ácido hipocloroso e a amostra 5 para o ensaio de captação do radical peróxido de hidrogênio nas concentrações analisadas, não sendo possível a obtenção de resultados positivos para ensaio do ânion superóxido devido a pigmentação da cúrcuma ter causado interferência nos resultados.

Palavras-chaves: cúrcuma; ácidos graxos; capacidade antioxidante; flavonoides.

ABSTRACT

Curcuma longa L., also known as earth turmeric, is a native plant species from the Asian continent and it is very appreciated as a spice in cooking because of its remarkable organoleptic characteristics such as intense aroma and coloring. Due to these characteristics, it has been used in the food industry, being employed as a substitute for some artificial dyes, in addition to its potential in medicine. Until now, little is known about the chemical composition of turmeric marketed in Brazil and the bioactive substances associated with antioxidant capacity. That said, this work aims to characterize the *Curcuma longa* L. commercially distributed in the southeastern and northeastern of Brazilian regions, in natura and powder, taking into account its physicochemical composition, fatty acid profile, flavonoid profile and antioxidant properties. As for the centesimal composition, the extracts of turmeric presented approximately moisture (3-10%), ash (1.7-7%), protein (7-10%), total fibers (1-10%), carbohydrate (61-73%) and lipids (2-5%). Among the fatty acids studied, linolelaic acid (18: 2n-6trans) followed by oleic acid (18: 1n-9c) were the majorities for most of the samples analyzed. For the analysis of total flavonoids and evaluation of the antioxidant capacity, the extraction process was first optimized, which was established with water and methanol (25:75). The characterization of the flavonoids was performed by means of HPLC-DAD, using a reverse phase C18 column and mobile phase composed of acidified water (0.05% acetic acid) and methanol, by using quercetin, kaempferol, rutin, apigenin, luteolin and narigenin at 10 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) and 0.32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ mirigenin as patterns. The antioxidant capacity was evaluated by traditional techniques such as DPPH, FRAP, TEAC and ORAC, as well as the reactive oxygen species (hypochlorous acid, hydrogen peroxide and superoxide anion). The antioxidant capacity analyzes, such as, DPPH, FRAP, TEAC and ORAC (equivalent to the trolox standard) showed better results for sample 1 in most of the performed techniques. However, among the commercial powder samples, sample 2 was positively highlighted, presenting the best results. For the analysis of the reactive species, sample 1 had the best inhibition action IC₅₀ for the hypochlorous acid uptake assay and sample 5 for the hydrogen peroxide radical uptake assay at the analyzed concentrations and it was not possible to obtain considerable results for superoxide anion assay due to pigmentation of turmeric causing interference in our results.

Key-words: turmeric; fatty acids; antioxidant capacity; flavonoids.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – <i>Curcuma longa</i> L.	17
Figura 2 – Estrutura química geral de um flavonoide	19
Figura 3 – Estrutura química da Curcumina.	21
Figura 4 – Estrutura química da Fluoresceína.	22
Figura 5 – Forma radicalar (1) e não radicalar (2) do DPPH.	22
Figura 6 – Poder de redução férrica.	23
Figura 7 – Redução do ABTS+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.	24
Figura 8 – Cromatograma CG-FID de uma amostra da <i>Curcuma longa</i> L.	41
Figura 9 – Gráfico de dispersão entre a absorvância (nm) e a concentração do padrão catequina ($\mu\text{g}/\text{mL}$), com coeficiente de determinação e reta estimada.	43
Figura 10 – Cromatograma HPLC-DAD de uma amostra da <i>Curcuma longa</i> L. e do <i>pool</i> de 8 padrões	45
Figura 11 – Gráfico de dispersão entre a absorvância (nm) e a concentração do padrão trolox ($\mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{mL}$), com coeficiente de determinação com reta estimada.	48
Figura 12 – Gráfico da capacidade antioxidante das espécies reativas do oxigênio com inibição IC_{50}	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Variáveis analisadas no DCCR para três fatores	29
Tabela 2 – Delineamento experimental com valores codificados para as três variáveis analisadas.	29
Tabela 3 – Caracterização físico-química da <i>Curcuma longa</i> L. (%)	37
Tabela 4 – Perfil de ácidos graxos presentes na fração lipídica da <i>Curcuma longa</i> L.	38
Tabela 5 – Otimização do extrato para amostra <i>in natura</i> e amostra em pó comercial em $\mu\text{g/mL}$ de cúrcuma.	42
Tabela 6 – Teor dos flavonoides totais em amostras de cúrcuma	43
Tabela 7 – Padrões de flavonoides na <i>Curcuma longa</i> L.	44
Tabela 8 – Capacidade antioxidante em Equivalente padrão trolox ($\mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$) da <i>Curcuma longa</i> L.	46
Tabela 9 – Capacidade antioxidante frente a espécies reativas do oxigênio (ROS) da <i>Curcuma longa</i> L.	51

SUMÁRIO

1	Introdução	12
2	Objetivos	14
2.1	Objetivo Geral	14
2.2	Objetivos Específicos	14
3	Revisão de Literatura	15
3.1	<i>Curcuma longa</i> L: Uso e Economia	15
3.2	Composição centesimal da <i>Curcuma longa</i> L.	17
3.3	Ácidos Graxos	18
3.4	Compostos Fenólicos	18
3.4.1	Curcumina	20
3.5	Capacidade Antioxidante	20
3.6	Espécies Reativas do Oxigênio (ROS) e Nitrogênio (RNS)	24
3.7	Coleta das amostras	26
3.8	Análises da <i>Curcuma longa</i> L.	26
3.8.1	Análise da Composição Centesimal	26
3.8.1.1	Determinação da Umidade	26
3.8.1.2	Determinação da Proteína bruta	26
3.8.1.3	Determinação das Cinzas	27
3.8.1.4	Determinação das Fibras totais	27
3.8.1.5	Determinação dos Lipídeos	27
3.8.1.6	Determinação dos Carboidratos totais (Fração “Nifext”):	27
3.8.2	Determinação da composição de Ácidos Graxos	27
3.8.3	Preparo do extrato para análise de flavonoides e da capacidade antioxidante	28
3.8.3.1	Determinação dos Flavonoides totais	29
3.8.3.2	Identificação e Quantificação dos Flavonoides	30
3.8.4	Capacidade Antioxidante	31
3.8.4.1	Determinação do ensaio DPPH	31
3.8.4.2	Determinação do ensaio FRAP	31
3.8.4.3	Determinação do ensaio TEAC	31
3.8.4.4	Determinação do ensaio ORAC	32
3.8.4.5	Determinação das Espécies Reativas do Oxigênio	32
3.8.4.6	Análise Estatística	33
4	Resultados e Discussões	35
4.1	Análise Composição Centesimal	35
4.2	Análise da composição dos Ácidos Graxos	36

4.3	Otimização do extrato para análise dos flavonoides e capacidade antioxidante	41
4.4	Flavonoides totais	41
4.5	Identificação e quantificação dos flavonoides	44
4.6	Capacidade Antioxidante	45
4.7	Determinação das Espécies Reativas do Oxigênio (ROS)	47
	Conclusões	53
	Referências	54

1 INTRODUÇÃO

O Brasil, por conter uma grande extensão territorial, apresenta uma ampla diversidade cultural e natural, garantindo com isso o emprego de uma variedade de temperos e condimentos bastante expressivos.

Dentre as diversas variedades de especiarias utilizadas em nosso país, a *Curcuma longa* L. tem apresentado destaque no aumento de seu consumo, devido as suas características organolépticas bem peculiares, aroma próprio, sabor picante levemente amargo, com uma coloração amarela-acinzentada quando *in natura*, amarelo-alaranjado em suas rupturas e amarelo escuro quando em pó (ANVISA, 1978), conferindo as preparações culinárias, principalmente aroma e coloração intensa e marcante.

O termo especiaria é definido como material seco da planta que normalmente é acrescentado ao alimento para melhorar o flavor. Podem ser acrescentadas nos alimentos de várias formas, como inteiras, frescas, secas, como extratos isolados e/ou óleo essencial (MADSEN; BERTELSEN, 1995). Os componentes provedores de sabores existentes nas especiarias consistem de compostos como álcoois, ésteres, aldeídos, terpenos, fenóis, ácidos orgânicos e muitos outros elementos, que não têm sido totalmente identificados (SAGDIC, 2003).

Em virtude dessas características, seu uso tem sido apreciado também nas indústrias de alimentos, sendo empregada como substituto natural a alguns corantes artificiais, como o amarelo tartrazina, cuja pigmentação é semelhante a coloração natural da cúrcuma. Essa característica pode ser usada para conferir cor as massas de macarrão, molhos, queijos, sorvetes, salgadinhos tipo “chips”, margarinas e carnes (FILHO *et al.*, 2000).

Segundo Barankevicz (2015), a cúrcuma pode ser utilizada como antioxidante natural, pela ação de alguns componentes bioativos presentes. A atividade antioxidante está relacionada, principalmente, com a presença de compostos fenólicos. Compostos como os flavonóides e terpenóides (timol, carvacrol, eugenol e curcumina) também apresentam atividade antioxidante (SAGDIC, 2003).

A curcumina por possuir uma forte atividade antioxidante, tem sido intensivamente estudada como agente anticancerígeno, sendo verificado o seu papel na indução da apoptose e como quimio-protetor na inibição da formação de metástases em cânceros da mama (BACHMEIER *et al.*, 2008).

A *Curcuma longa* L, também conhecida como açafrão, é uma espécie de planta originária do continente asiático. Ela é considerada uma planta de pequeno porte, sendo o rizoma a parte com maior aproveitamento (DALBY, 2000; VILELA; ARTUR, 2008; SUETH-SANTIAGO *et al.*, 2015). O rizoma pode ser facilmente encontrado *in natura*

ou desidratado em forma de pó e seu uso tem tido diversas aplicações além da culinária, sendo aplicada para fins terapêuticos em artrites, doença de Alzheimer, asma, alergias, e fins culturais para coloração da pele (SILVA; PINTAO, 2008; SUETH-SANTIAGO *et al.*, 2015).

Atualmente pouco se conhece sobre a composição química da cúrcuma comercializada no Brasil, com isso, faz-se necessário um estudo mais abrangente sobre essa especiaria, para que haja uma maior difusão da sua utilização, mostrando além das suas características químicas, as substâncias bioativas associadas a capacidade antioxidante que ela possui, uma vez que os trabalhos que alavancaram e chamaram a atenção para a cúrcuma até então, estão relacionados ao seu composto majoritário que é a curcumina.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Caracterizar a *Curcuma longa* L. distribuída comercialmente nas regiões sudeste e nordeste do Brasil, *in natura* e em pó, quanto a sua composição físico-química, perfil dos ácidos graxos, perfil dos flavonoides e propriedades antioxidantes.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a composição físico-química da cúrcuma comercial em pó e *in natura*;
- Avaliar o teor lipídico quanto a composição dos ácidos graxos;
- Otimizar e validar um método de extração para os flavonoides na cúrcuma;
- Identificar e quantificar os flavonoides majoritários presentes na amostra;
- Avaliar a capacidade antioxidante através dos diferentes métodos: DPPH, FRAP, TEAC, ORAC e ROS em função dos diferentes tipos de tratamento (*in natura* e em pó) da *Curcuma longa* L.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Curcuma longa* L: Uso e Economia

A cúrcuma é uma planta monocotiledônea pertencente à família Zingiberaceae sendo considerada como uma planta condimentar. No Brasil é conhecida popularmente como açafrão, açafroeira, açafrão-da-terra, açafrão-da-Índia e gengibre dourado (VILELA; ARTUR, 2008). Devido a sua denominação popular, a cúrcuma é frequentemente confundida com o açafrão-verdadeiro (*Crocus sativus* L.), no entanto, a parte utilizada da *Curcuma longa* é o rizoma, já na *Crocus sativus* utiliza-se a flor, porém, ambas são utilizadas na culinária com o propósito de conferir cor e sabor aos alimentos (DUKE, 2007).

Devido aos custos de produção e o acesso ao produto comercialmente, a cúrcuma apresenta maior aplicação como corante em alimentos industrializados, ao passo que o açafrão-verdadeiro é empregado em menor escala no preparo de pratos em restaurantes refinados. O alto custo comercial atribuído ao açafrão-verdadeiro é justificado pela dificuldade da extração, secagem e moagem do estigma da flor, um processo inteiramente manual (DUKE, 2007).

A cúrcuma é uma planta originária do sudeste da Ásia, mais precisamente das florestas tropicais da Índia, local onde ocorre a máxima diversidade genética (SASIKUMAR, 2005). Trata-se de uma planta do tipo herbácea e perene, apesar de se comportar como anual em algumas condições específicas (FILHO *et al.*, 2000) e embora a maior diversidade ocorra no nordeste da Índia, grande parte dos parentes silvestres e plantas invasoras de *C. longa* encontram-se na região sudoeste, sendo esta uma das razões em que é amplamente aceito a Índia como sendo o centro de origem da cúrcuma cultivada (RAVINDRAN *et al.*, 2007).

A espécie foi introduzida no Brasil durante o período colonial, utilizada por garimpeiros para marcar regiões de garimpo e por escravos como condimento culinário. Desde então é cultivada ou encontrada de modo subespontâneo em vários estados. Reproduz-se por pedaços do rizoma que apresentam gemas (olhos), devendo ser cultivada em solo argiloso, fértil e de fácil drenagem. Cada rizoma mede até 10 cm de comprimento e, quando cortado, mostra uma superfície de cor vermelho-alaranjada, possuindo cheiro forte agradável, sabor aromático e picante (FILHO, 1996).

A coloração amarela-alaranjada característica dos rizomas é atribuída principalmente a curcumina, sendo que a qualidade do seu poder de coloração é usualmente avaliada pelo teor de curcumina presente na cúrcuma, que varia entre 3-4% dependendo da variedade cultivada (SILVA; PINTAO, 2008; ORSOLIN; NEPOMUCENO, 2009; ZHANG *et*

al., 2009).

A cúrcuma possui uma grande aplicação na indústria de alimentos, sendo usado na fabricação de sopas desidratadas, pratos e temperos prontos, mostardas, salsichas, margarinas, macarrão, snacks e salgadinhos. Esta diversidade de aplicações na indústria alimentícia fez com que, em países onde a cultura possui posição de *commodity*, fossem criadas agências reguladoras da produção e qualidade para padronização da matéria-prima comercializada (SIGRIST, 2009).

Atualmente não se tem no Brasil uma regulamentação onde se defina a quantidade específica de consumo da cúrcuma para se obter os benefícios atribuídos a essa especiaria. No entanto, alguns nutrólogos e nutricionistas tem feito algumas recomendações. Segundo Stuppiello (2017), no uso doméstico, recomenda-se que seja utilizado uma ou duas rodela por dia da cúrcuma *in natura* ou uma colher de chá (aproximadamente 5 gramas) da cúrcuma em pó diariamente, caso exista algum problema de saúde. Pessoas saudáveis podem usar o quanto considerarem conveniente, pois a regularidade de seu uso é o mais importante.

A fim de se obter uma maior comercialização da cúrcuma, atualmente ela pode ser encontrada por meio do rizoma inteiro (*in natura*), em pó obtido após secagem e moagem dos rizomas (Figura 1), na forma de óleo, resinas e extrato de curcumina purificado, podendo esta última apresentar concentrações de até 98% (MARTINS; RUSIG, 1992). Sua produção ocorre em quase todas as regiões do Brasil, sendo os estados de São Paulo, Minas Gerais e Goiás os maiores produtores (MARTINS; RUSIG, 1992).

No mercado internacional, a cúrcuma é considerada uma preciosa especiaria por compor vários temperos orientais, como o pó de caril (*curry spice*) muito utilizado pelos indianos, moçambicanos e muitos povos provenientes da África Oriental (SILVA; PINTAO, 2008). Apesar das especiarias serem utilizadas há muitos séculos para o enriquecimento do sabor e preservação dos alimentos (MOREIRA; FILHO, 2003), seus princípios ativos, bem como a capacidade antioxidante se tornaram conhecidos recentemente, como a curcumina na cúrcuma, o cuminaldeído no cominho, o eugenol no cravo, a piperina na pimenta preta, a capsaicina na pimenta vermelha e o zingerona no gengibre (SHOBANA; NAIDU, 2000; SUHAJ, 2006).

A cúrcuma tem demonstrado também várias atividades biológicas (antioxidantes, anti-inflamatória, antimicrobiana, antiviral e anticarcinogênica), sendo estas atribuídas a alguns compostos biologicamente ativos, dos quais se destacam: curcumina, dimetoxi curcumina, bis-dimetoxi curcumina, arturmerona, turmerona, curcumona, turmeronol A e turmeronal B (ANTUNES; ARAÚJO, 2000; SANTOS *et al.*, 2003). A ação dos compostos fenólicos também encontrados na cúrcuma, mostraram resultados promissores no controle do colesterol, úlceras gástricas e disfunções hepáticas (ISLAM, 2004). Uma outra aplicação interessante refere-se ao uso da cúrcuma como repelente natural a insetos,

Figura 1 – *Curcuma longa* L.

Fonte: (DRAETA, 2015)

evitando infestações em milho armazenado (BALTAZAR *et al.*, 1994). Na medicina tradicional chinesa, a cúrcuma tem sido usada para ajudar na digestão, possuindo função hepática, aliviar dores da artrite, regular a menstruação, tratar eczema e feridas, reduzir inflamações e atualmente, tem sido utilizada na prevenção e tratamento de câncer (MATOS, 2002).

Ao passo em que a cúrcuma se tornou conhecida no mercado internacional (conhecida como turmeric), a mesma tem apresentado grande importância econômica, devido às peculiares características de seus rizomas (FILHO *et al.*, 2000). Com produtividade de 22 t (toneladas) de rizomas/ha (hectare), a Índia é o principal produtor do mundo, detendo cerca de 50% da produção mundial (90 mil t) de cúrcuma anualmente (NAGHETINI, 2006). Apesar disso, ocupa o 9º lugar dentre os países que depositaram patentes que empregam este condimento em formulações. A tecnologia se encontra bastante centralizada nos países do continente asiático (Japão, Coréia e China), seguida dos Estados Unidos, os quais estão entre os cinco maiores importadores de cúrcuma do mundo (NAGHETINI, 2006).

