

Mariana Ferreira Maia

Propriedades biológicas das sementes da papaia (*Carica papaya* L.):
Valorização de um resíduo alimentar

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2017

Mariana Ferreira Maia

Propriedades biológicas das sementes da papaia (*Carica papaya* L.):
Valorização de um resíduo alimentar

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2017

Mariana Ferreira Maia

Propriedades biológicas das sementes da papaia (*Carica papaya* L.): valorização de um resíduo alimentar

Mariana Ferreira Maia

Relatório de estágio apresentado à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para obtenção do grau de licenciado em
Ciências da Nutrição

Orientadora:

Prof. Doutora Ana Cristina Mendes Ferreira da Vinha

Resumo

O interesse pelo reaproveitamento dos resíduos alimentares obtidos das frutas e vegetais tem vindo a aumentar nas últimas décadas, não só na defesa do conceito de sustentabilidade como também pelas reconhecidas propriedades biológicas associadas ao aporte nutricional e composição de fitoquímicos descritas nestes sub-produtos. As sementes da papaia são um exemplo. De facto, da fruta, apenas se consome a polpa, sendo a casca e as sementes consideradas sub-produtos que poderão trazer um valor acrescido às indústrias alimentar, farmacêutica e cosmética. Por estes motivos, este trabalho experimental teve como principal objetivo efetuar uma quantificação do teor de fenólicos totais e de flavonoides totais, das sementes da *Carica papaya* Linn, bem como, avaliar a atividade antioxidante das mesmas.

Os resultados obtidos revelaram que o extrato aquoso foi o que permitiu obter maior teor de flavonoides (63,24 mg EC/100g). Em contrapartida, o extrato etanólico foi o que obteve maior teor de fenólicos (981,84 mg EAG/100g). A atividade antioxidante foi avaliada através de dois métodos espectrofotométricos: DPPH^{*} e FRAP. Por ser um antioxidante natural, o uso do ácido ascórbico como controlo permitiu medir a atividade antioxidante dos compostos bioativos presentes nos dois extratos, no sentido de os comparar com um antioxidante natural. Apesar da atividade antioxidante do ácido ascórbico ter sido superior aos dois extratos, pelos dois métodos espectrofotométricos, estes poderão ser utilizados como antioxidantes naturais, sendo que é através do extrato etanólico que podemos tirar maior partido da atividade antioxidante dos compostos bioativos das sementes da *Carica papaya* L. (416,87 µg/ml pelo DPPH^{*} e 283,52 µg/ml pelo FRAP). Com os resultados obtidos podemos ainda concluir que o teor de compostos bioativos é influenciado por diversos fatores, nomeadamente, o tipo de solvente extrator utilizado.

Apesar das sementes da papaia poderem ser utilizados como antioxidantes naturais, tanto na indústria alimentar, farmacêutica e cosmética, torna-se necessário aprofundar as investigações no sentido de avaliar a toxicidade das mesmas.

Palavras-chave: *Carica papaya* L., sementes, compostos bioativos, atividade antioxidante.

Abstract

The interest in the reuse of food residues obtained from fruits and vegetables has been increasing in recent decades, not only in defense of sustainability but also for the recognized biological properties associated with the nutritional contribution and composition of phytochemicals described in these by-products. Papaya seeds are one of these examples. In fact, only the pulp is consumed in the fruit, the bark and seeds are considered as by-products that can bring added value to the food, pharmaceutical and cosmetic industries. For these reasons, the main objective of this experimental work is to quantify the total phenolic and total flavonoid content in *Carica papaya* seeds, as well as to evaluate the antioxidant activity of the seeds.

The results obtained show that the aqueous extract allows to obtain a higher flavonoid content (63.24 mg CE/100g). On the other hand, the ethanolic extract obtained the highest phenolic content (981.84 mg GAE /100g). The antioxidant activity was evaluated through two spectrophotometric methods: DPPH[•] and FRAP. As a natural antioxidant, the use of ascorbic acid as a control allowed to measure the antioxidant activity of the bioactive compounds present in both extracts, when comparing them with a natural antioxidant. Although the antioxidant activity of ascorbic acid was superior in the two extracts, by the two spectrophotometric methods, these can be used as natural antioxidants, and it is through the ethanolic extract that we can take advantage of the antioxidant activity of the bioactive compounds of the seeds of *Carica papaya* Linn (416.87 µg/ml by DPPH[•] and 283.52 µg/ml by FRAP). With the obtained results we can conclude that the content of bioactive compounds is influenced by several factors, namely, the type of solvent extractor used.

Although papaya seeds can be used as natural antioxidants, both in the food, pharmaceutical and cosmetic industries, it is necessary to deepen the investigations in order to evaluate their toxicity.

Keywords: *Carica papaya* L., seeds, bioactive compounds, antioxidant activity.

Agradecimentos

À minha orientadora, a Professora Doutora Ana Vinha, por toda a partilha de conhecimento e experiências, pelo profissionalismo e dinamismo, pela simpatia, pela paciência, pelos estímulos, por toda a disponibilidade, carinho, dedicação e orientação e por me permitir crescer tanto a nível profissional como pessoal.

À minha querida avó Elisa, por nunca me ter deixado perder as forças e o sorriso.

Aos meus pais e irmã, por me permitirem voar mais alto, abrindo-me as portas para que conseguisse concretizar os meus sonhos, por acreditarem em mim e por me terem dado todas as ferramentas que me permitiram ser quem sou hoje.

Ao Rui, pelo amor incondicional, pelo carinho, pela compreensão, pela amizade, pela paciência e por ter sido o meu porto de abrigo em todo este percurso.

À minha prima Sara, porque mesmo longe, sempre esteve bem perto.

À Sandra, ao Tiago, à Vanessa, ao Márcio, à Bárbara, à Rita e à Diana por serem um pilar na minha vida.

Aos meus amigos, pelo companheirismo, entreaajuda e carinho demonstrado ao longo desta etapa.

A todos os outros que cruzaram o meu caminho e de uma maneira ou de outra me fizeram evoluir, muito obrigada!

Índice

1. Introdução.....	11
2. Revisão bibliográfica.....	12
2.1. A papaia (<i>Carica papaya</i> L.)	12
2.1.1. História e origem	12
2.1.2. Classificação científica	13
2.1.3. Valor nutricional.....	13
2.1.4. Benefícios para a saúde	14
2.2. Atividade antioxidante	14
2.3. Antioxidantes naturais	16
2.3.1. Compostos fenólicos	16
3. Relação entre os compostos bioativos e as propriedades antioxidantes.....	17
4. Materiais e métodos	19
4.1. Amostras	19
4.2. Preparação dos extractos.....	19
4.3. Compostos bioactivos	19
4.3.1. Fenólicos totais	20
4.3.2. Flavonóides totais	20
4.4. Avaliação da actividade antioxidante	20
4.4.1. Inibição do radical livre DPPH*	21
4.4.2. Avaliação do poder antioxidante por redução do ião férrico (FRAP).....	21
4.5. Análise estatística	21
5. Resultados e Discussão	22
6. Conclusão	28
7. Referências bibliográficas	29

Índice de Figuras

Figura 1. Morfologia do fruto papaia.	12
Figura 2. Resultados da atividade antioxidante das sementes da <i>Carica papaya</i> L. analisados, utilizando o etanol e a água como solventes extratores	25

Índice de Tabelas

Tabela 1. Quantificação de compostos antioxidantes obtidos nas sementes estudadas .	22
---	----

Propriedades biológicas das sementes da papaia (*Carica papaya* L.): Valorização de um resíduo alimentar

Mariana F. Maia¹; Ana F. Vinha^{2,3}

1. Estudante finalista do 1º ciclo de Ciências da Nutrição da Faculdade Fernando Pessoa;
2. Orientadora do trabalho complementar;
3. Docente da Faculdade Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa.

