

Raceli Sandrin

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE DIFERENTES
FRAÇÕES DA AVEIA (*Avena sativa* L.) E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE DE SEUS EXTRATOS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Mara Gabriela Novy Quadri.

Florianópolis
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Sandrin, Raceli

Caracterização físico-química de diferentes frações da
aveia (*Avena sativa* L.) e atividade antioxidante de seus
extratos / Raceli Sandrin ; orientadora, Mara Gabriela
Novy Quadri - Florianópolis, SC, 2013.
167 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Química.

Inclui referências

1. Engenharia Química. 2. antioxidantes fenólicos. 3.
cereal aveia. 4. métodos de extração. I. Quadri, Mara
Gabriela Novy. II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. III. Título.

Raceli Sandrin

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE DIFERENTES
FRAÇÕES DA AVEIA (*Avena sativa* L.) E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE DE SEUS EXTRATOS.**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Florianópolis, 27 de setembro de 2013.

Prof. Ricardo Antônio Francisco Machado, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof.^a Mara Gabriela Novy Quadri, Dr.^a
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Alícia de Francisco, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. José Vladimir de Oliveira, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Marinho Bastos Quadri, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

*Dedico este trabalho à Chica, ao
Grespo, ao Digo e ao Le...
Pela incansável credibilidade
dedicada ao meu esforço.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Santa Catarina, ao Departamento de Pós-Graduação em Engenharia Química e à Professora Mara por abrirem espaço à realização de um sonho, unir estudo aplicado ao trabalho.

À Empresa SL Alimentos de Mauá da Serra / PR e à toda a sua equipe, pela disponibilidade da utilização da infraestrutura para a produção das matérias-primas utilizadas no estudo e para a realização de análises.

À Thomaz Setti, diretor da empresa SL Alimentos, pelos incentivos dispendidos na realização desde trabalho.

Às colegas: Anna, Priscila e Fabiana que encabeçaram junto comigo a luta de união entre estudo e trabalho até o fim. Também à colega Cristiane por ter buscando um caminho melhor para ela.

À Cristiane e Leniza pelas aberturas e auxílios analíticos, pelas ajudas na realização de experimentos, e além de tudo pela paciência e ouvidos na hora dos desabafos.

À Patrícia Benelli e ao Prof. Vladimir de Oliveira pelos auxílios com a realização das extrações supercríticas.

Ao Leandro, pela paciência com a minha ausência e pelos auxílios técnicos linguísticos.

Infinitamente aos meus pais e ao meu irmão pelo sempre apoio incondicional.

E a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram de alguma forma para a realização desta pesquisa, meus sinceros agradecimentos.

“Tu te tornarás eternamente responsável pelo que cativas”.

(Antoine de Saint-Exupéry)

RESUMO

A aveia (*Avena sativa* L.) é um cereal de estrutura diferenciada dos demais. Apresenta alto teor lipídico distribuído por todo o grão, com constituição predominante de ácidos graxos insaturados. Também contém alto conteúdo proteico e de fibras alimentares, sendo a mais conhecida a fibra solúvel β -glucana. Contudo, os compostos antioxidantes fenólicos da aveia vêm sendo fonte de interesse devido às suas ações benéficas à saúde. Estes têm a sua concentração e composição afetadas por fatores genéticos, condições de cultivo e processamento a que os grãos são submetidos antes do consumo. Foram avaliadas cinco diferentes frações que compõem o cereal aveia do cultivar URS 21: Aveia descascada (AD), Flocos de aveia (FA), Farelo de aveia (OB), Aveia maltada (AM) e Casca de aveia (CA). Análises de composição química, estabilidade enzimática e de propriedades antioxidantes foram realizadas. Utilizou-se microscopia eletrônica de varredura com o objetivo de conhecer e diferenciar as estruturas internas de cada fração analisada e análise de FTIR para determinar a composição e cada fração. E no intuito de estudar a composição e atividade dos compostos fenólicos, diferentes tipos de extração foram realizadas: com solvente etanol aquoso (80%, pH 2,0) à temperatura de 50°C, com solvente etanol aquoso (80%) e ondas de ultrassom à temperatura ambiente, extração supercrítica (300 bar, 50°C) e extração supercrítica com co-solvente etanol (300 bar, 50°C, vazão de solvente 1,05 mL/min). Os extratos foram avaliados com teste acelerado de estufa aplicado em óleo de soja. Os experimentos foram planejados ao acaso e os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível 5% de significância. Os resultados foram bastante significativos principalmente para os extratos obtidos em banho-maria a 50°C, sendo os maiores conteúdos de fenólicos encontrado nas amostras AM e CA de 1162,15 e 316,81 mg EAG/100 g respectivamente. A análise de atividade antioxidante apresentou % de descoloração superior para a amostra AM de 2,56% e na sequência AD, CA e OB com 18,31%, 18,77% e 20,15% respectivamente. Não sendo significativa a atividade antioxidante da amostra FA com 39,65% de descoloração do radical DPPH. As amostras que foram tratadas termicamente tiveram redução na concentração de fenóis e atividade antioxidante. Porém o processo de maltagem aumentou consideravelmente o conteúdo de fenólicos e a atividade antioxidante. Todos os extratos tiveram bom desempenho no teste acelerado de oxidação, retardando o processo oxidativo quando