3.2 Composição centesimal da *Curcuma longa* L.

Pesquisas sobre a composição centesimal da cúrcuma mostram os polissacarídeos, em especial o amido, tem sido considerado o componente majoritário nessa especiaria, em torno de 25 a 50%, seguido de proteína (10 a 25%), lipídeos (6 a 12%), cinzas e fibras (8 a 11%) respectivamente, com umidade variando entre 3 a 10% para a cúrcuma seca e 50 a 70% para a cúrcuma *in natura* (ALMEIDA, 2006; FILHO *et al.*, 2000; BRAGA *et al.*, 2005). O conteúdo desses componentes varia em função do cultivo, local de plantio, práticas agrícolas, uso de fertilizantes, maturidade dos rizomas além do processamento final usado para a sua comercialização. Sendo o amido a reserva energética das plantas, ele passa a ser consumido na atividade metabólica durante a maturação, portanto, o

teor de amido possivelmente se relaciona ao grau de maturação, (BRAGA *et al.*, 2003; LEONEL; CEREDA, 2002).

3.3 Ácidos Graxos

Embora os lipídeos representem uma pequena fração na composição da cúrcuma, a caracterização dessa fração se torna importante, já que a mesma pode influenciar de forma decisiva nas características organolépticas da cúrcuma.

Os lipídeos podem sofrer transformações químicas durante o armazenamento, no processamento ou ainda no uso como meio de transferência de calor. As transformações mais importantes são a rancidez hidrolítica, rancidez oxidativa e reversão. A rancidez, seja hidrolítica ou oxidativa, é a deterioração dos lipídios e constitui-se em um dos problemas técnicos mais importantes na indústria de alimentos (OSAWA *et al.*, 2006). A deterioração oxidativa dos lipídeos além de desenvolver aromas rançosos nos alimentos pode causar o branqueamento de alguns alimentos, devido à reação dos pigmentos com os intermediários reativos, chamados radicais livres, que são formados durante a oxidação lipídica. Os radicais livres também podem levar a uma redução da qualidade nutricional, por reagir com vitaminas (FIB, 2014).

Até então, pouco se conhece a respeito da composição dos ácidos graxos presente no extrato na cúrcuma. Segundo Richmond e Pombo-Villar (1997), foi encontrado no extrato do óleo essencial de rizomas da *C. longa*, além das cetonas sesquiterpênicas, uma série de ácidos graxos saturados e insaturados. Já o gengibre, pertencente a mesma família da cúrcuma, foi encontrado alguns ácidos graxos como ácido palmítico, ácido oléico, ácido linoléico entre outros, além de óleo-resina e óleos voláteis (NEWALL, 2002).

3.4 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza, sendo que mais de 8000 compostos fenólicos já foram detectados em plantas.

Alguns compostos fenólicos da cúrcuma já foram identificados e isolados, apresentando resultados promissores no controle do colesterol, úlceras gástricas e disfunções hepáticas, como a classe dos curcuminoides (ISLAM, 2004). Os múltiplos mecanismos da capacidade antioxidante dos compostos fenólicos são expressos pela habilidade de sequestrar radicais livres, quelar metais e pelo sinergismo com outros antioxidantes (BARCIA *et al.*, 2014), demonstrando que os compostos fenólicos além da capacidade antioxidante, possui efeito na prevenção de diversas enfermidades cardiovasculares, cancerígenas e neurológicas (HARBORNE; WILLIAMS, 2000; SÁNCHEZ-MORENO, 2002).

Existem várias metodologias aplicadas para extração dos compostos fenólicos em

produtos vegetais que podem ser realizadas utilizando inúmeros solventes extratores, como o etanol, metanol, acetona e água deionizada, isolados ou combinados em diferentes concentrações associados a alguns processos como: maceração, trituração ou moagem com clarificação por centrifugação, extração com auxílio de agitador magnético e filtragem com papel filtro, lavagem por refluxo e concentração do extrato utilizando evaporador rotatório a vácuo (ANDERSON *et al.*, 2013; RUFINO *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2016).

Para a quantificação dos fenólicos totais geralmente utiliza-se o método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965) baseado na reação de oxi-redução entre os compostos fenólicos e os íons metálicos.

A identificação dos compostos fenólicos geralmente é realizada por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando detectores de arranjo de diodos e/ou a espectrometria de massas (AO *et al.*, 2008; VÁZQUEZ *et al.*, 2008).

Dentre as classes que compõe os compostos fenólicos, os flavonoides fazem parte do grupo mais estudado. São os compostos mais diversificados no reino vegetal possuindo 15 átomos de carbono no seu esqueleto básico, apresentando uma estrutura de C6-C3-C6, onde os dois anéis C6 são necessariamente aromáticos (anéis A e B), conectados por uma ponte de três carbonos, que geralmente contém um átomo de oxigênio (anel C), conforme demonstrado na Figura 2, (RICE-EVANS, 2004; MANACH *et al.*, 2004). Já foram identificados na cúrcuma os flavonoides miricetina, fisetina, morina, quercetina e o kampferol (LAKO *et al.*, 2007).

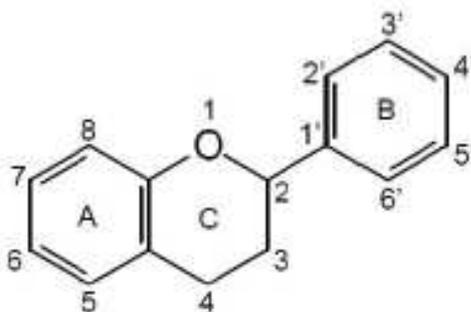


Figura 2 – Estrutura química geral de um flavonoide

Fonte: (TIVERON, 2010)

Sua ampla diversidade estrutural faz com que os flavonoides estejam presentes em todas as partes das plantas, desde as raízes, até as folhas e frutos, sendo encontrados nos vacúolos das células na forma livre (aglicona) ou ligados com açúcares (glicosídeos). São classificados como antocianidinas (apigenina, cianidina), flavonas (crisina, apigenina, rutina, luteolina), flavonóis (canferol, quercetina, miricetina, tamarixetina), flavanonas (naringina, naringenina, taxifolin), catequinas (epicatequina), dihidroflavonois (flavonois), chalconas e isoflavonas (genistina, genisteína, daidzina, daidzeína). Tal diversidade

ocorre devido às transformações que estes compostos podem sofrer, como hidroxilação, metilação de grupos hidroxila ou do núcleo dos flavonoides, dimerização (produzindo biflavonoides), glicosilação de grupos hidroxila (produzindo oglicosídeos) ou do núcleo dos flavonoides (produzindo C-glicosídeos) (MARKHAM *et al.*, 1982).

Sendo considerados como ácidos fracos, os flavonoides possuem características polares ou moderadamente polares, sendo solúveis em etanol, metanol, butanol e combinações de solventes com água (MARKHAM *et al.*, 1982), absorvendo radiação eletromagnética na faixa do ultravioleta (UV) e do visível, e dessa maneira apresentam papel de defesa nas plantas frente a radiação UV da luz solar. Os flavonoides podem agir como quelantes de metais, ou ainda como antioxidantes primários, agindo como sequestrantes do ânion superóxido e apresentam normalmente duas bandas de absorção no UV, sendo compreendida entre 220-295 nm e entre 300-390 nm (ROBARDS *et al.*, 1999).

São reconhecidos também pela inibição da oxidação do ácido linoleico, oxidação de LDL, peroxidação de fosfolípidos da membrana, peroxidação lipídica microsomal e mitocondrial, peroxidação de eritrócitos e fotoxidação e peroxidação de cloroplastos (ANILA; VIJAYALAKSHMI, 2003; RUBERTO; BARATTA, 2000).

3.4.1 Curcumina

A curcumina é um composto fenólico da classe dos curcuminoides, considerado como o principal responsável pela coloração amarela no rizoma do açafrão. Esse composto é altamente lipofílico (Figura 3), o que lhe confere a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (ROSSI *et al.*, 2008), possuindo múltiplas características relevantes comprovadas *in vitro* e *in vivo* que podem justificar o interesse nesta espécie, como neuroprotetora, anti-inflamatória, antiproliferativa, incluindo as atividades antioxidante (AGGARWAL; HARIKUMAR, 2009; BEGUM *et al.*, 2008).

Atualmente a curcumina pode ser obtida comercialmente, na verdade como uma mistura de três componentes, curcumina (CUR, 77%), desmetoxicurcumina (DMC, 17%), e bisdesmetoxicurcumina (BDMC, 3%) (GOEL *et al.*, 2008). Na Índia, pode-se encontrar esta mistura de curcuminoides na forma de cápsulas, pomadas, unguentos, cremes e curativos para aplicação tópica, misturada ou não com outros componentes. Contudo, a principal utilização destas substâncias ao redor do mundo é na culinária (CARNEIRO, 2009).

3.5 Capacidade Antioxidante

De acordo com a definição proposta por Halliwell e Gutteridge (2007), antioxidante consiste em “qualquer molécula que atrasa, previne ou remove um dano oxidativo de uma molécula alvo”. O termo molécula alvo engloba quase todas as moléculas encontradas em

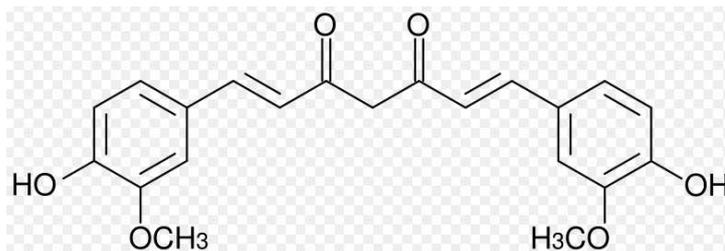


Figura 3 – Estrutura química da Curcumina.

Fonte: (PAZ, 2013)

alimentos e em tecidos vivos (exceto água) e inclui por exemplo, proteínas, lipídios, carboidratos e DNA. Essas biomoléculas podem ser protegidas através dos antioxidantes que podem atuar de diferentes formas: impedindo a formação dos radicais livres, inibindo a oxidação do substrato, interceptando os radicais livres gerados pelo metabolismo através da ação enzimática ou pelos agentes de sacrifício, que são moléculas preferencialmente oxidadas pelas espécies reativas para preservar biomoléculas de maior importância biológica (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

Devido ao custo e a simplicidade dos métodos, os ensaios espectrofotométricos tem sido os mais utilizados para determinar a capacidade antioxidante total de um produto. Eles são avaliados frente a um radical ou íon metálico específico ou ainda na habilidade de transferir elétrons e/ou doar átomos de hidrogênio, e os ensaios geralmente recebem o nome do reagente cuja absorção será atenuada pelo antioxidante como os ensaios DPPH, FRAP e TEAC (BOROSKI *et al.*, 2015).

O teste ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) desenvolvido originalmente por (CAO *et al.*, 1993) é considerado por alguns autores como sendo um método preferível devido a sua relevância biológica e eficácia para o antioxidante *in vitro* (AWIKA *et al.*, 2003). Ele mede a capacidade do antioxidante em sequestrar radicais peroxil como substâncias pró-oxidantes, geradas a partir do azo-iniciador AAPH (2,2'-azobis (2-amidinopropano) dihidroclorado), a 37°C, e como substrato oxidável utiliza a fluoresceína, uma substância não proteica fluorescente (Figura 4) (MELO *et al.*, 2006; JAYAPRAKASHA *et al.*, 2007; OLDONI, 2007).

Isto o diferencia dos outros testes de capacidade antioxidante que usam oxidantes, mas não necessariamente pró-oxidantes (PRIOR; CAO, 1999). As substâncias presentes na amostra protegem a fluoresceína da oxidação provocada pelos radicais peroxila, através da doação de um átomo de hidrogênio aos radicais livres, evitando o decréscimo de fluorescência (OU *et al.*, 2001).

Já o ensaio do DPPH é determinado pelo sequestro do radical DPPH, através de uma substância com capacidade antioxidante, reduzindo-o a hidrazina. Quando uma determinada substância que age como doador de átomos de hidrogênio é adicionada a uma

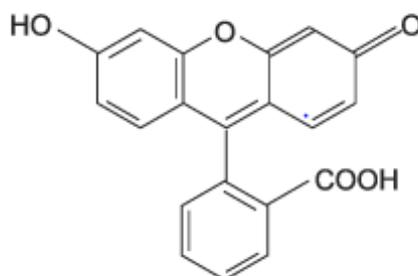


Figura 4 – Estrutura química da Fluoresceína.

Fonte: (CARDOSO *et al.*, 2005)

solução de DPPH, a hidrazina é obtida com mudança simultânea na coloração de violeta a amarelo pálido. A molécula do DPPH é caracterizada como um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula (Figura 5), (MOLYNEUX, 2004). A intensidade do sinal do radical DPPH é relacionada de forma inversa com a concentração do antioxidante testado e o tempo de reação (CHEN *et al.*, 2000). Entretanto, o método de controle mais utilizado é o decaimento da absorvância no comprimento de onda observado entre 515 a 528 nm, produzido pela adição do antioxidante a uma solução alcoólica do radical DPPH. Este método é considerado, do ponto de vista metodológico, um dos mais fáceis, precisos e reprodutivos na avaliação da capacidade antioxidante de sucos de frutas, extratos vegetais e substâncias puras, tais como flavonoides e terpenoides (SZABO *et al.*, 2007).

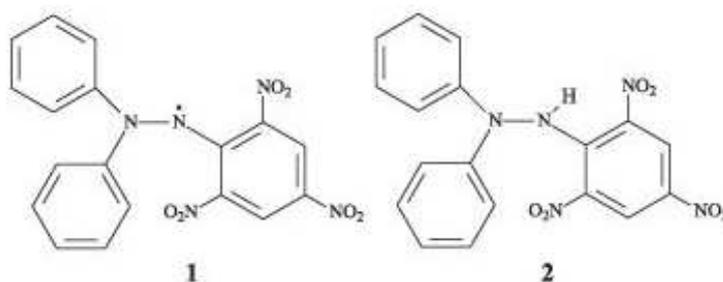


Figura 5 – Forma radicalar (1) e não radicalar (2) do DPPH.

Fonte: (ALVES *et al.*, 2010)

Já no método do FRAP, como demonstrado na Figura 6, baseia-se na redução em meio ácido, de um complexo férrico de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) a um complexo ferroso de TPTZ com uma forte coloração azul escura. Quanto maior for a capacidade antioxidante da amostra, maior será a produção do complexo ferroso de TPTZ, podendo ser monitorado através da leitura de absorvância a um comprimento de onda de 593 nm (HUANG *et al.*, 2005; APAK *et al.*, 2007). Uma das limitações desta técnica consiste

no fato de apenas avaliar a capacidade da amostra em reduzir íons férricos e não a sua capacidade em neutralizar radicais livres ou outras espécies antioxidantes. No entanto, trata-se de um ensaio simples, reprodutível e pouco dispendioso, quando comparado com outros métodos de avaliação da capacidade antioxidante (HUANG *et al.*, 2005).

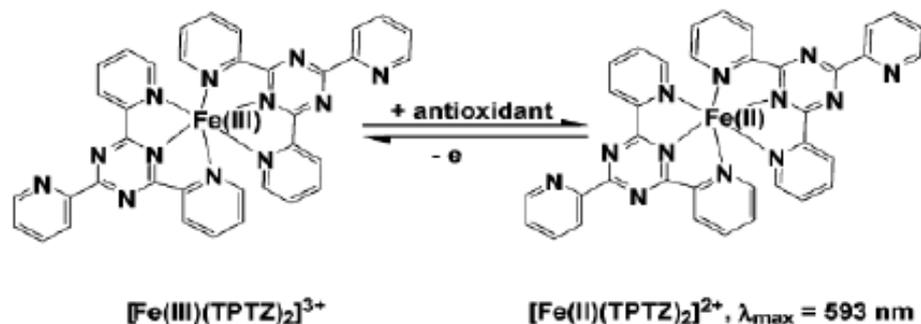


Figura 6 – Poder de redução férrica.

Fonte: (HUANG *et al.*, 2005)

O ensaio TEAC foi relatado primeiramente por Miller *et al.* (1993), posteriormente sofreu algumas adequações por Re *et al.* (1999). A ideia do método é monitorar o decaimento do cátion-radical ABTS⁺, produzido pela oxidação do ABTS 2,2'- azinobis (3-ethylbenzothiaziline-6-sulfonate), gerado pela adição de uma amostra contendo antioxidantes. Por meio da adição do persulfato de potássio, ocorre a formação do radical ABTS, que apresenta cor esverdeada, conforme demonstrado na Figura 7. Na medida em que o antioxidante é misturado com esse radical, ocorre a redução do ABTS⁺ a ABTS, provocando a perda da coloração do meio reacional. Os resultados são expressos em função do trolox, um padrão antioxidante submetido as mesmas condições de análise.

O ABTS⁺ necessita ser gerado através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática, sendo solúvel em água e em solventes orgânicos, permitindo-se medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica, demonstrando ser um radical estável na ausência de antioxidantes (KUSKOSKI *et al.*, 2005; ARNAO, 2000). O radical cátion ABTS⁺ também pode ser obtido pela presença do H₂O₂, apresentando máximos de absorção a 417, 645, 734 e 815 nm por espectrofotometria (SILVA *et al.*, 1999).

Por se tratar de um método simples, ele é facilmente reprodutível, o que viabiliza seu uso em rotinas laboratoriais, sendo que as divergências nos resultados de TEAC podem ser atribuídas a fatores limitantes como a diferença no tempo de incubação ou na estratégia de obtenção de ABTS⁺ (STRATIL *et al.*, 2006; SURVESWARAN *et al.*, 2007; PICCINELLI *et al.*, 2004).

