

Anabela Machado Macedo

Utilização da irradiação em alimentos: Avaliação das alterações químicas e seu potencial antioxidante

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2017

Anabela Machado Macedo

Utilização da irradiação em alimentos: Avaliação das alterações químicas e seu potencial antioxidante

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2017

Anabela Machado Macedo

Utilização da irradiação em alimentos: Avaliação das alterações químicas e seu potencial antioxidante

Atesto a originalidade do trabalho:

Anabela Machado Macedo

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

RESUMO

São inúmeras as técnicas de conservação de alimentos descritas atualmente na literatura, todas visando o aumento de tempo de vida útil dos alimentos, sem perdas nutricionais significativas dos mesmos. A utilização da energia ionizante para a preservação dos géneros alimentares tem vindo a ser muito estudada pela indústria alimentar. Nesse sentido, a tecnologia alimentar está a progredir de forma a aumentar a preservação alimentar e contribuir para a diminuição da incidência de doenças relacionadas com a ingestão de alimentos. A irradiação consiste na exposição do alimento a uma radiação ionizante, de forma a minimizar a flora microbiana e a diminuir a velocidade das reações químicas intrínsecas do mesmo. Inerentes a essas condições, a presença de certos compostos químicos, correntemente designados como bioativos, onde se incluem os compostos fenólicos, são reconhecidos pelos seus efeitos biológicos na promoção da saúde. Quando ingeridos em quantidades adequadas, atuam na captação de radicais livres nocivos ao organismo e evitam a oxidação de substâncias facilmente oxidáveis. No presente trabalho foram estudados dois alimentos submetidos à técnica de irradiação. As sementes de abóbora e os grãos de feijão mungo foram testados a doses crescentes, de forma a avaliar a atividade antioxidante proveniente dos compostos fenólicos e dos flavonoides totais, presentes nestas matrizes alimentares, tendo sempre em consideração um grupo controlo. Conclui-se neste trabalho, que a irradiação não afetou o teor de compostos bioativos, tendo sido favorável no acréscimo dos mesmos, até uma determinada intensidade de radiação. O mesmo foi observado para a atividade antioxidante.

Palavras-chave: Sementes edíveis; Abóbora (*Cucurbita pepo*); Feijão mungo (*Vigna radiata*); Irradiação; Fenólicos; Flavonoides; Atividade antioxidante.

ABSTRACT

There are many techniques for food preservation described in the literature, all aimed to increase the “life” of the food, without significant nutritional losses. The use of ionizing energy for preservation has been widely studied by the food industry. In this regard, food technology is making progress towards increasing food preservation and contributing to a reduction in the incidence of food-related diseases. Irradiation consists of exposing the food to an ionizing radiation in order to minimize microbial flora and slow the intrinsic chemical reactions of the microbial flora. Inherent in these conditions, the presence of certain chemical compounds, commonly referred to as bioactive, which include phenolic compounds, are recognized for their biological effects on health promotion. When ingested in adequate quantities, they act in the capture of free radicals that are harmful to the organism and avoid the oxidation of easily oxidisable substances. In the present study, two foods were submitted to the irradiation technique. Pumpkin seeds and mung bean were tested at increasing doses in order to evaluate the antioxidant activity from phenolic compounds and flavonoids total in these food matrices, always taking into account a control group. It was concluded in this work that the irradiation did not affect the content of bioactive compounds, having been favorable in the addition of the same, up to a certain intensity of radiation. The same was observed for antioxidant activity.

Keywords: Edible seeds; Pumpkin (*Cucurbita pepo*); Mung beans (*Vigna radiata*); Irradiation; Phenolic; Flavonoids; Antioxidant activity;

DEDICATÓRIA

À minha família, por ser sempre o meu porto seguro, por toda a dedicação, carinho e apoio. Por estar presente em todas as etapas importantes, ser a minha força e nunca desistir de mim.

O meu sucesso é também vosso.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Glória, ao meu pai Carlos, ao meu irmão Carlos César, ao meu namorado Alberto, à minha avó Constança, aos meus tios Paulo, César, Joaquim e Mário, á minha madrinha Anabela, todo o amor, carinho, incentivo e amparo durante toda a minha vida e também agora nesta última fase académica, muito importante para mim, que chega ao fim, com a certeza que será o início de uma etapa nova muito feliz.

À professora e minha orientadora Ana Cristina Vinha, por estar sempre disponível, pela paciência, dedicação, carinho e pela excelente profissional que foi ao longo deste tempo, tanto nas aulas lecionadas durante o curso como nesta fase final.

À professora e minha co-orientadora Carla Sousa e Silva, pela disponibilidade e pela ajuda durante todo o meu percurso académico.

Aos meus colegas, pela amizade e companheirismo durante a caminhada que fizemos juntos.

A todos os professores do curso de Ciências Farmacêuticas por me terem dado as bases necessárias e me prepararem para o mundo do trabalho. Por me terem feito crescer tanto a nível profissional como pessoal.

À Universidade Fernando Pessoa, por hoje eu ser uma pessoa realizada e por ter o curso que sempre quis.

“Tenho em mim todos os sonhos do mundo.” (Fernando Pessoa)

ÍNDICE GERAL

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
DEDICATÓRIA	vii
AGRADECIMENTOS	viii
ÍNDICE FIGURAS	xi
ÍNDICE TABELAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiii
I.INTRODUÇÃO	1
II.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Segurança e Qualidade alimentar.....	4
2.2. Alimentos Irradiados.....	5
2.2.1. Aceitação da Irradiação como Técnica de Conservação.....	6
2.3. Sementes Edíveis.....	8
2.3.1. Abóbora.....	9
2.3.2. Feijão Mungo.....	10
III.OBJETIVOS	11
IV.MATERIAIS E MÉTODOS	12
4.1. Reagentes e Padrões.....	12
4.2. Amostras.....	12
4.3. Determinação de Compostos Bioativos.....	13

4.3.1. Preparação dos Extratos.....	13
4.3.2. Compostos Fenólicos Totais.....	13
4.3.3. Flavonoides Totais.....	14
4.4. Atividade Antioxidante.....	15
4.4.1. Método do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH).....	15
4.5. Análise Estatística.....	16
V.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
VI.CONCLUSÃO.....	27
VII.BIBLIOGRAFIA.....	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Símbolo obrigatório para alimentos irradiados denominado de radura (Retirado de: Radiologia Blog).	8
Figura 2. Sementes de abóbora e grãos de feijão mungo, respectivamente.	13
Figura 3. Estabilização do radical DPPH [•] pelo deslocamento do elétron desemparelhado (Retirado de: Revista brasileira de plantas medicinais, vol.17, n.1, Botucatu Jan./Mar.2015).	15
Figura 4. Percentagem (%) de inibição obtida nas concentrações do grupo controle de extratos etanólicos das sementes de abóbora.	19
Figura 5. Percentagem (%) de inibição obtida nos extratos etanólicos das sementes de abóbora com diferentes concentrações sujeitas a uma dose de radiação de 0,5 KGy. ..	20
Figura 6. Percentagem (%) de inibição obtida nos extratos etanólicos das sementes de abóbora com diferentes concentrações sujeitas a uma dose de radiação de 1,5 KGy. ..	20
Figura 7. Percentagem (%) de inibição obtida nos extratos etanólicos das sementes de abóbora com diferentes concentrações sujeitas a uma dose de radiação de 5,0 KGy. ..	21
Figura 8. Percentagem (%) de inibição obtida nas concentrações do grupo controle de extratos etanólicos dos feijões mungo	24
Figura 9. Percentagem (%) de inibição obtida nos extratos etanólicos dos feijões mungo com diferentes concentrações, sujeitos a uma dose de radiação de 0,5 KGy.	24
Figura 10. Percentagem (%) de inibição obtida nos extratos etanólicos dos feijões mungo com diferentes concentrações, sujeitos a uma dose de radiação de 1,0 KGy.	25
Figura 11. Percentagem (%) de inibição obtida nos extratos etanólicos dos feijões mungo com diferentes concentrações, sujeitos a uma dose de radiação de 1,5 KGy. ...	25

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Teores de fenólicos e de flavonoides totais nas sementes de abóbora.	17
Tabela 2. Resultados obtidos para a amostra de sementes de feijão mungo.	22

LISTA DE ABREVIATURAS

CAC – Comissão do Codex Alimentarius (do inglês *Codex Alimentarius Commission*)

DPPH[•] – Radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (do inglês *1,1-disphenyl-2-picrylhydrazyl radical*)

EU – União Europeia (do inglês *European Union*)

FDA – Administração Federal de Alimentos e Medicamentos (do inglês *Food and Drug Administration*)

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura (do inglês *Food and Agriculture Organization of the United Nations*)

Gy – Gray

IAEA – Agência Internacional de Energia Atômica (do inglês *International Atomic Energy Agency*)

J – Joule

KGy – QuiloGray

Kg – Quilograma

OMS – Organização Mundial de Saúde

USA – Estados Unidos da América (do inglês *United States of America*)

I. INTRODUÇÃO

A alimentação sempre fez parte da vida humana e os hábitos alimentares são uma condicionante das sociedades e das culturas das diversas civilizações. O conceito de “modernidade alimentar” sintetiza e representa os impactos que a alimentação tem sofrido em função das transformações sociais, económicas e culturais ocorridas na sociedade atual (Fonseca et al., 2011). Nesse contexto, a tecnologia alimentar tem evoluído no sentido de aumentar a conservação dos alimentos e, conseqüentemente, o tempo de vida útil dos mesmos, tornando-os mais acessíveis ao consumidor em geral. No entanto, os problemas de saúde e segurança alimentar também ocupam um lugar de destaque nas preocupações dos seres humanos (Matias et al., 2013). Por esse motivo os processos de conservação dos alimentos têm sido cada vez mais estudados. Técnicas como a congelação, a pasteurização, a refrigeração, a desidratação e a fermentação são exemplos atuais usados na preservação dos alimentos (Kalyani e Manjula, 2014; Modanez, 2012).

