



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS

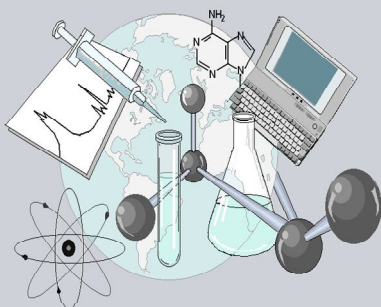
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Caracterização das partes da alcachofra e efeito dos seus
antioxidantes no óleo de canola**

Dissertação apresentada por
Thiago Claus ao Programa de Pós-
Graduação em Química do
Departamento de Química do Centro
de Ciências Exatas da Universidade
Estadual de Maringá como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Mestre em Química.

CEE



**Centro de
Ciências Exatas**

MARINGÁ, MARÇO/2013



Universidade Estadual de Maringá

Centro de Ciências Exatas
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

Este é o exemplar definitivo da Dissertação apresentada por **Thiago Claus**, perante a Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Química em 27 de março de 2013.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dr. Jesuí Vergílio Visentainer
Presidente - DQI/UEM

Prof. Dr. Makoto Matsushita
Membro - DQI/UEM

Prof. Dr. Cesar Ricardo Teixeira Tarley
Membro - UEL

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**“CARACTERIZAÇÃO DAS PARTES DA ALCACHOFRA E
EFEITO DOS SEUS ANTIOXIDANTES NO ÓLEO DE
CANOLA”**

Dissertação apresentada por
Thiago Claus ao Programa de
Pós-Graduação em Química do
Departamento de Química do
Centro de Ciências Exatas da
Universidade Estadual de
Maringá como parte dos
requisitos para a obtenção do
título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Jesuí Vergílio Visentainer

Maringá, Março/2013

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central – UEM, Maringá – PR., Brasil)

C616c	<p>Claus, Thiago Caracterização das partes da alcachofra e efeito dos seus antioxidantes no óleo de canola / Thiago Claus. -- Maringá, 2013. 55 f. : il.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Jesuí Vergílio Visentainer. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, 2013.</p> <p>1. Alcachofra - Compostos fenólicos. 2. Alcachofra - Capacidade antioxidante. 3. DPPH. 4. QUENCHER. 5. Oxitest. 6. Óleo de canola. I. Visentainer, Jesuí Vergílio, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Exatas. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.</p> <p>CDD 21.ed. 547.77</p>
-------	--

*Dedico este trabalho aos meus pais, Paulo e Denise,
por investirem na minha educação.*

AGRADECIMENTOS

À Paulo, Denise, Ariany e demais familiares, por estarem comigo desde o início e por serem responsáveis pelas lágrimas e pelo filme que passa em minha cabeça enquanto escrevo.

À Vânia, minha fonte de esforço e dedicação.

Ao Prof. Dr. Jesuí que confiou a mim sua orientação e permitiu que nossa amizade fosse além das portas do laboratório.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Maringá, que me proporcionou o acesso à Graduação e ao Mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsas durante Mestrado.

À Cocamar – Cooperativa Agroindustrial de Maringá por ter cedido gentilmente amostras de óleo de canola.

Ao Prof. Dr. Makoto Matsushita por ser um amigo sempre prestativo.

À André e Airton, técnicos de laboratório que sempre prestaram auxílio e a Dirceu (*in memoriam*) pelas boas lembranças guardadas no coração.

Aos meus amigos Swami, Sylvio, Paula, Elton, Oscar, Joana, Bia e Fabiana por estarem comigo dentro e fora do laboratório.

Aos grupos Cromalimentos e Aple-A pela parceria e ajuda nos trabalhos desenvolvidos.

Às pessoas, não citadas (seriam muitas páginas), que fizeram parte da minha vida acadêmica.

“A imaginação é mais importante que o conhecimento.”

Albert Einstein

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	8
LISTA DE TABELAS.....	9
LISTA DE ABREVIACOES.....	10
RESUMO.....	12
PALAVRAS-CHAVE.....	12
ABSTRACT.....	13
KEYWORDS.....	13
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 A alcachofra.....	14
2.2 O leo de canola e a oxidação lipídica.....	17
2.3 Compostos fenólicos e antioxidantes.....	20
2.3.1 Métodos analíticos para antioxidantes.....	22
3. OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo geral.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1 Amostragem.....	24
4.2 Composição físico-química.....	26

4.2.1 Umidade e cinzas.....	26
4.2.2 Proteína bruta.....	26
4.2.3 Fibra bruta.....	27
4.2.4 Lipídios totais.....	27
4.3 Análise cromatográfica.....	27
4.4 Extração dos antioxidantes.....	29
4.4.1 Extrato etanólico.....	29
4.4.2 Extrato metanólico.....	29
4.4.3 Extrato aquoso.....	29
4.5 Fenólicos totais.....	30
4.6 Capacidade antioxidante determinada por DPPH para os extratos.....	30
4.7 Capacidade antioxidante determinada por DPPH para as amostras secas em estufa.....	31
4.8 Oxitest.....	32
4.9 Identificação e quantificação dos compostos fenólicos por CLAE.....	33
4.10 Análise estatística.....	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
6. CONCLUSÕES.....	45
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema das reações de oxidação lipídica.....	19
Figura 2. Estrutura dos antioxidantes sintéticos mais usados nas indústrias...	22
Figura 3. Partes da alcachofra: brácteas, caule, coração e espinhos.....	25
Figura 4. Cromatograma dos compostos fenólicos das brácteas da alcachofra.....	44
Figura 5. Cromatograma dos compostos fenólicos do coração da alcachofra.	44
Figura 6. Cromatograma dos compostos fenólicos dos espinhos da alcachofra.....	45
Figura 7. Cromatograma dos compostos fenólicos do caule da alcachofra.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Rendimento das partes da alcachofra.....	34
Tabela 2. Composição centesimal das partes da alcachofra “in natura”.....	35
Tabela 3. Composição centesimal das partes da alcachofra seca em estufa...36	
Tabela 4. Quantificação de ácidos graxos ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) para as partes da alcachofra “in natura”.....	37
Tabela 5. Quantificação de ácidos graxos ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) para as partes da alcachofra seca em estufa.....	38
Tabela 6. Conteúdo de fenólicos totais e capacidade antioxidante dos extratos metanólico (EM), etanólico (EE) e aquoso (EA) e capacidade antioxidante pelo método direto para as partes da alcachofra.....	39
Tabela 7. Tempos de indução para as análises de rancificação do óleo de canola.....	41
Tabela 8. Coeficientes de correlação (R) entre os resultados das análises aplicadas.....	42
Tabela 9. Quantificação dos compostos fenólicos do extrato metanólico das partes da alcachofra seca em estufa.....	43

LISTA DE ABREVIações

AG – Ácidos graxos

AGI – Ácidos graxos insaturados

AGMI – Ácidos graxos monoinsaturados

AGPI – Ácidos graxos poli-insaturados

AGS – Ácidos graxos saturados

BHA – Butil-hidroxianisol

BHT – Butil-hidroxitolueno

CG – Cromatografia em fase gasosa

CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência

DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazila

EA – Extrato aquoso

EAG – Equivalente de ácido gálico

EE – Extrato etanólico

EM – Extrato metanólico

ET – Equivalente de Trolox

HCl – Ácido clorídrico

FT – Fenólicos totais

LA – Ácido linoleico

LNA – Ácido alfa-linolênico

PG – Galato de propila

QUENCHER – Quick, Easy, New, Cheap, Reproducible

TBHQ – Terc-butil-hidroquinona

Trolox - Ácido (\pm)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico

UV – Ultra-violeta

RESUMO

A adição de antioxidantes sintéticos em alimentos está em desuso por apresentar riscos à saúde, assim, há um aumento na busca por antioxidantes provenientes de fontes naturais. A alcachofra brasileira, pouco estudada e relatada em artigos científicos, é explorada neste trabalho com o objetivo de investigar a composição físico-química (umidade, cinzas, proteínas, fibra bruta e ácidos graxos), a capacidade antioxidante (fenólicos totais, DPPH, QUENCHER e quantificação dos compostos fenólicos por CLAE) de cada parte “in natura” e seca em estufa separadamente e aplicar os antioxidantes provenientes da alcachofra em um composto de óleo de canola. A quantificação dos principais compostos antioxidantes por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) permitiu desvendar quais substâncias são responsáveis pela capacidade antioxidante de cada parte da alcachofra. Os espinhos, parte não comestível da alcachofra e descartados como subprodutos, apresentou a maior capacidade antioxidante da planta e, os resultados do Oxitest, permitiram concluir que são muito eficientes na proteção de óleo de canola contra a oxidação lipídica, sendo assim, uma rica fonte de antioxidantes naturais.

Palavras-chave: compostos fenólicos, capacidade antioxidante, DPPH, QUENCHER, Oxitest, óleo de canola.

ABSTRACT

The addition of synthetic antioxidant compounds in foods is in disuse due to health concerns. Thus, the search for antioxidants from natural sources has been increasing. The Brazilian artichoke, underexplored from the scientific point of view, is investigated in this work with the objective of determine the physicochemical composition (moisture, ash, crude protein and fatty acids) and antioxidant capacity (total phenolics, DPPH, QUENCHER and quantification of phenolic compounds through high pressure liquid chromatography (HPLC)) of every "in natura" and dried in laboratory oven artichoke part, and apply these parts in an compounds made with canola oil. The quantification of main antioxidant compounds through HPLC allowed discovering of which substances are responsible by the total antioxidant capacity of each artichoke part. Spikes, a inedible part of artichoke which is discarded as sub product, showed the greatest antioxidant capacity among the other parts and the oxitest results allowed to conclude that spikes are very efficient in the protection of canola oil against lipidic oxidation. Therefore, it is a rich source of natural antioxidant compounds.