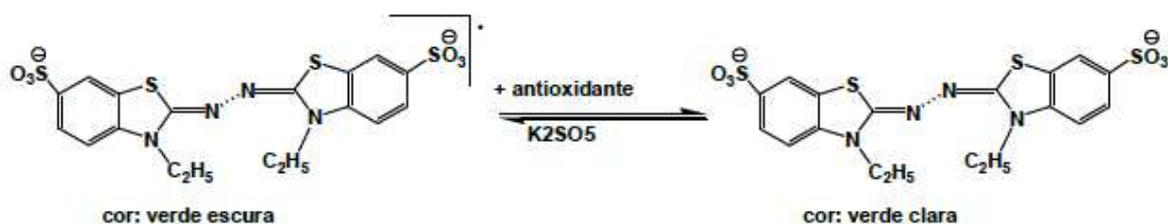


Figura 7 – Redução do ABTS+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.

Fonte: (HUANG *et al.*, 2005)

3.6 Espécies Reativas do Oxigênio (ROS) e Nitrogênio (RNS)

Considera-se que todo componente celular está sujeito a sofrer danos oxidativos como os lipídios, proteínas e ácidos nucleicos que são exemplos clássicos de moléculas que sofrem alterações funcionais quando oxidadas, sendo que os principais causadores destes danos oxidativos são os radicais livres. Por definição, o termo radical livre refere-se a átomos ou moléculas altamente reativos, que contêm número ímpar de elétrons na última camada eletrônica conferindo alta reatividade, tornando-os ávidos por retornar ao estado de equilíbrio eletrônico (HALLIWELL, 1990).

Quando esta molécula é derivada do metabolismo do oxigênio e nitrogênio, denominam-se espécies reativas do oxigênio (ROS) e do nitrogênio (RNS), respectivamente. Justamente por esta falta de elétrons pareados na sua órbita externa, estas espécies reativas (RE) reagem com qualquer molécula próxima capaz de doar elétrons, justificando seu tempo de meia-vida extremamente curto (PRYOR, 1986). O radical hidroxila (OH) e o ânion superóxido (O_2^-), possuem tempo de vida em média de 1×10^{-9} e 1×10^{-6} segundos respectivamente, enquanto que o do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é superior a 10^{-2} segundos. O tempo de meia vida está relacionado também com a capacidade de difusão, sendo que quanto maior o tempo de meia-vida das ROS e RNS, maior sua capacidade de difusão intra e extra celular (PRYOR, 1986).

As espécies reativas do oxigênio (ROS) e do nitrogênio (RNS) são produtos do metabolismo celular normal e apresentam papel duplo, uma vez que podem ser benéficas ou nocivas para os sistemas vivos (VALKO *et al.*, 2007). Os efeitos benéficos destas espécies reativas ocorrem em concentrações baixas ou moderadas e são essenciais para a sinalização e regulação celular, detoxificação e função imunológica, sendo portanto, continuamente produzidas pelo organismo humano (VALKO *et al.*, 2006; WINTERBOURN, 2008). Já o efeito nocivo das ROS e RNS ocorre durante o estresse oxidativo e o estresse nitrosativo, sendo que estes eventos acontecem em sistemas biológicos quando de um lado há uma alta produção de ROS/RNS, e de outro lado uma deficiência de antioxidantes endógenos enzimáticos e não enzimáticos (VALKO *et al.*, 2006; WINTERBOURN, 2008), desenca-

deando algumas doenças cardiovasculares e degenerativas, diabetes, câncer, quase todas as patologias hepáticas, bem como participar do processo de envelhecimento (ALMEIDA *et al.*, 2009).

As principais ROS distribuem-se em dois grupos, os radicalares (hidroxila (OH), superóxido (O_2^-), peroxila (ROO) e alcoxila (RO)) e os não-radicalares (oxigênio (O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ânion hipoclorito (ClO^-)) (CHATGILIALOGLU; O'NEILL, 2001; WISEMAN *et al.*, 1995; CADET *et al.*, 1999; HALLIWELL, 1990). Dentre as RNS incluem-se o óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e peroxinitritos ($ONOO^-$) (HALLIWELL, 1990; CHATGILIALOGLU; O'NEILL, 2001; WISEMAN *et al.*, 1995; CADET *et al.*, 1999).

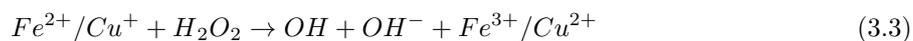
A formação do ânion superóxido ocorre a partir da adição de um elétron a uma molécula de oxigênio no estado fundamental, Equação 3.1.



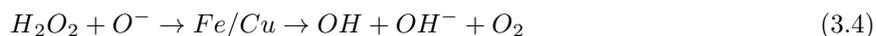
O superóxido ao receber mais um elétron e dois íons hidrogênio forma o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), através do processo chamado dismutação, Equação 3.2.



Quando o H_2O_2 recebe mais um elétron e um íon hidrogênio, é formado o radical hidroxila (*OH), que é o mais reativo dos intermediários, pois pode reagir e alterar qualquer estrutura celular que esteja próxima e assim danificar enzimas, membranas ou ácidos nucleicos (JENKINS, 1988), podendo também ser formado quando o H_2O_2 reage com íons de ferro ou cobre (Reação de Fenton), Equação 3.3.



Os íons de metais de transição podem também catalisar a reação entre H_2O_2 e superóxido, conduzindo à produção de radical hidroxila (Reação de Haber-Weiss), Equação 3.4.



Além disso, o radical superóxido pode reagir diretamente com o óxido nítrico (NO), gerando peroxinitrito ($ONOO^-$). Este pode levar à formação de um oxidante com características do radical hidroxila, Equação 3.5 (HALLIWELL, 1990).



O excesso de radicais livres no organismo pode ser combatido através dos antioxidantes produzidos pelo organismo ou fornecidos pela dieta.

3.7 Coleta das amostras

Foram analisadas 5 amostras, sendo 1 amostra *in natura* (amostra 1) e 4 amostras processadas e comercializadas em pó. A amostra *in natura* e as amostras em pó 4 e 5 foram coletadas em pontos comerciais no estado da Bahia, na cidade de Jequié. As amostras 2 e 3 no estado de São Paulo na cidade de Campinas.

Foram coletados no total 900g de cúrcuma em pó de cada marca comercializada. As amostras de cada marca foram unidas em um pool, e retirado a fração necessária para cada análise. Essas amostras foram armazenadas a vácuo em sacos plásticos com proteção a luz e congelados em ultra-freezer a -80°C até o momento das análises. Já para amostra *in natura* foi coletado cerca de 3kg no total, em diferentes meses do ano, sendo homogeneizadas, trituradas, liofilizadas e armazenadas a vácuo em sacos plásticos com proteção a luz e congelados em ultra-freezer a -80°C até o momento das análises.

3.8 Análises da *Curcuma longa* L.

3.8.1 Análise da Composição Centesimal

A caracterização química da cúrcuma foi realizada segundo os métodos para: umidade (AOAC, 1995), proteína bruta (AOAC, 1995), cinzas (AOAC, 1995), fibras totais (AOAC, 1995), lipídeos (BLIGH; DYER, 1959), e carboidrato (RESOLUÇÃO, 2003). Todos os ensaios foram feitos em triplicata.

3.8.1.1 Determinação da Umidade

O princípio fundamenta-se na perda de umidade e substâncias voláteis a temperatura determinada. A umidade das amostras foi determinada por secagem em estufa com circulação de ar (marca Nova Ética) a 105°C até a obtenção do peso constante da amostra e por secagem a frio utilizando liofilizador (marca Terroni-LS3000) a partir do controle do vácuo.

3.8.1.2 Determinação da Proteína bruta

O método baseia-se em 3 etapas: digestão (tubo kjeldahl no bloco digestor), destilação (destilador marca Tecnal TE-036/1) e titulação (bureta). A transformação ocorre a partir do nitrogênio total da amostra (nitrogênio proteico e não proteico orgânico) em sulfato de amônio por digestão ácida e em nitrogênio amoniacal por destilação em meio alcalino, sendo o borato de amônia formado, dosado com solução ácida padronizada.

3.8.1.3 Determinação das Cinzas

Consiste na queima da matéria orgânica sem resíduos de carvão, para determinar a quantidade de resíduos inorgânicos remanescente dessa queima. Geralmente a cinza contém magnésio, ferro, fósforo, chumbo, cloreto, sódio e outros compostos minerais. A metodologia utilizada foi de cinza seca, utilizando mufla (marca Quimis), na temperatura de 500-600°C, até atingir a coloração ideal ou peso constante.

3.8.1.4 Determinação das Fibras totais

Consiste em um método gravimétrico utilizando um kit enzimático contendo as enzimas alfa-amilase, protease e amiloglucosidase para a obtenção de fibras solúveis e insolúveis, utilizando ácidos e bases em concentrações específicas.

3.8.1.5 Determinação dos Lipídeos

Os lipídeos encontrados na cúrcuma foram extraídos conforme a metodologia proposta por Bligh e Dyer (1959), utilizando uma mistura de três solventes: clorofórmio, metanol e água.

3.8.1.6 Determinação dos Carboidratos totais (Fração “Nifext”):

Os carboidratos foram calculados por diferença das demais análises realizadas em porcentagem (100 - umidade, cinzas, lipídeos, proteína e fibras) (RESOLUÇÃO, 2003).

3.8.2 Determinação da composição de Ácidos Graxos

Os lipídeos foram extraídos a frio e esterificados conforme a metodologia de Joseph e Ackman (1992), sendo analisados em um cromatógrafo a gás Thermo Finigan Trace, com coluna capilar de sílica fundida J e W (60m x 250 μ m x 0,25 μ m) e detector de ionização de chama (FID).

As condições cromatográficas foram: temperatura do injetor a 250°C, temperatura do detector a 280°C, temperatura inicial da coluna de 50°C durante 1 minuto, aumento de 25°C/minuto até 175°C, 4°C/minuto até 230°C. As áreas dos picos foram determinadas utilizando o software Chrom Quest 4.1 e a quantificação dos AGs foi realizada utilizando padrão interno tricosanoato de metila (23:0), (VISENTAINER; FRANCO, 2006).

Para determinação das concentrações de cada éster metílico, foram utilizados os valores médios do fator de correção experimental (F_{CE}) para o detector por ionização em chamas (FID) a partir de 10 injeções dos padrões de ácidos graxos FAME mix C4-C24,

Supelco - Alemanha, (Sigma-Aldrich, USA), (VISENTAINER, 2012). O fator de correção experimental foi calculado de acordo a Equação 3.6.

$$F_{CE} = Ap * Mx / Mp * Ax \quad (3.6)$$

Em que: Ap = área do padrão interno; Mp = massa do padrão interno; Ax = área do éster metílico de ácido graxo; Mx = massa do éster metílico de ácido graxo.

O teor de ácidos graxos (AG) foi calculado em mg/g de lipídeos totais pela Equação 3.7 e convertidos em sólidos secos (mg/g) da cúrcuma.

$$AG = Ax * Mp * F_{CE} / Ap * Mx * F_{CAE} \quad (3.7)$$

Em que: AG = concentração de ácidos graxos (mg/g) de lipídeos totais; Ax = área do pico para cada composto; Ap = área do pico do padrão interno (C:23); Mp = massa do padrão interno (C:23) (mg); Mx = massa da gordura (mg); F_{CE} = fator de correção experimental e F_{CAE} é o fator de conversão éster metílico para ácido graxo.

3.8.3 Preparo do extrato para análise de flavonoides e da capacidade antioxidante

Para a obtenção do extrato, foram utilizadas amostras em pó e *in natura*. Foi realizado um planejamento experimental para a obtenção do extrato utilizado na análise dos flavonoides e da capacidade antioxidante. Os parâmetros analisados, proporção do solvente, relação massavolume do extrato e tempo de agitação no ultrassom estão descritos na Tabela 1. Para as variáveis analisadas foi realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR) com fatorial completo ($2^3 + 6$ pontos axiais + 3 pontos centrais), totalizando 17 ensaios, conforme descrito na Tabela 2. Os ensaios foram realizados a temperatura ambiente ($24 \pm 2^\circ\text{C}$), sendo pesado 1g de amostra em erlemayer de 125mL e posteriormente adicionados alíquotas da mistura metanol:água (v/v) nas proporções de acordo com o planejamento experimental, sendo submetidos a agitação por ultrassom por tempo previamente estabelecido, seguido de filtração com papel filtro Whatman nº 6 e armazenados em frascos âmbar em freezer a -4°C (Tabela 1).

Os extratos foram submetidos a leitura de absorbância em um leitor de microplacas FLUORstar Omega (BMG LABTECH), com comprimento de onda 510 nm, sendo que o extrato que obteve a melhor resposta em concentração equivalente de catequina na amostra para a concentração dos flavonoides, foi utilizado para a realização das demais análises, como: flavonoides total e os ensaios de capacidade antioxidante (DPPH, FRAP, TEAC, ORAC e ROS).

Tabela 1 – Variáveis analisadas no DCCR para três fatores

Variáveis	Código	-1,68	-1	0	+1	+1,68
Proporção de solvente (MeOH/H ₂ O)	X1	0/100	25/75	50/50	75/25	100/0
Relação massa/volume (g/mL)	X2	5	10	25	50	100
Tempo de agitação (min)	X3	5	10	15	20	30

Tabela 2 – Delineamento experimental com valores codificados para as três variáveis analisadas.

Ensaio	X1	X2	X3
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9	-1,68	0	0
10	+1,68	0	0
11	0	-1,68	0
12	0	+1,68	0
13	0	0	-1,68
14	0	0	+1,68
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0

3.8.3.1 Determinação dos Flavonoides totais

A análise dos flavonoides totais foi determinada pelo método proposto por Zhishen *et al.* (1999). A reação colorimétrica foi realizada em microplaca transparente, adicionando 120 μL de água destilada, 30 μL da solução da amostra diluída e 9 μL de NaNO_2 a 5%. Após 5 minutos de reação a temperatura ambiente e ao abrigo de luz, foi adicionado 9 μL de AlCl_3 a 10% e mais 60 μL de NaOH 1 mol/L, ficando em repouso por mais 6 minutos, prosseguindo o procedimento com a adição de 72 μL de água destilada em cada poço da microplaca.

As leituras de absorbância foram realizadas em leitor de microplacas FLUORstar

Omega (BMG LABTECH), com comprimento de onda a 510 nm e 470 nm. O branco usado como referência utilizou todos os solventes propostos pelo método, eliminando apenas a solução da amostra e/ou padrão. A quantificação total dos flavonoides da amostra foi realizada por meio de uma curva padrão com no mínimo 5 pontos equidistantes, em triplicata, preparada com catequina e quercetina, apresentando os resultados pela média da triplicata seguida pelo desvio padrão em μg de flavonoides totais equivalente a catequina e quercetina, por mL de extrato.

3.8.3.2 Identificação e Quantificação dos Flavonoides

A identificação e quantificação foi realizada comparando o tempo de retenção dos picos de 8 padrões de flavonoides e os picos presentes nas amostras, a partir de um cromatógrafo líquido de alta eficiência - HPLC, equipado com um sistema quaternário de bombas, injetor automático e forno com controle de temperatura, acoplado a um detector de arranjo de diodos (DAD).

Para a separação dos flavonoides nos extratos foi utilizado um cromatógrafo a líquido de alta eficiência - HPLC (Agilent Technologies Infinity 1260) acoplado a uma coluna de fase-reversa C_{18} (ACE HPLC Columns), com 15 cm de comprimento, 3 mm de diâmetro interno e 5 μm de tamanho de partícula. A eluição se deu utilizando um gradiente iniciando com 80% do solvente A (água acidificada com 0,05% de ácido acético) e 20% do solvente B (metanol grau HPLC), de forma linear até atingir 100% de solvente B em 18 minutos. Após a finalização da corrida, o gradiente inicial foi retornando no tempo de 5 minutos, com vazão de 1 mL/min e volume de injeção de 5 μL , finalizando cada corrida com a limpeza da coluna utilizando água miliQ e metanol grau HPLC nas concentrações de 80-20% respectivamente. A limpeza da coluna ao final do processo ocorreu utilizando 50% de metanol.

Todos os solventes utilizados como fase móvel foram previamente filtrados com filtro LCR em PTFE modificado, a 0,45 μm específico para filtrações de solventes orgânicos e aquosos.

As soluções dos padrões que se encontravam nas concentrações de 100 e 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, foram armazenadas sob refrigeração em ultra-freezer a -80°C . Eles foram diluídos em metanol grau HPLC, com exceção da miricetina que foi diluída em solvente DMSO grau HPLC. Posteriormente, essas soluções foram diluídas em água para a concentração de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e filtrados com filtro de seringa LCR em PVDF a 0,45 μm antes de serem injetados.

3.8.4 Capacidade Antioxidante

3.8.4.1 Determinação do ensaio DPPH

A análise de capacidade antioxidante pelo método DPPH ocorreu de acordo com as condições descrita por Barankevicz (2015), com adaptações. A análise foi realizada misturando 156,25 μL de amostra diluída e 93,75 μL de solução metanólica com 0,5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de DPPH, deixando reagir em repouso por 45 minutos em temperatura ambiente. Após esse período, foi dado prosseguimento da análise com a leitura em um leitor de microplacas FLUORstar Omega (BMG LABTECH) com comprimento de onda de 517 nm.

Foi construída uma curva analítica de trolox com no mínimo 5 pontos equidistantes, em triplicata submetida à análise de variância (ANOVA $p < 0,05$), sendo os resultados da capacidade antioxidante expressos pela média da triplicata seguida do desvio padrão em μmol equivalente trolox por g de amostra.

3.8.4.2 Determinação do ensaio FRAP

A avaliação da capacidade antioxidante pelo método FRAP foi realizada de acordo com as condições descritas por Benzie e Strain (1996). Inicialmente foram preparados os reagentes das soluções que compõe o FRAP, ou seja, tampão acetato 300 mmol/L , solução de TPTZ (2,4,6-tri (2-piridil)-s-triazina) com 10 mmol/L em HCl 40 mmol/L e solução de cloreto férrico hexahidratado 20 mmol/L . A solução FRAP é constituída da mistura da solução tampão, solução de TPTZ e solução de cloreto férrico na proporção de 10:1:1 (v/v/v), respectivamente.