A irradiação é outra técnica de conservação, atualmente muito estudada, dado ter sido introduzida na indústria alimentar mais recentemente. De facto, a ideia de utilizar radiação ionizante na conservação dos alimentos surgiu depois da descoberta dos raios X e da radioatividade por Roentger e Becquerel em 1895 (Couto e Santiago, 2010). Segundo dados bibliográficos, esta técnica de conservação foi utilizada pela primeira vez em 1905 por cientistas britânicos, e posteriormente usada nos Estados Unidos da América (USA), na conservação da carne de porco, pela inativação da *Trichinella spiralis* (Baer et al., 2013). Atualmente sabe-se que a irradiação é amplamente utilizada em diversos alimentos, tais como especiarias, grãos, carnes, frutas e tubérculos (Silva e Roza, 2010). Assim, a irradiação dos alimentos consiste na exposição dos mesmos, sejam de origem vegetal e/ou animal à radiação ionizante, proveniente tanto de uma máquina de feixes de elétrons como de fontes radioativas. Segundo a Agência Internacional de Energia Atómica (IAEA), a irradiação impede a divisão de células vivas como bactérias e células de organismos superiores, alterando as suas estruturas moleculares. Para, além disso, possui a capacidade de inibir o processo de maturação de alguns vegetais e frutas, pela indução das alterações bioquímicas nos processos fisiológicos dos tecidos (IAEA 1991). Ainda segundo Ornellas et al. (2006), esta técnica

é cientificamente aceite por órgãos internacionais tais como a Organização Mundial de Saúde (OMS) e a Administração Federal de Alimentos e Medicamentos (FDA), sendo reconhecida atualmente como a única técnica capaz de inativar microrganismos patogênicos em alimentos crus, congelados ou descongelados. Por isso, a irradiação coopera significativamente tanto na conservação e inocuidade do alimento como na promoção da saúde do consumidor final. Após aprovação da FDA e da OMS, esta técnica já é utilizada em 37 países, sendo Portugal uma exceção (Silva e Roza, 2010). Embora ainda haja muita discordância no recurso à irradiação em alimentos, Couto e Santiago (2010) defendem que a mesma é segura, após terem sido realizados ensaios toxicológicos e nutricionais aos alimentos, os quais são atualmente consumidos pelas forças armadas americanas e astronautas.

Outro problema atual incide no crescimento da população mundial e na carência generalizada de proteína vegetal, o que estimula um maior interesse pelas leguminosas, sementes e grãos vegetais, reconhecidos pelo seu aporte proteico. A procura de grãos de leguminosas ricas em proteína vegetal é cada vez maior. Mais de 70% das necessidades de proteína vegetal da União Europeia (EU) estão pendentes das importações de soja de países terceiros, principalmente dos USA. Para colmatar este déficit torna-se necessário o desenvolvimento de variedades de leguminosas para grão que sejam altamente produtivas (Barroso et al., 2007), capazes de ultrapassar as limitações impostas por fatores abióticos (e.g. clima e solo) e por fatores bióticos (e.g. doenças, pragas e infestantes). Por outro lado, as leguminosas apresentam várias características únicas sendo uma delas a capacidade de estabelecerem uma relação de simbiose entre as suas raízes e a bactéria do solo (*Rhizobium*). Esta simbiose permite a fixação do azoto atmosférico, reduzindo assim as necessidades de fertilização azotada destas culturas, contribuindo para uma melhor gestão da exploração por favorecer a quebra do ciclo das doenças e pragas provocadas pela monocultura dos cereais, bem como o melhoramento da diversidade microbiana do solo, a agregação e a conservação do solo, culminando num melhoramento da sustentabilidade agrícola. Economicamente, as leguminosas são o segundo grupo de culturas agrícola mais importante, a seguir aos cereais, e representam cerca de 27% da produção de grãos, sendo considerada a terceira maior família botânica, a qual compreende mais de 650 géneros e cerca de 18.000 espécies vegetais (Lewis et al., 2005). Devido ao aumento da procura destes géneros

alimentícios, acresce o reconhecimento das suas propriedades nutricionais e benefícios para a saúde. Desse modo, algumas informações sobre o tipo de colheita, secagem e armazenamento são fundamentais na manutenção da qualidade dos grãos para o consumo humano. Como referido anteriormente, o desenvolvimento de fungos nestas matrizes alimentares é propício, sendo que a humidade, temperatura, período de armazenamento, nível inicial de contaminação, impurezas, insetos, concentração de dióxido de carbono intergranular e condições físicas e sanitárias dos grãos, são condicionantes para o desenvolvimento dos fungos. Os fungos tóxicos pertencem basicamente aos géneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, os quais são responsáveis pela produção da maioria das micotoxinas até hoje conhecidas e estudadas (Ismaiel e Papenbrock, 2015; Sawane e Sciences, 2014). As espécies *Fusarium* são patogénicas das plantas, produzindo micotoxinas antes da colheita ou imediatamente após a mesma, enquanto os géneros *Penicillium* e *Aspergillus* são mais comumente encontrados como contaminantes de produtos alimentares, desenvolvendo-se durante o período de secagem e armazenamento (Freire et al., 2007). Pelos motivos referidos, os grãos e as sementes vegetais utilizadas para consumo humano são exemplos de alimentos que devem ser irradiados. Segundo Ismaiel e Papenbrock (2015) a principal via de exposição dos animais às micotoxinas é feita através da ingestão de alimentos contaminados, apesar de existirem casos esporádicos de contaminação por inalação de micotoxinas e por contacto cutâneo. As culturas agrícolas, especialmente os cereais, são suscetíveis à contaminação fúngica, no campo ou durante o período de armazenamento. Os níveis de micotoxinas nos alimentos podem flutuar grandemente e variar de ano para ano, consoante as condições para o crescimento de fungos (Samuel e Valentine, 2014).

Assim, neste trabalho, objetivou-se estudar o efeito da irradiação de duas sementes alimentares, abóbora e feijão mungo, comumente consumidas, recorrendo à quantificação no teor de compostos não-nutrientes (fenólicos e flavonoides) e na atividade antioxidante, utilizando técnicas espectralométricas previamente validadas.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Segurança e Qualidade Alimentar

Muitas vezes os problemas de saúde estão relacionados com o estilo de vida e com a nutrição. Conforme Constantino et al. (2016), o conhecimento sobre os estilos de vida saudáveis está disponível nos mais diversificados meios de comunicação atuais e de fácil acesso (e.g. internet, televisão, rádio). No entanto, a atitude do consumidor em relação à segurança e qualidade alimentar é ainda instável. Torna-se essencial a consciencialização dos consumidores para uma saúde cuidada e segura. De facto, os alimentos podem conter substâncias perigosas de natureza física, química ou biológica. De uma maneira geral, todas elas alteram a composição/características dos alimentos, no entanto, são as substâncias biológicas as mais perigosas, uma vez que podem não ser detetadas a olho nu. Os perigos biológicos podem ter lugar sob a influência de microrganismos que compreendem bactérias, bolores, vírus e parasitas. Um alimento pode alterar o estado de saúde do consumidor mesmo sem ter aparência, sabor ou cheiro de estragado. Assim os microrganismos que provocam esse mal-estar ou as doenças transmitidas por alimentos, podem chegar até nós através da ingestão dos mesmos.

Os microrganismos patogénicos alcançam o sistema digestivo através da ingestão dos alimentos e de água contaminados, onde proliferam e causam infeção no organismo. Por este motivo, os alimentos necessitam de ser examinados e sujeitos a diversos processos de conservação e desinfestação antes de serem expostos para consumo (Sommers e Boyd, 2006). De acordo com Landgraf (2002) e mediante os dados publicados pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) as perdas de alimentos durante o período de colheita, armazenamento e processamento atingem valores cada vez mais elevados a nível mundial. A mesma atestou ainda que todos os alimentos consumidos crus ou pouco cozidos são a maior preocupação para as autoridades de saúde pública, sendo que a maior parte das vezes, não possuem etapas de descontaminação entre o contágio dos alimentos e sucessivo consumo desses, causando contínuas infeções. Mediante esta preocupação, Modanez (2012) sugeriu a irradiação, como método físico de conservação de alimentos, a qual contribui para a redução dos organismos potencialmente patogénicos presentes nos mesmos, de forma a não causarem riscos acrescidos à saúde pública.

O aumento do prazo de validade do alimento, o atraso do processo germinativo e consequente maturação são também vantagens desta técnica de conservação alimentar. Outro exemplo são os legumes e as frutas sujeitos à exportação, em que o manuseamento, transporte e armazenamento promovem danos físicos e biológicos graves, impossibilitando a sua comercialização. A irradiação promove maior controle das pragas, inibição das enzimas e consequentes reações químicas inerentes ao processo de maturação e senescência precoce destes alimentos altamente perecíveis.

2.2. Alimentos Irradiados

Num mundo mais moderno em que os hábitos alimentares tendem para o consumo de alimentos crus ou com pouca cozedura, torna-se importante a promoção da segurança e higiene alimentar, de forma a evitar possíveis contaminações (Omi, 2005). A salvaguarda dos alimentos tem sido uma prática corrente ao longo dos séculos, apelando a diferentes técnicas de conservação, tais como a desidratação e a fermentação (Kalyani e Manjula, 2014). A utilização da irradiação, como processo de conservação, tem como objetivo promover a máxima segurança para o consumidor final e melhor qualidade do alimento sem prejuízo das propriedades nutricionais e organolépticas do mesmo (Chirinos et al., 2002; Ornellas et al., 2006). Há mais de um século que o estudo da irradiação em alimentos tem vindo a ser efetuado por diferentes organizações mundiais, incluindo a FAO, a IAEA, a OMS e a Comissão do Codex Alimentarius (CAC) de forma a garantir a segurança e inocuidade dos géneros alimentícios (Alam et al., 2010). Assim, a irradiação, embora não seja uma tecnologia recente, tem vindo a ser introduzida cada vez mais pela indústria alimentar nos últimos anos (Mostafavi et al., 2011).