Keywords: phenolic compounds, antioxidant capacity, DPPH, QUENCHER, Oxitest, canola oil.

1. Introdução

As hortaliças e seus resíduos vegetais possuem alto teor de substâncias que promovem a saúde como as vitaminas, os sais minerais e outros componentes bioativos. Evidências epidemiológicas apresentam correlações entre o consumo regular de hortaliças e a baixa incidência de doenças degenerativas. O efeito protetor exercido por estes alimentos tem sido atribuído à presença de compostos antioxidantes, dentre as quais se destacam os compostos fenólicos e as vitaminas (Peschel *et al.*, 2006; Melo *et al.*, 2006). Um grande número de vegetais, frutas, temperos e especiarias têm sido estudadas como fonte de antioxidantes naturais (Dimitrios, 2006).

Apesar do grande número de trabalhos realizados, muitos alimentos ainda não foram estudados, principalmente quando se trata de plantas de cultivo e consumo limitados a determinadas regiões, que não são conhecidas por grande parte da população. Desta forma a avaliação dos alimentos pode oferecer muitos benefícios na promoção da saúde (Pereira *et al.*, 2009).

2. Revisão bibliográfica

2.1 A alcachofra

A alcachofra [*Cynara cardunculus* var. *scolymus* (L.) Fiori] é originária do sul da Europa em torno da região Mediterrânea e pertence à família das asteráceas, assim como o girassol e a margarida (Lombardo *et al.*, 2010). Na Itália, representa a colheita hortícola mais importante, seguida pelo tomate e

pela batata (Fратиanni *et al.*, 2007). No ano de 2010 sua produção girou em torno de 480 mil toneladas e isso fez com que o país ocupasse o primeiro lugar no ranking mundial de produtividade. O segundo maior produtor mundial é a Espanha com 167 mil toneladas e o terceiro é a França com uma produtividade de 42 mil toneladas. Esses três países juntos são responsáveis por 90% do total da área plantada no mundo (Saez *et al.*, 2012).

Trazida para o Brasil no início do século XX por imigrantes italianos, hoje, a alcachofra é produzida principalmente nos estados de São Paulo e Rio Grande do Sul. Por produzir flores o ano todo, a cidade de Piedade-SP é considerada a maior produtora de alcachofras do Brasil atingindo uma marca de 700 mil caixas por ano e empregando 22 famílias de agricultores (Di Giulio, 2004).

A alcachofra é conhecida por suas propriedades nutricionais e nutraceuticas. Dentre a vasta gama de compostos que possuem propriedade benéfica para o organismo, destacam-se os ácidos fenólicos, os flavonóides e os sesquiterpenos, responsáveis pela atividade antioxidante. Estudos demonstram que estas substâncias com capacidade antioxidante são responsáveis por proteger o organismo, prevenir e combater doenças (Ferracane *et al.*, 2008). Os principais componentes com capacidade antioxidante da alcachofra são os ácidos cafeoilquínicos e, a cinarina (ácido 1,3-O-dicafeoilquínico) ocupa um lugar de destaque, relatada sempre como o principal bioativo da planta, apresentando atividade hipolipidêmica, hepatoprotetora, colerética e colagoga (Noldin *et al.*, 2003; Lattanzio *et al.*, 2009).

As alcachofras plantadas no Brasil possuem uma característica que as diferenciam das demais, no período de maturação, os agricultores envolvem as cabeças das alcachofras com papel, que podem ser folhas de jornal ou algo similar, uma a uma. Esta tradição serve para que sejam protegidas da chuva, de doenças e da aplicação de agrotóxicos, melhorando muito a qualidade do produto final para consumo. Outro fator que muda com esta prática é o fato das alcachofras adquirirem uma coloração roxa que, segundo os cultivadores, melhora seu aspecto visual, deixando-as mais atraentes enquanto estiverem expostas para a venda (Di Giulio, 2004).

Cabe ressaltar que o consumo de alcachofra no Brasil é baixo quando comparado com os países europeus. Como consequência da baixa demanda, os custos de produção e de venda tornam-se elevados e assim, menos acessível para o consumo. Uma maneira que os empresários do ramo encontraram para aumentar suas vendas é o processamento das partes comestíveis da alcachofra e a comercialização em vidros de conserva. Porém, uma alta quantidade de co-produtos é formada e muitas vezes, seu uso é descartado.

Estudos envolvendo a alcachofra brasileira são raros, resultando na falta de conhecimento sobre o produto que temos no país e um ciclo de baixo investimento e consumo é estabelecido, acarretando em altos preços cobrados para compensar a baixa demanda.

2.2 O óleo de Canola e a oxidação lipídica

Conhecer a composição em ácidos graxos em alimentos é muito importante. Estudos realizados defendem a necessidade do consumo de ácidos graxos benéficos ao organismo humano, principalmente os poli-insaturados das famílias ômega-3 e ômega-6. O ácido linoleico (LA, 18:2n-6) e alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3), são exemplos de ácidos graxos poli-insaturados das famílias ômega-3 e ômega-6, respectivamente, e são chamados de essenciais por não poderem ser sintetizados pelo organismo humano e assim, devem ser adquiridos por meio da dieta (Luzia *et al.*, 2010).

Conhecido e utilizado na cozinha de vários países, o óleo de canola é o terceiro óleo vegetal mais produzido e consumido no mundo (Rowghani *et al.*, 2007). Sua composição é de 7,3% de ácidos graxos saturados, 66,9% de ácidos graxos monoinsaturados e de 25,8% de ácidos graxos poli-insaturados (Huang *et al.*, 2008).

Devido à alta quantidade de ácidos graxos insaturados presentes neste óleo vegetal, compostos que tem a característica de oxidar facilmente, é necessário adicionar compostos antioxidantes para que os proteja dos mecanismos de oxidação lipídica, procedimento comum não só em óleo de canola, mas para qualquer tipo de óleo, comestível ou não (Ramalho e Jorge, 2006).

A oxidação lipídica é um processo degradativo que ocorre quando o oxigênio atmosférico ou aquele que está dissolvido no óleo reage com ácidos graxos insaturados presentes no mesmo. As reações químicas envolvidas no processo de oxidação dos óleos são muito complexas e geram, em seus

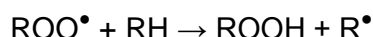
estágios mais avançados, produtos tóxicos e sensorialmente inaceitáveis, como os aldeídos e as cetonas (Lima e Gonçalves, 1995; Corsini e Jorge, 2006).

Os lipídios podem ser oxidados por diferentes mecanismos, químicos ou enzimáticos. Dentre os mais comuns estão as reações de auto-oxidação, as reações hidrolíticas, a oxidação enzimática e a fotoxidação (Ramalho e Jorge, 2006).

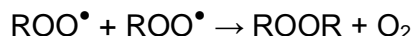
As reações de auto-oxidação, citadas como o principal mecanismo de degradação de óleos, é um processo químico baseado em três etapas sucessivas. A primeira etapa, conhecida como etapa de iniciação, consiste na quebra da ligação carbono-hidrogênio adjacente à dupla ligação da cadeia carbônica do ácido graxo formando espécies radicalares, podendo ser catalisada por metais e/ou metaloproteínas, bem como por fontes de luz e calor (Juita *et al.*, 2011). Na segunda etapa, ou etapa de propagação, o radical lipídico reage com o oxigênio atmosférico originando o radical alquilperóxil. Este por sua vez, ataca outra insaturação de ácido graxo, levando à formação de um alquilhidroperóxido e de um novo radical lipídico. Os radicais livres produzidos, nesta etapa, atuam como propagadores da reação, resultando em um processo autocatalítico (Hoac *et al.*, 2006). Na última etapa, a terminação, os radicais livres reagem uns com os outros, originando os produtos estáveis da oxidação secundária, como os álcoois, as cetonas, os aldeídos, os ácidos, os epóxidos e os hidrocarbonetos, que são produzidos pela clivagem e pelo rearranjo de alquilperóxidos (Espín *et al.*, 2000). O esquema das reações é descrito, resumidamente, na figura 1:

Iniciação: $RH \rightarrow R^\bullet + H^\bullet$

Propagação: $R^\bullet + O_2 \rightarrow ROO^\bullet$



Terminação: $ROO^\bullet + R^\bullet \rightarrow ROOR$



Onde RH é o ácido graxo insaturado, R^\bullet é o radical livre, ROO^\bullet é o radical peróxido e ROOH é um hidroperóxido.

Figura 1. Esquema das reações de oxidação lipídica

As reações de auto-oxidação apresentam normalmente um período de indução, que é o período durante o qual pouca mudança ocorre nos lipídios. Após o término do período de indução, a deterioração oxidativa dos lipídios ocorre mais rapidamente. A presença de pró-oxidantes pode diminuir o período de indução, enquanto o uso de antioxidantes o aumenta (Verardo *et al.*, 2012).

As reações hidrolíticas são catalisadas pelas enzimas lipases ou pela ação de calor e umidade, com formação de ácidos graxos livres.

A oxidação enzimática ocorre pela ação das enzimas lipoxigenases que atuam sobre os ácidos graxos poli-insaturados, catalisando a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonada poli-insaturada. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas que podem envolver-se em diferentes reações degradativas (Silva *et al.*, 1999).

A Fotoxidação é promovida essencialmente pela radiação UV em presença de fotossensibilizadores (clorofila, mioglobina, riboflavina etc) que absorvem a energia luminosa de comprimento de onda na faixa do visível e a transferem para o oxigênio tripleto (3O_2), gerando o estado singleto (1O_2). O

oxigênio singlete reage diretamente com as ligações duplas por adição formando hidroperóxidos diferentes dos que se observam na ausência de luz e de sensibilizadores, e que por degradação posterior originam aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (Choe e Min, 2006).