Autor para correspondência:

Mariana Ferreira Maia

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa (Ciências da Nutrição)

Rua Carlos da Maia, 296 | 4200 – 150 Porto

Tel. +351 225074630; E-mail: 29210@ufp.edu.pt

Título resumido: Propriedades biológicas das sementes da papaia (*Carica papaya* L.): Valorização de um resíduo alimentar

Contagem de palavras: 8844

Número de tabelas: 1

Número de figuras: 2

Número de referências bibliográficas: 94

Conflitos de interesse: Nada a declarar.

1. Introdução

A papaveira (*Carica papaya* Linn) é uma planta herbácea de grande porte, originária da América do Sul, que pertence à família Caricaceae [1]. O seu fruto, comumente designado por papaia, é mundialmente consumido, sendo uma fonte natural de vitamina C, vitamina A, hidratos de carbono, criptoxantina, licopeno, fitoeno, ferro, cálcio, magnésio, zinco, entre outros [2]. As suas caracterizações, nutricional e química, já foram descritas por diversos autores, as quais estão intimamente relacionadas com algumas propriedades biológicas associadas ao consumo deste fruto [3,4]. Uma outra característica deste fruto é a sua relação com o conceito de sustentabilidade, uma vez que tanto o fruto, como as folhas, o latex e as raízes apresentam valor económico para as diferentes áreas industriais [5,6]. No entanto, até à data, pouca importância tem sido dada às sementes do mesmo [7].

A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) estima que anualmente cerca de 1/3 dos alimentos produzidos para consumo humano sejam desperdiçados ao longo de toda a cadeia de abastecimento alimentar, promovendo graves consequências no impacto ambiental, económico e social. Embora haja um amplo reconhecimento das principais implicações, o desperdício alimentar continua a ser uma realidade negativa presente na atualidade, sendo um problema global e transversal [8].

A nível morfológico, a papaia é constituída por epicarpo, mesocarpo, endocarpo e feixe vascular (Figura 1). As numerosas sementes do fruto encontram-se localizadas no endocarpo, apresentando dimensões pequenas, formato redondo e tonalidade preta [9]. Embora seja o mesocarpo a parte edível do fruto, alguns estudos têm sido realizados às componentes não edíveis do mesmo, maioritariamente à casca e sementes [10,11,12].

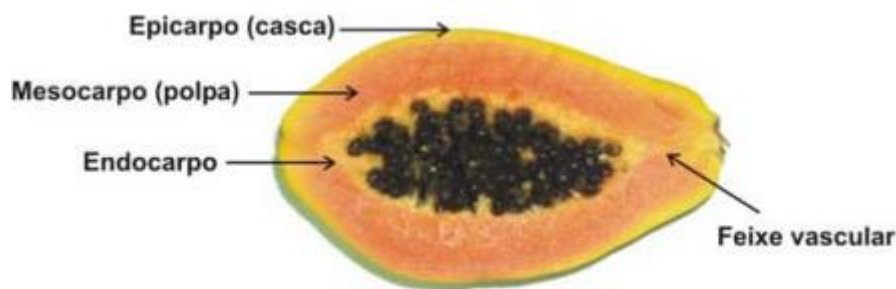


Figura 1. Morfologia do fruto papaia.

Para além do reaproveitamento destes sub-produtos alimentares para a alimentação, alguns autores sugerem a sua integração na indústria de combustível, para a produção de biodiesel [13].

2. Revisão bibliográfica

2.1. A papaia (*Carica papaya* L.)

2.1.1. História e origem

A origem exata da *Carica papaya* L. ainda se encontra desconhecida, porém acredita-se que esta planta seja nativa da América do Sul [5]. Relatos históricos afirmam que este fruto foi descrito pela primeira vez em 1526 pelo cronista espanhol, Gonzalo Fernández de Oviedo, quando este encontrou o fruto ao largo da costa do Panamá e da Colômbia. Devido às suas numerosas e viáveis sementes, o fruto foi rapidamente propagado pelos trópicos tendo-se adaptado bem aos climas tropicais, com solos férteis e chuvas abundantes. Quanto à sua propagação acredita-se que tenha tido início nos primórdios do século XVI, quando os navegadores espanhóis transportaram as sementes até ao Panamá e República Dominicana. No século seguinte alguns relatos descreveram que tanto os navegadores portugueses como os espanhóis tiveram impacto na propagação deste fruto ao longo de todo o mundo, ao transportá-lo para as Filipinas, Malásia, Índia, América do Sul e Central, Sul do México, Antilhas, Bahamas, Bermuda e Flórida, tendo finalmente chegado à Europa [3,14].

2.1.2. Classificação científica

A papaia (*Carica papaya* L.), em termos económicos, é o principal fruto da família Caricaceae [3]. A papaeira é uma planta de vida curta, de rápido desenvolvimento e de cultivo mundial. Porém a sua produção ocorre principalmente nos países tropicais e subtropicais, sendo a Índia e o Brasil os principais produtores [3,13,15].

A nível internacional adota várias terminologias, por exemplo, na Índia é conhecido por Papita, na Holanda por Tree melon, em França por Papaya, na Austrália por Paw paw e no Brasil por Mamão [5].

2.1.3. Valor nutricional

Em termos nutricionais, a papaia é um fruto com um valor nutritivo elevado, com baixo valor energético, mas rico em várias vitaminas e minerais, como as vitaminas A, E, C, K e do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina e B₆), cálcio e ferro [5,6,16,17,18,19,20]. No entanto, a sua composição varia consoante o grau de maturação, condições edafo-climáticas e variedade. De uma maneira geral, o fruto maduro contém, por 100g de produto edível, 39 kcal (163 kJ), 0,6 g de proteína, 0,1 g de gordura, 0,5 g de minerais, 0,8 g de fibra, 7,2 g de hidratos de carbono, 888µm de β-caroteno, 3 mg de sódio, 0,10 g de ferro, 1094 IU de vitamina A, 0,73 mg de vitamina E, 3 mg de niacina e 89% de água [5,16]. Já o fruto verde é muitas vezes consumido como vegetal devido ao seu sabor mais adstringente. Apresenta um valor energético menor (cerca de 27 kcal por 100 g de produto) e menor quantidade de hidratos de carbono, uma vez que é durante o processo de maturação que ocorre a formação de pigmentos e aromas, o aumento da concentração de açúcares e, conseqüentemente, a diminuição do sabor adstringente. Apesar de não conter β-caroteno, o fruto verde apresenta uma quantidade apreciável de enzimas, incluindo-se a papaína (enzima proteolítica), importante para a indústria alimentar no atenuamento das carnes [5,16].

Tal como foi anteriormente referido, o mesocarpo é uma fonte natural de proteínas, lípidos, fibras, hidratos de carbono, minerais (maioritariamente cálcio, fósforo e ferro) vitaminas C, tiamina, riboflavina, niacina, aminoácidos (glicina, tiramina e valina, os

principais aminoácidos que compõem a papaína), e ácidos orgânicos (cítrico e málico), compostos voláteis, alcaloides e pigmentos naturais (maioritariamente β -caroteno) [5,6,15,18]. Já as sementes são uma excelente fonte de ácidos gordos (ácido oleico e palmítico, maioritariamente), proteínas, fibras, cálcio, fósforo e outros compostos benéficos para a saúde, incluindo-se a carpaína, benzilisotiocinato, benzilglucosinolato, glucotropacolina, benziltiureia, β -citosterol, caricina e mirosina [5,13].

2.1.4. Benefícios para a saúde

Durante as últimas décadas, vários estudos têm vindo a comprovar a atividade biológica e as possíveis aplicações terapêuticas das diferentes partes da *Carica papaya* L. [5,15,16,17].

Para além do valor económico, as diferentes partes da planta apresentam propriedades medicinais proeminentes que incluem atividades anti-fertilidade [21], anti-inflamatória e imunomoduladora [22], diurética [23], anti-hipertensiva [24], hipolipidémica e hipoglicémica [25], anti-helmintica [26], cicatrizante [27], anti-fúngica [28], antibacteriana [29,30,31], antitumoral [32,33] e antioxidante [34]. A *Carica papaya* também têm revelado benefícios para a saúde intestinal, na prevenção do cancro da próstata, do cancro do cólon e da artrite reumatóide [5,16].