Resumidamente poder-se-á dizer que o processo de irradiação compreende a exposição de alimentos a um determinado nível de radiação de ionização, cuja intensidade é manuseada mediante a natureza do alimento (Arvanitoyannis et al., 2009; Silva e Roza, 2010). Trata-se de um processo de emissão de energia sob a forma de partículas ou raios capazes de melhorar a segurança alimentar, eliminando e reduzindo a carga microbiana contaminante no alimento (Silva e Roza, 2010; Tomlins, 2008). As fontes da radiação de ionização podem ser do tipo eletromagnética ou de partículas (raios- γ dos radionucleótidos cobalto 60 (^{60}Co) ou o céσιο 137 (^{137}Cs), raios-x gerados por aparelhos

que funcionam abaixo de 5 MeV ou por outros aparelhos que imitam feixes de elétrons e que funcionem abaixo de um nível de energia 10 MeV) (Rusin et al., 2015). A dose de radiação ou nível do tratamento é a quantidade de energia absorvida durante a exposição do alimento à mesma. Tradicionalmente, a dose de radiação de ionização absorvida pelo alimento irradiado tem sido medida em termos de rad, mas recentemente esta unidade foi substituída pelo gray (Gy), que é igual a 100 rad. 1 Gy representa 1 Joule (J) de energia absorvida por quilograma (Kg) do produto irradiado, cuja energia absorvida depende de alguns fatores, tais como massa, densidade e espessura do alimento (Marcotte, 2001; Norhana et al., 2010).

As doses dos alimentos irradiados são geralmente caracterizadas como baixas (menores que 1 QuiloGray (KGy), médias (1-10 KGy) ou elevadas (maiores que 10 KGy) e estão diretamente relacionadas com o tipo de microrganismo a eliminar, fatores ambientais, teor de humidade do alimento, temperatura usada no decurso do processo de irradiação, presença de oxigénio, entre outras (Souza, 2016). A dose necessária para reduzir a carga microbiana, em concreto os microrganismos, pode variar, e por esse mesmo motivo, é essencial ter em consideração alguns parâmetros supracitados. Segundo Rusin et al. (2015), o uso de doses inferiores a 10 KGy não afeta significativamente o aporte nutricional de um alimento. O mesmo autor assegura ainda que alimentos irradiados não apresentam muitas perdas nutricionais em relação a alimentos tratados com outras técnicas de conservação. Assim, para inativar os vírus utilizam-se doses de energia ionizante entre 0,005 a 1,0 KGy. Já Landgraf (2002) defende doses de 0,5 a 10 KGy para a eliminação de vírus e de 10 a 50 KGy para microrganismos formadores de esporos, uma vez que são mais difíceis de inativar. Em geral, quanto maior a dose aplicada, menor o número de microrganismos sobreviventes, menor é a temperatura e também menor a velocidade das reações químicas, como a formação de radicais de moléculas de água.

2.2.1. Aceitação da Irradiação como Técnica de Conservação

Conforme descreveram Silva e Roza (2010), a irradiação foi aprovada pela FAO e pela OMS, sendo já utilizada em 37 países. No entanto, ainda existem oposições a serem superadas. O conhecimento da técnica por parte do consumidor constitui um dos muitos obstáculos que impedem a venda e a aceitação de alimentos irradiados em muitos

países. De acordo com Cattaruzzi (2012), Portugal possui apenas uma única instalação para aplicar irradiação em alimentos, tendo como principais alimentos irradiados as especiarias e os vegetais desidratados. No entanto, esses alimentos irradiados são apenas exportados para outros países, uma vez que em Portugal não é permitido o seu consumo. Segundo o mesmo autor, existem dados que nos permitem concluir que quando o nosso país é comparado com países como os USA ou a China, os quais empregam a irradiação nos mais diversificados alimentos, possuindo 50 e 70 instalações, respetivamente, é ainda um campo muito ínfimo e uma área a investigar e expandir no futuro. Aliás, convém referir que em Portugal não é permitida a comercialização de alimentos irradiados. Sugere-se a pesquisa e o desenvolvimento da área da irradiação de alimentos de forma a assegurar uma melhor qualidade de vida e segurança alimentar aos consumidores.

Mundialmente existem proximamente 200 instalações preparadas para exercerem a irradiação. A maioria destas utiliza como principal fonte o radioisótopo ^{60}Co , principal fonte de radiação gama utilizada na irradiação de alimentos, devido à sua disponibilidade, ao custo, ao facto de se apresentar na forma metálica e de ser insolúvel em água, não provocando danos ambientais (Landgraf, 2002; Modanez, 2012). Como atestado anteriormente, a irradiação é um método frio e tem como benefício a capacidade de se usar uma dose de radiação conforme o objetivo pretendido. Utiliza-se este processo em alimentos termossensíveis bem como em alimentos embalados e congelados, o que seria impensável utilizando as técnicas clássicas com calor (Norhana et al., 2010). No entanto, existe ainda muita controvérsia no que diz respeito a alimentos irradiados. Por exemplo, em alimentos de elevado teor proteico, alguns estudos referem que a irradiação pode produzir reações químicas adversas, as quais dependem das estruturas proteicas, estado (nativo ou desnaturado) e composição de aminoácidos, promovendo a oxidação dos alimentos. Dogan e colaboradores (2007) referiram que uma radiação gama de intensidade 10 KGy promove a agregação e desnaturação das proteínas em avelãs. Já Stewart (2009) afirmou que alimentos lipídicos, quando submetidos à irradiação, aumentam a probabilidade de ocorrência da oxidação lipídica devido aos radicais livres formados durante a irradiação. Face ao exposto, torna-se imperativo afirmar que cada país tem uma legislação específica relativa à irradiação e às condições em que esta técnica é efetuada, e que por respeito ao consumidor

e cumprimentos das normas de qualidade e segurança alimentar, todos os alimentos comercializados terão que apresentar uma declaração no rótulo associado a um símbolo específico, denominado radura (Figura 1) (Couto e Santiago, 2010).



Figura 1. Símbolo obrigatório para alimentos irradiados denominado de radura (Retirado de: Radiologia Blog)¹

Segundo Ornellas et al. (2006), a radura transmite confiança, qualidade e segurança ao consumidor final, tanto pela sua apresentação em forma de flor, como pela sua cor verde. Conforme a Figura 1, atualmente a irradiação tanto pode ser utilizada em alimentos animais como vegetais, incluindo-se hortícolas, especiarias e sementes.

2.3 Sementes Edíveis

Os hábitos alimentares estão constantemente a evoluir devido à introdução de novos alimentos no padrão alimentar internacional. Nos últimos anos tem-se vindo a promover o consumo de sementes alimentares, algumas muito conhecidas, mas desprezadas pela população em geral, e outras não tão divulgadas. Atualmente, face ao aporte nutricional e riqueza em compostos bioativos, estas sementes são aclamadas de “novos super alimentos” (Ahmed et al., 2015; Kasapidou et al., 2015; Wijngaard et al., 2012).

¹Disponível em: <<http://radiologia.blog.br/radiologia-industrial/irradiacao-de-alimentos-saiba-tudo-sobre-o-processo-de-conservacao-de-alimentos>>. Acesso em: Setembro de 2017

2.3.1. Abóbora

A abóbora compreende um total de 27 espécies atualmente identificadas, tem como nome científico *Cucurbita* spp., e pertence à família das Cucurbitaceae (Barbosa, 2015; CPRA, 2014). A abóbora, enquanto fruto, é reconhecida como um alimento que vai de encontro às exigências de uma alimentação saudável, sendo muito apreciada pelos consumidores pelo seu sabor suave, cor atrativa, baixo custo e fácil acesso. No entanto, o seu elevado valor nutritivo destaca-se como uma das prioridades para o seu consumo, nomeadamente pela sua riqueza em pectina, sais minerais, α - e β -caroteno, luteína, vitaminas A e C, fibras e minerais, bem como compostos fenólicos e outros componentes benéficos para a saúde humana (Ferreira et al., 2017; Zhou et al., 2014). Para além do seu aporte nutricional e caracterização química, são também atribuídas à abóbora propriedades biológicas, como antidiabética, anti-hipertensiva, antibacteriana e antioxidante (Pajak et al., 2014; Xanthopoulou et al., 2009; Zhou et al., 2014). Relativamente aos seus subprodutos, em concreto as sementes ou pevides, estas não eram reconhecidas como alimento até recentemente. De facto, na procura de alternativas para uma alimentação mais moderna e mais prática, as sementes começaram a ter mais interesse e, conseqüentemente, maior integração nos hábitos alimentares quotidianos (Omi, 2005).

A hodiernidade alimentícia influencia as pessoas a procurarem as sementes para integrar na sua alimentação, como ingrediente (e.g. iogurtes, sopas, massas, batidos de fruta), uma vez que os seus elevados teores em fibras, os quais promovem uma ação laxante, com atividade anti-hiperglicemiante, são amplamente reconhecidos (Ramoní et al., 2014). Estudos recentes conferem-lhes propriedade nutricionais importantes, sendo uma fonte rica em zinco (importante no reforço do sistema imunitário, apresentando poder anti-inflamatório) (Naves et al., 2010), e vitamina E (que apresenta um forte poder antioxidante, protegendo o organismo da agressão dos radicais livres) (Karanja et al., 2013). Contêm cerca de 35-40% de gorduras insaturadas (saudáveis) e fitosteróis (antioxidantes) (Eddy et al., 2011), proteínas (Naves et al., 2010; Zhou et al., 2014) e pectinas (fibras solúveis) (Ferreira et al., 2017; Zhou et al., 2014).

2.3.2. Feijão Mungo

O feijão mungo (*Vigna radiata*) pertence à família das Leguminosae (Dahu et al., 2016). As leguminosas são uma classe de plantas muito utilizadas na alimentação, sendo já 150 as espécies usadas como alimento. Além de possuírem um baixo conteúdo em lípidos, representam uma boa fonte de proteína (Ramírez-Cárdenasi et al., 2008), fibra (Rios et al., 2003) e contêm elevados teores de compostos bioativos na sua constituição, que podem produzir efeitos metabólicos e fisiológicos benéficos na prevenção da diabetes, doenças cardiovasculares e neoplasias (Alonso et al., 2010).