Para evitar a degradação de óleos e gorduras há necessidade de diminuir a incidência de todos os fatores que a favorecem, mantendo ao mínimo os níveis de energia provenientes de fontes de calor e luz, que são responsáveis pelo desencadeamento do processo de formação de radicais livres, inibindo a presença de traços de metais no óleo, evitando ao máximo o contato com oxigênio e bloqueando a formação de radicais livres por meio de antioxidantes, os quais, em pequenas quantidades, atuam interferindo nos processos de oxidação de lipídios (Chen *et al.*, 2001; Benedet *et al.*, 2008).

2.3 Compostos fenólicos e antioxidantes

Os compostos fenólicos são responsáveis pelo crescimento e germinação das plantas, protegem-nas contra infecções e agressões de microrganismos e servem como filtros de radiação UV, além disso, contribuem com o aroma, adstringência e cor das mesmas (Naczki e Shahidi, 2004).

Quimicamente, os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem no mínimo um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos. Além da função hidroxila, podem estar presentes outros grupos funcionais, como ésteres e glicosídeos (Escarpa e Gonzales, 2001).

Os antioxidantes, como em sua maioria se tratam de compostos fenólicos, dentre outras funções, são empregados para inibir ou retardar a

oxidação lipídica de óleos e gorduras (Ramalho e Jorge, 2006). São classificados em dois grupos, os primários que são capazes de interromper a cadeia de radicais, cedendo hidrogênio a um radical lipídico livre e assumindo a forma de radical estável, e os secundários, que reduzem o processo de iniciação, utilizando agentes quelantes de metais (Naczki e Shahidi, 2004).

As indústrias empregam antioxidantes sintéticos para evitar a degradação de óleos, pois são muito eficientes e de baixo custo. Os mais utilizados são o butil-hidroxianisol (BHA), o butil-hidroxitolueno (BHT), o galato de propila (PG), e o terc-butil-hidroquinona (TBHQ) (Figura 2). Porém, o limite máximo estabelecido é de 0,02% da composição lipídica do alimento e, como em alguns casos esta quantidade não é suficiente para estabilizar um alimento, as empresas fazem um *mix* de antioxidantes sintéticos para não extrapolar o limite individual estabelecido. Pesquisadores têm discutido os benefícios da utilização destes aditivos em alimentos e seus efeitos negativos para a saúde humana (Dolatabadi e Kashanian, 2010). Como é inviável as indústrias produzirem alimentos sem adição de antioxidantes e tendo em vista os indícios de problemas que podem ser provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, pesquisas têm sido dirigidas no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles, com o intuito de diminuir sua quantidade nos alimentos (Arabshahi-Delouee e Urooj, 2007).

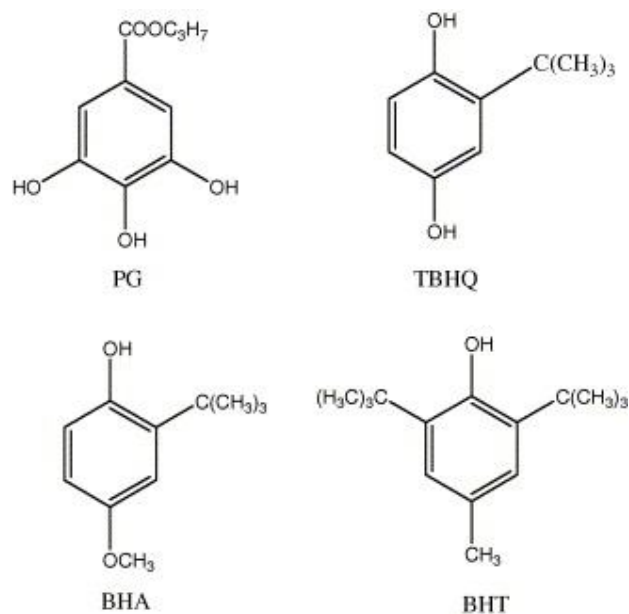


Figura 2. Estrutura dos antioxidantes sintéticos mais usados nas indústrias

2.3.1 Métodos analíticos para antioxidantes

Diferentes métodos analíticos para antioxidantes foram desenvolvidos e são amplamente utilizados por pesquisadores de todo o mundo. A grande motivação para a busca de metodologias usuais de determinação de capacidade antioxidante ou de quantificação de antioxidantes específicos em matrizes complexas, quando trata-se de extratos vegetais, frutas e alimentos em geral, pode ser justificada pela relevância comercial e farmacológica destas substâncias (Palanisamy *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2005).

Dentre as metodologias aplicadas para análise de antioxidantes “in vitro”, existem aquelas que determinam a capacidade antioxidante da amostra, podendo citar como exemplo o DPPH (Nsimba *et al.*, 2008). Outras que determinam o conteúdo de uma classe de antioxidantes, como exemplo a análise de fenólicos totais (Singleton e Rossi, 1965) e também aquelas que

identificam e quantificam espécies individuais, por exemplo a aplicação da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando o método de comparação dos pontos de retenção e o espectro de absorção no UV-vis com padrões certificados (Rijke *et al.*, 2006).

As análises “in vitro” tem caráter de utilização preliminar e permitem obter informações sobre a capacidade antioxidante de alimentos mesmo antes de serem testadas em seres vivos.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

- Determinar a composição físico-química, a capacidade antioxidante e utilizar as partes da alcachofra brasileira como fonte de antioxidante natural para óleo de canola.

3.2 Objetivos específicos

- Estudar, separadamente, as partes da alcachofra cultivada no Brasil;
- Estudar as partes da alcachofra “in natura” e seca em estufa;
- Avaliar o rendimento das partes da alcachofra;
- Avaliar a composição centesimal e a composição em ácidos graxos das partes da alcachofra;

- Avaliar a capacidade antioxidante das partes da alcachofra por diferentes métodos de extração;
- Identificar e quantificar os principais compostos responsáveis pela atividade antioxidante das partes da alcachofra utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE);
- Avaliar o período de indução do óleo de canola, com e sem adição de antioxidantes provenientes das partes da alcachofra e de outras fontes naturais, utilizando um novo equipamento, o Oxitest;
- Propor a utilização das partes da alcachofra como fonte de antioxidante natural para o óleo de canola.

4. Materiais e métodos

4.1 Amostragem

As amostras de alcachofra foram adquiridas no comércio de Maringá-PR em três períodos diferentes, com intervalos de 30 dias. Em cada período foi adquirido aproximadamente 12 kg de alcachofra, totalizando 36 kg. As flores foram lavadas com água corrente, secadas com papel toalha e as partes foram separadas manualmente em brácteas (1), caule (2), coração (3) e espinhos (4), como demonstra a figura 3.

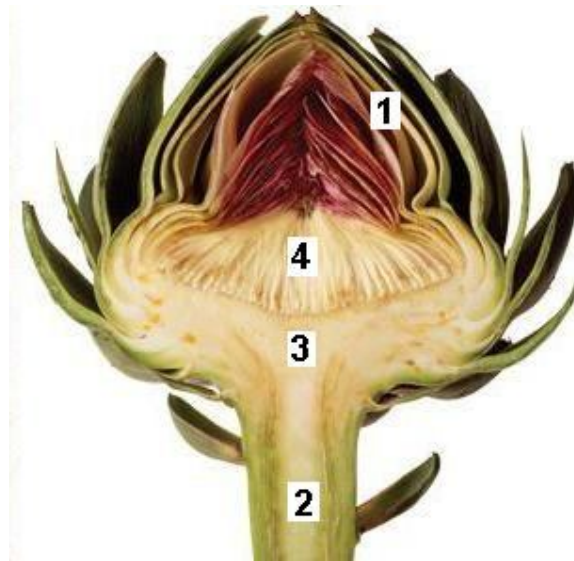


Figura 3. Partes da alcachofra; brácteas (1), caule (2), coração (3) e espinhos (4)

Uma parte das brácteas, dos caules, dos corações e dos espinhos foi armazenada, separadamente, embaladas a vácuo em sacos de polipropileno e congeladas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o período das análises. Antes das análises, as amostras foram trituradas em um moinho de facas.

Outra parte das amostras foi seca em estufa com ventilação forçada por 30 horas a uma temperatura de $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente embaladas a vácuo em sacos de polipropileno e mantidas no congelador até o período das análises. Antes das análises, as amostras foram trituradas em um moinho de facas e, por adquirir um aspecto de farinha, utilizou-se peneiras para verificar a granulometria das amostras secas que ficaram entre 16 e 325 mesh.

4.2 Composição físico-química

4.2.1 Umidade e cinzas

As análises de umidade e cinzas foram determinadas gravimetricamente de acordo com a metodologia AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*, 2000) por dessecação em estufa à 105°C durante 4 horas e por incineração em mufla à 600°C por 6 horas, respectivamente.

4.2.2 Proteína bruta

O teor de proteína bruta foi determinado pelo método semi-micro Kjeldahl (AOAC, 2000), empregando-se o fator específico de 6,25 para a conversão de nitrogênio para proteína total através da seguinte fórmula:

$$\%N = V \cdot C \cdot f \cdot 100 \cdot 14 \cdot m^{-1} \quad (1)$$

Onde %N é a porcentagem de nitrogênio total da amostra, V é o volume de solução de HCl utilizada na titulação, C é a concentração da solução padrão de HCl, f é o fator de correção da solução padrão de HCl e m é a massa da amostra em mg.