Relativamente às sementes, em termos biológicos já foram demonstrados diversos efeitos, como efeito nefro-protetor, propriedades antimicrobianas contra as infeções provocadas por *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus*, propriedade anti-helmítica e anti-amebiana, propriedades anti-inflamatórias, efeito hipoglicémico e hipolipídico [25,35].

2.2. Atividade antioxidante

Em organismos aeróbios, os radicais livres são constantemente produzidos durante o funcionamento normal da célula, na maior parte sob a forma de espécies reativas de oxigénio (EROs), nomeadamente, ao nível da mitocôndria [36,37].

A mitocôndria, um organelo intracelular que existe na maioria das células eucarióticas, apresenta diversas funções ao nível da homeostasia celular, participando na sinalização intracelular, nos processos de apoptose, no metabolismo de aminoácidos, lípidos, colesterol, esteróides e nucleótidos. Para além destas funções, a mitocôndria desempenha uma função essencial ao nível do metabolismo energético, na β -oxidação dos ácidos gordos, no ciclo da ureia e na cadeia respiratória, a principal via de produção de adenosina trifosfato (ATP) [38,39].

Nas células eucarióticas, a quantidade de ATP sintetizado ao nível da mitocôndria é muito superior à quantidade de ATP formado durante a glicólise, o que torna a mitocôndria o principal local de formação de EROs e de radicais livres [37,39].

Entende-se por radical livre o átomo ou molécula que contém um ou mais eletrões desemparelhados, o que o torna um composto com uma elevada reatividade, isto é, encontra-se quimicamente instável, com tendência para reagir com uma molécula próxima de carga positiva, assumindo, assim, funções de agente oxidante ou redutor [36,37].

Ao participarem em processos fisiológicos de sinalização e de regulação, os EROs podem ser benéficos para as células, mas apenas em concentrações baixas a moderadas. Todavia, uma acumulação intracelular de níveis tóxicos de EROs conduz a uma condição que pode ser definida por stresse oxidativo [37,40].

Nesta condição, as EROs podem oxidar e danificar lípidos celulares, proteínas e material genético, nomeadamente, o ácido desoxirribonucleico (DNA), inibindo as suas funções e a longo prazo estes compostos provocam danos celulares irreversíveis conduzindo ao desenvolvimento de várias doenças crónicas não transmissíveis, como o cancro e as doenças cardiovasculares, e ao envelhecimento precoce [36,41,42,44].

Uma vez produzidos, grande parte dos radicais livres são removidos pelas defesas antioxidantes das células que são essenciais para garantir a manutenção do equilíbrio celular e conseqüentemente o seu normal funcionamento [36].

Estas defesas endógenas podem ser de natureza enzimática, como por exemplo, o superóxido dismutase, a catalase, a glutathione peroxidase, a glutathione reductase, entre outras, ou não enzimática, como a glutathione [36,44].

Para além das defesas endógenas, existe um número infindável de moléculas com atividade antioxidante, que podem ser obtidas pela dieta, auxiliando assim o mecanismo de defesa endógeno, os fitoquímicos.

2.3. Antioxidantes naturais

Os fitoquímicos são compostos biologicamente ativos com propriedades antioxidantes e benéficas ao metabolismo que estão distribuídos pelo reino Plantae [45,46,47]. Segundo Niki (2010), estes compostos têm atividade antioxidante pois quando estão presentes em pequenas concentrações em relação ao substrato oxidável, são capazes de retardar ou mesmo inibir substancialmente a oxidação do mesmo [48].

Estima-se que os frutos, hortícolas e cereais inteiros, tenham algures entre 5.000 a 25.000 fitoquímicos individuais, dos quais apenas uma pequena fração foi identificada [49].

Por apresentarem uma grande diversidade de estruturas químicas, estes metabolitos secundários apresentam atividades biológicas distintas, e podem ser classificados em vários grupos, sendo os principais: alcalóides, carotenóides, compostos fenólicos, compostos azotados e compostos organosulfurados [50].

2.3.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos ou polifenóis são um vasto grupo de fitoquímicos e apresentam como característica comum, pelo menos, um anel aromático que pode estar ligado a um ou mais grupos hidroxilo [51,52].

São metabolitos secundários sintetizados pelas plantas quando estas se encontram perante situações adversas, que atuam como mecanismos de defesa das mesmas contra

agentes patogénicos, parasitas e predadores e condições edafoclimáticas desfavoráveis, nomeadamente, temperatura extrema, stresse nutricional e hídrico, radiação ultravioleta (UV) e oxidação, e atuam, ainda, no desenvolvimento de pigmentos e compostos voláteis, que fazem parte das características organoléticas [53,54,55]. Como compostos antioxidantes, estes atuam como agentes redutores, dadores de prótons, sequestradores de radicais livres e supressores do anião superóxido [54,55,56], podendo agrupar-se em 4 grupos principais: ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides e taninos [56,57,58].

3. Relação entre os compostos bioativos e as propriedades antioxidantes

Um padrão alimentar saudável, isto é, uma alimentação completa, variada e equilibrada aliada à prática de exercício físico, proporciona inúmeros benefícios para a saúde, pois está associada a um maior consumo de frutas e vegetais.

As frutas e os vegetais são uma fonte de vitaminas, minerais, fibras e compostos bioativos e o seu consumo regular está diretamente relacionado com a prevenção do desenvolvimento de doenças crónicas não transmissíveis, como as doenças cardiovasculares, a diabetes e o cancro [59,60,61,62]. Estes benefícios, para vários autores, são geralmente atribuídos aos compostos bioativos com atividade antioxidante, nomeadamente, às vitaminas C e E, carotenóides, ácidos fenólicos e flavonoides [60,61,62]. Segundo alguns autores, a inclusão diária dos antioxidantes na dieta pode apresentar um efeito protetor contra os processos oxidativos que ocorrem no organismo, devido à capacidade que os polifenóis apresentam para sequestrar radicais livres [63,64].

Neste sentido, vários foram os estudos, nomeadamente, *in vitro*, que reconheceram as acções anti-carcinogénicas, anti-arterioscleróticas, anti-inflamatórias, anti-trombóticas e anti-osteoporóticas destes compostos [65,66,67].

Vários autores descrevem os polifenóis como sendo compostos fotoprotetores dada a sua capacidade em prevenir a penetração da radiação ultra-violeta (UV) na pele, quando administrados topicamente. Consequentemente, estes compostos reduzem processos inflamatórios, previnem o stresse oxidativo e o dano de material genético,

causados pela radiação cutânea com UV, atuando ao nível da prevenção do fotoenvelhecimento [68,69,70].

Para os flavonoides, por exemplo, a comunidade investigadora tem vindo a demonstrar diversas ações biológicas e terapêuticas, tanto em condições experimentais como em seres humanos, destacando-se a sua acção antifúngica, antivírica, antibacteriana, antiparasitária, imunomoduladora e anti-inflamatória, vascular e cardioprotetora (efeito anti-aterosclerótico e anti-trombogénico), citotóxica, antitumoral bem como a sua capacidade para inibir enzimas, como por exemplo, as hidrolases. Para além destas actividades destaca-se a sua atividade antioxidante [66,71].

Através da sua capacidade em doar electrões, em inibir a ação das enzimas responsáveis pela produção do anião superóxido, através da quelação de metais vestigiais que exercem funções ao nível do metabolismo do oxigénio ou através de reações diretas com os radicais livres, os flavonoides podem prevenir danos causados pelos radicais livres [72,73,74].

Segundo Harborne e Williams (2000), a atividade antioxidante é uma das suas propriedades mais estudadas neste grupo de compostos, tendo sido o primeiro mecanismo de ação a ser estudado, nomeadamente no que respeita ao seu poder protetor contra doenças cardiovasculares [75,76].