O feijão é um alimento tradicional que faz parte da dieta da maioria da população mundial e é utilizado nas mais variadas ementas, por ser de fácil acesso e baixo custo. Assim é também procurado por pessoas mais carenciadas e consumido com maior frequência (Oliveira et al., 2006). Portugal é um país com pouca produção de feijão, sendo na Beira Litoral, seguida das regiões de Entre Douro e Minho e Trás-os-Montes que se encontra o seu cultivo (Barroso et al., 2007). Segundo Andersen (2012), a avaliação dos nutrientes existentes nesta espécie de feijão foi realizada a partir das dietas deficientes dos habitantes das encostas marginais e rurais da Índia e Nepal. Este feijão era habitualmente consumido em sopas, cozidos, estufados, ou consumidos *in natura* (saladas). O mesmo autor afirmou que esta espécie pode ser utilizada como substituto de outros alimentos em virtude do seu valor nutricional e baixa concentração de gorduras saturadas. Este tipo de leguminosa possui um elevado teor proteico, é energético, pobre em gordura e de fácil digestão (Dahu et al., 2016). Contudo, existem muitos fatores que influenciam a qualidade do feijão, entre elas, a conservação do mesmo. Quando os alimentos, no geral, não são conservados da forma mais apropriada, ficam sujeitos a carências consideráveis do ponto de vista nutricional. A irradiação ionizante neste tipo de matriz alimentar torna-se fundamental, no sentido de garantir maior conservação, sem grandes prejuízos das perdas nutricionais do mesmo. Para além disso, Toledo et al. (2007) reportaram que a irradiação do feijão promovia uma menor firmeza dos mesmos e conseqüentemente uma diminuição do tempo de cozedura, minimizando as perdas nutricionais e composição em fitoquímicos.

III. OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho consistiu em relacionar a influência da irradiação gama (^{60}Co) com diferentes doses de KGy em sementes edíveis (abóbora e feijão mungo) com possíveis perdas nos teores de compostos bioativos e respetiva atividade antioxidante. Para tal, foram delineados objetivos específicos, tais como:

- Escolha das amostras, tendo em consideração a existência de uma amostra controlo e amostras submetidas a diferentes intensidades de radiação.
- Escolha do solvente apropriado para o método de extração sólido/líquido, mediante dados bibliográficos e estudos previamente validados.
- Quantificação dos teores de compostos fenólicos totais e de flavonoides totais em extratos etanólicos.
- Avaliação da atividade antioxidante, com recurso ao ensaio DPPH \cdot .

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Reagentes e Padrões

No decurso do trabalho experimental e para a realização das diferentes metodologias abaixo referidas, foram utilizados reagentes de grau analítico.

- 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH') (Sigma Aldrich, Steinheim, Alemanha);
- Acetato de sódio ($C_2H_3NaO_2$) (Sigma Chemical Co., St. Louis, EUA);
- Ácido acético (CH_3COOH) (Chem-Lab NV, Zedelgem, Bélgica);
- Ácido gálico ($C_7H_6O_5$) (Sigma Aldrich, China);
- Carbonato de sódio (Na_2CO_3) (Sigma Aldrich, Steinheim, Alemanha);
- Catequina ($C_{15}H_{14}O_6$) (Sigma Aldrich, Steinheim, Alemanha);
- Cloreto de alumínio ($AlCl_3$) (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha);
- Etanol absoluto (C_2H_6O) (CARLO ERBA Reagents S.A.S, Val de Reuil, França);
- Hidróxido de sódio (NaOH) (VWR International S.A.S., Foutenay-sous-Bois, França);
- Hidróxido de potássio (KOH) (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA);
- Nitrito de sódio ($NaNO_2$) (Sigma Aldrich, Steinheim, Alemanha);
- Reagente fenol de Folin-Ciocalteu's (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha);

4.2. Amostras

As sementes de abóbora e de feijão mungo (Figura 2) foram adquiridas numa área comercial localizada na cidade de Nova York, Estados Unidos da América. Cada kit de amostragem era constituído por uma amostra controlo (sem irradiação) e amostras irradiadas com intensidades de KGy diferentes.



Figura 2. Sementes de abóbora e grãos de feijão mungo, respetivamente.

Após a receção das amostras, as mesmas foram armazenadas em frascos de amostragem e conservadas ao abrigo da luz e humidade. Seguidamente foram trituradas num moinho (Grindomix GM200, Retch, Alemanha) até à obtenção de um pó fino e homogéneo. As amostras foram armazenadas a 4°C até serem realizados os ensaios experimentais propostos.

4.3. Determinação de Compostos Bioativos

4.3.1. Preparação dos Extratos

Para a obtenção dos extratos, adicionou-se cerca de 1 g de amostra a 50 mL de solvente, tendo-se escolhido o etanol, como solvente extrator. O método de extração foi baseado no estudo validado por Costa et al. (2014), que decorreu durante 60 minutos a 40°C, numa placa de aquecimento (Mirak, Thermolyse, EUA), sob agitação constante (600 rpm). Seguidamente, os extratos foram filtrados com papel de filtro (Whatman N° 1) evaporados num evaporador rotativo (RV) (Vaccum Controller V-800, Büchi, Suíça) utilizando uma pressão de 175 mbar e uma temperatura inferior ao ponto de ebulição do solvente.

4.3.2. Compostos Fenólicos Totais

Os compostos fenólicos apresentam-se como agentes antioxidantes naturais presentes nas plantas e nos frutos, conferindo-lhes proteção contra predadores e condições edafoclimáticas não favoráveis (Sucupira et al., 2012). Estes compostos, para além de apresentarem propriedades antioxidantes, também são detentores de propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias (Merlin et al., 2017).

Quimicamente contêm pelo menos um anel benzênico na sua estrutura básica e um grupo hidroxilo (OH) funcional ligado ao anel (Barbosa, 2015). A determinação do conteúdo de fenólicos totais seguiu a metodologia espectrofotométrica descrita por Wootton-Beard et al. (2011), recorrendo ao reagente de Folin-Ciocalteu. A 30 µL de cada um dos extratos obtidos adicionaram-se 150 µL de reagente de Folin-Ciocalteu previamente diluído (1:10, v/v) e 120 µL de Na₂CO₃ (7,5%). A solução foi incubada a 45°C diretamente no leitor de Microplacas Synergy HT (BioTek Instruments, Synergy HT GENS5, EUA), ao abrigo da luz durante 15 minutos. Seguidamente, a mistura incubou durante 30 minutos à temperatura ambiente e as leituras das absorvências foram realizadas a 765 nm. Para a determinação do teor de fenólicos totais, usou-se o ácido gálgico como padrão. A correlação entre a absorvência das amostras e a concentração do padrão foi obtida através da curva de calibração (gama de linearidade: 5-100 ppm, R² = 0,9924). Os resultados obtidos foram expressos em miligramas de equivalentes em ácido gálgico por grama de extrato (mg EAG / g de extrato seco).

4.3.3. Flavonoides Totais

Os flavonoides apresentam uma estrutura química composta por três anéis benzênicos e a sua atividade biológica está diretamente relacionada com o número de átomos de hidrogénio (Barbosa, 2015; Silva et al., 2017).

O teor de flavonoides totais foi determinado recorrendo a um ensaio colorimétrico baseado na formação de complexos flavonoide-alumínio, a um comprimento de onda de 510 nm, previamente validado por Rodrigues et al. (2013). A 30 µL de cada extrato adicionaram-se 75 µL de água destilada e 45 µL de NaNO₂ a 1%. Após 5 minutos de reação, adicionaram-se 45 µL de uma solução de AlCl₃ a 5% e aguardou-se 1 minuto. Por fim, foram adicionados 60 µL de NaOH (1 M) e 45 µL de água destilada. As leituras das absorvências foram efetuadas no leitor de Microplacas, recorrendo-se à catequina como padrão. A curva de calibração foi obtida através de diferentes concentrações de catequina, tendo-se obtido uma gama de linearidade: 5-300 ppm, R² = 0,9982. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de catequina por grama de extrato (mg EC/ g de extrato seco).

4.4. Atividade antioxidante

Para a avaliação da atividade antioxidante foi realizado um método corrente em matrizes alimentares, em concreto, a determinação da capacidade de neutralização do radical DPPH[•]. É um método químico que apresenta como vantagens a sua rapidez, estabilidade e facilidade de execução (Nehring et al., 2016; Sucupira et al., 2012).

4.4.1. Método do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH[•])

O princípio do método baseia-se na capacidade de um agente antioxidante reduzir o radical livre DPPH[•] quando em contacto com este, convertendo-o a hidrazina, através da transferência de eletrões. Quando uma determinada substância dadora de átomos de hidrogénio é adicionada a uma solução de DPPH, a hidrazina é obtida com a mudança simultânea na coloração de violeta para amarelo pálido (Silva et al., 2017; Sucupira et al., 2012).

Dos extratos etanólicos obtidos das amostras em estudo retiraram-se 30 µL de cada, adicionando-se 270 µL de reagente DPPH, previamente preparado a uma concentração 6×10^5 M com etanol. Procedeu-se à leitura das absorvências a 525 nm, a cada 2 minutos durante 30 minutos, no leitor de Microplacas. Como controlo positivo utilizou-se uma solução-mãe de Trolox 562 mg/L. Foram usadas diferentes concentrações de extrato para avaliar a percentagem de inibição do radical livre. Os resultados foram expressos como percentagem da redução do DPPH[•] a difenil-picril-hidrazina (Figura 3).

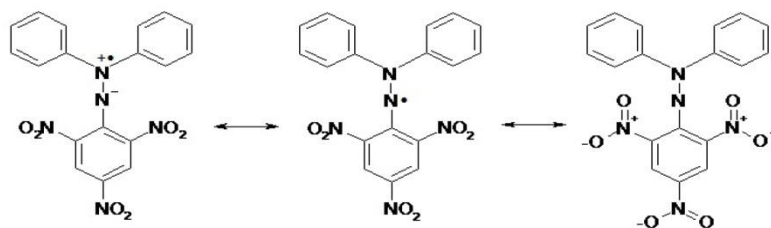


Figura 3. Estabilização do radical DPPH[•] pelo deslocamento do eletrão desemparelhado (Retirado de: Revista brasileira de plantas medicinais, vol.17 n.1 Botucatu Jan./Mar. 2015).²

²Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/12_165>. Acesso em Setembro de 2017.

4.5. Análise Estatística

Todos os resultados obtidos estão apresentados em média \pm desvio padrão resultante dos ensaios realizados em triplicado. O tratamento estatístico dos resultados foi processado no programa informático Microsoft Office Excel® 2013, SPSS® versão 24.

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias que evitam a oxidação através do domínio de radicais livres, impedindo que estes se tornem nocivos à saúde. O poder antioxidante advém dos compostos fenólicos, dos quais os flavonoides fazem parte (Silva et al., 2017). O efeito do sequestro de radicais é determinado não somente pela reatividade do antioxidante com o radical, mas também pela sua concentração.