A proteína bruta é determinada empregando fator que converte o valor de nitrogênio total em proteína bruta, conforme segue:

$$\%PB = \%N \cdot FE \quad (2)$$

Onde %PB é a porcentagem de proteína bruta na amostra, %N é a porcentagem de nitrogênio total da amostra e FE é o fator específico (6,25).

4.2.3 Fibra bruta

O teor de fibra bruta foi determinado pelo método do Instituto Adolfo Lutz (2008) através da digestão com ácido sulfúrico 1,25%, seguida por digestão alcalina com hidróxido de sódio a 1,25%.

4.2.4 Lipídios totais

A análise de lipídios totais foi realizada segundo o método de Bligh e Dyer (1959), utilizando uma mistura de metanol, clorofórmio e água (2:2:1,8 v/v/v).

4.3 Análise cromatográfica

A metilação dos ácidos graxos dos lipídios totais foi realizada segundo o método descrito por Joseph & Ackman (1992). Os ésteres de ácidos graxos foram analisados em cromatógrafo a gás da Thermo, modelo Trace Ultra 3300, com detector de ionização em chama e coluna capilar de sílica fundida CP – 7420 (Select FAME, 100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de cianopropil). As vazões dos gases foram de 1,2 mL min^{-1} para o gás de arraste (H_2); 30 mL min^{-1} para o gás auxiliar (N_2) e 35 e 350 mL min^{-1} para o H_2 e para o ar sintético da chama, respectivamente, para a chama do

detector. As injeções foram realizadas em triplicatas, os volumes de injeção foram de 2 µL e a razão de divisão da amostra (*split*) foi de 1/80. As temperaturas do injetor e do detector foram de 240 °C. A temperatura da coluna foi programada a 185 °C durante 7,5 min, seguido por rampa de 4 °C min⁻¹ até atingir 235 °C, permanecendo assim por 1,5 min, totalizando 21,50 min de análise. As áreas dos picos foram determinadas pelo software ChromQuest 5.0. As identificações dos ésteres metílicos dos ácidos graxos foram efetuadas pela comparação dos tempos de retenção de padrões de ésteres metílicos.

Para a quantificação foi utilizado o padrão interno metil-tricosanoato (23:0), na concentração de 1,0 mg mL⁻¹ em iso-octano, como descrito por Joseph & Ackman (1992). Fatores de correção teóricos foram usados para obter os valores de concentração propostos por Visentainer (2012). A quantidade de ácidos graxos foi calculada usando a equação 3.

$$M_x = A_x \cdot M_p \cdot F_{ct} \cdot A_p^{-1} \cdot M_a^{-1} \cdot F_{cea}^{-1} \quad (3)$$

Onde M_x é mg de ácido graxo por g de lipídios totais, A_x é a área do pico dos ácidos graxos, M_p é a massa (mg) de 23:0 adicionado, F_{CT} é o fator de correção teórico, A_p é a área do padrão interno, M_A é a massa da amostra em mg e F_{CEA} é o fator de conversão éster metílico para ácido graxo. Os resultados foram calculados e expressos em mg 100g⁻¹ de amostra.

4.4 Extração dos antioxidantes

4.4.1 Extrato etanólico

Para a obtenção dos extratos etanólicos foram pesados, aproximadamente, 15 g de cada parte da alcachofra e submetido a agitação magnética com 150 mL de etanol por 4 horas. Em seguida foi rotaevaporado o solvente e o extrato armazenado em Eppendorf, protegido da luz, no congelador a -18 °C até o período das análises.

4.4.2 Extrato metanólico

Para a obtenção dos extratos metanólicos foram pesados, aproximadamente, 15 g de cada parte da alcachofra e submetido a agitação magnética com 150 mL de metanol por 4 horas. Em seguida foi rotaevaporado o solvente e o extrato armazenado em Eppendorf, protegido da luz, no congelador a -18 °C até o período das análises.

4.4.3 Extrato aquoso

Para a obtenção dos extratos aquosos foram pesados, aproximadamente, 15 g de cada parte da alcachofra e submetido a agitação magnética com 150 mL de água destilada a uma temperatura de 80 °C por 8 minutos. Após o resfriamento, a solução foi congelada com nitrogênio líquido para o solvente ser sublimado utilizando um liofilizador modelo Alpha 1-2 LD

plus (Martin Christ, Germany). O extrato obtido foi armazenado em Eppendorf, protegido da luz, no congelador a -18 °C até o período das análises.

4.5 Fenólicos totais

O teor de fenólicos totais foi determinado de acordo com a metodologia de Shahidi e Naczk (1995). Alíquotas de 250 µL das soluções dos extratos foram adicionadas em tubos de ensaio, onde 250 µL do reagente Folin-Ciocalteu (diluído 1:1 em água destilada), 500 µL de uma solução saturada de Na₂CO₃ e 4,0 mL de água destilada também foram adicionados. A mistura foi deixada em repouso à temperatura ambiente durante 25 min e em seguida foi centrifugada a 3800 g durante 10 min. A absorbância do sobrenadante foi medida a 725 nm usando um espectrofotômetro modelo Genesys 10 uv (Thermo Scientific, Madison, USA). Os resultados foram expressos em mg de equivalente ácido gálico (EAG) g⁻¹ de amostra seca, sendo calculado pela equação da reta ($y = 0,00977x + 0,00605$, $r^2=0,994$) obtida na curva de calibração com o padrão ácido gálico.

4.6 Capacidade antioxidante determinada por DPPH para os extratos

O método envolvendo a captura do radical livre DPPH (*2,2-Difenil-1-picrilidrazil*) foi realizado de acordo com Brand-Williams, Cuvelier & Berset (1995), com algumas modificações (Ma *et al.*, 2011). Alíquotas de 25,0 µL de solução dos diferentes extratos metanólicos, etanólicos e aquosos foram misturadas com 2,0 mL de uma solução metanólica de DPPH $6,25 \times 10^{-5}$ mol/L.

A mistura foi deixada no escuro por 30 minutos e em seguida a absorbância foi medida a 517 nm em espectrofotômetro modelo *Genesys 10 uv (Thermo Scientific, Madison, USA)*. Soluções metanólicas de Trolox (ácido (±)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) em diferentes concentrações foram utilizadas para construir a curva de calibração ($y = 42,358x - 0,0832$, $r^2=0,997$) e a capacidade antioxidante foi expressa em mmol de equivalente Trolox (ET) por grama de amostra fresca.

4.7 Capacidade antioxidante determinada por DPPH para as amostras secas em estufa

Um método recente de medição direta da capacidade total de antioxidantes em alimentos é o QUENCHER (QUick, Easy, New, CHEap and Reproducible), ou seja, um método rápido, fácil, novo, barato e reprodutível, segundo Gökmen *et al.* (2009). Este método exclui os antigos métodos de extração com solventes que inevitavelmente alteram a avaliação dos antioxidantes. As análises foram realizadas segundo o método de Serpen *et al.* (2012). Aproximadamente 10 mg de cada amostra seca foram pesadas, as brácteas e o coração foram reagidos com 10,0 mL de DPPH (*2,2-Difenil-1-picrilidrazil*) e, os espinhos e o caule foram reagidos com 50,0 mL de DPPH durante 5, 10, 15, 30, 45 e 60 min sob agitação magnética e protegidos da luz. Após, a mistura foi centrifugada por 1 min a 300-400 rpm e a absorbância do sobrenadante foi lida em espectrofotômetro modelo *Genesys 10 uv (Thermo Scientific, Madison, USA)* no comprimento de onda de 525 nm. Soluções metanólicas de Trolox (ácido (±)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-

carboxílico) em diferentes concentrações foram utilizadas para a curva de calibração de 10 mL ($y = 27,892x + 5,3686$; $r^2 = 0,996$) e para a curva de calibração de 50 mL ($y = 6,5132x + 2,1786$; $r^2 = 0,996$) sendo a capacidade antioxidante expressa em mmol de equivalente Trolox (ET) por grama de amostra seca.

4.8 Oxitest: ponto de indução de rancificação do óleo de canola

O Oxitest (Oxidation Test Reactor) fabricado pela Velp Scientifica é um equipamento muito eficiente para determinar o ponto de indução de rancificação de óleos e outras matérias graxas. Devido ao seu sistema de pressurização de oxigênio ultra puro e aumento de temperatura, é possível obter resultados sobre a rancificação de óleos de modo acelerado, poupando tempo em relação à outras metodologias existentes, além de obter resultados mais precisos.

Para as análises envolvendo o Oxitest, foi utilizado óleo de canola, sem adição de antioxidantes, gentilmente cedido pela Cocamar – Cooperativa Agroindustrial de Maringá.

Cada parte da alcachofra, seca em estufa, triturada e peneirada a 35 mesh foi adicionada a 5 g de óleo de canola a um teor de 1 e 5%. Testes foram realizados também para o óleo de canola sem adição de antioxidantes (controle) e com adição de 0,02% de BHT (padrão). Todas as amostras foram submetidas as mesmas condições de temperatura e pressão de oxigênio, 90 °C e 6 bar, respectivamente (Verardo *et al.*, 2012).

4.9 Identificação e quantificação dos compostos fenólicos por CLAE

A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência foi realizada utilizando um equipamento da marca Varian Pro Star com controle de *software* (Varian Analytical Instruments), equipado com uma válvula de injeção manual Rheodyne com volume de 50 μL e detector de arranjo de diodos (DAD) Pro Star 350 conectado a um programa Polyview 2000TM. As separações cromatográficas foram realizadas numa coluna Microsorb C18 (250 mm x 4.6 mm, tamanho das partículas 5 μm). Todos os ensaios foram conduzidos à temperatura ambiente. A metodologia empregada foi baseada nos trabalhos de Fratianni *et al.* (2007), utilizando como fase móvel água Milli-Q com 1% de ácido acético (fase móvel A) e acetonitrila com 1% de ácido acético (fase móvel B). O sistema de gradiente da fase móvel iniciou-se com 10% de B, atingiu 50% depois de 30 min em um gradiente linear, foi para 100% de B em 5 min em um gradiente linear, permaneceu a 100% por 2 min, decrescendo para 10% de B em 2 min e permanecendo a 10% de B por 10 min como na etapa inicial. O tempo total da corrida foi de 49 min. O fluxo da fase móvel foi de 0.8 mL min⁻¹ e o detector foi programado para o comprimento de onda de 280 nm.