Para que ocorresse a reação foram misturados 10 μL de amostra diluída, 30 μL de água destilada e 300 μL de solução FRAP preparada no momento da análise. A mistura foi mantida a uma temperatura de 37°C por 15 min e posteriormente efetuada a leitura a 593 nm em um leitor de microplacas FLUORstar Omega (BMG LABTECH). A curva analítica foi construída utilizando do padrão trolox com no mínimo 5 pontos equidistantes, em triplicata, seguindo com análise de variância (ANOVA, $p < 0,05$), e os resultados da capacidade antioxidante expressos pela média da triplicata seguida do desvio padrão em μmol equivalente trolox por g de amostra.

3.8.4.3 Determinação do ensaio TEAC

O método ABTS utilizado foi descrito por Re *et al.* (1999). Foram preparados 5 mL da solução estoque de ABTS 7 mmol/L em 5 mL de sulfato de potássio a 2,45 mmol/L , sendo refrigerada e armazenada no escuro por 16 horas. Após o descanso, 1 mL dessa mistura foi diluída em álcool etílico até a obtenção de uma absorbância de 0,7 nm \pm 0,05 usado apenas no dia da análise. A reação ocorreu a partir da mistura de 10 μL de amostra diluída e 990 μL da solução de ABTS previamente ajustado o pH.

A leitura foi realizada em um leitor de microplacas FLUORstar Omega (BMG LABTECH) após 6 minutos da ocorrência da mistura, utilizando o álcool etílico como branco. A curva padrão foi montada utilizando como padrão o trolox, com no mínimo 5 pontos equidistantes, em triplicata e os resultados da capacidade antioxidante foram expressos em μmol equivalente trolox por g de amostra.

3.8.4.4 Determinação do ensaio ORAC

O método ORAC foi realizado segundo metodologia proposta por Dávalos *et al.* (2004) para extrato hidrofílico. Foi preparada uma solução de tampão fosfato 75 mmol/L (pH 7,4) usada para solubilizar a fluoresceína e o AAPH. A análise ocorreu através da mistura de 20 μL de amostra diluída com 120 μL de solução fluoresceína sódica (0,387 mg/L). A placa permaneceu em repouso por 15 minutos a 37°C dentro da microleitora para que ocorresse a reação. Posteriormente foi adicionado 60 μL de solução de AAPH (0,108 g/L). A leitura foi realizada em leitor de microplacas FLUORstar Omega (BMG LABTECH).

A partir da realização da leitura, foi construída uma curva analítica de trolox com no mínimo 5 pontos equidistantes, em triplicata, seguido de uma análise de variância (ANOVA $p < 0,05$), sendo os resultados da capacidade antioxidante expressos pela média da triplicata seguida do desvio padrão em μmol equivalente trolox por g de amostra.

3.8.4.5 Determinação das Espécies Reativas do Oxigênio

Para as análises das ROS, as metodologias selecionadas foram: ensaio da captação do ácido hipocloroso, captação do ânion superóxido e a captação do radical peróxido de hidrogênio.

O ensaio de captação do ácido hipocloroso foi realizado segundo a metodologia proposta por Rezk *et al.* (2004). Preparou-se uma solução de 10 mL de NaOCl a 1% (m/v) acertando o pH com H_2SO_4 para atingir um pH=6,2 (mantido em frasco protegido da luz e sob refrigeração), uma solução de HOCl com $C_i = 30 \mu\text{mol/L}$ para se obter uma $C_f = 5 \mu\text{mol/L}$ final no poço, tendo em vista que o fator de diluição do HOCl é 6 (300 μL reagentes/50 μL HOCl), a partir do NaOCl e uma solução tampão fosfato 100 mmol/L ajustando o pH para 7,4 com uma solução de HCl diluída. A análise foi conduzida misturando 150 μL de tampão fosfato 100 mmol/L, 50 μL do extrato, 50 μL de DHR e 50 μL de HOCl (5 $\mu\text{mol/L}$) e os resultados foram expressos com inibição do IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) através da leitura de fluorescência (usando placa preta), com excitação a $480 \pm 20 \text{ nm}$ e emissão a $528 \pm 20 \text{ nm}$, utilizando um leitor de microplacas FLUORstar Omega (BMG LABTECH) com leitura imediata a temperatura de 37°C.

O ensaio de captação do ânion superóxido foi avaliado segundo a metodologia descrita por Chisté *et al.* (2011a). Inicialmente foram preparados as soluções do tampão

fosfato 19 mmol/L, ajustando o pH com uma solução de NaOH até atingir o pH de 7,4, solução de NADH 166 $\mu\text{mol/L}$ aferindo o pH com o tampão fosfato 19 mmol/L até atingir pH=7,4, solução de NBT 43,3 $\mu\text{mol/L}$ aferindo sempre com o tampão fosfato 19 mmol/L, e a solução de PMS, dissolvendo 1 mg de PMS em 1 mL de tampão fosfato, em seguida diluindo 50 μL dessa solução de PMS, em tampão fosfato e aferindo para um volume final de 10 mL. Para que a reação ocorresse, foi necessário misturar 50 μL do extrato, 50 μL do NADH, 150 μL de NBT e 50 μL de PMS. O NADH, juntamente com o PMS, originam o ânion superóxido que promove a oxidação da sonda (NBT). Essa reação de oxidação altera a coloração do meio, de incolor para azul. Essa alteração da coloração pode ser um indicador, especialmente no poço do controle, pois é a partir dela que se verifica a ocorrência se esta havendo reação de oxidação ou não. Os resultados foram expressos com inibição do IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) através da leitura de absorbância a 560 nm (usando placa transparente), utilizando um leitor de microplacas FLUORstar Omega (BMG LABTECH) após 2 minutos de incubação da placa a temperatura de 37°C.

Já o ensaio da captação do radical peróxido de hidrogênio, foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Chisté *et al.* (2011a). Foi preparado o tampão Tris 50 mmol/L, ajustando o pH para 7,4 com uma solução de HCl. Posteriormente foi preparado uma solução de lucigenina 800 μL , dissolvendo 20,4 mg de lucigenina em balão volumétrico de 20 mL de tampão Tris e uma solução de 1% de H_2O_2 (se for H_2O_2 com pureza de 30%, pode utilizar direto sem necessidade de preparar uma solução). Para a montagem da placa (placa branca), misturou-se 91,5 μL de tampão Tris, 50 μL do extrato, 100 μL de lucigenina e 8,5 μL de H_2O_2 , sendo os resultados expressos com inibição do IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) através da leitura de luminescência imediata e após 5 minutos, utilizando um leitor de microplacas FLUORstar Omega (BMG LABTECH) com temperatura de 37°C.

3.8.4.6 Análise Estatística

Os resultados obtidos para as análises de composição centesimal, otimização do extrato, os métodos de capacidade antioxidante (DPPH, FRAP, TEAC e ORAC), foram realizados em triplicata e os resultados foram apresentados como média e desvio padrão. Análises de Variância (ANOVA) foram aplicadas juntamente com o teste Tukey para identificar possíveis diferenças significativas entre as médias, usando o software Statistica® 7.0, sendo que as diferenças entre as médias ao nível de 5% ($p \leq 0,05$) foram consideradas significantes.

Para as metodologias de capacidade antioxidante das espécies reativas, foi utilizado o software estatístico GrapPad Prism® 6.0, e para a montagem dos gráficos foi utilizado o software OriginPro® 8.0. As análises foram realizadas em quadruplicata e os resultados foram apresentados como média e desvio padrão. Análises de Variância (ANOVA) foram aplicadas juntamente com o teste Tukey para identificar possíveis diferenças significativas

entre as médias, usando um software estatístico (Statistica® versão 7.0), sendo que as diferenças entre as médias ao nível de 5% ($p \leq 0,05$) foram consideradas significantes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Análise Composição Centesimal

A caracterização da composição centesimal da cúrcuma está apresentado na Tabela 3.

Segundo Maia *et al.* (1995), a média da umidade dos rizomas secos sem uso de radiação, ficou em torno de 13,1%, já Alves *et al.* (2011) encontrou valores entre 10,6 a 11,8%. Ambos os valores encontrados na literatura foram compatíveis com os resultados obtidos para as amostras comerciais estudadas, que variaram de 8,5 a 10,6%, no entanto, bastante diferente do resultado obtido para amostra *in natura*, onde demonstrou um teor de umidade inferior, em torno de 3,1%. Com isso, foi possível observar que o processo de secagem a frio por liofilização, demonstrou uma melhor eficiência na perda de umidade através da amostra *in natura*, quando comparado as demais amostras analisadas.

De acordo com a Tabela 3, os teores de cinzas encontrados na cúrcuma demonstraram concordância com os resultados encontrados por Filho e Boas (1996) com 6,44% e Alves *et al.* (2011) com 6,6%. No entanto, a amostra 4 obteve uma média bastante inferior as demais amostras, apresentando uma média de 1,7%, estando de acordo com o valor encontrado por Leonel e Cereda (2002).

Já para os teores de proteína obtidos, houve variação de 7,97 a 10,77% para todas as amostras analisadas, estando em concordância com o valor encontrado por Filho e Boas (1996) com 11,68%, mas divergindo dos valores encontrados por Alves *et al.* (2011), Leonel e Cereda (2002) com 4,6% e 2,02% respectivamente.

Os valores encontrados para as fibras foram amplos, variando de 1,42 a 10,12%. Essa grande variação ocorreu devido a amostra 4 que apresentou o menor valor dentre as demais amostras analisadas. Essa amplitude entre os valores resultou na compatibilidade entre os resultados de uma gama de autores, sendo eles: Filho e Boas (1996) com 5,50%, Leonel e Cereda (2002) com 1,78%, e por Souza e Glória (1998) com 7,22%.

Dentre as amostras analisadas, as amostras 4 e 1 foram as que obtiveram os melhores resultados referente aos carboidratos, apresentando valores de 73,62% e 70,52% respectivamente. Na literatura não foi encontrado nenhum valor compatível com os encontrados na presente análise, pois todos os valores encontrados na literatura foram referentes ao teor de amido, utilizando metodologias diferentes.

A cúrcuma apresentou para a fração lipídica valores que variaram de 2,08 a 5,06%, conforme a Tabela 3. Esses valores ficaram abaixo do valor encontrado por Filho e Boas (1996) com 7,2% e por Souza e Glória (1998) com 8,51%, mas compatível com o valor

encontrado por Alves *et al.* (2011) com 4,6%.

4.2 Análise da composição dos Ácidos Graxos

A Figura 8 apresenta o perfil cromatográfico dos ácidos graxos de uma amostra da *Curcuma longa* L. e a Tabela 4 apresenta os ácidos graxos identificados nas amostras analisadas, assim como sua quantificação.

Os valores médios obtidos para os ácidos graxos das amostras foram agrupados de acordo com o grau de saturação, sendo classificados como saturados, monoinsaturados e poli-insaturados. Os ácidos graxos encontrados em maior quantidade para a maioria das amostras da *Curcuma longa* L foram: ácido linoleico (18:2n-6 *cis*) pertencente a classe lipídica dos poli-insaturados, da família do ômega-6 com 3188,58 mg/g, o ácido lignocérico (24:0) pertencente a classe lipídica dos saturados com 716,83 mg/g, e o ácido mirístoleico (14:1) pertencente a classe lipídica dos monoinsaturados com 463,91 mg/g.

A amostra 4 demonstrou concordância com as demais amostras em relação aos ácidos graxos pertencentes a classe dos poli-insaturados, mas obteve resultados muito diferentes das demais amostras para a classe dos saturados e dos monoinsaturados, encontrando o ácido palmítico (16:0) (1117,67 mg/g) e o ácido oleico (18:1n-9 *cis*) (1620,77 mg/g) como sendo os majoritários dessas classes respectivamente.

Tabela 3 – Caracterização físico-química da *Curcuma longa* L. (%)

Análises	<i>in natura</i>	SP	SP	BA	BA
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5
UMIDADE	3,06 ± 0,10 ^b	10,57 ± 0,27 ^d	9,60 ± 0,22 ^c	8,48 ± 0,03 ^a	8,96 ± 0,21 ^a
CINZAS	6,52 ± 0,38 ^a	7,13 ± 0,47 ^a	7,37 ± 0,54 ^a	1,70 ± 0,01 ^b	4,58 ± 0,48 ^c
PROTEÍNA	8,57 ± 0,11 ^{ab}	10,78 ± 0,54 ^c	9,94 ± 0,14 ^{bc}	9,52 ± 0,99 ^{abc}	7,95 ± 0,55 ^a
FIBRAS	6,22 ± 0,30 ^a	9,17 ± 1,71 ^b	10,12 ± 0,58 ^b	1,42 ± 0,17 ^c	6,25 ± 0,48 ^a
CARBOIDRATO	70,52 ± 0,50 ^{ab}	61,53 ± 5,35 ^a	62,43 ± 5,84 ^a	73,62 ± 1,26 ^b	70,14 ± 1,30 ^{ab}
LIPÍDEO	5,06 ± 0,21 ^a	4,40 ± 0,61 ^{ab}	3,75 ± 0,43 ^b	5,22 ± 0,22 ^a	2,08 ± 0,11 ^c

*Valores expressos como média ± estimativa do desvio padrão das triplicatas. ** Médias seguidas pela mesma letra (linha) para cada amostra não representa diferença significativa entre si a p<0,05 pelo teste Tukey.

Tabela 4 – Perfil de ácidos graxos presentes na fração lipídica da *Curcuma longa*. L

Ácidos Graxos	AMOSTRAS - Teor de ácidos graxos (mg/g)				
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5
	Saturados				
(11:0)	1,22 ± 0,01	14,66 ± 1,42	13,40 ± 1,27	2,08 ± 0,29	–
(12:0)	–	–	12,29 ± 1,00	2,11 ± 0,29	0,84 ± 0,04
(13:0)	4,08 ± 0,15	–	23,37 ± 1,01	4,16 ± 0,47	0,78 ± 0,07
(14:0)	1,12 ± 0,16	3,44 ± 0,51	5,61 ± 0,84	27,40 ± 2,87	1,20 ± 0,18
(15:0)	4,94 ± 0,76	16,71 ± 2,89	6,91 ± 0,06	1,65 ± 0,14	2,73 ± 0,44
(16:0)	48,79 ± 1,33	355,15 ± 3,69	173,46 ± 2,90	1117,67 ± 116,54	0,06 ± 0,005
(17:0)	2,23 ± 0,08	11,35 ± 1,80	3,61 ± 0,50	8,49 ± 0,76	0,20 ± 0,03
(18:0)	11,41 ± 0,75	72,91 ± 11,60	24,49 ± 4,30	132,74 ± 15,34	–
(20:0)	–	–	–	0,61 ± 0,07	35,95 ± 4,27
(21:0)	6,19 ± 0,77	11,80 ± 1,34	3,18 ± 0,40	1,91 ± 0,13	0,51 ± 0,06
(22:0)	–	–	–	–	0,044 ± 0,001
(24:0)	114,58 ± 14,74	716,83 ± 50,61	253,68 ± 12,74	199,51 ± 14,47	–
	Monoinsaturados				
(14:1)	57,11 ± 0,59	463,91 ± 43,84	129,72 ± 21,06	14,42 ± 0,84	3,33 ± 0,54
(16:1)	–	6,31 ± 0,003	2,03 ± 0,30	18,90 ± 2,25	19,35 ± 2,32
(17:1)	0,65 ± 0,08	4,51 ± 0,55	1,36 ± 0,03	4,34 ± 0,59	0,33 ± 0,03

(18:1n-9t)	1,25 ± 0,19	4,56 ± 0,37	7,72 ± 1,41	0,91 ± 0,12	3,62 ± 0,37
(18:1n-9c)	6,56 ± 0,47	281,97 ± 29,71	98,72 ± 0,90	1620,77 ± 192,64	0,41 ± 0,01
(22:1n-9)	—	—	3,94 ± 0,35	0,29 ± 0,01	—
(24:1)	—	12,82 ± 2,23	—	—	0,80 ± 0,08
Poli-insaturados					
(18:2n-6t)	5,50 ± 0,53	690,62 ± 78,45	202,89 ± 12,21	19,32 ± 0,96	16,67 ± 2,04
(18:2n-6c)	36,19 ± 4,68	662,11 ± 84,41	270,28 ± 2,90	3188,58 ± 375,76	3,41 ± 0,38
(18:3n-6)	13,72 ± 1,30	185,06 ± 26,13	67,70 ± 11,83	66,10 ± 7,72	0,18 ± 0,02
(18:3n-3)	3,16 ± 0,07	3,80 ± 0,51	8,37 ± 0,41	12,29 ± 0,61	0,76 ± 0,09
(20:2)	5,65 ± 0,61	2,25 ± 0,28	—	2,75 ± 0,16	0,18 ± 0,02
(20:3n-6)	0,43 ± 0,04	1,086 ± 0,10	0,56 ± 0,03	—	0,39 ± 0,03
(20:3n-3)	—	4,64 ± 0,46	5,29 ± 0,03	13,17 ± 0,99	0,30 ± 0,03
(20:4n-6)	—	8,34 ± 0,91	1,50 ± 0,08	2,80 ± 0,24	0,12 ± 0,01
(22:2)	—	—	—	—	0,72 ± 0,04
(20:5n-3)	—	46,10 ± 6,37	10,06 ± 0,55	16,20 ± 1,09	26,09 ± 3,19
Σ Saturados	21,62 ± 2,08	150,35 ± 9,23	52 ± 2,50	136,21 ± 12,44	4,7 ± 0,56
Σ Monoinsaturados	13,11 ± 0,26	129,01 ± 12,78	40,58 ± 4,0	276,6 ± 32,74	4,64 ± 0,55
Σ Poli – insaturados	10,77 ± 1,20	178,22 ± 21,95	70,83 ± 3,5	415,15 ± 48,44	4,88 ± 0,58

*Valores expressos como média ± desvio padrão das triplicatas.