Abóbora (*Cucurbita pepo*)

As sementes de abóbora são consideradas fontes ricas de nutrientes (Ramoni et al., 2014), bem como de compostos não-nutrientes, onde se incluem os fenólicos e os flavonoides. Na Tabela 1 estão apresentados os teores de fenólicos totais presentes nas diferentes amostras usadas neste estudo.

Tabela 1. Teores de fenólicos e de flavonoides totais nas sementes de abóbora.

Sementes de Abóbora (<i>Cucurbita pepo</i>)		
Amostras	Fenólicos totais (mg EAG/g)	Flavonoides totais (mg EC/g)
Controlo	0,51±0,02 ^b	0,095±0,003 ^b
Irradiadas (0,5KGy)	0,58±0,03 ^b	0,090±0,005 ^b
Irradiadas (1,5KGy)	0,82±0,04 ^a	0,127±0,004 ^a
Irradiadas (5,0KGy)	0,36±0,05 ^c	0,028±0,004 ^c

Média ± Desvio Padrão (n=3). ^{a,b,c}Letras diferentes significam diferenças estatisticamente significativas (p < 0,05).

Pela análise à Tabela 1 verificam-se diferenças significativas entre as amostras estudadas no que toca à avaliação da intensidade de radiação. De uma maneira geral, as intensidades baixas não afetam significativamente o teor de fenólicos totais, sendo que a amostra controlo (isenta de radiação) apresentou um teor idêntico à amostra irradiada com 0,5 KGy (menor dosagem).

Contudo, o teor de fenólicos totais foi significativamente superior na amostra irradiada com 1,5 KGy (0,82 mg EAG/g) e para 5,0 KGy os teores encontrados foram os mais baixos de todos. Estes resultados presumem que a intensidade da irradiação interfere diretamente no teor de fenólicos totais, sendo que, para as sementes de abóbora, a intensidade de 1,5 KGy mostrou-se mais favorável. No entanto, mais determinações deveriam ser realizadas, com amostras irradiadas entre 1,5 e 5,0 KGy, de forma a fundamentar os resultados experimentais obtidos.

Relativamente aos teores de flavonoides totais obtidos, os resultados mostraram-se idênticos ao perfil tendencial observado para os fenólicos totais, não no que se refere a teores, mas à influência da radiação nas sementes. Os teores de flavonoides totais foram significativamente inferiores aos teores de fenólicos totais, o que era esperável, uma vez que os flavonoides integram o grupo dos compostos fenólicos que, por sua vez, apresentam uma diversidade de outros compostos. Outros estudos semelhantes confirmam a superioridade em fenólicos totais em relação aos teores de flavonoides totais (Ammar et al., 2014; Valenzuela et al., 2014).

Uma vez mais, verifica-se que a radiação de 0,5 KGy não interfere de forma significativa nos teores de flavonoides, sendo que até 1,5 KGy observa-se um aumento dos seus teores. A amostra irradiada a 1,5 KGy apresentou maior concentração destes compostos (0,127 mg EC/g) e a amostra irradiada a 5,0 KGy obteve teores inferiores à amostra controlo (0,028 e 0,095 mg EC/g, respetivamente). Estes resultados indicam, uma vez mais, que o controlo da radiação em matrizes alimentares é fundamental na medida é que esta pode diminuir os teores de nutrientes e não-nutrientes presentes no alimento sujeito à irradiação.

Atividade antioxidante

Os compostos antioxidantes, quando ingeridos em quantidades adequadas, promovem a diminuição de radicais livres em excesso, evitando mesmo, em quantidades mínimas, a oxidação de substâncias facilmente oxidáveis e diminuem a incidência de doenças relacionadas com o stresse oxidativo (Merlin et al., 2017; Silva et al., 2017; Sucupira et al., 2012).

Vários métodos estão disponíveis na literatura para avaliar a atividade antioxidante de diferentes tipos de substâncias. O interesse em avaliar a capacidade antioxidante resulta de vários estudos realizados sobre a importância dos compostos antioxidantes em sistemas biológicos (Karadag et al., 2009). Os antioxidantes podem ser benéficos para a melhoria da qualidade de vida, devido às reconhecidas propriedades biológicas já descritas na prevenção de diversas doenças, tais como cardiovasculares, neoplasias, aterosclerose, artrite reumática, hipertrofia muscular e neurodegenerativas (e.g. Alzheimer) (Alam et al., 2013; Poljšak e Dahmane, 2012; Tinkel et al., 2012).

Assim, neste trabalho foi avaliada a atividade antioxidante das amostras em estudo, usando-se diferentes concentrações de extratos (5, 10, 20, 40, 80 e 100 mg/mL), de forma a averiguar se o aumento dos teores de compostos bioativos interferia na atividade antioxidante.

Nas Figuras 4, 5, 6 e 7 estão representadas as percentagens de inibição do radical livre DPPH[•] em função das concentrações de extrato para cada amostra proposta neste trabalho.

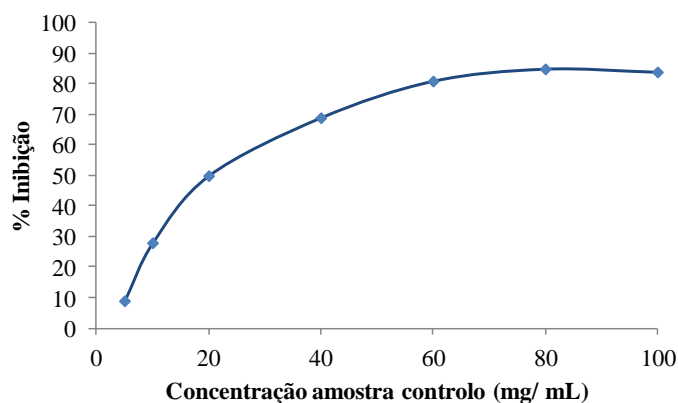


Figura 4. Percentagem (%) de inibição obtida nas concentrações do grupo controle de extratos etanólicos das sementes de abóbora.

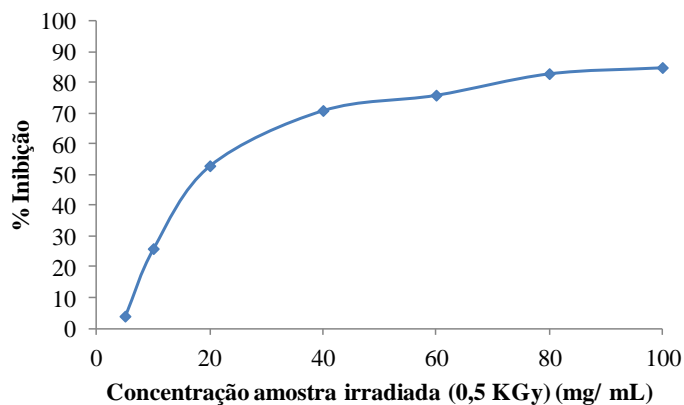


Figura 5. Percentagem (%) de inibição obtida nos extratos etanólicos das sementes de abóbora com diferentes concentrações sujeitas a uma dose de radiação de 0,5 KGy.

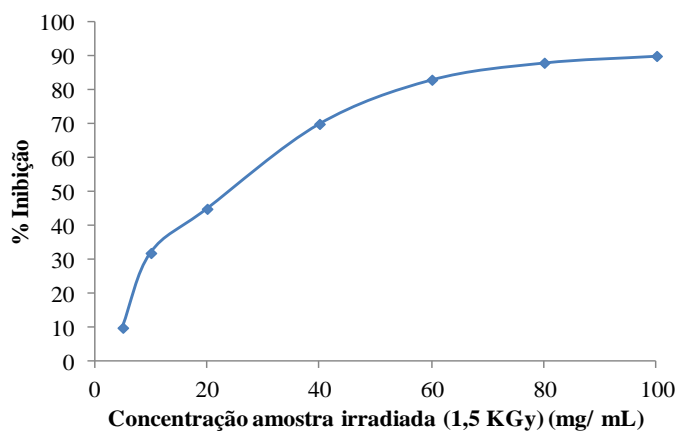


Figura 6. Percentagem (%) de inibição obtida nos extratos etanólicos das sementes de abóbora com diferentes concentrações sujeitas a uma dose de radiação de 1,5 KGy.

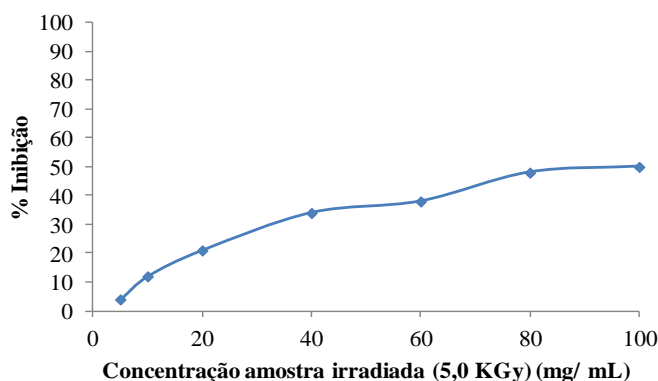


Figura 7. Percentagem (%) de inibição obtida nos extratos etanólicos das sementes de abóbora com diferentes concentrações sujeitas a uma dose de radiação de 5,0 KGy.

A figura referente ao grupo controlo (Figura 4) serve de referência para a avaliação e comparação dos restantes resultados. Neste gráfico existe uma relação direta entre o aumento da concentração de compostos antioxidantes nos extratos etanólicos e a percentagem de inibição. A maior concentração avaliada (100 mg/mL) apresentou uma atividade antioxidante de ~ 80%. Nos gráficos das Figuras 5, 6 e 7, encontram-se os resultados relativos às amostras irradiadas a 0,5; 1,5 e 5,0 KGy, respetivamente. Nas Figuras 5 e 6, com as respetivas doses de radiação de 0,5 e 1,5 KGy, verificou-se que o aumento da concentração dos extratos etanólicos era proporcional ao aumento da atividade antioxidante. O aumento da atividade antioxidante foi mais acentuado a partir da concentração de 80 mg/mL, nas amostras irradiadas a 0,5 e 1,5 KGy, obtendo-se uma atividade antioxidante de 80% e 90% respetivamente. Uma vez mais, a amostra com maior atividade antioxidante foi a irradiada a 1,5 KGy, o que indicia que os teores de compostos bioativos estão diretamente relacionados com a mesma.