4.10 Análise estatística

As análises foram realizadas todas em triplicata e os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com 95% de confiança, e a comparação entre médias foi realizada pelo teste de Tukey, através do programa Statistica.

5. Resultados e discussão

Ao separar as partes da alcachofra foi estimado o rendimento e os resultados encontram-se na tabela 1. Pode-se observar que aproximadamente 19% (correspondente ao coração) de toda a alcachofra é comestível.

Tabela 1. Rendimento das partes da alcachofra

Parte da alcachofra	Rendimento (%)
Brácteas	47,34 ± 1,55
Coração	19,14 ± 1,17
Espinhos	17,84 ± 1,34
Caule	15,68 ± 1,62

Média dos valores ± desvio padrão; n=9.

As análises de umidade, cinzas, proteína bruta, lipídios totais e fibra bruta foram realizadas para as partes da alcachofra tanto “in natura” (tabela 2) quanto em seca em estufa (tabela 3). São apresentados ambos os resultados de composição centesimal, pois são úteis para efetuar conclusões dos resultados das demais técnicas de análise aplicadas, bem como para obter respaldo sobre a opção por utilizar alcachofra “in natura” ou seca em estufa como ingrediente de novos produtos. Tomando base a tabela 2, nota-se a alta quantidade de umidade nas partes da alcachofra, chegando a um limite máximo de 88,44% para o coração, valor próximo do encontrado por Romani *et al.* (2006) de 85,7%.

Também são notórios os teores de fibra bruta presentes nas partes da alcachofra “in natura” e, quando comparados aos valores da tabela 3, percebe-se que o ato de secar as amostras concentra esses teores, chegando a aumentar em quase trinta vezes, como no caso do coração (de 0,46% para 13,07%). No entanto, as partes que mais se destacam em valores de fibra bruta são as brácteas e o caule, atingindo valores de 44,23% e 38,28%, respectivamente.

Em análise da parte comestível da alcachofra produzida na Espanha Jiménez-Escrig *et al.* (2003) encontraram valores de $9,31 \pm 0,59\%$ para cinzas, $18,91 \pm 0,50\%$ para proteína e de $1,69 \pm 0,11\%$ para lipídios totais. Como pode-se observar na tabela 3, valores de $12,32 \pm 0,12\%$ para cinzas, de $24,27 \pm 0,12\%$ para proteína e de $1,34 \pm 0,02\%$ para lipídios totais foram encontrados na parte comestível, o coração, que recebeu o tratamento de secagem em estufa. A similaridade dos valores encontrados na alcachofra espanhola é evidente e assegura uma preservação nas características de composição quando comparadas com a alcachofra produzida no Brasil.

Tabela 2. Composição centesimal das partes da alcachofra “in natura”

Parte da alcachofra	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteína Bruta (%)	Lipídios Totais (%)	Fibra Bruta (%)
Brácteas	$80,65^b \pm 2,12$	$1,07^c \pm 0,02$	$2,15^b \pm 0,05$	$0,28^b \pm 0,02$	$7,16^{ab} \pm 2,06$
Coração	$88,44^a \pm 0,30$	$1,27^a \pm 0,03$	$2,22^b \pm 0,17$	$0,16^b \pm 0,01$	$0,46^c \pm 0,03$
Espinhos	$80,98^b \pm 0,75$	$0,99^d \pm 0,02$	$3,16^a \pm 0,10$	$1,79^a \pm 0,29$	$12,94^a \pm 4,55$
Caule	$86,25^a \pm 0,22$	$1,18^b \pm 0,01$	$1,14^c \pm 0,01$	$0,39^b \pm 0,17$	$5,35^{bc} \pm 1,05$

Média dos valores \pm desvio padrão; n=9. Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 3. Composição centesimal das partes da alcachofra seca em estufa

Parte da alcachofra	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteína Bruta (%)	Lipídios Totais (%)	Fibra Bruta (%)
Brácteas	4,49 ^a ±0,01	5,37 ^b ±0,16	10,35 ^c ±0,05	2,04 ^c ±0,03	44,23 ^a ±1,29
Coração	4,63 ^a ±0,06	12,32 ^a ±0,12	24,27 ^a ±0,12	1,34 ^d ±0,02	13,07 ^d ±0,56
Espinhos	2,94 ^c ±0,09	7,31 ^b ±0,12	20,61 ^b ±0,03	9,17 ^a ±0,28	27,79 ^c ±1,14
Caule	4,10 ^b ±0,08	10,36 ^a ±0,20	7,79 ^d ±0,03	2,92 ^b ±0,02	38,28 ^b ±2,27

Média dos valores ± desvio padrão; n=9. Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa teste de Tukey (p<0,05).

As tabelas 4 e 5 tratam das quantidades, expressas em mg.100g⁻¹ de amostra, dos principais ácidos graxos (AG) encontrados na alcachofra “in natura” e na seca em estufa, respectivamente. Um total de 10 ácidos graxos foram identificados em cada parte da alcachofra. Dentre eles, 4 ácidos graxos saturados (AGS), 2 ácidos graxos monoinsaturados (AGMI; 1 da família n-7 e 1 da família n-9) e 4 ácidos graxos poli-insaturados (AGPI; 2 da família n-6 e 2 da família n-3).

Os valores da tabela 5 se destacam quando comparados com a tabela 4 devido ao motivo de, ao retirar grande quantidade de umidade das partes da alcachofra, a concentração dos lipídios aumenta, pois permanecem sem grandes alterações na amostra. Ao submeter as partes da alcachofra à secagem em estufa obtemos produtos com maiores teores de lipídios.

Das partes da alcachofra, os espinhos apresentam a maior quantidade de lipídios. O AGS majoritário foi o ácido palmítico (16:0), a maior quantidade da classe de AGMI se deve ao ácido oleico (18:1n-9) e o principal AGPI foi o ácido linoleico (18:2n-6), contanto, o ácido alfa-linolênico (18:3n-3) também

apresentou quantidades significativas. Pode-se observar que, a secagem em estufa concentra estes principais AG em cerca de 4 a 5 vezes.

Tabela 4. Quantificação de ácidos graxos ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) para as partes da alcachofra “in natura”

Ácidos graxos	Partes da alcachofra			
	Brácteas	Coração	Espinhos	Caule
16:0	59,30 ^b ±2,87	26,70 ^c ±3,23	597,71 ^a ±9,69	60,05 ^b ±5,82
18:0	3,60 ^b ±0,02	1,70 ^b ±0,36	74,65 ^a ±3,88	2,93 ^b ±0,34
18:1n-9	6,39 ^b ±0,64	7,36 ^b ±1,00	21,11 ^a ±2,37	10,29 ^b ±1,96
18:1n-7	1,48 ^b ±0,10	1,51 ^b ±0,21	10,82 ^a ±0,82	1,43 ^b ±0,20
18:2n-6	76,21 ^b ±3,65	57,32 ^b ±6,96	775,02 ^a ±27,76	51,06 ^b ±4,86
18:3n-3	17,10 ^b ±0,37	10,35 ^b ±1,47	148,43 ^a ±8,75	9,86 ^b ±0,73
20:0	1,36 ^b ±0,07	0,78 ^b ±0,09	22,31 ^a ±1,32	1,75 ^b ±0,17
22:0	1,14 ^b ±0,07	0,82 ^b ±0,10	15,27 ^a ±0,38	1,18 ^b ±0,15
20:4n-6	2,14 ^a ±0,10	0,35 ^c ±0,06	2,16 ^a ±0,27	1,22 ^b ±0,13
20:5n-3	2,35 ^b ±0,11	0,85 ^d ±0,11	9,95 ^a ±0,33	1,62 ^c ±0,23
AGS	65,40 ^b ±2,87	30,00 ^c ±3,25	709,94 ^a ±10,53	65,91 ^b ±5,83
AGMI	7,87 ^b ±0,65	8,87 ^b ±1,02	31,93 ^a ±2,51	11,72 ^b ±1,97
AGPI	97,8 ^b ±3,67	68,87 ^b ±7,11	935,56 ^a ±29,11	63,76 ^b ±4,92
n-6/n-3	4,03 ^b ±0,34	5,15 ^a ±1,47	4,91 ^a ±0,72	4,55 ^{ab} ±0,98

Média dos valores \pm desvio padrão; n=9. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p<0,05$). AGS=somatório de ácidos graxos saturados; AGMI=somatório de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI=somatório de ácidos graxos poli-insaturados.