Devido às suas propriedades antioxidantes e quelantes, os flavonoides inativam as EROs atenuando a oxidação do colesterol LDL plasmático, amenizando, assim, a inflamação do endotélio dos vasos sanguíneos. Para além disso, através da diminuição da atividade da xantina oxidase, NADPH oxidase e da lipoxigenase também conseguem diminuir a produção de EROs [77].

Porém, o conteúdo dos compostos bioativos presentes nos frutos e vegetais é fortemente influenciado pela variedade, as condições edafoclimáticas como a temperatura, a luminosidade, a irrigação e os nutrientes presentes no solo, a sazonalidade, a área geográfica, as propriedades intrínsecas da espécie, o estado de

maturação, a colheita e a pós-colheita, o processamento e o armazenamento dos mesmos [53,78].

Neste sentido, torna-se essencial quantificar o teor de compostos bioativos, nomeadamente, fenólicos e flavonoides totais, das sementes da *Carica papaya* L., bem como avaliar a atividade antioxidante das mesmas uma vez que o conteúdo em compostos bioativos influencia a ação antioxidante, que por sua vez está directamente relacionada com estruturas químicas destes compostos e suas concentrações, a afinidade para com o solvente extrator e a sua biodisponibilidade [79,80].

4. Materiais e métodos

4.1. Amostras

As sementes de papaia foram adquiridas num hipermercado do Porto, provenientes do Brasil. Foram usados 30 frutos maduros (casca amarelo-esbranquiçada e de fácil remoção), lavados cuidadosamente com água destilada antes da separação das sementes usadas para este estudo. Antes de proceder aos ensaios experimentais, as sementes foram liofilizadas (Liotop L101, Brasil), posteriormente trituradas e homogeneizadas, recorrendo a um moinho Grindomix GM 200 (Retsch, Haan, Alemanha), a 2 000 rpm. As amostras foram armazenadas a 4°C em frascos hermeticamente selados.

4.2. Preparação dos extractos

Para a obtenção dos extratos, adicionou-se cerca de 1 g de amostra a 50 ml de solvente, recorrendo a dois solventes diferentes: etanol e água. O método de extração foi baseado no estudo realizado por Costa *et al.* (2014) [81], que decorreu durante 60 minutos a 50°C, numa placa de aquecimento (Mirak, Thermolyse, USA), sob agitação constante (600 rpm). Seguidamente, os extratos foram filtrados com papel de filtro (Whatman N° 1) e liofilizados (Telstar, Cryodos, Spain).

4.3. Compostos bioativos

4.3.1. Fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais dos extratos aquosos e etanólicos foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, segundo metodologia validada por Vinha *et al.* (2015) [82]. Resumidamente colocou-se num tubo de ensaio 500 µl de cada extrato, branco ou padrão (solução de ácido gálgico 1000 ppm) aos quais se adicionaram 2,5 ml de RFC diluído em água desionizada (1:10) e 2,0 ml de carbonato de sódio (Na₂CO₃) 7,5%. Os extratos foram colocados em banho a 45 °C durante 15 minutos, ao abrigo da luz. Posteriormente deixou-se em repouso à temperatura ambiente durante 30 minutos. Foram efetuadas leituras das absorvências a 765 nm em leitor de microplacas (BioTek Synergy HT, GENS5, EUA). Os resultados são expressos em mg de equivalentes de ácido gálgico (EAG)/100g de amostra.

4.3.2. Flavonóides totais

A análise para a quantificação dos flavonoides totais seguiu a metodologia previamente descrita por Vinha *et al.* (2016) [83]. A absorvência foi lida a 510 nm, a qual corresponde ao máximo de absorção do complexo AlCl₃-flavonoide formado. Para a elaboração da reta de calibração foi usada a catequina como padrão. Para o ensaio, foram adicionados 1 ml de cada extrato (aquoso e etanólico, respetivamente), 4 ml de água desionizada e 300 µl de nitrito de sódio a 5%. Após uma homogeneização de 5 minutos, adicionaram-se 300 µl de AlCl₃ a 10%. Posteriormente, adicionaram-se 2 ml de solução de hidróxido de sódio (1 mol/l) e 2,4 ml de água desionizada. A mistura resultante foi homogeneizada em vortex, imediatamente antes de proceder à leitura num espectrofotómetro UV/Vis (Thermo, Genesys 10S UV-Vis, China). Os resultados, obtidos em triplicado, são expressos em mg equivalentes de catequina (EC) por 100g de amostra.

4.4. Avaliação da actividade antioxidante

Nos ensaios *in vitro* da atividade antioxidante foram usados os extratos anteriormente preparados para a determinação dos compostos bioativos (sub-capítulo 4.3). O potencial antioxidante foi avaliado segundo os métodos espetofotométricos:

efeito bloqueador de radicais livres de DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e poder antioxidante por redução do íon férrico (FRAP).

4.4.1. Inibição do radical livre DPPH[•]

O método usado para a determinação da capacidade de neutralização do radical DPPH[•] mede a captação deste radical através da diminuição da absorvência, medida a 525 nm, que resulta da redução de um antioxidante (AH) ou de uma reação com radicais livres. A metodologia previamente descrita por Costa *et al.* (2016) [84], consistindo em adicionar 20 µl de cada extrato a 280 µl de solução etanólica de DPPH[•] (6,0 x 10⁻⁵ mol/l), preparada no próprio dia, efetuando-se leituras sequenciais de 2 em 2 minutos, a 525 nm em leitor de microplacas (BioTek Synergy HT, GEN55, EUA). O decréscimo de DPPH[•] foi determinado até a reação estabilizar (aproximadamente 30 minutos). Foi usado uma solução de ácido ascórbico como solução controlo. Os resultados são expressos em EC₅₀ (µg/ ml), o qual representa a concentração do composto alvo para qual 50% do efeito é observado.

4.4.2. Avaliação do poder antioxidante por redução do íon férrico (FRAP)

Dos diferentes extratos em estudo retiraram-se 35 µl, adicionando-se 265 µl de reagente FRAP, previamente preparado com tampão acetato 0,3M, solução TPTZ 10 mM e cloreto férrico 20 mM. A solução foi incubada no leitor de microplacas a 37°C, ao abrigo da luz durante 30 minutos. A leitura das absorvências foi realizada a 595 nm, após período de incubação (Rodrigues *et al.*, 2014) [85]. Para o método de FRAP, utilizou-se o sulfato ferroso 1 mM como padrão. Foi usado uma solução de ácido ascórbico como solução controlo. A correlação entre a absorvência das amostras e a concentração do padrão foi obtida através da curva de calibração e os resultados obtidos foram expressos em EC₅₀ (µg/ mL).

4.5. Análise estatística

Os resultados obtidos neste estudo são apresentados como média ± desvio-padrão. Para o tratamento e análise dos dados utilizou-se o software *Statistical Package for*

Social Science® versão 23.0 (SPSS) para Windows. A diferença significativa foi definida quando $p < 0,05$.

5. Resultados e Discussão

Foi realizada uma análise do conteúdo de compostos bioativos contidos nas amostras de sementes da espécie *Carica papaya* L. estudadas. Os compostos bioativos estudados foram os fenólicos e os flavonoides totais e os resultados obtidos encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Quantificação de compostos antioxidantes obtidos nas sementes estudadas

Extratos	Compostos antioxidantes (mg/100g)	
	Fenólicos	Flavonoides
Aquoso	302,26±2,59	63,24±4,18
Etanólico	981,84±8,22	30,43±5,86

Relativamente ao extrato aquoso, obtiveram-se 302,26 mg/100g e 63,24 mg/100g para o teor de fenólicos e flavonoides totais, respetivamente. Já para o extrato etanólico, obtiveram-se 981,84 mg/100g e 30,43 mg/100g de fenólicos e flavonoides totais, respetivamente.