No que diz respeito à Figura 7 (amostra irradiada a 5,0 KGy), e comparando com a amostra controlo (Figura 4), a percentagem de inibição foi significativamente inferior à da amostra controlo, facto que está diretamente relacionado com os seus baixos teores de fenólicos e flavonoides totais (Tabela 1). A maior concentração testada para esta dose, apresentou uma % de inibição aproximadamente de 45%. Uma vez mais, estes resultados indicam que as sementes de abóbora não devem ser submetidas a técnicas de irradiação altas (5,0 KGy).

Feijão mungo (*Vigna radiata*)

O feijão mungo faz parte da alimentação humana e animal. É um alimento rico em proteínas e hidratos de carbono e pobre em lípidos, sendo reconhecido o seu elevado teor em fibras e, conseqüentemente, fácil de digerir (Dahu et al., 2016).

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados obtidos para os teores fenólicos e de flavonoides totais dos extratos etanólicos usados.

Tabela 2. Resultados obtidos para a amostra de sementes de feijão mungo.

Sementes de feijão mungo (<i>Vigna radiata</i>)		
Amostras	Fenólicos totais (mg EAG/g)	Flavonoides totais (mg EC/g)
Controlo	2,70±0,16 ^d	11,05±0,18 ^d
Irradiadas (0,5KGy)	3,04±0,08 ^c	12,36±0,33 ^c
Irradiadas (1,0KGy)	3,54±0,14 ^b	16,26±0,24 ^a
Irradiadas (1,5KGy)	3,94±0,07 ^a	13,61±0,49 ^b

Média ± Desvio Padrão (n=3). ^{a,b,c}Letras diferentes significam diferenças estatisticamente significativas (p < 0,05).

No caso do feijão, as amostras estudadas foram o controlo e as amostras irradiadas a 0,5; 1,0 e 1,5 KGy, não sendo possível efetuar uma determinação com irradiação superior, pela ausência da mesma no kit adquirido. Relativamente aos fenólicos totais observou-se um acréscimo dos seus teores mediante o aumento da irradiação, sendo que para a amostra irradiada a 1,5 KGy os teores encontrados foram significativamente superiores (3,94 mg EAG/g). Tal como o observado nas sementes da abóbora (Tabela 1) este comportamento foi idêntico. Os resultados obtidos estão de acordo com outros estudos já publicados. Por exemplo Xue et al. (2016) descreveram teores idênticos em feijões germinados mas sem irradiação (~3,5 mg EAG/g).

No entanto, em feijões não germinados, outros autores descreverem teores ligeiramente superiores (5,80 mg EAG/g) (Khang et al., 2016). De entre os fenólicos presentes, foram descritos em vinte cultivares de feijão mungo os ácidos cafeico, *p*-cumárico, ferúlico e siríngico (Shi et al., 2016).

Contrariamente ao esperado, os teores de flavonoides não foram aumentando de forma direta com o aumento da intensidade da radiação. De facto, os feijões irradiados com 1,0 KGy apresentaram teores significativamente superiores (16,26 mg EC/g), seguidos dos irradiados a 1,5 KGy (13,61 mg EC/g) e a 0,5 KGy (12,36 mg EC/g). Embora tenha existido uma oscilação entre o teor de flavonoides e a intensidade da irradiação, todas as amostras irradiadas apresentaram teores superiores à amostra controlo (11,05 mg EC/g), o que permite afirmar que as intensidades usadas no processo de conservação foram adequadas para manter os teores de flavonoides. Embora não tenha sido possível encontrar dados que permitissem afirmar a veracidade dos nossos resultados, poder-se-á concluir que a irradiação é vantajosa na inibição da hidrólise dos compostos bioativos. Shi et al., (2016) descreveram teores de flavonoides totais significativamente superiores aos obtidos neste trabalho ($\sim 22,5 \text{ mg g}^{-1}$). No entanto, tal como nas amostras estudadas, estes autores obtiveram teores de fenólicos totais inferiores aos de flavonoides. Porém, obteve-se uma concordância com o estudo publicado por Xue et al., (2016) em feijões germinados: após dois dias ($\sim 2,8 \text{ mg g}^{-1}$); após quatro dias ($\sim 4,9 \text{ mg g}^{-1}$); após seis dias ($\sim 4,8 \text{ mg g}^{-1}$).

O feijão mungo é tradicionalmente conhecido como um alimento funcional e seus componentes funcionais foram identificados ao longo de décadas recorrendo a diferentes técnicas analíticas. Nos últimos anos, a funcionalidade fisiológica do feijão mungo recebeu maior destaque pela comunidade científica, particularmente em relação ao conteúdo da enzima conversora anti-angiotensina I e aos efeitos antitumorais, antioxidantes, antidiabéticos e anti-melanócitos (Shi et al., 2016). Os mesmos autores sugeriram que diferentes cultivares chinesas de feijão mungo são ricas em nutrientes e que seus fitoquímicos devem ser considerados como potenciais fontes de antioxidantes naturais. Tendo em consideração os dados publicados por diversos autores, também neste trabalho foi avaliada a atividade antioxidante.

Nas figuras 8, 9, 10 e 11 estão apresentadas as relações entre a atividade antioxidante, expressa em percentagem de inibição do radical livre DPPH[•], e diferentes concentrações de extratos etanólicos realizados laboratorialmente.

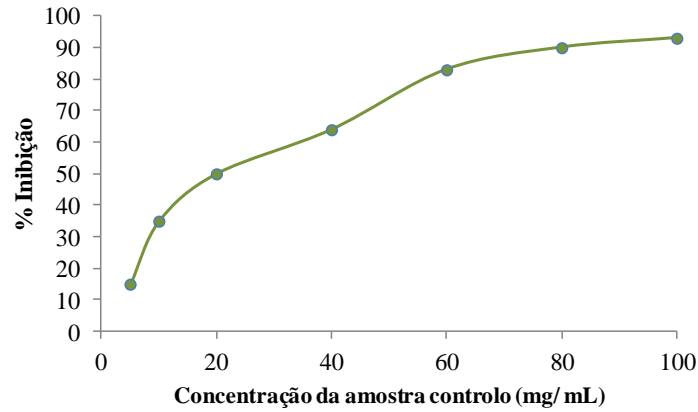


Figura 8. Percentagem (%) de inibição obtida nas concentrações do grupo controle de extratos etanólicos dos feijões mungo.

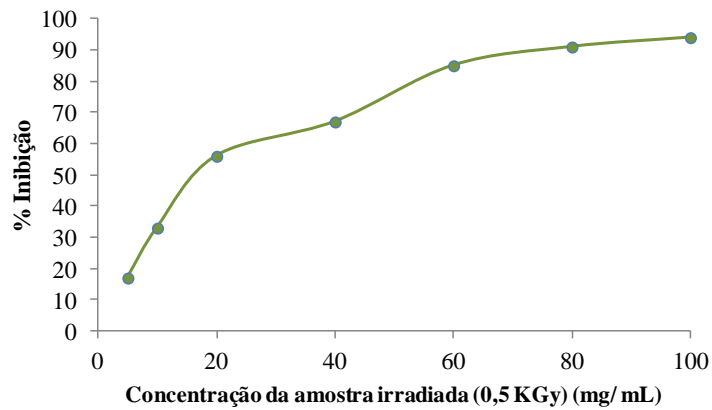


Figura 9. Percentagem (%) de inibição obtida nos extratos etanólicos dos feijões mungo com diferentes concentrações, sujeitos a uma dose de radiação de 0,5 KGy.

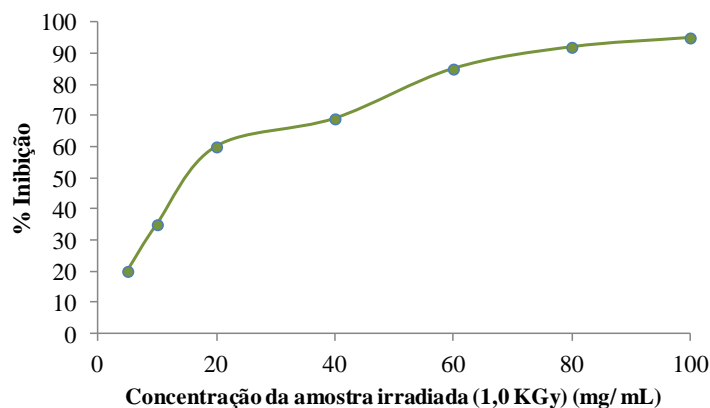


Figura 10. Percentagem (%) de inibição obtida nos extratos etanólicos dos feijões mungo com diferentes concentrações, sujeitos a uma dose de radiação de 1,0 KGy.

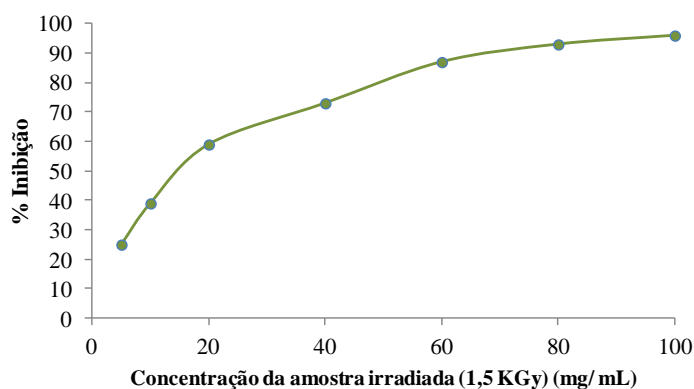


Figura 11. Percentagem (%) de inibição obtida nos extratos etanólicos dos feijões mungo com diferentes concentrações, sujeitos a uma dose de radiação de 1,5 KGy.

A Figura 8 representa o grupo controle que serviu de referência para a avaliação dos restantes resultados, ou seja, das amostras submetidas a diferentes intensidades de radiação. A percentagem de inibição aumentou consoante o aumento das concentrações testadas nos extratos etanólicos. Esses resultados reforçam a ideia de que os compostos bioativos estão diretamente relacionados com a atividade antioxidante. Nos gráficos das Figuras 9,10 e 11, relacionam a percentagem de inibição com uma concentração dos extratos etanólicos de feijão mungo irradiados a doses de 0,5; 1,0 e 1,5 KGy, respetivamente.