Tabela 5. Quantificação de ácidos graxos ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) para as partes da alcachofra seca em estufa

Ácidos graxos	Partes da alcachofra			
	Brácteas	Coração	Espinhos	Caule
16:0	229,95 ^c ±20,94	327,74 ^{bc} ±31,61	2303,58 ^a ±146,02	493,84 ^b ±35,66
18:0	13,37 ^b ±2,27	16,80 ^b ±0,91	297,20 ^a ±15,08	22,35 ^b ±1,61
18:1n-9	17,80 ^b ±2,75	19,44 ^b ±1,59	99,87 ^a ±8,60	26,22 ^b ±2,98
18:1n-7	6,74 ^b ±1,06	12,99 ^b ±1,72	51,84 ^a ±6,31	7,36 ^b ±0,56
18:2n-6	518,92 ^b ±39,93	784,66 ^b ±71,32	3462,87 ^a ±189,87	582,96 ^b ±44,76
18:3n-3	242,60 ^b ±19,04	151,67 ^c ±14,49	987,74 ^a ±34,42	189,57 ^{bc} ±14,36
20:0	7,51 ^b ±0,69	10,50 ^b ±0,82	180,52 ^a ±21,45	9,10 ^b ±0,57
22:0	5,66 ^b ±0,67	4,36 ^b ±0,86	52,91 ^a ±5,89	8,42 ^b ±0,99
20:4n-6	9,00 ^b ±0,94	11,10 ^b ±1,48	127,94 ^a ±8,80	8,02 ^b ±0,55
20:5n-3	20,49 ^b ±1,75	16,07 ^b ±1,21	175,60 ^a ±11,32	11,57 ^b ±1,25
AGS	256,49 ^c ±21,08	359,40 ^{bc} ±31,64	2600,78 ^a ±148,47	533,71 ^b ±35,71
AGMI	24,54 ^b ±2,95	32,43 ^b ±2,34	151,71 ^a ±10,67	33,58 ^b ±3,03
AGPI	796,41 ^b ±44,2	963,50 ^b ±72,80	4754,15 ^a ±193,50	792,12 ^b ±47,03
n-6/n-3	2,00 ^c ±0,35	4,74 ^a ±0,96	3,09 ^b ±0,35	2,94 ^b ±0,49

Média dos valores \pm desvio padrão; n=9. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). AGS=somatório de ácidos graxos saturados; AGMI=somatório de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI=somatório de ácidos graxos poli-insaturados.

Os extratos etanólicos, metanólicos, aquosos e as amostras secas em estufa foram reagidos com o radical DPPH e com o reagente Folin-Ciocalteu gerando valores para compor a tabela 6. Os dados desta tabela mostram que o método QUENCHER, além da vantagem de realizar as reações sem utilizar o processo de extração, poupando etapas, tempo e dinheiro; é mais efetivo para

a quantificação dos compostos com capacidade antioxidante das partes da alcachofra. As metodologias tradicionais utilizam solventes para extrair os compostos com capacidade antioxidante e, assim, não são muito eficazes, pois extraem apenas uma fração dos compostos que são solúveis ao solvente empregado (Serpen *et al.*, 2012). Caso o extrato obtido for rico em fibras, aminoácidos ou ácidos urônicos, o resultado tende a ser menos exato e preciso do que quando livre destas substâncias (Pérez-Jiménez e Saura-Calixto, 2006).

Tabela 6. Conteúdo de fenólicos totais e capacidade antioxidante dos extratos metanólico (EM), etanólico (EE) e aquoso (EA) e capacidade antioxidante pelo método direto para as partes da alcachofra.

Parte da alcachofra	FT (mg EAG 100g ⁻¹)			DPPH (mmol ET 100g ⁻¹)			QUENCHER (mmol ET 100g ⁻¹)
	EM	EE	EA	EM	EE	EA	
Brácteas	706,48 ^c	307,89 ^c	280,76 ^c	155,73 ^c	129,15 ^c	138,85 ^c	273,52 ^c
	±11,88	±9,46	±9,21	±0,65	±0,93	±0,74	±15,19
Coração	1637,89 ^b	1452,74 ^b	1310,05 ^b	294,17 ^b	249,09 ^b	198,85 ^b	356,13 ^c
	±37,00	±18,22	±23,66	±2,23	±0,86	±1,24	±11,72
Espinhos	4290,23 ^a	3429,86 ^a	2538,18 ^a	2333,12 ^a	1438,88 ^a	1067,52 ^a	8573,36 ^a
	±51,38	±60,25	±37,78	±17,20	±10,74	±3,15	±254,70
Caule	805,90 ^c	568,01 ^c	429,97 ^c	184,13 ^c	101,47 ^d	113,25 ^c	2578,40 ^b
	±27,56	±31,73	±24,23	±1,40	±0,78	±0,68	±39,11

Média dos valores ± desvio padrão; n=9. Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na tabela 6 é notória a alta concentração de compostos com capacidade antioxidante encontrados nos espinhos da alcachofra seca em estufa, obtendo valor de $8573,36 \pm 254,70$ mmol ET $100g^{-1}$. Este valor é muito superior aos encontrados para as demais partes. Mesmo com diferenças significativas entre os resultados das técnicas de DPPH e QUENCHER, observa-se sempre a mesma tendência de resultados, ou seja, os espinhos apresentam, em todos os extratos e técnicas aplicadas, os maiores resultados. Fica claro que a maior concentração de compostos fenólicos e outros compostos com capacidade antioxidante, estão presentes nos espinhos.

Como os compostos antioxidantes têm a característica de retardar a oxidação lipídica, desde que se solubilize ou tenha afinidade com o meio mais apolar, a técnica para verificar o ponto de indução lipídica utilizando um reator para testes de oxidação, o Oxitest Velp Scientifica, se mostrou muito eficaz ao comparar o óleo de canola sem adição de antioxidantes com o óleo de canola com a adição de antioxidantes.

A tabela 7 demonstra os resultados obtidos pelo método Oxitest. O maior tempo do ponto de indução de rancificação obtido foi de $1541,0 \pm 9,3$ minutos para o óleo de canola protegido com 5% de espinhos. Esse tempo foi superior ao obtido pelo óleo de canola protegido com 0,02% de BHT, $1239,0 \pm 12,5$ minutos. Apesar da maior concentração de espinhos utilizados em relação a quantidade de BHT, esse resultado é muito expressivo, pois os antioxidantes utilizados dos espinhos provém de uma fonte natural. Podemos notar ainda que o valor para o teste de centrifugação realizado nos diz que, caso os espinhos da alcachofra sejam retirados após a extração com o óleo, o tempo de indução é menor quando comparado com os testes que mantêm os espinhos junto ao

óleo, pois quando submetido à centrifugação, os compostos antioxidantes são arrastados juntamente com as partículas das amostras.

Tabela 7. Períodos de indução das análises de rancificação do óleo de canola

Amostra	PI (min)
Óleo de canola sem antioxidante	892,0 ^f ± 7,0
Óleo de canola com 0,02% de BHT	1239,0 ^b ± 12,5
Óleo de canola com 5% de brácteas	1031,0 ^d ± 6,3
Óleo de canola com 5% de coração	1107,0 ^c ± 9,6
Óleo de canola com 5% de caule	939,0 ^e ± 10,0
Óleo de canola com 5% de espinhos	1541,0 ^a ± 9,3
Óleo de canola com 5% de espinhos (centrifugado)	1025,0 ^d ± 9,0
Óleo de canola com 1% de espinhos	1021,0 ^d ± 8,6

Média dos valores ± desvio padrão; n=9. Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A tabela 8 refere-se aos coeficientes de correlação (R) entre as técnicas aplicadas. Tais resultados permitem analisar a atuação dos mecanismos de análise propostos e concluir se as técnicas possuem conformidade de resultados. Dentre as técnicas aplicadas, os resultados do Oxitest e QUENCHER obtiveram o melhor coeficiente de correlação. Este resultado era previsto, pois ambas as técnicas são isentas de solventes extratores de antioxidantes e realizam os procedimentos químicos direto nas amostras, assim, tais análises têm a capacidade de fazer com que maior quantidade de substâncias antioxidantes reajam com o meio na qual foi empregada. Em contrapartida, os coeficientes de correlação envolvendo a técnica de fenólicos totais são os menores, porém apresentam uma correlação mediana, quando

comparada com as demais. O motivo se deve ao fato da técnica detectar e quantificar apenas parte das substâncias que possuem atividade antioxidante, pois sabe-se que não somente os compostos fenólicos apresentam tal atividade, mas sim um grupo maior de compostos, como as vitaminas, taninos, carotenóides, tocoferóis entre outros (Serpen *et al.*, 2012; Serpen *et al.*, 2012).

Tabela 8. Coeficientes de correlação (R) entre os resultados das análises aplicadas

	DPPH	QUENCHER	OXITEST
FT	0,7979	0,6421	0,7436
DPPH	-	0,8225	0,8303
QUENCHER	-	-	0,9814

O extrato metanólico apresentou os maiores valores de fenólicos totais e capacidade antioxidante (DPPH) quando comparado com os demais extratos. O metanol foi o solvente extrator mais eficaz e por isso foi escolhido para realizar a análise de CLAE. A análise cromatográfica das partes da alcachofra permitiu identificar os compostos fenólicos majoritários por comparação dos tempos de retenção e dos espectros de UV-vis dos padrões, bem como quantificar estes compostos utilizando os valores das áreas obtidas dos picos das amostras e calculando as quantidades de cada composto com as curvas de calibração de cada padrão. Os valores calculados perfazem a tabela 9.

Tabela 9. Quantificação dos compostos fenólicos do extrato metanólico das partes da alcachofra seca em estufa.