Pela análise dos resultados obtidos, verificou-se que em ambos os extratos o teor de fenólicos totais foram significativamente superiores aos flavonoides totais. Estes resultados estão de acordo com o estudo realizado por Asghar *et al.* (2016) que teve como objetivo estabelecer o teor de fenólicos e de flavonoides totais e o potencial perfil antioxidante dos extratos de diferentes partes da *Carica papaya* (folhas, caules, raízes, casca, sementes e polpa) utilizando sete solventes: água, etanol, metanol, butanol, diclorometano, acetato de etilo e n-hexano [86]. Apesar dos resultados estarem expressos em unidades diferentes e nem sempre apresentarem diferenças significativas entre os solventes, estes autores apresentam concordância com os resultados obtidos com o presente estudo, pois o teor de fenólicos totais foi significativamente superior ao teor de flavonoides extraídos, verificando-se esta tendência para todos os extratos [86].

No entanto, estes resultados experimentais não foram concordantes com os resultados obtidos por Maisarah *et al.* (2013) e Zhou *et al.* (2011) [87,88]. Maisarah *et al.* (2013) desenvolveram um estudo onde compararam a atividade antioxidante, o teor de fenólicos e de flavonoides totais em diferentes partes da *Carica papaya*, nomeadamente, o fruto verde, maduro, sementes e folhas, utilizando como solvente extrator o metanol [87]. Já a equipa liderada por Zhou (2011) avaliou a atividade antioxidante das sementes da papaia usando vários solventes, nomeadamente, etanol, éter de petróleo, acetato de etilo, butanol e água [88]. Ambos os estudos evidenciaram maior teor de flavonoides totais nas sementes da papaia, contrariando os resultados experimentais deste trabalho [87,88]. Porém, Maisarah *et al.* (2013) não verificaram esta tendência para as restantes partes da *Carica papaya*, isto é, para o fruto verde, para o fruto maduro e para as folhas, estes autores obtiveram maior teor de fenólicos totais [87].

Ao analisar os resultados obtidos para os fenólicos totais, isoladamente, tendo em conta os extratos utilizados, verificou-se que os mesmos apresentaram maior afinidade com o extrato etanólico uma vez que com este extrato foi possível extrair-se maior quantidade de fenólicos totais (981,84 mg EAG/100g), significativamente superiores aos obtidos no extrato aquoso (302,26 mg EAG/100g).

Zhou *et al.* (2011) também encontraram resultados semelhantes aquando da quantificação dos fenólicos totais [88]. Apesar de terem reportados valores superiores de fenólicos totais para o extrato etanólico (1132,41 mg/100g) e inferiores com o extrato aquoso (276,64 mg/100g), os mesmos concluíram que os compostos fenólicos apresentam maior afinidade para o etanol [88].

Asghar *et al.* (2016) também concluíram que os compostos fenólicos têm maior capacidade de serem extraídos com etanol, quando comparados com a água, e cujos resultados obtidos foram superiores aos resultados obtidos pelo presente estudo, com 2794 mg EAG/100g e 4342 mg EAG/100g, para os extratos aquoso e etanólico, respetivamente [86]. Estes autores reportaram o etanol como o melhor solvente extrator de fenólicos totais, para todas as partes da planta estudadas [86].

Maisarah *et al.* (2013) recorreram ao metanol como solvente extrator e obtiveram teores de 30,32 mg EAG/100g nas sementes da papaia [87]. Como Asghar *et al.* (2016) e Maisarah *et al.* (2013), muitos outros autores utilizam o metanol como solvente extrator de compostos biativos. No entanto, para fins alimentares o uso deste solvente não é viável, pois o metanol para além de dispendioso é tóxico. Sendo um dos objetivos deste trabalho experimental, a potenciação da matriz como um género alimentício passível de ser digerível de forma segura, é fundamental ter em conta não só a sustentabilidade do solvente como a viabilidade do seu uso na dieta [86,87,89].

Relativamente ao teor de flavonoides totais, verificaram-se que estes apresentaram maior afinidade com a água (63,24 mg EC/100g) comparativamente com o extrato etanólico (30,43 mg EC/100g), resultado oposto ao obtido para os fenólicos totais.

No entanto, estes resultados não são concordantes com os publicados por Zhou *et al.* (2011), pois estes autores concluíram que os flavonoides apresentavam maior afinidade com o extrato etanólico, uma vez que o conteúdo de flavonoides obtido com o etanol (2247,00 mg ER/100g) foi superior ao obtido com a água (422,00 mg ER/100g) [88]. Porém, foram encontradas diferenças significativas entre os resultados obtidos para o etanol e para o butanol. Estes autores concluíram, uma vez mais, que o acetato de etilo era o melhor solvente extrator de flavonoides (11748,00 mg ER/100g), e que a água era o pior solvente [88].

Também Asghar *et al.* (2016) chegaram à mesma conclusão que a equipa liderada por Zhou (2011), pois o conteúdo de flavonoides total presente nas suas amostras foi superior com o etanol (1044,00 mg EC/100g) comparativamente com a água (656,00 mg EC/100g) [86,88]. Tal como para os fenólicos totais, também para os flavonoides o etanol foi o melhor solvente extrator, para todas as partes da planta estudadas [86]. De todos os solventes utilizados por Asghar *et al.* (2016), o diclorometano foi o pior solvente na extração dos fenólicos e dos flavonoides para as raízes, e para as restantes partes da papaia o n-hexano mostrou-se o pior solvente [86].

Maisarah *et al.* (2013), o grupo de investigadores que utilizou apenas o metanol como solvente extrator, conseguiram extrair maior quantidade de flavonoides totais

(59,54 mg EAG/100g), nas sementes, comparativamente com os resultados obtidos com o etanol, no presente trabalho [87]. Porém, Asghar *et al.* (2016), ao utilizarem o mesmo solvente (metanol), conseguiram maiores teores de flavonoides, tanto para as folhas (1554,00 mg EC/100g) como para as sementes (862,00 mg EC/100g), comparativamente com os resultados publicados por Maisarah *et al.* (2013) [86,87].

De acordo com Khamsah *et al.* (2006), os compostos bioativos contribuem para a atividade antioxidante das sementes do fruto, no entanto, a afinidade que os compostos apresentam face ao extrato utilizado também pode influenciar não só o seu teor quantitativo como também a respetiva atividade [90].

Na figura 2 encontram-se representados os resultados obtidos para a avaliação da atividade antioxidante dos extratos estudados, expressos em EC₅₀ (µg/ml), baseados nos métodos espectrofotométricos DPPH[•] e FRAP.

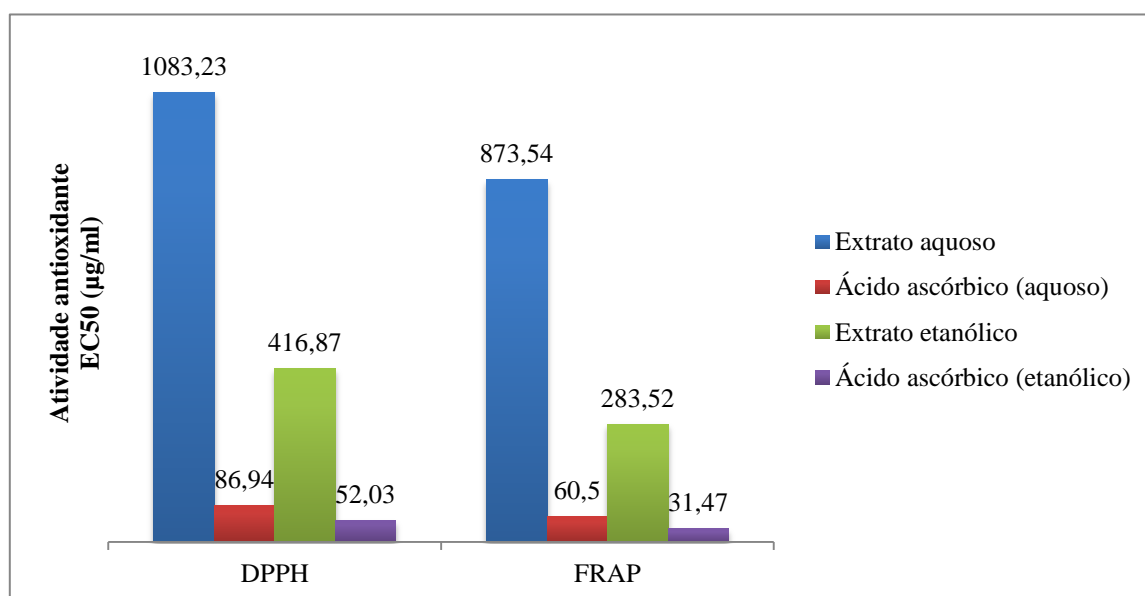


Figura 2. Resultados da atividade antioxidante das sementes da *Carica papaya* L. analisados, utilizando o etanol e a água como solventes extratores

O ácido ascórbico é uma vitamina essencial ao ser humano, na medida que o mesmo não a consegue sintetizar [91]. Encontra-se naturalmente presente na maioria dos alimentos de origem vegetal e apresenta atividade antioxidante por ser capaz de neutralizar os radicais livres. Neste trabalho, o ácido ascórbico foi utilizado como

controle. Por ser um antioxidante natural, o seu uso permitiu medir a atividade antioxidante dos compostos bioativos presentes nos dois extratos, no sentido de os comparar com um antioxidante natural [92].