Em todas elas foi possível verificar um aumento da percentagem de inibição em função do aumento da concentração dos extratos etanólicos. Também, e de acordo com os resultados obtidos na Tabela 2, a dose de radiação mais indicada para promover maior atividade antioxidante foi de 1,5 KGy, originando uma percentagem de inibição de aproximadamente 95%.

Estes resultados foram superiores ao de outros estudos publicados, tanto em amostras de feijão mungo sem irradiação como em estudos de germinação. A título de exemplo, cita-se o trabalho realizado por Xue et al. (2016) que relataram percentagens de inibição inferiores durante o decurso germinativo dos feijões. Estes autores atestaram percentagens inferiores a 60%, após seis dias de germinação. Já Shi et al. (2016) reportaram percentagens com valores até 80% em extratos etanólicos de vinte cultivares de feijão mungo provenientes da China. Estas diferenças podem estar associadas a muitos fatores, intrínsecos e extrínsecos, uma vez que as cultivares e as condições edafo-climáticas podem causar diferenças na concentração dos compostos bioativos presentes (Rouphael et al., 2017; Zocche et al., 2016).

Mais estudos são sugeridos no sentido de averiguar a possível perda de compostos bioativos no decurso do processo de irradiação. Sem dúvida que este trabalho contribuiu para que se considere a irradiação uma alternativa segura no controlo de qualidade alimentar, na eliminação de microrganismos patogénicos, no aumento do tempo de vida útil de um determinado género alimentar, sem provocar perdas significativas dos compostos funcionais presentes no mesmo.

VI. CONCLUSÃO

Perante os resultados obtidos para os compostos fenólicos totais presentes nas sementes de abóbora irradiadas, pode-se concluir que até doses de 1,5 KGy a irradiação favorece a atividade antioxidante destas, devido ao aumento da concentração média de compostos fenólicos totais nos extratos etanólicos estudados. De todas as doses testadas, a recomendada para esse efeito foi a de 1,5 KGy, onde se observou um aumento bruto de compostos fenólicos. O mesmo foi verificado para a quantificação de flavonoides totais, uma vez que a concentração máxima determinada foi na amostra irradiada a 1,5 KGy. A mesma conclusão foi verificada no que respeita ao feijão mungo, uma vez que as concentrações máximas de fenólicos totais e de flavonoides totais foram encontradas nos extratos irradiados a 1,5 KGy. Em ambas as matrizes alimentares, foram verificadas atividades antioxidantes consideráveis. Por estes motivos, torna-se pertinente afirmar que tanto a semente de abóbora como o feijão mungo irradiados, são recursos naturais promissores para integrar uma alimentação variada, equilibrada e saudável.

O consumo de alimentos irradiados poderá ser uma alternativa segura, dado que com a radiação, podem ser destruídos insetos, parasitas e alguns microrganismos presentes nos alimentos. Os fungos, geralmente, mostram mais resistência que as bactérias. Insetos e parasitas também apresentam baixa resistência a esse tipo de energia. De um modo geral a capacidade mutagénica dos vírus que os tornam mais resistentes à irradiação, deixa-os praticamente imunes às dosagens comerciais utilizadas nos países que usam esta técnica de conservação. Outra vantagem da irradiação é que esta técnica confere a possibilidade de, numa única operação, alimentos frescos serem conservados, sem a necessidade de inserção de conservantes químicos. Por causa da elevada sensibilidade dos nutrientes presentes nos alimentos, pouca energia é despendida no decurso do processamento, mantendo as alterações nutricionais nos mesmos patamares de outros processos conservativos.

Numa perspetiva futura, sugerem-se mais estudos, com outros alimentos e com intensidades de radiações mais díspares, no sentido de otimizar as intensidades ideais para os diferentes géneros alimentícios.

VII . BIBLIOGRAFIA

Ahmed, S. T., Islam, M. M., Bostami, A. B. M. R., Mun, H. S., Kim, Y. J., & Yang, C. J. (2015). Meat Composition, Fatty Acid Profile and Oxidative Stability of Meat From Broilers Supplemented With Pomegranate (*Punica Granatum* L.) By-Products. *Food Chemistry*, 188, pp. 481–488.

Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on *In Vivo* and *In Vitro* Methods Evaluation of Antioxidant Activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*.

Alam Khan, K., & Abrahem, M. (2010). Effect of Irradiation on Quality of Spices. *International Food Research Journal*, 17(4), pp. 825–836.

Alonso, B. O., Rovir, R. F., Vegas, C. A., & Pedrosa, M. M. (2010). Papel de Las Leguminosas en La Alimentación Actual. *Actividad Dietetica*, 14(2), pp. 72–76.

Ammar, A. F., Zhang, H., & Azhari, S. (2014). *In Vitro* Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of Alhydwan (*Boerhavia elegana* Choisy) Seeds. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(5), pp. 215–220.

Andersen, P. (2012). Challenges for Under-Utilized Crops Illustrated by Ricebean (*Vigna Umbellata*) in India and Nepal. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 10(2), pp. 164–174.

Arvanitoyannis, I. S., Stratakos, A. C., & Tsarouhas, P. (2009). Irradiation Applications in Vegetables and Fruits: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(5), pp. 427–462.

Baer, A. A., Miller, M. J., & Dilger, A. C. (2013). Pathogens of Interest to the Pork Industry: A Review of Research on Interventions to Assure Food Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(2), pp. 183–217.

Barbosa, L. B. G. (2015). *Compostos Bioativos e Capacidade Antioxidante em Abóboras-Gila (Cucurbita Ficifolia Bouché)*. Tese de Mestrado em Nutrição Humana da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Barroso, M. R., Magalhães, M. J., Carnide, V., Martins, S., Vegas, C. A., & Cachón, M.

R. (2007). Caracterização e Avaliação de Diferentes Espécies de Leguminosas Grão na Região de Trás-os-Montes. *Uma Agricultura com Norte*.

Cattaruzzi, E. B. (2012). *Análise Sobre a Predisposição do Consumidor em Arcar com o Custo do Alimento Processado por Radiação Ionizante*. Tese de Douturamento em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações, da Universidade de São Paulo.

Chirinos, R. R., Vizeu, D. M., Destro, M. T., Franco, B. D. G. M., & Landgraf, M. (2002). Inactivation of Escherichia Coli O157:H7 in Hamburgers by Gamma Irradiation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 33(1), pp. 53–56.

Constantino, M. A. C., Junior, F. B. A., Giron, J., Aranha, J. G., Monteiro, C. R., & Cyrillo, D. C. (2016). Sensibilização de Pais e Professores para a Promoção da Saúde : Foco no Estado Nutricional e Alimentação Saudável, na Cidade de Indaiatuba. *Revista de Cultura E Extensão USP, São Paulo*, 15, pp. 65–74.

Costa, A. S. G., Alves, R. C., Vinha, A. F., Barreira, S. V. P., Nunes, M. A., Cunha, L. M., & Oliveira, M. B. P. P. (2014). Optimization of Antioxidants Extraction From Coffee Silverskin, a Roasting By-Product, Having in View a Sustainable Process. *Industrial Crops and Products*, 53, pp. 350–357.

Couto, R. R., & Santiago, A. J. (2010). Radioatividade e Irradiação de Alimentos. *Revista Ciências Exatas e Naturais*, 12, pp. 193–215.

CPRA. (2014). Classificação Botânica “Abóbora.” *Centro Paranaense de Referência em Agroecologia*, pp. 1–16.

Dahu, S., Silva Carvalho, M. L., & Lucas, M. R. (2016). A Importância do Feijão Mungo no Suco de Leolima , sub Distrito Balibo de Bobonaro – Análise da sua Produção e Comercialização. *Políticas Públicas Para a Agricultura Pós 2020 – Atas do ESADR 2016*, pp. 1–20.

Dogan, A., Siyakus, G., & Severcan, F. (2007). FTIR Spectroscopic Characterization of Irradiated Hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Food Chemistry*, 100(3), pp. 1106–1114.

Eddy, E. O., Ukpong, J. A., & Ebenso, E. E. (2011). Lipids Characterization and

Industrial Potentials of Pumpkin Seeds (*Telfairia occidentalis*) and Cashew Nuts (*Anacardium occidentale*). *E-Journal of Chemistry*, 8(4), pp. 1986–1992.

Ferreira, T. A., Oliveira, C. R., Chaves, P. P. B., Barros, H. B., & Nascimento, I. R. (2017). Indução da Frutificação Paternocárpica de Frutos em Híbrido de Abóbora Japonesa com 2,4-D sob Condições de Temperatura Elevada. *Nucleus*, 14, pp. 145–152.

Fonseca, A. B., Souza, T. S. N., Frozi, D. S., & Pereira, R. A. (2011). Modernidade Alimentar e Consumo de Alimentos: Contribuições Sócio-Antropológicas para a Pesquisa em Nutrição. *Centro de Ciência e Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro*, 16(9), pp. 3853–3862.

Freire, F. das C. O., Vieira, I. G. P., Guedes, M. I. F., & Mendes, F. N. P. (2007). Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal. *Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza*, 129, p. 48.

IAEA (1991) [Em linha]. Disponível em: <www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/Pub882_web.pdf> [Consultado a 9-08-2017].

Ismaiel, A. A., & Papenbrock, J. (2015). Mycotoxins: Producing Fungi and Mechanisms of Phytotoxicity. *Agriculture*, 5, pp. 492–537.

Kalyani, B., & Manjula, K. (2014). Food Irradiation - Technology and Application. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 3(4), pp. 549–555.

Karadag, A., Ozcelik, B., & Saner, S. (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*, 2(1), pp. 41–60.

Karanja J. K., Mugendi B. J., Khamis F. M., Muchugi A. N. (2013). Nutritional Composition of The Pumpkin (*Cucurbita* spp.) Seed Cultivated from Selected regions in Kenya. *Journal of Horticulture Letters*, Volume 3, Issue 1, pp.-17-22.

Kasapidou, E., Sossidou, E., & Mitlianga, P. (2015). Fruit and Vegetable Co-Products as Functional Feed Ingredients in Farm Animal Nutrition for Improved Product Quality. *Agriculture*, 5(4), pp. 1020–1034.