Compostos	Tempo	Brácteas ($\mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	Coração ($\mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	Espinhos ($\mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	Caule
	de retenção (min)				
Ácido clorogênico	10,50	706,40 ^c ±18,24	2494,41 ^b ±99,76	5011,10 ^a ±150,33	nd
Cinarina	11,70	nd	31,35 ^a ±0,93	nd	nd
Ácido cumárico	16,98	141,35 ^b ±4,23	388,70 ^b ±12,45	1447,59 ^a ±69,97	nd
Ácido ferúlico	18,04	440,56 ^c ±14,08	1515,99 ^a ±75,40	1180,39 ^b ±55,77	nd
Apigenina	27,61	nd	8,19 ^b ±0,24	1206,68 ^a ±48,24	nd

Média dos valores \pm desvio padrão; n=9. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

O ácido clorogênico é o principal composto fenólico com capacidade antioxidante encontrado em cada parte da alcachofra. Os espinhos, que contém a maior quantidade desta substância, possui cerca de $5,0 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ de matéria seca. O valor encontrado na quantificação de apigenina nos espinhos da alcachofra foi de $1,2 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ de matéria seca. Este valor foi de duas a nove vezes maior do que os encontrados por Pandino *et al.* (2011) para as variedades de alcachofras italianas por eles analisadas. O ácido cumárico e o ácido ferúlico também estão na lista dos compostos fenólicos majoritários encontrados nas amostras. Baixa quantidade de cinarina foi encontrada no receptáculo, $31.35 \mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$. Nas brácteas e nos espinhos a quantidade obtida estava abaixo do limite de quantificação. O motivo de encontrar baixa quantidade de cinarina pode estar na baixa interação do solvente empregado

na extração e na elevada instabilidade do composto, por apresentar isômeros mais estáveis (Pandino *et al.*, 2011; Carvalho *et al.*, 2004).

As figuras 4, 5, 6 e 7 são os cromatogramas dos compostos fenólicos obtidos para as brácteas, coração, espinhos e caule, respectivamente.

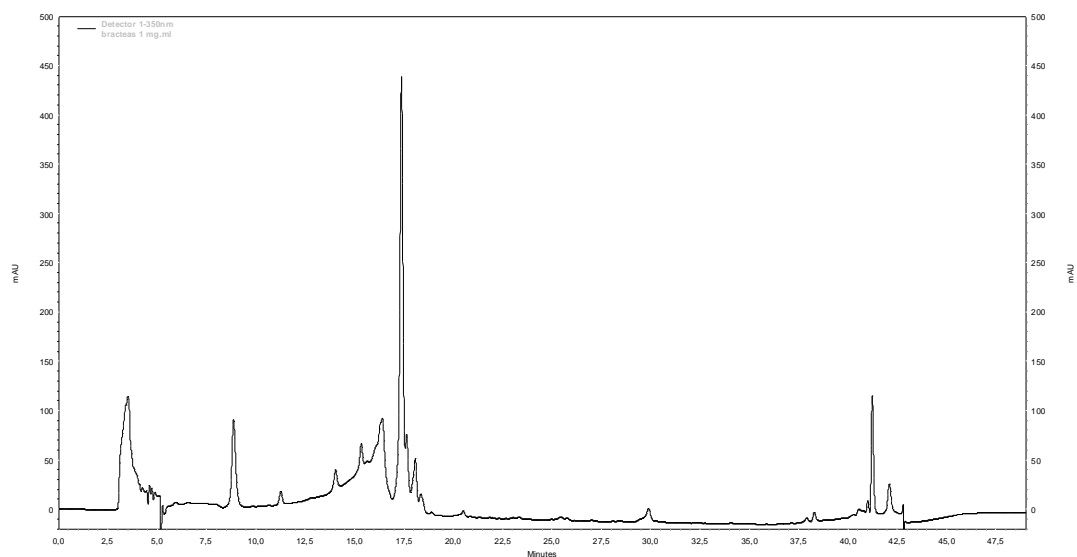


Figura 4. Cromatograma dos compostos fenólicos das brácteas da alcachofra.

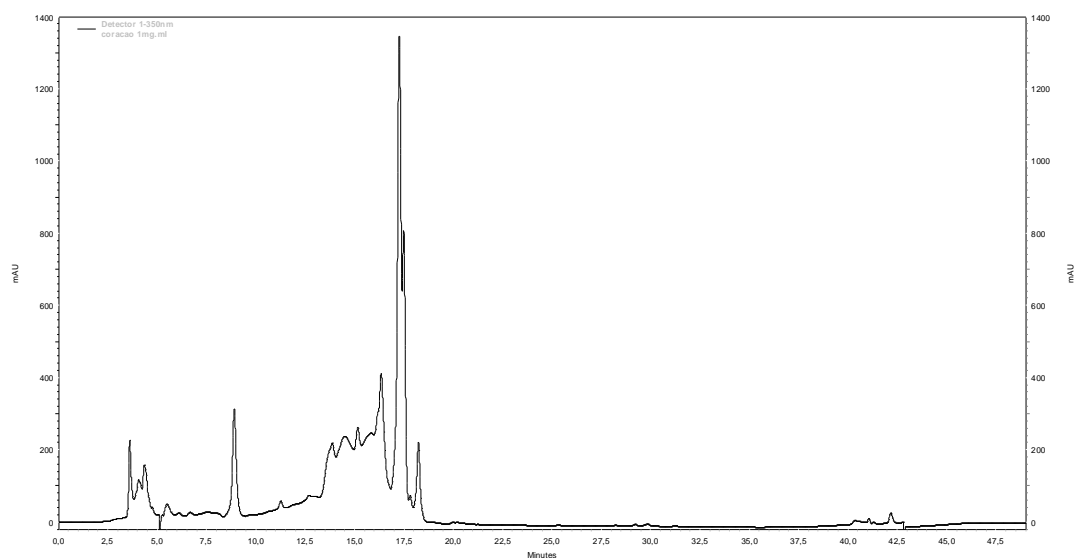


Figura 5. Cromatograma dos compostos fenólicos do coração da alcachofra.

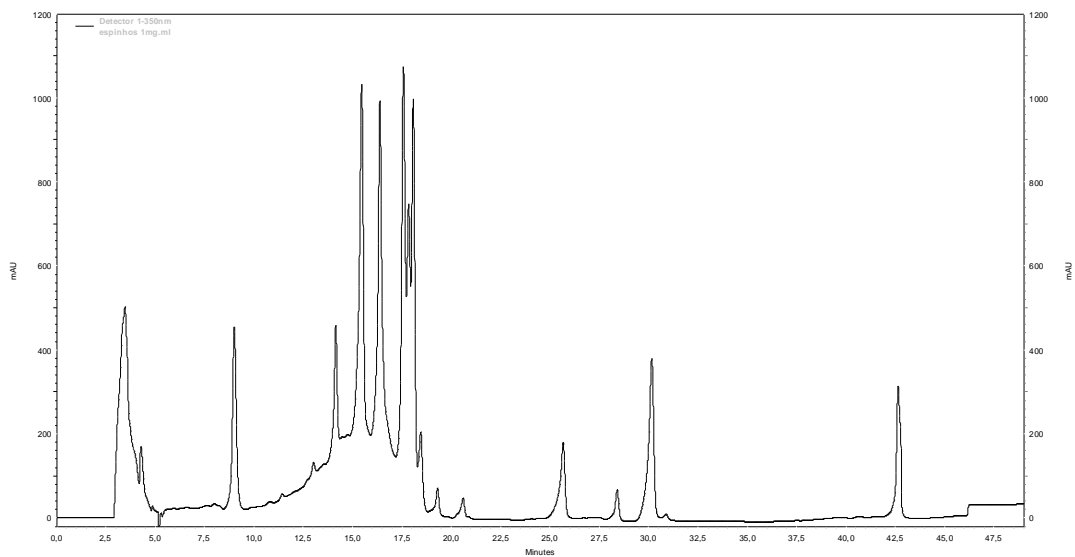


Figura 6. Cromatograma dos compostos fenólicos dos espinhos da alcachofra.

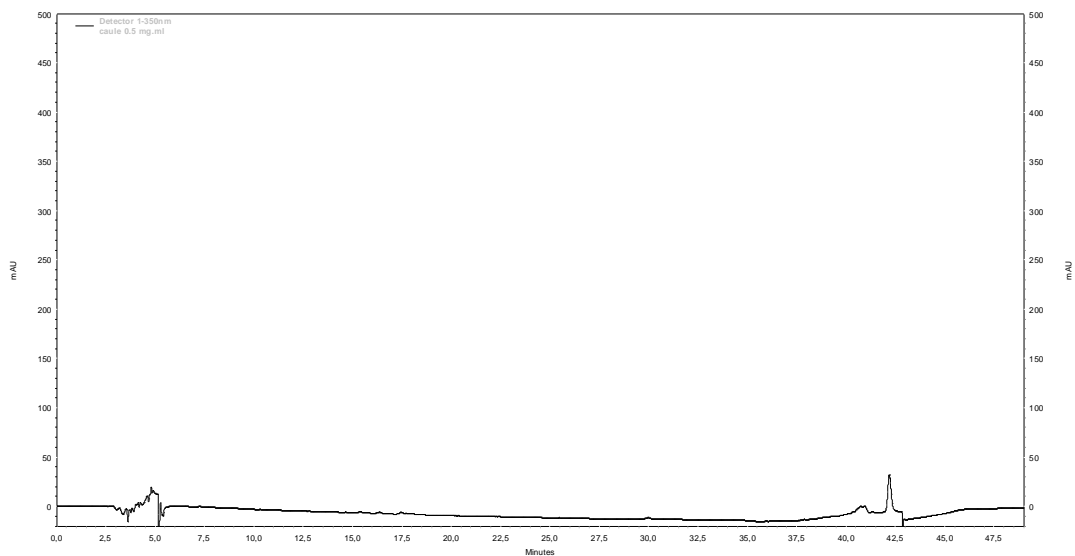


Figura 7. Cromatograma dos compostos fenólicos do caule da alcachofra.

6. Conclusões

O estudo realizado separadamente permitiu descobrir que as partes comestíveis da alcachofra é a minoria, acarretando assim, alta quantidade de co-produtos que possuem riqueza em nutrientes e grande possibilidade de

utilização, como no caso das brácteas e do caule que contém cerca de 30% de teor em fibras em sua composição após a secagem em estufa e, na maioria das vezes, esses co-produtos são inutilizados.