Pela análise da figura 4, verificou-se que pelo método DPPH[•], os valores de EC₅₀ obtidos para os extratos aquoso e etanólico, foram de 1083,23 µg/ml e 416,87 µg/ml, respectivamente. Pelo método FRAP, os valores obtidos foram de 873,54 µg/ml e de 283,52 µg/ml para o extrato aquoso e etanólico, respectivamente.

Estando os resultados expressos em EC₅₀ (quantidade de extrato necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do substrato), é importante referir que a atividade antioxidante é inversamente proporcional ao valor de EC₅₀ obtido, isto é, quanto menor for o valor de EC₅₀ obtido, maior a atividade antioxidante do composto em análise [87].

Sendo assim, neste trabalho experimental verificou-se que o extrato etanólico foi o que obteve maior atividade antioxidante, tanto pelo método DPPH[•] como pelo método FRAP. Para além disso foi possível concluir que pelo método FRAP a atividade antioxidante foi superior à obtida pelo método DPPH[•], o que está concordante com outros estudos que referem que o método DPPH[•] embora seja uma técnica analítica corrente, apresenta muitos fatores interferentes que influenciam os resultados [93,94].

Por exemplo, Zhou *et al.* (2011) obtiveram conclusões semelhantes, na medida que o extrato etanólico, pelo método DPPH, foi o que obteve menor valor de EC₅₀ (248,63 µg/ml) [88]. Todavia, para o etanol, estes autores obtiveram maior atividade antioxidante, enquanto para a água obtiveram menor (1628,33 µg/ml), comparativamente com os resultados obtidos neste estudo. Um dado interessante encontrado pela equipa liderada por Zhou *et al.* (2011) reportaram que a atividade antioxidante obtida com o solvente acetato de etilo (64,61 µg/ml) foi superior à atividade do ácido ascórbico (66,96 µg/ml) [88].

Maisarah *et al.* (2013) obtiveram menor atividade antioxidante nos extratos metanólicos das sementes de papaia (1000 µg/ml), comparativamente, com os

resultados obtidos neste estudo, nomeadamente, no extrato etanólico (416,87 µg/ml) [87].

Como Asghar *et al.* (2016) não utilizaram o mesmo controlo, utilizaram um antioxidante sintético (BHT), nem apresentaram os resultados nas mesmas unidades, não foi possível efetuar uma comparação [86]. No entanto, estes autores concluíram que o extrato que obteve um maior potencial de eliminação dos radicais livres DPPH[•] foi o etanol, nomeadamente nas folhas (75,05%) seguindo a polpa (68,07%). O n-hexano e o butanol foram os extratos que exibiram menor atividade antioxidante talvez pela afinidade exibida pelos compostos bioativos para com estes dois solventes [86].

O único estudo que utilizou o método FRAP para avaliar a atividade antioxidante dos compostos bioativos presentes nas sementes da papaia foi o estudo conduzido por Zhou (2011) [88]. Estes autores concluíram que a fração de acetato de etilo foi a que apresentou maior capacidade de reduzir o íão férrico enquanto as outras frações, nomeadamente, éter de petróleo, etanol, água e butanol, revelaram baixa capacidade redutora. Para além disso, não foram descritas diferenças significativas entre os resultados obtidos para as frações supracitadas [88].

Tendo em conta os resultados obtidos, expressos na figura 2, foi possível efetuar a comparação entre os dois métodos espectrofotométricos, recorrendo a dois solventes extratores (etanol e água), verificando-se que a atividade antioxidante revelou-se superior no extrato etanólico. Assim, por ordem crescente de atividade antioxidante para a amostra em estudo, obteve-se: extrato aquoso e método DPPH[•] < extrato aquoso e método FRAP < extrato etanólico e método DPPH[•] < extrato etanólico e método FRAP.

Uma vez que foi utilizado um controlo, o ácido ascórbico, foi efetuada uma análise aos resultados para este mesmo controlo. Pela análise da figura 2, verificou-se que pelo método DPPH[•], a atividade antioxidante do ácido ascórbico (86,94 µg/ml) foi superior à encontrada no extrato aquoso (1083,23 µg/ml). Pelo mesmo método, a atividade antioxidante do ácido ascórbico (52,03 µg/ml) também foi superior comparativamente com o extrato etanólico (416,87 µg/ml). Sendo assim, pelo método DPPH[•], o ácido

ascórbico apresentou uma atividade antioxidante superior tanto para o extrato aquoso como para o etanólico.

Também pelo método FRAP o comportamento do ácido ascórbico foi semelhante, ou seja, a atividade antioxidante do ácido ascórbico foi superior aos dois extratos estudados em ambos os métodos analíticos.

O único estudo que comparou a atividade antioxidante dos seus extratos com um antioxidante natural foi o estudo desenvolvido por Zhou *et al.* (2011) [88]. Estes autores concluíram que o acetato de etilo foi o solvente que obteve maior atividade antioxidante, seguido do ácido ascórbico (controlo). O etanol (248,63 µg/ml) foi o extrato que exibiu melhor atividade antioxidante comparativamente com a água (1628,33 µg/ml) mas menor do que o ácido ascórbico (66,96 µg/ml). Estes resultados são concordantes com os resultados obtidos no presente estudo [88].

6. Conclusão

Através do presente trabalho experimental, foi reconhecida não só a presença de compostos bioativos como também a atividade antioxidante das sementes da *Carica papaya* L.. De um modo geral, os resultados obtidos demonstraram que as sementes estudadas são uma fonte rica em compostos bioativos, nomeadamente, fenólicos e flavonoides. O extracto aquoso foi o que permitiu obter maior conteúdo de flavonoides, porém foi o que obteve menor atividade antioxidante. Já o extrato etanólico foi o que permitiu obter maior conteúdo de compostos fenólicos e maior atividade antioxidante.

Dado o seu conteúdo rico em antioxidantes, as sementes da papaia podem ser incorporadas na alimentação, de modo a obter-se o máximo dos efeitos biológicos dos seus compostos bioativos, promovendo, assim, a saúde. Todavia, o conteúdo de compostos bioativos é francamente influenciado por diversos factores, nomeadamente, as propriedades intrínsecas da espécie, o estado de maturação do fruto, as condições edafoclimáticas, a biodisponibilidade dos compostos, a afinidade com o solvente extrator, entre outros.

Neste sentido, torna-se interessante aumentar os estudos das propriedades biológicas desta semente, numa perspetiva futura de integrá-los não só na dieta alimentar como também noutras áreas, como por exemplo, na indústria farmacêutica na formulação de fármacos naturais contra diferentes doenças infecciosas, e na indústria da cosmética, com o objetivo de combater o desperdício das mesmas, garantindo assim a sustentabilidade. Para além disso, apesar de já existirem alguns estudos previamente publicados, também seria bastante interessante o estudo da toxicidade das sementes da papaia, para que estas pudessem ser incorporadas na dieta de forma segura.