- Não detectados

As médias encontradas para os somatórios de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados das amostras do presente estudo estão demonstrados na Tabela 4. A amostra 2 obteve a maior concentração de ácidos graxos saturados (150,35 mg/g), e a amostra 4 os melhores resultados para o somatório da classe dos monoinsaturados e poli-insaturados (276,6 mg/g e 415,15 mg/g), respectivamente.

Embora não se encontre facilmente na literatura dados sobre a cúrcuma relacionados a composição dos ácidos graxos, esses dados podem ser comparados ao gengibre, pois o mesmo faz parte da mesma família dos Zingiberaceae. Segundo Newall (2002), o gengibre possui aproximadamente 6 a 8% composto por lipídeos, estando entre eles os ácidos graxos livres: ácido palmítico, o ácido oléico, o ácido linoléico dentre outros. O que é coerente com os resultados obtidos no presente trabalho, pois esses ácidos graxos além de estarem presente nas amostras da cúrcuma, estão representados de forma expressiva quando comparado aos outros ácidos graxos.

Segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) e a Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN), a recomendação de ingestão diária de gorduras é de 25% a 30% do valor calórico total, preferencialmente proveniente de alimentos vegetais e/ou de seus respectivos óleos (VANNUCCHI *et al.*, 1990). Dessa porcentagem, estima-se que aproximadamente 1 a 2% do total energético ingerido, deve ser composto pelos ácidos graxos essenciais (KRAUSE *et al.*, 1998).

O consumo de alimentos fonte de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente os da série ômega-3 (ácido linolênico) e ômega-6 (ácido linoleico) pertencente ao grupo dos ácidos graxos essenciais (aqueles em que os seres humanos não conseguem sintetizar), esta associado a redução do risco de desenvolvimento de várias doenças como aterosclerose e doenças cardiovasculares (CORSINI *et al.*, 2008).

O ácido linoleico, é considerado um dos ácidos graxos insaturados mais importantes na alimentação humana, devido à sua ação preventiva de doenças, redução da pressão sanguínea e colesterol (OMODE *et al.*, 1995; WALKER *et al.*, 2013). Estudos tem demonstrado que, o ácido linoleico e o ácido oleico apresentam sinais positivos no que diz respeito aos níveis de HDL e LDL no sangue (VALSTA *et al.*, 1992). O ácido oleico também possui grande relevância na dieta humana, possuindo ação redutora da gordura de baixa densidade (LDL), melhorando os sintomas de doenças inflamatórias e reduzindo a pressão arterial (HØSTMARK; HAUG, 2013). O ácido oleico, principal ácido graxo monoinsaturado presente nos alimentos e que se encontra presente nas amostras analisadas, principalmente na amostra 4, esta relacionado com a diminuição dos níveis de colesterol circulantes, contribuindo assim, para diminuir o risco de doenças cardiovasculares (COSTA; ROSA, 2016).

Sendo assim, tanto a amostra *in natura* como as amostras em pó comercial, possuem ácidos graxos importantes para compor uma dieta saudável, pois suas composições

possuem ácidos graxos mono e poli-insaturados.

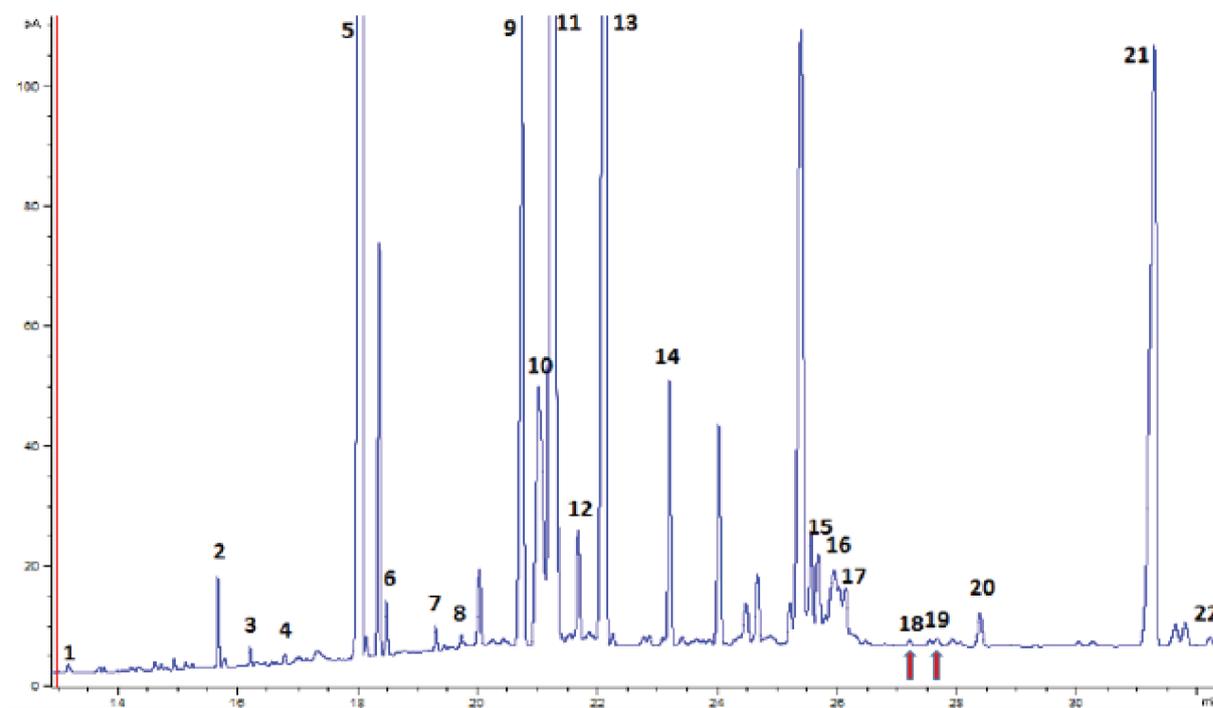


Figura 8 – Cromatograma CG-FID de uma amostra da *Curcuma longa* L.
. Condições cromatográficas descritas no texto.

*1- C11:0, 2- C14:0, 3- C14:1, 4- C15:0, 5- C16:0, 6- C16:1, 7- C17:0, 8- C17:1, 9- C18:0, 10- C18:1 *trans* 9, 11- C18:1 *cis* 9, 12- C18:2 *trans* 6, 13- C18:2 *cis* 6, 14- C18:3 *cis* 3, 15- C20:2, 16- C21:0, 17- C20:3n-6, 18- C20:4n-6, 19- C20:3n-3, 20- C20:5n-3, 21- C24:0, 22- C24:1.

4.3 Otimização do extrato para análise dos flavonoides e capacidade antioxidante

A melhor condição de extração dos flavonoides nas amostras ocorreu no ensaio 2, onde a amostra *in natura* e em pó comercial obtiveram uma concentração de 2225,28 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 2121,33 $\mu\text{g}/\text{mL}$ equivalente a catequina respectivamente, sendo utilizado uma proporção de 75% metanol/ H_2O , no volume de extrato de 10 mL, com tempo de agitação de 10 minutos, conforme as tabelas 1 e 5. Por esse motivo, as condições referentes ao ensaio 2 tanto para a amostra *in natura* como para as amostras em pó comercial foram as escolhidas para a preparação dos extratos para as demais análises.

4.4 Flavonoides totais

A partir do extrato da cúrcuma otimizado, foi possível realizar o ensaio de determinação dos flavonoides totais, onde os resultados foram expressos pela média da triplicata

Tabela 5 – Otimização do extrato para amostra *in natura* e amostra em pó comercial em $\mu\text{g/mL}$ de cúrcuma.

Ensaio	X1	X2	X3	Equivalente a catequina em $\mu\text{g/mL}$	
				Média (amostra <i>in natura</i>)	Média (amostra em pó)
1	-1	-1	-1	371,69 ⁱ	66,49 ^j
2	1	-1	-1	2225,28 ^a	2121,33 ^a
3	-1	1	-1	183,98 ^j	49,35 ^j
4	1	1	-1	925,25 ^d	409,39 ^d
5	-1	-1	1	319,79 ⁱ	76,85 ^j
6	1	-1	1	2109,31 ^b	1939,88 ^b
7	-1	1	1	185,21 ^j	49,78 ^j
8	1	1	1	854,39 ^e	320,73 ^g
9	-1,68	0	0	211,53 ^j	53,41 ^j
10	1,68	0	0	1737,81 ^c	578,20 ^c
11	0	-1,68	0	628,50 ^g	265,30 ^h
12	0	1,68	0	327,72 ⁱ	137,91 ⁱ
13	0	0	-1,68	532,63 ^h	334,11 ^{fg}
14	0	0	1,68	752,49 ^f	383,41 ^{de}
15	0	0	0	734,73 ^f	369,60 ^{ef}
16	0	0	0	720,46 ^f	371,58 ^e
17	0	0	0	772,75 ^f	379,83 ^{de}

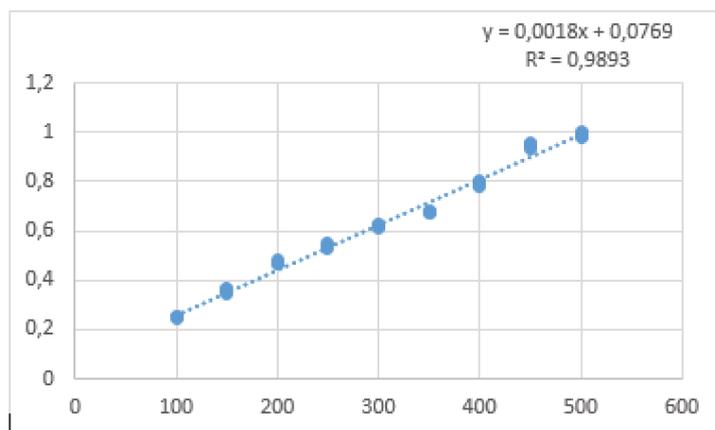
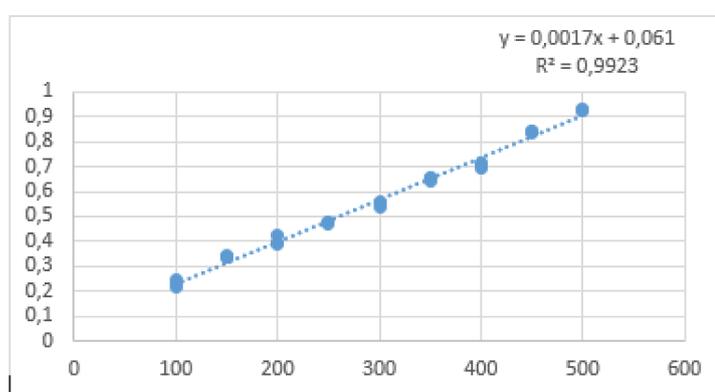
*Valores expressos como média das triplicatas.

** Médias seguidas pela mesma letra (coluna) para cada ensaio, não representa diferença significativa entre si a $p < 0,05$ pelo teste Tukey.

seguido pelo desvio padrão em $\mu\text{g/mL}$, com concentração da curva variando de 100 a 500 $\mu\text{g/mL}$ para a catequina e 100 a 1000 $\mu\text{g/mL}$ para a quercetina.

Nessa análise foi possível observar que houve regularidade entre as amostras quanto a obtenção de maior e menor concentração de flavonoides extraídos, equivalente aos padrões catequina e quercetina por mL de extrato, sendo que a amostra 1 obteve a melhor concentração de flavonoides equivalente aos padrões catequina e quercetina no extrato, variando de 18149,81 a 181944,92 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Já a amostra 4 obteve a menor concentração desses padrões, variando de 4552,04 a 22256,96 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, conforme a Tabela 6.

A amostra *in natura* teve o maior teor equivalente a catequina e quercetina que as amostras em pó. Entre as amostras em pó (amostra 2 a 5) houveram grandes variações que talvez possa ser explicado pelo tipo de processamento e condições de armazenamento em que essas amostras foram submetidas, podendo ter gerado algum tipo de alteração a

(a) Amostra *in natura*

(b) Amostra em pó

Figura 9 – Gráfico de dispersão entre a absorbância (nm) e a concentração do padrão catequina ($\mu\text{g}/\text{mL}$), com coeficiente de determinação e reta estimada.

Tabela 6 – Teor dos flavonoides totais em amostras de cúrcuma

	Padrões equivalentes nas amostras ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	
	Catequina	Quercetina
Amostra <i>in natura</i>	18149,81 \pm 163,46 ^e	181944,9 \pm 11440,34 ^e
Amostra 2	12636,42 \pm 571,57 ^d	143204 \pm 2477,20 ^d
Amostra 3	9994,79 \pm 154,69 ^c	61973,34 \pm 5207,97 ^b
Amostra 4	4552,04 \pm 75,66 ^a	22256,96 \pm 298,34 ^a
Amostra 5	7512,91 \pm 318,32 ^b	90621,36 \pm 1154,15 ^c

*Valores expressos como média \pm desvio padrão das triplicatas.

** Médias seguidas pela mesma letra (coluna) para cada ensaio, não representa diferença significativa entre si a $p < 0,05$ pelo teste Tukey.

amostra, como por exemplo a decomposição de parte dos flavonoides.

Tabela 7 – Padrões de flavonoides na *Curcuma longa* L.

Padrões	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	[] ($\mu\text{g/mL}$)
Quercetina	366,4	10
Kaempferol	275,4	10
Rutina	366,4	10
Apigenina	275,4	10
Miricetina	366,4	0,32
Luteoleína	366,4	10
Naringenina	289,4	10

4.5 Identificação e quantificação dos flavonoides

Para que fosse possível realizar a identificação e quantificação dos flavonoides presentes na *Curcuma longa* L, foram injetados 8 padrões de flavonoides (quercetina, catequina, kaempferol, rutina, apigenina, luteoleína, naringenina e a miricetina) individualmente e em forma de mix, na concentração de $10 \mu\text{g/mL}$, com exceção da miricetina que foi preparada na concentração de $0,32 \mu\text{g/mL}$. Os padrões foram submetidos a varredura espectrofotométrica na faixa de 230 a 500 nm por 30 minutos, para verificar o comprimento de onda que apresentasse a absorvância mais adequada para cada flavonoide e para o método, conforme a Tabela 7.

Todos os picos dos padrões foram separados sem que houvessem co-eluição aos 18 minutos de corrida. Posteriormente, as amostras da cúrcuma foram devidamente preparadas para serem injetadas nas mesmas condições cromatográficas em que os padrões foram analisados. As soluções dos padrões e os extratos das amostras foram previamente filtrada em filtro de seringa a $0,20 \mu\text{m}$ e injetados no volume de $5\mu\text{L}$ (Figura 10), para que fossem comparados o tempo de retenção de cada pico dos flavonoides com os picos encontrados nos extratos das amostras.

Para haver maior segurança na identificação dos flavonoides presentes nos extratos das amostras, foram preparados 10 extratos de cada amostra, totalizando 50 extratos de amostras verdadeiras. Esses extratos foram fortificados com solução padrão, adicionando um padrão por vez. Logo em seguida, esses extratos fortificados foram injetados no HPLC e observado no cromatograma se houve o surgimento de um novo pico ou aumento no tamanho de um pico já existente.

Os tempos de retenção dos picos e os espectros de cada padrão não foram equivalentes aos tempos de retenção dos picos e aos espectros presente nas amostras, ou seja, não foi encontrado nenhum dos flavonoides analisados nos extratos das amostras estudadas.

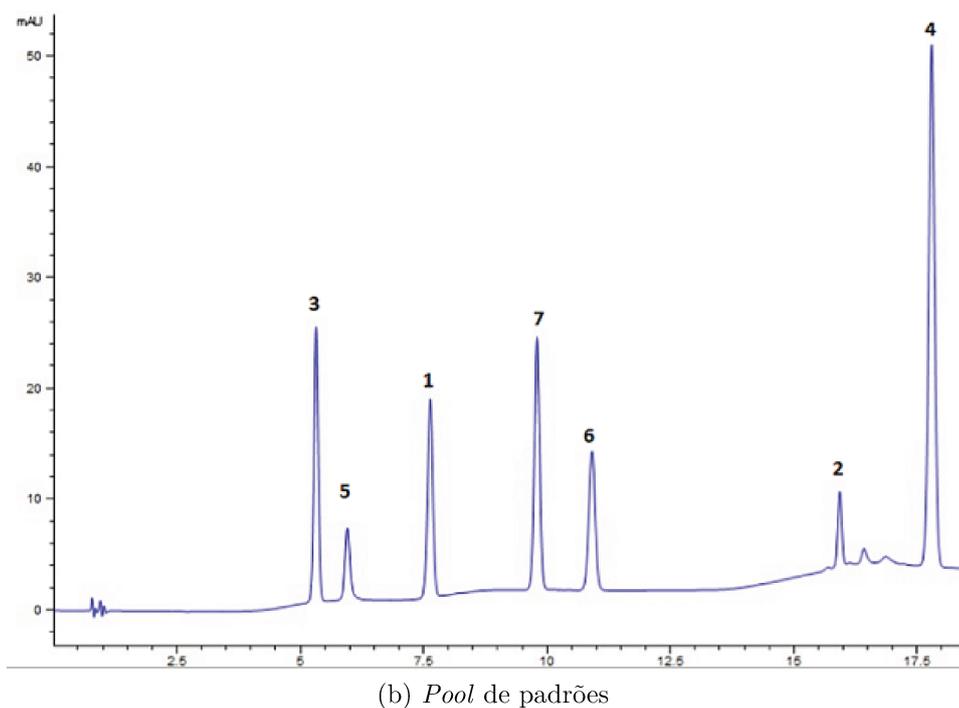
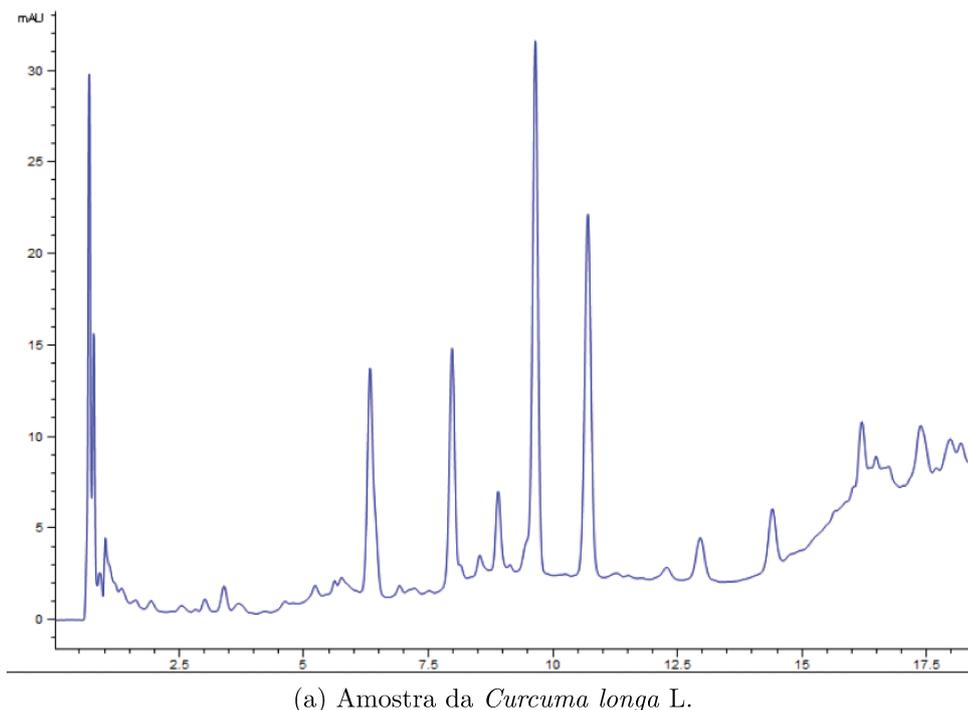


Figura 10 – Cromatograma HPLC-DAD de uma amostra da *Curcuma longa* L. e do pool de 8 padrões

4.6 Capacidade Antioxidante

São numerosas a quantidade de metodologias destinadas ao estudo da capacidade antioxidante em matrizes alimentares. Devido a complexidade que envolve esses substratos, é recomendado que se utilize pelo menos duas metodologias com mecanismos de ação

diferentes, para melhor avaliar o efeito antioxidante em diferentes aspectos.