Conhecendo a composição química e o comportamento destes co-produtos frente a compostos radicalares e com características oxidantes, foi verificado que a alcachofra contém alta concentração de compostos com capacidade antioxidante e, das partes, os espinhos merecem destaque. Assim, o processo de secagem em estufa foi satisfatório para concentrar os antioxidantes, bem como eliminar a água e outros compostos voláteis que aceleram o processo de degradação do produto.

A técnica denominada QUENCHER foi muito eficiente para a quantificação da capacidade antioxidante das partes da alcachofra. Ao utilizar essa técnica, como parte da metodologia, não realizamos extrações com solventes e isto faz com que obtenhamos resultados superiores às outras técnicas, pois o solvente apenas extrairá os compostos que possuem a mesma característica de polaridade, garantindo que, apenas parte dos compostos antioxidantes seja extraída.

O óleo de canola apresenta em sua composição um perfil majoritário de ácidos graxos insaturados e a escolha deste óleo foi muito satisfatória para se combinar com as partes da alcachofra. As interações das partes da alcachofra com o óleo de canola permitiram a proteção dos ácidos graxos contra os efeitos do estresse oxidativo. Neste caso, o Oxitest desempenhou um papel primordial para as análises de proteção lipídica, pois, diante de seus resultados, é possível concluir a eficiência da utilização dos antioxidantes da

alcachofra para inibir as etapas de degradação lipídica, bem como prever situações de tempo de prateleira.

A análise de CLAE permitiu identificar e quantificar os principais compostos com capacidade antioxidante das partes da alcachofra que são a cinarina, o ácido cumárico, o ácido ferúlico, a apigenina e o ácido clorogênico, dentre eles, o mais abundante.

Assim, os espinhos da alcachofra brasileira têm alto potencial para ser aplicado como aditivo fonte de antioxidantes naturais para a indústria.

7. Referências bibliográficas

AOAC. (2000). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (17 ed.). Gaithersburg.

Arabshahi-Delouee, S., Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chemistry*, 102, 1233-1240.

Benedet, J. A., Shibamoto, T. (2008). Role of transition metals, Fe(II), Cr(II), Pb(II), and Cd(II) in lipid peroxidation. *Food Chemistry*, 107, 165-168.

Bligh, E. G., Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Biochemistry Physiology*. 37, 911-917.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT – Food Science and Technology*, 28, 25-30.

Carvalho, J. C. T., Gosmann, G., Schenkel, E. P. (2004). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 5ª ed.; Porto Alegre/Florianópolis: Brasil.

Chen, J. F., Tai, C. Y., Chen, Y. C., Chen, B. H. (2001). Effects of conjugated linoleic acid on the degradation and oxidation stability of model lipids during heating and illumination. *Food Chemistry*, 72, 199-206.

Choe, E., Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5, 169-186.

Corsini, M. S., Jorge, N. (2006). Estabilidade oxidativa de óleos vegetais utilizados em frituras de mandioca palito congelada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26, 27-32.

Di Giulio, G. (2004). Falta pesquisa para aumentar produção de alcachofra no Brasil, *Ciência e Cultura*, 56, 13-14.

Dimitrios, B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 505-512.

Dolatabadi, J. E. N., Kashanian, S. (2010). A review on DNA interaction with synthetic phenolic food additives. *Food Research International*, 43, 1223-1230.

Escarpa, A.; Gonzales, M.C. (2001). An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31, 57-139.

Espín, J.C., Soler-Rivas, C., Wichers, H.J. (2000). Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2,-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 648-656.

Ferracane, R., Pellegrini, N., Visconti, A., Graziani, G., Chiavaro, E., Miglio, C., Fogliano, V. (2008). Effects of different cooking methods on antioxidant profile, antioxidant capacity, and physical characteristics of artichoke. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 8601-8608.

Fратиanni, F., Tucci, M., De Palma, M., Pepe, R., Nazzaro, F. (2007). Polyphenolic composition in different parts of some cultivars of globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori). *Food Chemistry*, 104, 1282-1286.

Gökmen, V., Serpen, A., Fogliano, V. (2009). Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: The 'QUENCHER' approach. *Trends in Food Science and Technology*, 20, 278-288.

Hoac, T., Daun, C., Trafikowska, U., Zackrisson, J., Akesson, B. (2006). Influence of heat treatment on lipid oxidation and glutathione peroxidase activity in chicken and duck meat. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 7, 88-93.

Huang, D., Ou, B., Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.

Huang, S. S. Y., Fu, C. H. L., Higgs D. A., Balfry, S. K., Schulte, P. M., Brauner, C.J. (2008). Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ionoregulatory development of spring chinook salmon parr (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture*, 274, 109-117.

Jiménez-Escrig, A., Dragsted, L. O., Daneshvar, B., Pulido R., Saura-Calixto, F. (2003). In vitro antioxidant activities of edible artichoke (*Cynara scolymus* L.) and effect on biomarkers of antioxidants in rats. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 5540-5545.

Joseph, J. D., Ackman, R. G. (1992). Capillary column gas-chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl-esters - Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 75, 488-506.

Juita, Dlugogorski, B. Z., Kennedy, E. M., Mackie, J. C. (2011). Oxidation reactions and spontaneous ignition of linseed oil. *Proceedings of the Combustion Institute*, 33, 2625-2632.

Lattanzio, V., Kroon, P. A., Linsalata, V., Cardinali, A. (2009). Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. *Journal of Functional Foods*, 1, 131-144.

Lima, J. R., Gonçalves, L. A. G. (1995). Avaliação analítica de óleos utilizados em processo de fritura. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29, 186-192.

Lombardo, S., Pandino, G., Mauromicale, G., Knödler, M., Carle, R., & Schieber, A. (2010). Influence of genotype, harvest time and plant part on polyphenolic composition of globe artichoke [*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori]. *Food Chemistry*, 119, 1175-1181.

Luzia, D. M. M., Bertanha, B. J., Jorge, N. (2010). Sementes de pitanga (*Eugenia uniflora* L.): potencial antioxidante e perfil de ácidos graxos. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 69, 175-180.

Ma, X., Wu, H., Liu, L., Yao, Q., Wang, S., Zhan, R., Xing, S., Zhou, Y. (2011). Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae*, 129, 102-107.

Melo, E. A., Maciel, M. I. S., Lima, V. L. A. G., Leal, F. L. L., Caetano, A. C. S., Nascimento, R. J. (2006). Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26, 639-644.

Naczki, M.; Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95-111.

Noldin, V. F., Filho, V. C., Monache, F. D., Benassi, J. C., Christmann, I. L., Pedrosa, R. C., Yunes, R. A. (2003). Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (Alcachofra) cultivada no Brasil. *Química Nova*, 26, 331-334.

Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. (2008). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos (4 ed.)*. São Paulo: IMESP.

Nsimba, R. Y., Kikuzaki, H., Konishi, Y. (2008). Antioxidant activity of various extracts and fractions of *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus* Spp. Seeds. *Food Chemistry*, 106, 760-766.

Palanisamy, U.D., Ling, L.T., Manaharan, T., Appleton, D. (2011). Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. *Food Chemistry*, 127, 21-27.

Pandino, G., Lombardo, S., Mauromicale, G., Williamson, G. (2011). Profile of polyphenols and phenolic acids in bracts and receptacles of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) germplasm. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 148-153.

Pereira, A. L. F., Vidal, T. F., Constant, P. B. L. (2009). Antioxidantes alimentares: importância química e biológica. *Nutrire*, 34, 231-247.

Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F. (2006). Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International*, 39, 791-800.

Peschel, W., Sánchez-Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher, A., Gartzía, I., Jiménez, D., Lamuela-Raventós, R., Buxaderas, S., Codina, C. (2006). Na industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruits wastes. *Food Chemistry*, 97, 137-150.

Ramalho, V. C., Jorge, N. (2006). Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, 29, 755-760.

Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M. A., Ariese, F., Gooijer, C., Brinkman, U. A. Th. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112, 31–63.

Romani, A., Pinelli, P., Cantini, C., Cimato, A., Heimler, D. (2006). Characterization of Violetto di Toscana, a typical Italian variety of artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Food Chemistry*, 95, 221-225.

Rowghani, E., Arab, M., Nazifi, S., Bakhtiari, Z. (2007). Effect of canola oil on cholesterol and fatty acid composition of egg-yolk of laying hens. *International Journal of Poultry Science*, 6, 111-114.

Saez, V., Fasoli, E., D'Amato, A., Simó-Alfonso, E., Righetti, P. G. (2013). Artichoke and Cynar liqueur: Two (not quite) entangled proteomes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1834, 119-126.

Shahidi, F., Naczk, M. (1995). *Food phenolics: Sources, chemistry, effects and applications*. Technomic Publishing Company: Lancaster.

Serpen, A., Gökmen, V., Fogliano, V. (2012). Solvent effects on total antioxidant capacity of foods measured by direct QUENCHER procedure. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26, 52-57.

Serpen, A., Gökmen, V., Fogliano, V. (2012). Total antioxidant capacities of raw and cooked meats. *Meat Science*, 90, 60-65.

Silva, F. A. M., Borges, M. F. M., Ferreira, M. A. (1999). Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*, 22, 94-103.

Singleton, V. L., Rossi, J. A. Jr. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.

Verardo, V., Riciputi, Y., Sorrenti, G., Ornaghi, P., Marangoni, B., Caboni, M. F. (2013). Effect of nitrogen fertilisation rates on the content of fatty acids, sterols, tocopherols and phenolic compounds, and on the oxidative stability of walnuts. *LWT - Food Science and Technology*, 50, 732-738.

Visentainer, J. V. (2012). Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. *Química Nova*, 35, 274-279.