7. Referências bibliográficas

- [1] Simões, E.B., Santos, A. C. A. e Lucas, M. R. (2015). Qualidade instrumental e sensorial de papaia produzida em Cabo Verde, e análise crítica da sua importação. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, 53(4), pp. 683-698.
- [2] Nunes, M. C. N. *et al.* (2006). Brief deviations from set point temperatures during normal airport handling operations negatively affect the quality of papaya (*Carica papaya*) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 41, pp. 328-340.
- [3] Medina, J. C., Vela Gutiérrez, G. e García, H. (2003). Papaya post harvest operations. *Post-Harvest Compendium*.
- [4] He, X. *et al.* (2017). Chemical composition and antifungal activity of *Carica papaya* Linn. seed essential oil against *Candida* spp. *Letters in Applied Microbiology*, 64(5), pp. 350-354.
- [5] Yogiraj, V. *et al.* (2014). *Carica papaya* Linn: an overview. *International Journal of Herbal Medicine*, 2(5), pp. 1-8.
- [6] Nwofia, G. E., Ojmelukwe, P. e Eji, C. (2012). Chemical composition of leaves, fruit pulp and seeds in some *Carica papaya* (L) morphotypes. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 2(1), pp. 200-206.

- [7] Afolabi, I. S. et al. (2011). Biochemical effect of some food processing methods on the health promoting properties of under-utilized *Carica papaya* seed. *Journal of Natural Products*, 4, pp. 17-24.
- [8] Fao (2013). Food wastage footprint: Impacts on natural resources.
- [9] Afolabi, I. S. e Ofobrukmeta, K. (2011). Physicochemical and nutritional qualities of *Carica papaya* seed products. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(14), pp. 3113-3117.
- [10] Hayatie, L., Biworo, A. e Suhartono, E. (2015). Aqueous extracts of seed and peel of *Carica Papaya* against *Aedes aegypti*. *Journal of Medical and Bioengineering*, 4(5), pp. 417-421.
- [11] Salla, S. et al. (2016). Antioxidant and apoptotic activity of papaya peel extracts in HepG2 cells. *Food and Nutrition Sciences*, 7, pp. 485-494.
- [12] Santos, C. M. et al. (2014). Chemical characterization of the flour of peel and seed from two papaya cultivars. *Food Science and Technology*, 34(2), pp. 353-357.
- [13] Malacrida, C. R., Kimura, M. e Jorge, N. (2011). Characterization of a high oleic oil extracted from papaya (*Carica papaya* L.) seeds. *Food Science and Technology Research*, 31(4), pp. 929-934.
- [14] Senthilkumaran, J. J. e Shalini, N. (2014). An overview of *Carica papaya* and its medicinal uses. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(2), pp. 641-649.
- [15] Gunde, M. C. e Amnerkar, N. D. (2016). Nutritional, medicinal and pharmacological properties of papaya (*Carica papaya* linn.): A review. *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, 3, pp. 162-169.

- [16] Vij, T. e Prashar, Y. (2015). A review on medicinal properties of *Carica papaya* Linn. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(1), pp. 1-6.
- [17] Aravind G. et al. (2013). Traditional and medicinal uses of *Carica papaya*. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 1(1), pp. 7-15.
- [18] Chukwuka, K. S., Iwuagwu, M., & Uka, U. N. (2013). Evaluation of nutritional components of *Carica papaya* L. at different stages of ripening. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 6(4), 13-16.
- [19] Adetuyi et al. (2008). Anti-nutrient and antioxidant quality of waxed and un waxed pawpaw *Carica papaya* fruit stored at different temperatures. *African Journal Biotechnology*, 7, pp. 2920-2924.
- [20] Bari et al. (2006). Nutritional analysis of two varieties of papaya (*Carica papaya*) at different maturation stages. *Pakistan Journal Biological Science*, 9, pp. 137-140.
- [21] Udoh, P., Essien, I. e Udoh, F. (2005). Effects of *Carica papaya* (paw paw) seeds extract on the morphology of pituitary–gonadal axis of male Wistar rats. *Phytotherapy Research*, 19(12), pp. 1065-1068.
- [22] Pandey, S. (2017). Anti-inflammatory and immunomodulatory properties of *Carica papaya*. *Journal of Immunotoxicology*, 13(4), pp. 590-602.
- [23] Sripanidkulchai, B. et al. (2001). Diuretic effects of selected Thai indigenous medicinal plants in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3), pp. 185-190.
- [24] Eno, A. E. et al. (2000). Blood pressure depression by the fruit juice of *Carica papaya* (L.) in renal and DOCA-induced hypertension in the rat. *Phytotherapy Research*, 14(4), pp. 235-239.

- [25] Adeneye, A. A. e Olagunju, J. A. (2009). Preliminary hypoglycemic and hypolipidemic activities of aqueous seed extract of *Carica papaya* Linn. in wistar rats. *Biology and Medicine*, 1(1), pp. 1-10.
- [26] Stepek, G. et al. (2004). Natural plant cysteine proteinases as anthelmintics. *Trends in Parasitology*, 20(7), pp. 322-327.
- [27] Nayak, B. S., Pereira, L. P. e Maharh, D. (2007). Wound healing activity of *Carica papaya* L. in experimentally induced diabetic rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 45(8), pp. 739-743.
- [28] Giordiani, R. et al. (1997). A synergistic effect of *Carica papaya* latex sap and fluconazole on *Candida albicans* growth. *Mycoses*, 40(11-12), pp. 429-437.
- [29] Doughari, J., Elmahmood, A. M. e Manzara, S. (2007). Studies on the antibacterial activity of root extracts of *Carica papaya* L.. *African Journal of Microbiology Research*, pp. 37-41.
- [30] Emeruwa, A. C. (1982). Antibacterial substance from *Carica papaya* fruit extract. *Journal of Natural Products*, 45(2), pp. 123-127.
- [31] Leite, A. A. et al. (2005). *Carica papaya* seed macerate as inhibitor of conjugative R plasmid transfer from *Salmonella typhimurium* to *E.coli*, invitro and in the digestive tract of genobiotic mice. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 51(1), pp. 21-26.
- [32] Otsuki et al. (2010). Aqueous extract of *Carica papaya* leaves exhibits anti-tumor activity and immunomodulatory effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(3), pp. 760-767.
- [33] Fauziya, S. e Krishnamurthy, R. (2013). Papaya (*Carica papaya*): source material for anticancer. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(1), pp. 25-34.

- [34] Ang, Y. K. et al. (2012). Antioxidant potential of *Carica Papaya* peel and seed. *Focusing on Modern Food Industry*, 1(1), pp. 11-16.
- [35] Lu, A. et al. (2010). Antiinflammatory activity of the methanolic extract of the seeds of *Carica*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, pp. 884-886.
- [36] Valko, M. et al. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), pp. 44-84.
- [37] Moreira, J. C. H. *Agentes Fitoquímicos da Persea Americana mill. e seu potencial contributo na dermocosmética*. Tese de Mestrado, Universidade Fernando Pessoa. 2012, Porto.
- [38] Ferreira, M., Aguiar, T. e Vilarinho, L. (2008). Cadeia respiratória mitocondrial: Aspectos clínicos, bioquímicos, enzimáticos e moleculares associados ao défice do complexo I. *Arquivos de Medicina*, 22, pp. 49-56.
- [39] Gabriel, C. *Avaliação da função mitocondrial em idosos institucionalizados com e sem Doença de Alzheimer*. Tese de Mestrado, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. 2008, Vila Real.
- [40] Fridovich, I. (1999). Fundamental Aspects of Reactive Oxygen Species, or What's the Matter with Oxygen?, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 893, pp. 13-18.
- [41] Lee, J., Koo, N. e Min, D. B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3(1), pp. 21-33.
- [42] Fu, S. et al. (1998). Evidence for roles of radicals in protein oxidation in advanced human atherosclerotic plaque. *The Biochemical Journal*, 333, pp. 519-525.