comparados com a amostra branco (sem adição de nenhum extrato) e obtendo desempenho semelhante ao mix da antioxidantes sintéticos BHA/BHT.

Palavras-chave: Aveia. Compostos fenólicos. Atividade antioxidante.

ABSTRACT

Oat (*Avena sativa* L.) is a cereal with differentiated structure of others cereals. It presents high lipid content distributed throughout the grain, with predominant formation of unsaturated fatty acids. It also contains a high content of protein and dietary fiber, being β -glucan the most known soluble fiber. However, the phenolic antioxidants compounds in oats have been a source of interest due to their benefits to health. They have the concentration and composition affected by genetic factors, growth conditions and the processing that the grains are subjected before consumption. We evaluated five different fractions that make up the cereal oat cultivar URS 21: Hulled oats (AD), Rolled Oats (FA), oat bran (OB), Malted Oats (AM) and Oat hulls (CA). Chemical composition analysis, enzyme stability and antioxidant properties were performed. Scanning electron microscopy was used in order to understand and differentiate the internal structures of each fraction analyzed and FTIR analysis to determine the composition of each fraction. In order to study the composition and activity of phenolic compounds, different types of extraction were performed: using organic solvent aqueous ethanol (80%, pH 2,0) at a temperature of 50 ° C, using organic solvent aqueous ethanol (80%) with ultrasound waves at room temperature and supercritical extraction (300 bar, 50°C) and supercritical extraction with co-solvent ethanol (300 bar, 50°C, solvent flow rate 1,05 mL/min). The extracts were evaluated using schall oven test applied in soy oil. Experiments were planned at random and the results were submitted to analysis of variance. The averages were compared by Tukey test at 5% significance. The results were quite significant mainly for the extracts obtained in water bath at 50°C, and the highest phenolics content found in samples MA and CA, 1162.15 and 316.81 mg EAG/100 g respectively. The analysis of antioxidant activity showed % discoloration highest for the sample AM of 2.56% and following by AD, AC and OB with 18.31%, 18.77% and 20.15% respectively. No significant antioxidant activity of the sample FA with 39.65% of DPPH discoloration. The samples which were heat treated decreased the phenolics concentration and antioxidant activity. But the malting process greatly increased the phenolic content and antioxidant activity. All extracts had good performance in the accelerated oxidation test, delaying the oxidation process as compared to the blank sample (without addition of any extract) and obtaining similar performance to mix the synthetic antioxidants BHA / BHT.

Keywords: Oat. Phenolic Compounds. Antioxidant activity.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Dados de produção e área plantada de aveia em grãos..... | 28 |
| Figura 2 – Dados históricos dos estados brasileiros que mais cultivam aveia. .. | 29 |
| Figura 3 – Diagrama mostrando a estrutura da cariopse da aveia. Na esquerda a cariopse com casca. E na direita, corte transversal com as partes (A) farelo, (B) endosperma amiláceo e (C) interface germe-endosperma. | 31 |
| Figura 4 – Micrografia da superfície da aveia, mostrando os tricomas..... | 33 |
| Figura 5 – (A) Granulo de amido de aveia composto por pequenos grânulos de forma poligonal. (B) Grânulos menores de forma poligonal. | 35 |
| Figura 6 - Fluxograma do processo produtivo da aveia para a obtenção produtos. | 40 |
| Figura 7 – Separador de disco por comprimento. | 41 |
| Figura 8 – Discos separadores. | 41 |
| Figura 9 – Esquema de um descascador de aveia. | 43 |
| Figura 10 – Esquema de um estabilizador de aveia. | 44 |
| Figura 11 – Esquema cortador de aveia. | 44 |
| Figura 12 – Esquema floccador de aveia. | 45 |
| Figura 13 – Esquema de secagem em secador de leito fluidizado. | 46 |
| Figura 14 – Fluxograma de produção da aveia maltada..... | 50 |
| Figura 15 – Estrutura química das avenantramidas descritas por COLLINS & PATON em 1992. | 55 |
| Figura 16 - Esquema das extrações com ultrassom: (a) banho de ultrassom e (b) sonda de ultrassom..... | 59 |
| Figura 17 – Diagrama esquemático da extração supercrítica de matrizes sólidas: (R1) regulador de pressão do cilindro; (S1) pistão de compressão; (R2) | |