Por se tratar de metodologias mais rápidas, reproduzíveis, acessíveis aos laboratórios e indústrias, os métodos químicos tem sido os mais utilizados. Os métodos DPPH, ORAC e TEAC avaliam a estabilidade dos radicais livres pela transferência de átomos de hidrogênio, enquanto que o FRAP avalia o poder de redução a partir da doação de elétrons pelas espécies antioxidante. Os resultados obtidos são expressos em relação a um composto padrão com capacidade antioxidante conhecida, como o trolox (NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010; SPIGNO; FAVERI, 2007; CATANEO *et al.*, 2008), ácido gálico (AMENDOLA *et al.*, 2010) ou vitamina C (CATANEO *et al.*, 2008).

No ensaio ORAC, o coeficiente de determinação (R^2), apresentou para o modelo linear um valor de 0,978, evidenciando assim que o percentual de variação explicada pelo modelo foi de 97,8%. Para os demais ensaios, DPPH, FRAP e TEAC, esse coeficiente foi um pouco mais elevado, com valores de 99,4%, 99,1% e 99,1% respectivamente, demonstrando que o modelo proposto ficou ajustado, conforme demonstrado na Figura 11.

Foi possível observar de acordo com a Tabela 8, que amostra 1 foi a que obteve o melhor resultado para o ensaio ORAC quando comparado com as demais amostras analisadas, apresentando uma concentração de 3689,34 $\mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$, seguida pela amostra 2 com 2343,66 $\mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$. A concentração da curva utilizada para a obtenção desses resultados variou de 30 a 90 $\mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$.

Tabela 8 – Capacidade antioxidante em Equivalente padrão trolox ($\mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$) da *Curcuma longa* L.

Ensaio	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5
ORAC	3689,34 ± 312,57 ^e	2343,66 ± 228,98 ^d	1549,09 ± 45,10 ^c	467,28 ± 40,11 ^a	890,96 ± 22,58 ^b
DPPH	16692,24 ± 15,14 ^d	38567,26 ± 18,20 ^e	8775,41 ± 0,50 ^c	1043,93 ± 1,62 ^a	7788,15 ± 15,31 ^b
FRAP	1725,75 ± 26,10 ^d	1174,73 ± 37,59 ^c	785,72 ± 4,93 ^a	375,76 ± 1,37 ^b	734,38 ± 40,31 ^a
TEAC	2223,44 ± 30,54 ^e	1443,43 ± 8,64 ^d	1078,06 ± 20,19 ^c	304,52 ± 10,73 ^a	964,68 ± 27,91 ^b

*Valores expressos como média ± desvio padrão das triplicatas. ** Médias seguidas pela mesma letra (linha) para cada amostra, não representa diferença significativa entre si a $p < 0,05$ pelo teste Tukey.

O método do DPPH tem sido bastante empregado em estudos de determinação da capacidade antioxidante para extratos vegetais, (CHATHA *et al.*, 2006; CANADANOVIC-BRUNET *et al.*, 2005; PINELO *et al.*, 2004; GHASEMZADEH *et al.*, 2011). Segundo Suhaj (2006), esse método é considerado um bom ensaio para avaliar a atividade antio-

xidante, e nesse estudo o comportamento das amostras 1 e 2 se inverteu em relação ao ensaio do ORAC, pois a amostra 2 foi a que demonstrou uma concentração maior que as demais amostras, obtendo uma concentração de $38567,26 \mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$, seguida pela amostra 1 com $16692,24 \mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$. A concentração da curva utilizada para a obtenção desses resultados variou de 50 a $120 \mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$.

Tiveron *et al.* (2012) encontrou o valor de $57,6 \mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$ para o extrato da cúrcuma preparado com etanol. Esse valor ficou muito abaixo do que foi encontrado no presente trabalho para o ensaio do DPPH. A mudança nas condições de extração, bem como o solvente extrator pode ter causado tamanha diferença entre os resultados.

Na metodologia usada para a obtenção dos resultados referente ao ensaio do FRAP, demonstrou que a amostra 1 obteve a melhor concentração quando comparada as demais amostras, apresentando o valor de $1725,75 \mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$. A concentração da curva utilizada para a obtenção desses resultados variou de 2 a $16 \mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$ ao passo que Tiveron *et al.* (2012) encontrou um valor de $169,1 \mu\text{mol}_{\text{Fe}^{+2}}/\text{g}$, tendo como resultado a partir de uma extrato etanolico da cúrcuma, o sulfato ferroso como padrão, diferente do que foi usado no trabalho em questão, onde o resultado foi obtido a partir de um extrato metanolico a 75% usando o trolox como padrão.

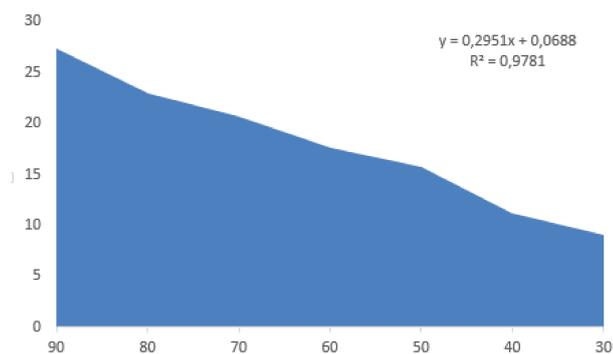
Para o ensaio do TEAC, a amostra 1 também se mostrou com bons resultados, apresentando um valor de $2223,44 \mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$, sendo um valor muito superior ao valor encontrado por Tiveron (2010) e Tiveron *et al.* (2012), pelos mesmos motivos citados acima para os outros métodos executados. A concentração da curva utilizada para a obtenção desses resultados variou de 400 a $1800 \mu\text{mol}_{\text{Trolox}}/\text{g}$.

De forma geral, a amostra 1 (*in natura*), demonstrou obter os melhores resultados para a maioria dos ensaios antioxidante. O que já era esperado, pois essa amostra não passou por nenhum tipo de processamento utilizando tratamento térmico por aquecimento, levando a acreditar que se ocorresse a degradação dos seus compostos bioativos, esse processo seria mais lento quando comparado as amostras que passaram por algum tipo de tratamento térmico por aquecimento, como ocorreu com as amostras 2, 3, 4 e 5 (amostras em pó comercial).

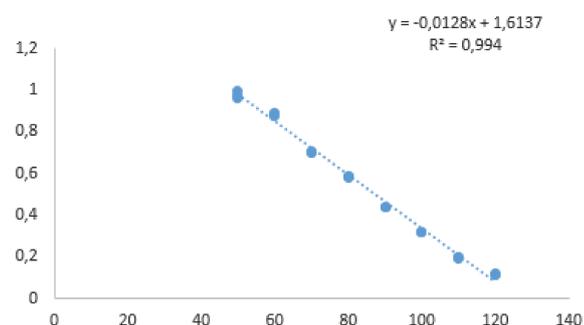
Por sua vez, na comparação entre as amostras em pó, a amostra 4 foi a que demonstrou a menor capacidade antioxidante entre os métodos apresentados na Tabela 8, variando de 304,52 a $1043,93 \mu\text{mol}_{\text{Trolox}}/\text{g}$.

4.7 Determinação das Espécies Reativas do Oxigênio (ROS)

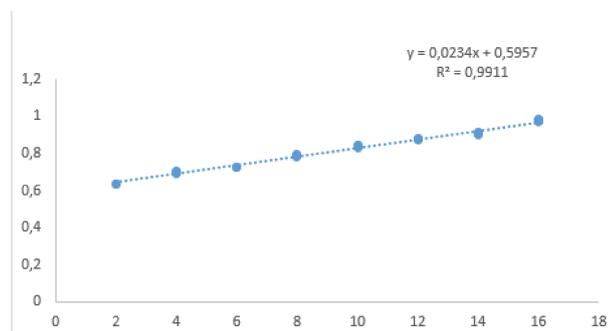
O organismo humano sofre ação constante das ROS e RNS geradas em processos inflamatórios, por alguma disfunção biológica ou provenientes dos alimentos. Por esse motivo várias técnicas tem sido desenvolvidas para melhor compreendermos seus mecanismos



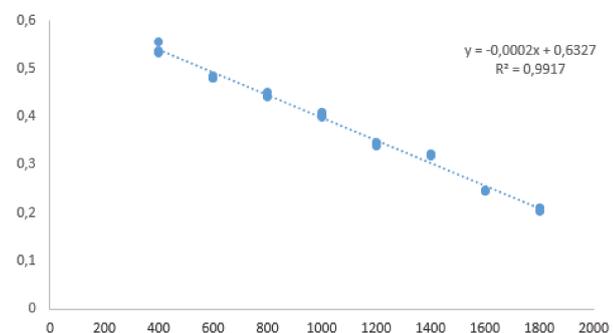
(a) ORAC - Emissão 520 nm e Excitação 485 nm



(b) DPPH - 517 nm



(c) Frap - 593 nm



(d) TEAC - 734 nm

Figura 11 – Gráfico de dispersão entre a absorvância (nm) e a concentração do padrão trolox ($\mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{mL}$, com coeficiente de determinação com reta estimada.

de ação e suas interações. No entanto, poucos trabalhos são encontrados na literatura em relação à desativação dessas ROS e RNS, provavelmente devido ao alto preço das sondas utilizadas nessas determinações.

Geralmente os resultados das técnicas desenvolvidas para as ROS são expressos em valores de IC_{50} , que é a concentração inibitória *in vitro* que reduz 50% o efeito oxidativo provocado pelas espécies reativas testadas no meio (CHISTÉ *et al.*, 2011b).

Dentre as inúmeras metodologias disponíveis para a capacidade antioxidantes das ROS, foram selecionadas o ensaio de captação do ácido hipocloroso, do ânion superóxido e do radical peróxido de hidrogênio.

Para a análise das espécies reativas, foi possível observar de acordo com a Tabela 9 e Figura 12 que no ensaio de captação do ácido hipocloroso (HOCl), a amostra 1 obteve a melhor inibição IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) na cúrcuma, ou seja, essa amostra conseguiu proteger melhor a sonda (DHR) da oxidação causada pelas espécies reativas com menor concentração de extrato ($52 \mu\text{g/mL}$), quando comparado as demais amostras, obtendo uma inibição IC_{50} de $50,55 \mu\text{g/mL}$. No entanto, todas as amostras conseguiram alcançar o objetivo de proteção nas concentrações estudadas (26 a $833 \mu\text{g/mL}$) alcançando os 50% de inibição na concentração de $208 \mu\text{g/mL}$. O padrão utilizado para esse ensaio foi a quercetina.

De acordo com um trabalho realizado por Chisté *et al.* (2011a) sobre extrato da semente do *Annatto*, popularmente conhecido como urucum, considerado um potente corante de alimentos, foi possível observar uma inibição IC_{50} com $3,0 \mu\text{g/mL}$, nas concentrações estudadas (15 a $25 \mu\text{g/mL}$).

Já em um trabalho realizado por Ribeiro *et al.* (2015), ele encontrou um valor de inibição IC_{50} de $2,8 \mu\text{g/mL}$ para o ramo e $4,8 \mu\text{g/mL}$ para a fruta inteira da *Visnia cauliflora*. Berto *et al.* (2015) encontrou inibição de $22 \mu\text{g/mL}$ para polpa, $4,8 \mu\text{g/mL}$ para a casca e $7,1 \mu\text{g/mL}$ para a semente da *Quararibea cordata* na concentração máxima estudada de $1000 \mu\text{g/mL}$.

Para o ensaio de captação do ânion superóxido (O_2^-), não foram obtidos valores de inibição IC_{50} nas concentrações estudadas (26 a $833 \mu\text{g/mL}$). Por se tratar de um método onde ocorre mudança na coloração do meio após a reação de oxidação e a cúrcuma sendo considerada como corante natural, favoreceu que houvesse interferência da sua pigmentação nos resultados. Para esse ensaio foram testados os padrões de quercetina diluída em solvente DMSO grau HPLC (pois não diluiu em tampão fosfato 19 mmol/L) e a catequina diluída em tampão fosfato 19 mmol/L .

Para Chisté *et al.* (2011a), esse ensaio também não demonstrou resultados satisfatórios para o extrato da semente de urucum nas concentrações estudadas (15 a $25 \mu\text{g/mL}$), pois a amostra estudada também se tratava de um corante com grande pigmentação.

Já Ribeiro *et al.* (2015), no estudo da *Visnia cauliflora* referente ao ramo, foi

encontrado uma inibição IC_{50} de $10,3 \mu\text{g/mL}$, para a fruta inteira não foi possível obter resultados de inibição IC_{50} , possivelmente pelo mesmo motivo em que esse trabalho e Chisté *et al.* (2011a) não obteve êxito.

Berto *et al.* (2015), encontrou para a casca e polpa da *Quararibea cordata* uma inibição IC_{50} de 385 e $1000 \mu\text{g/mL}$ respectivamente, no entanto, para a semente não foi encontrado atividade até a concentração máxima testada ($1000 \mu\text{g/mL}$).

No ensaio da captação do radical peróxido de hidrogênio (H_2O_2), é recomendado que se utilize a concentração máxima ($1000 \mu\text{g/mL}$) das amostras e do padrão, pois esse método possui uma resistência em alcançar a inibição IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$), devido a dificuldade para se inibir o H_2O_2 , pois a sua reatividade é considerada baixa. Mesmo assim, essa molécula pode atravessar as membranas celulares e reagir com metais de transição (Reação de Fenton), produzindo radicais hidroxila (OH), que é considerado uma das espécies mais reativas. Os valores de IC_{50} para inibir o efeito nocivo de H_2O_2 são geralmente maiores que o necessário para outras espécies reativas (PISTÓN *et al.*, 2014).

De acordo com a Figura 12, foi possível observar que a amostra 5 foi a única amostra que conseguiu alcançar uma inibição IC_{50} na concentração máxima testada, que variou de $62,5$ a $1000 \mu\text{g/mL}$ (Tabela 9). As demais amostras conseguiram alcançar em torno de 33% de inibição na concentração máxima estudada.

Chisté *et al.* (2011a) obteve um valor de inibição IC_{50} com $47 \mu\text{g/mL}$ nas concentrações analisadas, que variou de 15 a $25 \mu\text{g/mL}$. Já Ribeiro *et al.* (2015) encontrou para o ramo e para a fruta inteira da *Visnia cauliflora* os valores de inibição IC_{50} de 401 e $191 \mu\text{g/mL}$ respectivamente, sendo que a concentração estudada para esse ensaio ultrapassou o limite máximo citado pelos demais autores na literatura ($3000 \mu\text{g/mL}$). Os resultados encontrados por Berto *et al.* (2015) foram $32,4 \mu\text{g/mL}$ para a polpa, $252 \mu\text{g/mL}$ para a casca e $35 \mu\text{g/mL}$ para a semente, na concentração estudada de $1000 \mu\text{g/mL}$ (Tabela 9).

É necessário levar em consideração que as condições de extração para a obtenção dos extratos da cúrcuma e dos extratos utilizado por outros autores foram diferentes, bem como as espécies pesquisadas e o padrão utilizado como referência.

Tabela 9 – Capacidade antioxidante frente a espécies reativas do oxigênio (ROS) da *Curcuma longa* L.