Khang, D. T., Dung, T. N., Elzaawely, A., & Xuan, T. D. (2016). Phenolic Profiles and

Antioxidant Activity of Germinated Legumes. *Foods*, 5(2), pp. 27–37.

Landgraf, M. (2002). *Fundamentos e Perspectivas da Irradiação de Alimentos Visando ao Aumento de sua Segurança e Qualidade Microbiológica*. Tese de Livre-Docência.

Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B., & Lock, M. (2005). Legumes of the World. *Kew Scientist*, (28), pp. 1–8.

Matias, J. C. O., Fonseca, J. M. J., Barata, I. G., & Brojo, F. M. R. P. (2013). HACCP and OHS: Can Each one Help Improve the Other in the Catering Sector? *Food Control*, 30(1), pp. 240–250.

Marcotte, M. (2001). *Effect of Irradiation on Spices, Herbs and Seasonings – Comparison with Ethylene Oxide Fumigation*. [Em Linha]. Disponível em <<http://www.food-irradiation.com/Spices.htm>> [Consultado a 04-05-2017].

Merlin, N., Karling, M., Morales, R. G. F., & Oldoni, T. L. C. (2017). Potencial Antioxidante e Perfil de Compostos Fenólicos em Plantas com Indicativo Medicinal. *Synergismus Scientifica UTFPR*, 12, pp. 94–101.

Modanez, L. (2012). *Aceitação de Alimentos Irradiados: Uma Questão de Educação*. Tese de Douturamento em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações, da Universidade de São Paulo.

Mostafavi, H. A., Mirmajlessi, S. M., Fathollahi, H., Minassyan, V., & Mirjalili, S. M. (2011). Evaluation of Gamma Irradiation Effect and Pseudomonas Fluorescens Against Penicillium Expansum. *African Journal of Biotechnology*, 10(54), pp. 11290–11293.

Naves, L. D. P., Corrêa, A. D., Abreu, C. M. P., & Santos, C. D. (2010). Nutrientes e Propriedades Funcionais em Sementes de Abóbora (*Cucurbita maxima*) Submetidas a Diferentes Processamentos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(3578), pp. 185–190.

Nehring, P., Seraglio, S. K. T., Gonzaga, L. V., Fett, R., & Costa, A. C. O. (2016). Influência dos Diferentes Solventes na Avaliação da Capacidade Antioxidante *In Vitro* de Frutos e Sementes de Pitaia (*Hylocereus polyrhizus*). *Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos, Pinhalzinho, Santa Catarina, Brasil*.

Norhana, M. N. W., Poole, S. E., Deeth, H. C., & Dykes, G. A. (2010). Prevalence, Persistence and Control of Salmonella and Listeria in Shrimp and Shrimp products: A Review. *Food Control*.

Oliveira, G. V., Carneiro, P. C. S., Carneiro, J. E. S., & Cruz, C. D. (2006). Adaptabilidade e Estabilidade de Linhagens de Feijão Comum em Minas Gerais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41(2), pp. 257–265.

Omi, N. M. (2005). A Irradiação de Alimentos e os Hábitos Alimentares Atuais. *Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares*.

Ornellas, C. B. D., Gonçalves, M. P. J., Silva, P. R., & Martins, R. T. (2006). Atitude do Consumidor Frente à Irradiação de Alimentos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26(1), pp. 211–213.

Pajak, P., Socha, R., Gałkowska, D., Rożnowski, J., & Fortuna, T. (2014). Phenolic Profile and Antioxidant Activity in Selected Seeds and Sprouts. *Food Chemistry*, 143, pp. 300–306.

Poljšak, B., & Dahmane, R. (2012). Free Radicals and Extrinsic Skin Aging. *Dermatology Research and Practice*, pp. 1-4.

Ramírez-Cárdenasi, L., Leonel, A. J., & Costa, N. M. B. (2008). Efeito do Processamento Doméstico Sobre o Teor de Nutrientes e de Fatores Antinutricionais de Diferentes Cultivares de Feijão Comum. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(1), pp. 200–213.

Ramoni, E., Balbi, M., Faria, F., Lutz, B., & Moraes, G. C. (2014). Determinação Química e Nutricional de Sementes de Abóbora (*Cucurbita* spp, Cucurbitaceae) Comercializadas Salgadas na Cidade de Curitiba PR, Brasil. *Visão Acadêmica*, 15(2), pp. 17–27.

Rios, A. O., Abreu, C. M. P., & Corrêa, A. D. (2003). Efeito da Estocagem e das Condições de Colheita Sobre Algumas Propriedades Físicas, Químicas e Nutricionais de Três Cultivares de Feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*, 23, pp. 39–45.

Rodrigues, F., Palmeira-de-Oliveira, A., Neves, J., Sarmiento, B., Amaral, M. H., & Oliveira, M. B. (2013). *Medicago* spp. Extracts as Promising Ingredients for Skin Care Products. *Industrial Crops and Products*, 49, pp. 634–644.

Rouphael, Y., Colla, G., Graziani, G., Ritieni, A., Cardarelli, M., & Pascale, S. (2017). Phenolic Composition, Antioxidant Activity and Mineral Profile in Two Seed-Propagated Artichoke Cultivars as Affected by Microbial Inoculants and Planting Time. *Food Chemistry*, 234, pp. 10–19.

Rusin, T., Araújo, W., Camargo, E. B., & Akutsu, R. (2015). Conhecimento do Consumidor Sobre os Alimentos Irradiados. *Revista Científica: Acta de Ciências e Saúde*, 1(1).

Samuel, A. T., & Valentine, I. T. (2014). Effect of Total Aflatoxin on the Growth Characteristics and Chlorophyll Level of Sesame (*Sesamum indicum* L.). *New York Science Journal*, 7(4).

Sawane, M., & Sciences, M. (2014). Mycotoxigenicity of Storage Fungi Isolated from Stored Rice. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(11), pp. 116–121.

Shi, Z., Yao, Y., Zhu, Y., & Ren, G. (2016). Nutritional Composition and Antioxidant Activity of Twenty Mung Bean Cultivars in China. *The Crop Journal*, 4(5), pp. 398–406.

Silva, A. L. F., & Roza, C. R. (2010). Uso da Irradiação em Alimentos. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 28(1), pp. 49–56.

Silva, N. L., Araújo, Í. P. C., Batista, M. R. F., Santos, T. B. A., Fernando, W. L., & Amaral, F. R. (2017). Determinação da Atividade Antioxidante e Teor de Flavonoides Totais Equivalentes em Quercetina em Folhas de *Cymbopogon Citratus* (dc) Stapf e *Melissa Officinalis* Lam Obtidos por Decocção. *Conexão Ciência*, 12(1), pp. 46–53.

Sommers, C. H., & Boyd, G. (2006). Variations in the Radiation Sensitivity of Foodborne Pathogens Associated with Complex Ready-to-Eat Food Products. *Radiation Physics and Chemistry*, 75(7), pp. 773–778.

Souza, A. M. P. L. (2016). *Avaliação do Efeito da Desinfecção por Agentes Químicos e da Irradiação Gama no Poli(3-hidroxibutirato)*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Stewart, E. (2009). Effect of Gamma Irradiation on the Quality of Ready Meals and Their Meat Components. In: Irradiation to Ensure the Safety and Quality of Prepared Meals, Results of the Coordinated Research Project Organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniq. *International Atomic Energy Agency, Vienna*, pp. 313–342.

Sucupira, N. R., Silva, A. B., Pereira, G., & Costa, J. N. (2012). Métodos para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. *UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde*, 14(4), pp. 263–269.

Toledo, T. C. F., Brazaca, S. G. C., Arthur, V., & Piedade, S. M. D. S. (2007). Composição, Digestibilidade Protéica e Desaminação em Cultivares Brasileiras de Soja Submetidas à Radiação Gama. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(4), pp. 812–815.

Tomlins, K. (2008). Food Safety and Quality Management, *Food Africa*. [Em Linha]. Disponível em <<http://foodafrica.nri.org/safety/safetydiscussions1.html>> [Consultado a 07-07-2017].

Tinkel, J., Hassanain, H., & Khouri, S. J. (2012). Cardiovascular Antioxidant Therapy. *Cardiology in Review*, 20 (June), pp. 77–83.

Valenzuela, G. M., Soro, A. S., Tauguinás, A. L., Gruszycki, M. R., Cravzov, A. L., Giménez, M. C., & Wirth, A. (2014). Evaluation Polyphenol Content and Antioxidant Activity in Extracts of *Cucurbita* spp. *Open Access Library Journal*, 1(3), pp. 1–6.

Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., & Brunton, N. (2012). Techniques to Extract Bioactive Compounds From Food By-Products of Plant Origin. *Food Research International*, 46(2), pp. 505–513.

Wootton-Beard, P. C., Moran, A., & Ryan, L. (2011). Stability of the Total Antioxidant Capacity and Total Polyphenol Content of 23 Commercially Available Vegetable Juices Before and After *In Vitro* Digestion Measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu Methods. *Food Research International*, 44(1), pp. 217–224.

Xanthopoulou, M. N., Nomikos, T., Fragopoulou, E., & Antonopoulou, S. (2009). Antioxidant and Lipoxygenase Inhibitory Activities of Pumpkin Seed Extracts. *Food Research International*, 42(5–6), pp. 641–646.

Xue, Z., Wang, C., Zhai, L., Yu, W., Chang, H., Kou, X., & Zhou, F. (2016). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Mung Bean (*Vigna radiata* L.), Soybean (*Glycine max* L.) and Black Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) During the Germination Process. *Czech J. Food Sci.*, 34(1), pp. 68–78.

Zhou, C. L., Liu, W., Zhao, J., Yuan, C., Song, Y., Chen, D., Li, Q. H. (2014). The Effect of High Hydrostatic Pressure on the Microbiological Quality and Physical-Chemical Characteristics of Pumpkin (*Cucurbita maxima* Duch.) During Refrigerated Storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 21, pp. 24–34.

Zocche, R. G. S., Jacobs, S. A., Souza, V. Q., Nardino, M., Carvalho, I. R., Rombaldi, C. V., Rizzon, L. A. (2016). African Journal of Agricultural Research Characterization of “Cabernet Sauvignon” Wine Made With Grapes From Campanha– RS Region. *African Journal of Agricultural Research*, 11(42), pp. 4262–4268.