- [43] Ridnour, L. A. et al. (2005). Nitric oxide regulates angiogenesis through a functional switch involving thrombospondin-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(37), pp. 13147-13152.
- [44] Cadenas, E. (1997). Basic mechanisms of antioxidant activity. *BioFactors*, 6(4), pp. 391-397.
- [45] Yanez, J. et al. (2004). Cytotoxicity and antiproliferative activities of several phenolic compounds against three melanocytes cell lines: relationship between structure and activity. *Nutrition and Cancer*, 49(2), pp. 191-199.
- [46] Yazaki, K., Sasaki, K. e Tsurumaru, Y. (2009). Prenylation of aromatic compounds, a key diversification of plant secondary metabolites. *Phytochemistry*, 70, pp. 1739-1745.
- [47] Johnson, I. T. (2007). Phytochemicals and cancer. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 66(2), pp. 207-215.
- [48] Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(4), pp. 503-515.
- [49] Mehta, R. G. et al. (2010). Cancer chemoprevention by natural products: How far have we come?. *Pharmaceutical Research*, 27(6), pp. 950-961.
- [50] Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78, pp. 3-6.
- [51] Balange, A. K. e Benjakul, S. (2009). Effect of oxidised phenolic compounds on the gel property of mackerel (*Rastrelliger kanagaruta*) surimi. *Food Science and Technology*, 42(6), pp. 1059-1064.

- [52] Vaquero, M. J. R., Alberto, M. R., e Nadra, M. C. M. (2005). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 18, pp. 93-101.
- [53] Cardoso, R. M., Barrére, A. P. N. e Trovão, F. C. S. (2009). Os fitoquímicos e seus benefícios na saúde. *Einstein*, 7(2), pp. 106-109.
- [54] Boudet, A. M. (2007). Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, 68(22-24), pp. 2722-2735.
- [55] Chunlong, C. et al. (2008). Concentration of phenolic compounds of *Populus euphratica* and soil water contents in *Ejina oasis*, Inner Mongolia, China. *Acta Ecologica Sinica*, 28(1), pp. 69-75.
- [56] Balasundram, N., Sundram, K. e Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), pp. 191-203.
- [57] Hurtado-fernández, E. et al. (2010). Application and potential of capillary electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53, pp. 1130-1160.
- [58] Ryan, D. et al. (2002). Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea* L.. *Scientia Horticulturae*, 92(2), pp. 147-176.
- [59] Alarcón-Flores, M. I. et al. (2013). Multiclass determination of phytochemicals in vegetables and fruits by ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 141(2), pp. 1120-1129.
- [60] Liu, R. H. (2013). Dietary bioactive compounds and their health implications. *Journal of Food Science*, 78.
- [61] Pallauf, K. et al. (2013). Vitamin C and lifespan in model organisms. *Food and Chemical Toxicology*, 58, pp. 255-263.

- [62] Zingg, J. M. (2007). Vitamin E: An overview of major research directions. *Molecular Aspects of Medicine*, 28(5–6), pp. 400-422.
- [63] Pereira, A. L. F., Vidal, T. F. e Constant, P. B. L. (2009). Antioxidantes alimentares: importância química e biológica. *Nutrire*, 34(3), pp. 231-247.
- [64] Bianchi, M. L. P. e Antunes, L. M. G. (1999). Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista de Nutrição*, 12(2), pp. 123-130.
- [65] The benefits of moderate beer consumption (2004). In: Witheridge, J. (Ed.). *The Brewers of Europe*. 3ª Edição.
- [66] Flambó, D. F. A. L. P. *Atividades biológicas dos flavonoides: atividade antimicrobiana*. Tese de Mestrado, Universidade Fernando Pessoa. 2013, Porto.
- [67] Goupy, M., H., P. (1999). Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 12, pp. 1625-1634.
- [68] Nichols, J. A. e Katiyar, S. K. (2010). Skin photoprotection by natural polyphenols: antiinflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Archives of Dermatological Research*, 302, pp. 71-83.
- [69] OyetakinWhite, P., Tribout, H. e Baron, E. (2012). Protective mechanisms of green tea polyphenols in skin. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, pp. 1-8.
- [70] Epstein, H. (2009). Cosmeceuticals and polyphenols. *Clinics in Dermatology*, 27(5), pp. 475-478.
- [71] Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics*, 96.

- [72] Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), pp. 1035-1042.
- [73] Nijveldt, R. et al. (2001). Review article flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, pp. 418-425.
- [74] Hässig, A. et al. (1999). Flavonoids and tannins: plant-based antioxidants with vitamin character. *Medical Hypotheses*, 52(5), pp. 479-481.
- [75] Harborne, J. B. e Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), pp. 481-504.
- [76] Moussa-Ayoub, T. E. et al. (2011). Identification and quantification of flavonol aglycons in cactus pear (*Opuntia ficus indica*) fruit using a commercial pectinase and cellulase preparation. *Food Chemistry*, 124(3), pp. 1177-1184.
- [77] Kozłowska, A. e Szostak-Wegierek, D. (2014). Flavonoids - food sources and health benefits. *Annals of the National Institute of Hygiene*, 65(2), pp. 79-85
- [78] Vinha, A. F. et al. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of portuguese diospyrus kaki fruit by geographical origins. *Journal of Agricultural Science*, 4(2), pp. 281-289.
- [79] Silva, M. L. C. et al. (2010). Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, 31(3), pp. 669-682.
- [80] Ribeiro, V. L. M. C. *Estudo de compostos bioativos presentes em Adansonia digitata e o seu potencial fitoquímico na indústria farmacêutica*. Tese de Mestrado, Universidade Fernando Pessoa. 2012, Porto.

- [81] Costa, A. S. G. et al. (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.
- [82] Vinha, A. F. et al. (2015). Monomeric and oligomeric flavan-3-ols and antioxidant activity of leaves from different *Laurus* sp.. *Food & Function*, 6, pp. 1944-1949.
- [83] Vinha, A. F. Et al. (2016). A new age for *Quercus* spp. fruits: review on nutritional and phytochemical composition and related biological activities of acorns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, pp. 947-998.
- [84] Costa, A. S. G. et al. (2016). Improving bioactive compounds extractability of *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson. *Industrial Crops and Products*, 79, pp. 180-187.
- [85] Rodrigues, F. et al. (2014). Coffee silverskin: a possible valuable cosmetic ingredient. *Pharmaceutical Biology*, 53(3), pp. 386-394.
- [86] Asghar, N. et al. (2016). Compositional difference in antioxidant and antibacterial activity of all parts of the *Carica papaya* using different solvents. *Chemistry Central Journal*, 10(5), pp. 1-11.
- [87] Maisarah, A. M. et al. (2013). Antioxidant analysis of different parts of *Carica papaya*. *International Food Research Journal*, 20(3), pp. 1043-1048.
- [88] Zhou, K. et al. (2011). Antioxidant activity of papaya seed extracts. *Molecules*, 16, pp. 6179-6192.
- [89] Barborsa, N. A., Paes, M. C. D. e Pereira, J. (2016). Influência da temperatura e do solvente na obtenção de extrato de milho de grãos pretos. pp. 1841-1844.

- [90] Khamsah, S. M., Akowah, G., & Zhari, I. (2006). Antioxidant activity and phenolic content of *Orthosiphon stamineus* benth from different geographical origin. *Journal of Sustainability Science and Management*, 1(2), pp. 14-20.
- [91] Smirnoff, N. (2000). Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Elsevier Science*, 3, pp. 229-235.
- [92] Spínola, V. A. R. *Novas metodologias para a determinação do conteúdo de ácido ascórbico em alimentos frescos*. Tese de Mestrado, Universidade da Madeira. 2011, Funchal.
- [93] Clarke, G. et al. (2013). High correlation of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging, ferric reducing activity potential and total phenolics content indicates redundancy in use of all three assays to screen for antioxidant activity of extracts of plants from the malaysian rainforest. *Antioxidants*, 2, pp. 1-10.
- [94] Liang, N. e Kitts, D. D. (2014). Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, 19, pp. 19180-19208.