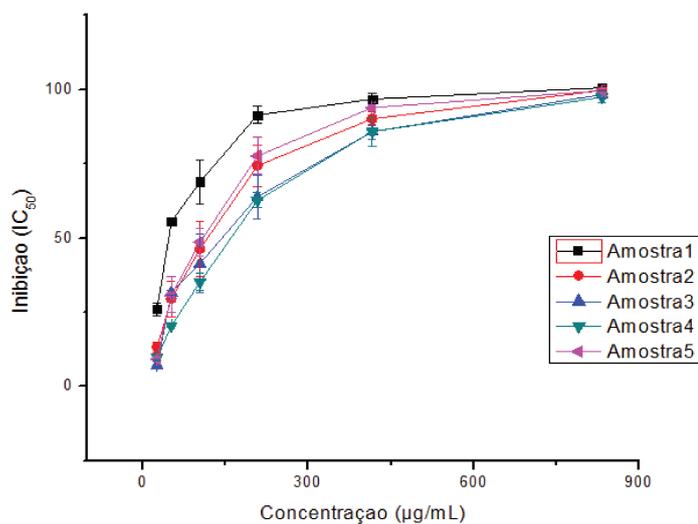
	IC ₅₀ (μg/mL)		
	HOCl	O ⁻ ₂	H ₂ O ₂
Amostra 1	50,55 ± 3,64 ^a	ND	NA
Amostra 2	114,16 ± 9,00 ^{bc}	ND	NA
Amostra 3	124,83 ± 11,63 ^{cd}	ND	NA
Amostra 4	143,43 ± 8,95 ^d	ND	NA
Amostra 5	101,16 ± 7,46 ^b	ND	983,2 ± 112,85

Valores expressos como média ± desvio padrão das triplicatas.

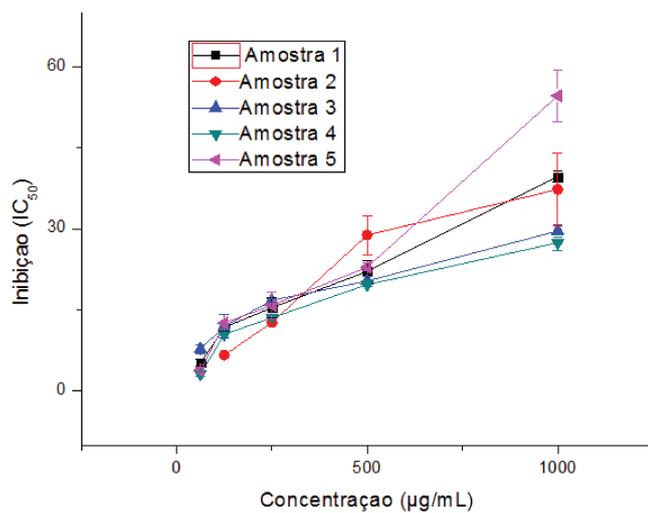
Médias seguidas pela mesma letra (coluna) para cada amostra, não representa diferença significativa entre si a $p < 0,05$ pelo teste Tukey.

ND - Não determinado.

NA - Não foi encontrada atividade de inibição IC₅₀ nas concentrações estudadas.



(a) HOCl - Ácido hipocloroso



(b) H_2O_2 - Peróxido de hidrogênio

Figura 12 – Gráfico da capacidade antioxidante das espécies reativas do oxigênio com inibição IC_{50} .

CONCLUSÕES

A composição centesimal (proteína, fibras, carboidrato, lipídios e cinzas) e a capacidade antioxidante composta pelos compostos bioativos presentes no extrato da cúrcuma, apresentaram algumas divergências em relação aos resultados encontrados por alguns autores. Essa variação pode ser justificada pelo tipo de solo, desenvolvimento durante a colheita, controle genético, fatores climáticos, exposição a microrganismos, insetos, poluentes e tipo de processamento pós-colheita, fornecendo assim características específicas a cúrcuma.

Em relação ao perfil dos ácidos graxos presentes na cúrcuma, até então pouco explorado na literatura, foi possível concluir que os rizomas possuem ácidos graxos considerados de qualidade para o consumo, estando distribuídos nas classes dos saturados, monoinsaturados e polisaturados, dentre eles os ácidos graxos essenciais.

Através da análise multivariada realizada estabeleceu-se a melhor condição para a obtenção do extrato para determinação de flavonoides na cúrcuma. Com a obtenção do extrato, através do método otimizado no equipamento HPLC-DAD foi possível separar o mix com 8 padrões de flavonoides em 18 minutos de corrida.

No que se refere a determinação da capacidade antioxidante *in vitro* da cúrcuma adquiridas nas regiões da Bahia e São Paulo, foi possível observar que os resultados apresentaram comportamento similares para as diferentes amostras na maioria dos ensaios realizados (ORAC, DPPH, FRAP e TEAC), mesmo contendo mecanismos de ação diferentes, sendo a amostra 1 com melhores resultados de capacidade antioxidante e a amostra 4 com a menor capacidade antioxidante.

Para a análise das espécies reativas do oxigênio (ROS), a amostra 1 demonstrou o melhor resultado na ação de inibição IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) para o ensaio do ácido hipocloroso, pois a mesma necessitou de uma menor concentração do extrato para alcançar a inibição IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) que as demais amostras. Já no ensaio do radical peróxido de hidrogênio, apenas a amostra 5 demonstrou efetiva potência ao inibir o H_2O_2 pelo IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) nas concentrações estudadas.

Concluiu-se também que nem todos os ensaios de capacidade antioxidante das espécies reativas podem ser executadas com amostras que possuem elevada pigmentação, como ocorreu com o ensaio de captação do ânion superóxido na cúrcuma, pois a forte coloração interfere nos resultados.

REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, B. B.; HARIKUMAR, K. B. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *The international journal of biochemistry & cell biology*, Elsevier, v. 41, n. 1, p. 40–59, 2009. Citado na página 20.
- ALMEIDA, I. F.; FERNANDES, E.; LIMA, J. L.; COSTA, P. C.; BAHIA, M. F. In vitro protective effect of hypericum androsaemum extract against oxygen and nitrogen reactive species. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, Wiley Online Library, v. 105, n. 4, p. 222–227, 2009. Citado na página 25.
- ALMEIDA, L. P. de. *Caracterização de pigmentos da Curcuma longa L., Avaliação da atividade antimicrobiana, morfogênese in vitro na produção de curcuminóides e óleos essenciais*. [S.l.]: faculdade de Farmacia da UFMG, 2006. <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/MBSA-6X4M39/tese_lucia.pdf?sequence=1>. [Online. acessado em 26-Agosto-2017]. Citado na página 17.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Methods for determination of in vitro antioxidant activity for extracts and organic compounds. *Química Nova*, SciELO Brasil, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010. Citado na página 22.
- ALVES, T.; LU, D.; CREMASSO, A.; MOURA, C.; SOUZA, A. de. *Avaliação do Efeito da Radiação Gama em Rizomas de Açafrão (Curcuma longa L) Secos e Frescos*. [S.l.]: Universidade Federal de Goiás, 2011. <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/conpeex/pivic/trabalhos/THAIS%20ATAIDE%20ALVES.pdf>>. [Online. acessado em 28-Fevereiro-2017]. Citado 2 vezes nas páginas 35 e 36.
- AMENDOLA, D.; FAVERI, D. M. D.; SPIGNO, G. Grape marc phenolics: Extraction kinetics, quality and stability of extracts. *Journal of Food Engineering*, Elsevier, v. 97, n. 3, p. 384–392, 2010. Citado na página 46.
- ANDERSON, A. S.; LAGE, F. F.; CHAGAS, P. M.; FRAGUAS, R. M.; FREIRE, J. M.; MARQUES, T. R.; CORRÊA, A. D. Antioxidants from medicinal plants used in the treatment of obesity. *European Journal of Medicinal Plants*, SCIENCEDOMAIN International, v. 3, n. 3, p. 429, 2013. Citado na página 19.
- ANILA, L.; VIJAYALAKSHMI, N. Antioxidant action of flavonoids from mangifera indica and emblica officinalis in hypercholesterolemic rats. *Food chemistry*, Elsevier, v. 83, n. 4, p. 569–574, 2003. Citado na página 20.
- ANTUNES, L. M. G.; ARAÚJO, M. C. P. Mutagenicity and antimutagenicity of the main food colorings. *Revista de Nutrição*, SciELO Brasil, v. 13, n. 2, p. 81–88, 2000. Citado na página 16.
- ANVISA. *Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução–CNNPA nº 12, de 1978*. [S.l.]: ANVISA, 1978. Citado na página 12.
- AO, C.; LI, A.; ELZAAWELY, A. A.; XUAN, T. D.; TAWATA, S. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of ficus microcarpa l. fil. extract. *Food control*, Elsevier, v. 19, n. 10, p. 940–948, 2008. Citado na página 19.

- AOAC. *Association of official analytical chemists (AOAC): official methods of analysis of official analytical chemists international*. 1995. Citado na página 26.
- APAK, R.; GÜÇLÜ, K.; DEMIRATA, B.; ÖZYÜREK, M.; ÇELİK, S. E.; BEKTAŞOĞLU, B.; BERKER, K. I.; ÖZYURT, D. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the cuprac assay. *Molecules*, Molecular Diversity Preservation International, v. 12, n. 7, p. 1496–1547, 2007. Citado na página 22.
- ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science & Technology*, Elsevier, v. 11, n. 11, p. 419–421, 2000. Citado na página 23.
- AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W.; WU, X.; PRIOR, R. L.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (sorghum bicolor) and sorghum products. *Journal of agricultural and food chemistry*, ACS Publications, v. 51, n. 23, p. 6657–6662, 2003. Citado na página 21.
- BACHMEIER, B. E.; MOHRENZ, I. V.; MIRISOLA, V.; SCHLEICHER, E.; ROMEO, F.; HÖHNEKE, C.; JOCHUM, M.; NERLICH, A. G.; PFEFFER, U. Curcumin downregulates the inflammatory cytokines cxcl1 and-2 in breast cancer cells via $\text{nf}\kappa\text{b}$. *Carcinogenesis*, Oxford Univ Press, v. 29, n. 4, p. 779–789, 2008. Citado na página 12.
- BALTAZAR, A. B. S. de *et al.* Uso de açafrão (curcuma longa l.) para controle de insetos em milho (zea mays l.) armazenado. Campinas, SP, 1994. Citado na página 17.
- BARANKEVICZ, G. B. *Poder antioxidante da cúrcuma (Curcuma longa L.) nos parâmetros neuroquímicos em ratos induzidos a depressão*. Tese (Doutorado) — Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2015. Citado 2 vezes nas páginas 12 e 31.
- BARCIA, M. T. *et al.* Study of phenolic compounds and antioxidant capacity of by-products from winemaking process=: Estudo dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante de subprodutos do processo de vinificação. Campinas, SP, 2014. Citado na página 18.
- BEGUM, A. N.; JONES, M. R.; LIM, G. P.; MORIHARA, T.; KIM, P.; HEATH, D. D.; ROCK, C. L.; PRUITT, M. A.; YANG, F.; HUDSPETH, B. *et al.* Curcumin structure-function, bioavailability, and efficacy in models of neuroinflammation and alzheimer’s disease. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, ASPET, v. 326, n. 1, p. 196–208, 2008. Citado na página 20.
- BENZIE, I. F.; STRAIN, J. The ferric reducing ability of plasma (frap) as a measure of “antioxidant power”: the frap assay. *Analytical biochemistry*, Elsevier, v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996. Citado na página 31.
- BERTO, A.; RIBEIRO, A. B.; SOUZA, N. E. de; FERNANDES, E.; CHISTÉ, R. C. Bioactive compounds and scavenging capacity of pulp, peel and seed extracts of the amazonian fruit quararibea cordata against ros and rns. *Food Research International*, Elsevier, v. 77, p. 236–243, 2015. Citado 2 vezes nas páginas 49 e 50.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, NRC Research Press, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959. Citado 2 vezes nas páginas 26 e 27.

BOROSKI, M.; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; MORAIS, D. R. de. Métodos para a determinação da capacidade antioxidante. p. 27–30, 2015. Citado na página 21.

BRAGA, M. E.; LEAL, P. F.; CARVALHO, J. E.; MEIRELES, M. A. A. Comparison of yield, composition, and antioxidant activity of turmeric (*curcuma longa* l.) extracts obtained using various techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, ACS Publications, v. 51, n. 22, p. 6604–6611, 2003. Citado na página 18.

BRAGA, M. E. M. *et al.* Obtenção de compostos bioativos de curcuma longa l. e lippia alba m. por tecnologia supercritica: rendimento global, cinetica de extração, composição química e aproveitamento do residuo amilaceo. Campinas, SP, 2005. Citado na página 17.

CADET, J.; DELATOUR, T.; DOUKI, T.; GASPARUTTO, D.; POUGET, J.-P.; RAVANAT, J.-L.; SAUVAIGO, S. Hydroxyl radicals and dna base damage. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, Elsevier, v. 424, n. 1, p. 9–21, 1999. Citado na página 25.

CANADANOVIC-BRUNET, J. M.; DJILAS, S. M.; CETKOVIC, G. S.; TUMBAS, V. T. Free-radical scavenging activity of wormwood (*artemisia absinthium* l) extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Wiley Online Library, v. 85, n. 2, p. 265–272, 2005. Citado na página 46.

CAO, G.; ALESSIO, H. M.; CUTLER, R. G. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free radical biology and medicine*, Elsevier, v. 14, n. 3, p. 303–311, 1993. Citado na página 21.

CARDOSO, S. P.; REIS, F. A. d.; MASSAPUST, F. C.; COSTA, J. d. F.; TEBALDI, L. S.; ARAÚJO, L. F. L. d.; SILVA, M. V. A. d.; OLIVEIRA, T. S. d.; GOMES, J. A. d. C. P.; HOLLAUER, E. Evaluation of common-use indicators as corrosion inhibitors. *Química Nova*, SciELO Brasil, v. 28, n. 5, p. 756–760, 2005. Citado na página 22.

CARNEIRO, D. M. *Ayurveda-Saúde e Longevidade na Tradição Milenar da Índia*. [S.l.]: Editora Pensamento, 2009. Citado na página 20.

CATANEO, C. B.; CALIARI, V.; GONZAGA, L. V.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. *Semina: Ciências Agrárias*, Universidade Estadual de Londrina, v. 29, n. 1, p. 93–102, 2008. Citado na página 46.

CHATGILIALOGLU, C.; O'NEILL, P. Free radicals associated with dna damage. *Experimental Gerontology*, Elsevier, v. 36, n. 9, p. 1459–1471, 2001. Citado na página 25.

CHATHA, S. A. S.; ANWAR, F.; MANZOOR, M. *et al.* Evaluation of the antioxidant activity of rice bran extracts using different antioxidant assays. *Grasas y aceites*, v. 57, n. 3, p. 328–335, 2006. Citado na página 46.

CHEN, C.; TANG, H.-R.; SUTCLIFFE, L. H.; BELTON, P. S. Green tea polyphenols react with 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radicals in the bilayer of liposomes: direct evidence from electron spin resonance studies. *Journal of agricultural and food chemistry*, ACS Publications, v. 48, n. 11, p. 5710–5714, 2000. Citado na página 22.

- CHISTÉ, R. C.; MERCADANTE, A. Z.; GOMES, A.; FERNANDES, E.; LIMA, J. L. F. da C.; BRAGAGNOLO, N. In vitro scavenging capacity of annatto seed extracts against reactive oxygen and nitrogen species. *Food Chemistry*, Elsevier, v. 127, n. 2, p. 419–426, 2011. Citado 4 vezes nas páginas 32, 33, 49 e 50.
- CHISTÉ, R. C. *et al.* Avaliação da extração de compostos bioativos com propriedades antioxidantes e corantes presentes em urucum e piquiá. Campinas, SP, 2011. Citado na página 49.
- CORSINI, M. da S.; JORGE, N.; MIGUEL, A. M. R. de O.; VICENTE, E. Perfil de ácidos graxos e avaliação da alteração em óleos de fritura. *Quim. Nova*, SciELO Brasil, v. 31, n. 5, p. 956–961, 2008. Citado na página 40.
- COSTA, N. M. B.; ROSA, C. d. O. B. *Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos*. [S.l.]: Editora Rubio, 2016. Citado na página 40.
- DALBY, A. *Dangerous tastes: the story of spices*. [S.l.]: Univ of California Press, 2000. Citado na página 12.
- DÁVALOS, A.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (orac- fluorescein) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, ACS Publications, v. 52, n. 1, p. 48–54, 2004. Citado na página 32.
- DRAETA, P. *Propriedades medicinais do açafrão da terra: Benefícios, preço e como usar*. 2015. <www.asplantasmedicinais.com/propriedades-medicinais-do-acafrão-da-terra-benefícios-preço-e-como-usar.html>, note = "[Online; acessado em 19-Julho-2016]". Citado na página 17.
- DUKE, J. Turmeric-the genus curcuma. medicinal and aromatic plants-industrial profiles volume 45. *Economic Botany*, BioOne, v. 61, n. 4, p. 397–398, 2007. Citado na página 15.
- FIB, F. I. B. *Os tipos e os efeitos das rancidez oxidativa em alimentos*. 2014. 38-45 p. <http://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060396904001464897555.pdf>, <http://revista-fi.com.br/edicoes/29/fib-edicao-29>, note = "[Online; acessado em 10-Novembro-2017]". Citado na página 18.
- FILHO, A. B. C. Época e densidade de plantio sobre a fenologia e o rendimento da cúrcuma (curcuma longa l.). *Lavras: Faculdade de Engenharia Agrícola*, 1996. Citado na página 15.
- FILHO, A. B. C.; SOUZA, R. J. de; BRAZ, L. T.; TAVARES, M. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. *Ciência Rural*, SciELO Brasil, v. 30, n. 1, 2000. Citado 3 vezes nas páginas 12, 15 e 17.
- FILHO, A. C.; BOAS, E. d. B. V. Efeito do tempo de armazenamento sobre a composição química da cúrcuma. In: SBCTA POÇOS DE CALDAS. *Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. [S.l.], 1996. v. 15, p. 124. Citado na página 35.
- GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z.; RAHMAT, A. Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (*zingiber officinale roscoe*) extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, Academic Journals, v. 5, n. 7, p. 1147–1154, 2011. Citado na página 46.

- GOEL, A.; KUNNUMAKKARA, A. B.; AGGARWAL, B. B. Curcumin as “curecumin”: from kitchen to clinic. *Biochemical pharmacology*, Elsevier, v. 75, n. 4, p. 787–809, 2008. Citado na página 20.
- HALLIWELL, B. How to characterize a biological antioxidant. *Free radical research communications*, Taylor & Francis, v. 9, n. 1, p. 1–32, 1990. Citado 2 vezes nas páginas 24 e 25.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. Oxygen is a toxic gas—an introduction to oxygen toxicity and reactive species. *Free radicals in biology and medicine*, Oxford University Press Oxford, p. 1–29, 2007. Citado 2 vezes nas páginas 20 e 21.
- HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, Elsevier, v. 55, n. 6, p. 481–504, 2000. Citado na página 18.
- HØSTMARK, A. T.; HAUG, A. Percentage oleic acid is inversely related to percentage arachidonic acid in total lipids of rat serum. *Lipids in health and disease*, BioMed Central, v. 12, n. 1, p. 40, 2013. Citado na página 40.
- HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, ACS Publications, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 2005. Citado 3 vezes nas páginas 22, 23 e 24.
- ISLAM, M. A. Genetic diversity of the genus curcuma in bangladesh and further biotechnological approaches for in vitro regeneration and long-term conservation of c. longa germplasm. *Univ. of Hannover*, p. 1–137, 2004. Citado 2 vezes nas páginas 16 e 18.
- JAYAPRAKASHA, G.; NEGI, P.; JENA, B.; RAO, L. J. M. Antioxidant and antimutagenic activities of cinnamomum zeylanicum fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, Elsevier, v. 20, n. 3, p. 330–336, 2007. Citado na página 21.
- JENKINS, R. R. Free radical chemistry. *Sports Medicine*, Springer, v. 5, n. 3, p. 156–170, 1988. Citado na página 25.
- JOSEPH, J.; ACKMAN, R. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: collaborative study. *Journal of AOAC International*, v. 75, n. 3, p. 488–506, 1992. Citado na página 27.
- KRAUSE, M. V.; MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. *Alimentos, nutrição e dietoterapia*. [S.l.]: Roca, 1998. Citado na página 40.
- KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology (Campinas)*, SciELO Brasil, v. 25, n. 4, p. 726–732, 2005. Citado na página 23.
- LAKO, J.; TRENERRY, V. C.; WAHLQVIST, M.; WATTANAPENPAIBOON, N.; SOTHEESWARAN, S.; PREMIER, R. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry*, Elsevier, v. 101, n. 4, p. 1727–1741, 2007. Citado na página 19.

- LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, SciELO Brasil, v. 22, n. 1, p. 65–69, 2002. Citado 2 vezes nas páginas 18 e 35.
- MADSEN, H. L.; BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, Elsevier, v. 6, n. 8, p. 271–277, 1995. Citado na página 12.
- MAIA, N.; BOVI, O. A.; DUARTE, F. R.; SORIA, L. G.; ALMEIDA, J. Influência de tipos de rizomas de multiplicação no crescimento de cúrcuma. *Bragantia*, v. 54, n. 1, p. 33–37, 1995. Citado na página 35.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, Am Soc Nutrition, v. 79, n. 5, p. 727–747, 2004. Citado na página 19.
- MARKHAM, K. R. *et al. Techniques of flavonoid identification*. [S.l.]: Academic press London, 1982. v. 31. Citado na página 20.
- MARTINS, M.; RUSIG, O. Cúrcuma: um corante natural. *Boletim SBCTA*, v. 26, n. 1, p. 53–65, 1992. Citado na página 16.
- MATOS, F. J. de A. *Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades*. [S.l.]: Editora UFC, 2002. Citado na página 17.
- MELO, E. de A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. da S.; JOSEFANASCIMENTO, R. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 26, n. 3, 2006. Citado na página 21.
- MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical science (London, England: 1979)*, v. 84, n. 4, p. 407–412, 1993. Citado na página 23.
- MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (dpph) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol*, v. 26, n. 2, p. 211–219, 2004. Citado na página 22.
- MOREIRA, A. V. B.; FILHO, J. M. Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva-doce em sistemas aquoso e lipídico. *Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr.*, v. 25, p. 31–46, 2003. Citado na página 16.
- NAGHETINI, C. da C. Caracterização físico-química e atividade antifúngica dos óleos essenciais da cúrcuma. UFMG, 2006. Citado na página 17.
- NEWALL, C. A. *Plantas medicinais: guia para profissional de saúde*. [S.l.]: Editorial Premier, 2002. Citado 2 vezes nas páginas 18 e 40.
- NIXDORF, S. L.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Brazilian red wines made from the hybrid grape cultivar isabel: Phenolic composition and antioxidant capacity. *Analytica Chimica Acta*, Elsevier, v. 659, n. 1, p. 208–215, 2010. Citado na página 46.
- OLDONI, T. L. C. *Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie Apis mellifera*. Tese (Doutorado) — Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, 2007. Citado na página 21.

- OMODE, A. A.; FATOKI, O. S.; OLAOGUN, K. Physicochemical properties of some underexploited and nonconventional oilseeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, American Chemical Society, v. 43, n. 11, p. 2850–2853, 1995. Citado na página 40.
- ORSOLIN, P. C.; NEPOMUCENO, J. C. Potencial carcinogênico do açafrão (*curcuma longa* L.) identificado por meio do teste para detecção de clones de tumor em *Drosophila melanogaster*. *Rev N Int Pesq Ext UNIPAM*, v. 6, p. 55–69, 2009. Citado 2 vezes nas páginas 15 e 16.
- OSAWA, C. C.; GONÇALVES, L. A.; RAGAZZI, S. *et al.* Titulação potenciométrica aplicada na determinação de ácidos graxos livres de óleos e gorduras comestíveis. *Química Nova*, Sociedade Brasileira de Química, 2006. Citado na página 18.
- OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of agricultural and food chemistry*, ACS Publications, v. 49, n. 10, p. 4619–4626, 2001. Citado na página 21.
- PAZ, S. *O poder da curcumina na prevenção e tratamento de doenças*. 2013. <<http://saudealternativaa.blogspot.com.br/2013/12/o-poder-da-curcumina-na-prevencao-e.html>>, note = "[Online; acessado em 12-fevereiro-2017]". Citado na página 21.
- PICCINELLI, A. L.; SIMONE, F. D.; PASSI, S.; RASTRELLI, L. Phenolic constituents and antioxidant activity of *wendita calysina* leaves (burrito), a folk paraguayan tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, ACS Publications, v. 52, n. 19, p. 5863–5868, 2004. Citado na página 23.
- PINELO, M.; RUBILAR, M.; SINEIRO, J.; NUNEZ, M. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*prunus amygdalus*) and pine sawdust (*pinus pinaster*). *Food Chemistry*, Elsevier, v. 85, n. 2, p. 267–273, 2004. Citado na página 46.
- PISTÓN, M.; MACHADO, I.; BRANCO, C. S.; CESIO, V.; HEINZEN, H.; RIBEIRO, D.; FERNANDES, E.; CHISTÉ, R. C.; FREITAS, M. Infusion, decoction and hydroalcoholic extracts of leaves from artichoke (*cynara cardunculus* L. subsp. *cardunculus*) are effective scavengers of physiologically relevant ROS and RNS. *Food research international*, Elsevier, v. 64, p. 150–156, 2014. Citado na página 50.
- PRIOR, R. L.; CAO, G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods 1. *Free Radical Biology and Medicine*, Elsevier, v. 27, n. 11, p. 1173–1181, 1999. Citado na página 21.
- PRYOR, W. A. Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes, and reactions. *Annual review of Physiology*, Annual Reviews 4139 El Camino Way, PO Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA, v. 48, n. 1, p. 657–667, 1986. Citado na página 24.
- RAVINDRAN, P.; BABU, K. N.; SIVARAMAN, K. *Turmeric: the genus Curcuma*. [S.l.]: CRC Press, 2007. Citado na página 15.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation

decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, Elsevier, v. 26, n. 9, p. 1231–1237, 1999. Citado 2 vezes nas páginas 23 e 31.

RESOLUÇÃO, R. nº 360, de 23 de dezembro de 2003. *Aprova o regulamento técnico sobre informação nutricional*. *Diário Oficial da União*, v. 23, 2003. Citado 2 vezes nas páginas 26 e 27.

REZK, B. M.; HAENEN, G. R.; VIJGH, W. J. van der; BAST, A. Lipoic acid protects efficiently only against a specific form of peroxy-nitrite-induced damage. *Journal of Biological Chemistry*, ASBMB, v. 279, n. 11, p. 9693–9697, 2004. Citado na página 32.

RIBEIRO, A. B.; BERTO, A.; CHISTÉ, R. C.; FREITAS, M.; VISENTAINER, J. V.; FERNANDES, E. Bioactive compounds and scavenging capacity of extracts from different parts of *vismia cauliflora* against reactive oxygen and nitrogen species. *Pharmaceutical biology*, Taylor & Francis, v. 53, n. 9, p. 1267–1276, 2015. Citado 2 vezes nas páginas 49 e 50.

RICE-EVANS, C. Flavonoids and isoflavones: absorption, metabolism, and bioactivity. *Free Radical Biology and Medicine*, Pergamon, v. 36, n. 7, p. 827–828, 2004. Citado na página 19.

RICHMOND, R.; POMBO-VILLAR, E. Gas chromatography-mass spectrometry coupled with pseudo-sadtler retention indices, for the identification of components in the essential oil of *curcuma longa* l. *Journal of Chromatography A*, Elsevier, v. 760, n. 2, p. 303–308, 1997. Citado na página 18.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P. D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food chemistry*, Elsevier, v. 66, n. 4, p. 401–436, 1999. Citado na página 20.

ROSSI, L.; MAZZITELLI, S.; ARCIELLO, M.; CAPO, C.; ROTILIO, G. Benefits from dietary polyphenols for brain aging and alzheimer's disease. *Neurochemical research*, Springer, v. 33, n. 12, p. 2390–2400, 2008. Citado na página 20.

RUBERTO, G.; BARATTA, M. T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food chemistry*, Elsevier, v. 69, n. 2, p. 167–174, 2000. Citado na página 20.

RUFINO, M.; ALVES, R.; BRITO, E. de; FILHO, J. M.; MOREIRA, A. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema beta-caroteno/ácido linoléico. *Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*, Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006., 2006. Citado na página 19.

SAGDIC, O. Sensitivity of four pathogenic bacteria to turkish thyme and oregano hydrosols. *LWT-Food Science and Technology*, Elsevier, v. 36, n. 5, p. 467–473, 2003. Citado na página 12.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, Sage Publications Sage UK: London, England, v. 8, n. 3, p. 121–137, 2002. Citado na página 18.

- SANTOS, M.; MELO, M.; JACOME, D.; FERREIRA, K.; HABERMEHL, G. Avaliação das lesões locais de cães envenenados experimentalmente com *bothrops alternatus* após diferentes tratamentos. *Arq. bras. med. vet. zootec*, v. 55, n. 5, p. 639–644, 2003. Citado na página 16.
- SANTOS, M. A. I.; SIMÃO, A. A.; MARQUES, T. R.; SACKZ, A. A.; CORRÊA, A. D. Efeito de diferentes métodos de extração sobre a atividade antioxidante e o perfil de compostos fenólicos da folha de mandioca/effect of different extraction methods on the antioxidant activity and phenolic compounds profile of cassava leaf. *Brazilian Journal of Food Technology*, Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), v. 19, p. 1, 2016. Citado na página 19.
- SASIKUMAR, B. Genetic resources of curcuma: diversity, characterization and utilization. *Plant Genetic Resources: characterization and utilization*, Cambridge Univ Press, v. 3, n. 02, p. 230–251, 2005. Citado na página 15.
- SHOBANA, S.; NAIDU, K. A. Antioxidant activity of selected indian spices. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)*, Elsevier, v. 62, n. 2, p. 107–110, 2000. Citado na página 16.
- SIGRIST, M. S. *Divergência genética em Curcuma longa L. utilizando marcadores microsatélites e agromorfológicos*. Tese (Doutorado) — São Paulo (Estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Instituto Agrônômico (IAC), 2009. Citado na página 16.
- SILVA, F.; PINTAO, A. A verdade sobre o açafrão. In: *Workshop Plantas Mediciniais e*. [S.l.: s.n.], 2008. Citado 3 vezes nas páginas 13, 15 e 16.
- SILVA, F. A.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*, SciELO Brasil, v. 22, n. 1, p. 94–103, 1999. Citado na página 23.
- SINGLETON, V.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, Am Soc Enol Viticulture, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965. Citado na página 19.
- SOUZA, C. R.; GLÓRIA, M. B. A. Chemical analysis of turmeric from minas gerais, brazil and comparison of methods for flavour free oleoresin. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, SciELO Brasil, v. 41, n. 2, p. 0–0, 1998. Citado na página 35.
- SPIGNO, G.; FAVERI, D. M. D. Antioxidants from grape stalks and marc: Influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. *Journal of Food Engineering*, Elsevier, v. 78, n. 3, p. 793–801, 2007. Citado na página 46.
- STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBAN, V. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. *Journal of agricultural and food chemistry*, ACS Publications, v. 54, n. 3, p. 607–616, 2006. Citado na página 23.
- STUPPIELLO, B. *Açafrão-da-terra é aliado do cérebro e ajuda na perda de peso*. [S.l.]: Portal de saúde e bem estar - minha vida, 2017. <<http://www.minhavidacom.br/alimentacao/tudo-sobre/18799-acafrao-da-terra>>. [Online. acessado em 21-Novembro-2017]. Citado na página 16.

- SUETH-SANTIAGO, V.; MENDES-SILVA, G. P.; DECOTÉ-RICARDO, D.; LIMA, M. E. F. de. CURCUMIN, THE GOLDEN POWDER FROM TURMERIC: INSIGHTS INTO CHEMICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITIES. *Química Nova*, GN1 Genesis Network, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.5935%2F0100-4042.20150035>>. Citado 2 vezes nas páginas 12 e 13.
- SUHAIJ, M. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food composition and Analysis*, Elsevier, v. 19, n. 6, p. 531–537, 2006. Citado 2 vezes nas páginas 16 e 46.
- SURVESWARAN, S.; CAI, Y.-Z.; CORKE, H.; SUN, M. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 indian medicinal plants. *Food Chemistry*, Elsevier, v. 102, n. 3, p. 938–953, 2007. Citado na página 23.
- SZABO, M.; IDIŤOIU, C.; CHAMBRE, D.; LUPEA, A. Improved dpph determination for antioxidant activity spectrophotometric assay. *Chemical Papers*, v. 61, n. 3, p. 214–216, 2007. Citado na página 22.
- TIVERON, A. P. *Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil*. Tese (Doutorado) — Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2010. Citado 2 vezes nas páginas 19 e 47.
- TIVERON, A. P.; MELO, P. S.; BERGAMASCHI, K. B.; VIEIRA, T. M.; REGITANO-D’ARCE, M. A.; ALENCAR, S. M. Antioxidant activity of brazilian vegetables and its relation with phenolic composition. *International journal of molecular sciences*, Molecular Diversity Preservation International, v. 13, n. 7, p. 8943–8957, 2012. Citado na página 47.
- VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, Elsevier, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007. Citado na página 24.
- VALKO, M.; RHODES, C.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, Elsevier, v. 160, n. 1, p. 1–40, 2006. Citado na página 24.
- VALSTA, L. M.; JAUHAINEN, M.; ARO, A.; KATAN, M. B.; MUTANEN, M. Effects of a monounsaturated rapeseed oil and a polyunsaturated sunflower oil diet on lipoprotein levels in humans. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, Am Heart Assoc, v. 12, n. 1, p. 50–57, 1992. Citado na página 40.
- VANNUCCHI, H.; MENEZES, E. W. d.; CAMPANA, A. O.; LAJOLO, F. M. Aplicações das recomendações nutricionais adaptadas à população brasileira. In: *SBAN. Cadernos de Nutrição*. [S.l.]: Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 1990. v. 2. Citado na página 40.
- VÁZQUEZ, G.; FONTENLA, E.; SANTOS, J.; FREIRE, M.; GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, J.; ANTORRENA, G. Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*castanea sativa*) shell and eucalyptus (*eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial crops and products*, Elsevier, v. 28, n. 3, p. 279–285, 2008. Citado na página 19.

- VILELA, C. A. A.; ARTUR, P. O. Secagem do açafrão (*curcuma longa* l.) em diferentes cortes geométricos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, SciELO Brasil, v. 28, n. 2, p. 387–394, 2008. Citado 2 vezes nas páginas 12 e 15.
- VISENTAINER, J. V. Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. *Química Nova*, v. 35, n. 2, p. 274–279, 2012. Citado na página 28.
- VISENTAINER, J. V.; FRANCO, M. R. B. *Ácidos graxos em óleos e gorduras: identificação e quantificação*. [S.l.]: Varela, 2006. Citado na página 27.
- WALKER, C. G.; JEBB, S. A.; CALDER, P. C. Stearidonic acid as a supplemental source of ω -3 polyunsaturated fatty acids to enhance status for improved human health. *Nutrition*, Elsevier, v. 29, n. 2, p. 363–369, 2013. Citado na página 40.
- WINTERBOURN, C. C. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nature chemical biology*, Nature Publishing Group, v. 4, n. 5, p. 278–286, 2008. Citado na página 24.
- WISEMAN, S. A.; BOOM, M. A. V. D.; FOUW, N. J. D.; WASSINK, M. G.; KAMP, J. A. O. D.; TIJBURG, L. B. Comparison of the effects of dietary vitamin e on in vivo and in vitro parameters of lipid peroxidation in the rabbit. *Free Radical Biology and Medicine*, Elsevier, v. 19, n. 5, p. 617–626, 1995. Citado na página 25.
- ZHANG, J.; JINNAI, S.; IKEDA, R.; WADA, M.; HAYASHIDA, S.; NAKASHIMA, K. A simple hplc-fluorescence method for quantitation of curcuminoids and its application to turmeric products. *Analytical Sciences*, v. 25, n. 3, p. 385–388, 2009. Citado 2 vezes nas páginas 15 e 16.
- ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, Elsevier, v. 64, n. 4, p. 555–559, 1999. Citado na página 29.