| | |
|---|-----|
| regulador de pressão; (C1) serpentina; (E1) coluna de extração; (V) válvula abre-fecha; (VM) válvula micrométrica; (RM) medidor de vazão; (TF) Totalizador..... | 62 |
| Figura 18 – Diagrama pressão/temperatura e os equilíbrios entre os estados sólidos, líquido e gasoso. Definição de região supercrítica para o CO ₂ | 64 |
| Figura 19 – Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteau. | 68 |
| Figura 20 – Estabilização do radical livre DPPH [•] | 69 |
| Figura 21 - Matérias-primas utilizadas para realização das extrações. | 72 |
| Figura 22 - Unidade de germinação utilizada nos experimentos. | 82 |
| Figura 23 - Unidade de Extração Supercrítica do LATESC | 87 |
| Figura 24 - Figura ilustrativa do processo de extração com fluido supercrítico..... | 88 |
| Figura 25 - Imagens de MEV da amostra Aveia descascada (AD). (a) Imagem superficial com aumento de 50x, e (b) superfície fraturada por criogenia com aumento de 100x..... | 102 |
| Figura 26 - Imagens de MEV da amostra Aveia descascada (AD). Detalhe da fratura mostrando a diferenciação da camada de aleurona e endosperma amiláceo em aumento de 800x. | 103 |
| Figura 27 - Imagens de MEV da amostra Aveia descascada (AD). Detalhe dos grânulos de amido de formato esférico formados por grânulos menores de formato poligonal em aumento de 3000x. | 103 |
| Figura 28 - Imagens de MEV da amostra Flocos de Aveia (FA). (a) Imagem da superfície com aumento de 100x e (b) Fratura criogênica em sentido transversal em aumento de 400x..... | 104 |
| Figura 29 - Imagens de MEV da amostra Flocos de Aveia (FA). (a) Imagem da superfície de fratura criogênica com visualização dos grânulos de amido do interior do floco em aumento de 800x e (b) Visualização dos grânulos menores de amido de forma poligonal em aumento de 6000x. | 105 |
| Figura 30 - Imagens de MEV da amostra <i>Oat bran</i> (OB). (a) Imagem da superfície e caracterização do farelo, em aumento de 100x, (b) e detalhe de | |

grânulos de amido presentes em aumento de 800x e (c) imagem da deposição dos grânulos de amido em cima das placas de farelo em aumento de 3000x...106

Figura 31 - Imagens de MEV da amostra Aveia Maltada (AM). Imagem da superfície fraturada por criogenia em corte de sentido transversal do grão em aumento de 80x.....108

Figura 32 - Imagens de MEV da amostra Aveia Maltada (AM). (a) Detalhe da camada de aleurona em aumento de 800x, (b) e (c) detalhe do endosperma amiláceo em aumento de 3000x e grânulos de amido em aumento de 1600x respectivamente.109

Figura 33 - Imagens de MEV da amostra Casca de Aveia (CA). (a) Superfície da amostra em aumento de 100x. (b) Detalhes da constituição da amostra com o aparecimento de tricomas em aumento de 400x e (c) grânulos de amido remanescentes do processo.111

Figura 34 - Espectro da aveia descascada (AD). O espectro foi realizado com 20 escaneamentos, sendo resolução de 2.0, comprimentos de onda variando de 400 a 4000 cm^{-1} . Resultados apresentados em absorbância.113

Figura 35 – Espectro de FTIR para a farinha de aveia extrusada obtido por CREMER & KALETUNÇ (2003).114

Figura 36 - Espectro de FTIR das amostras AD (cor preta), FA (cor azul), OB (cor marrom), AM (cor vermelha) e CA (cor verde). O espectro foi realizado com 20 escaneamentos, sendo resolução de 2.0, e range de comprimento de onda de 400 a 4000 cm^{-1} . Resultados apresentados em absorbância.....115

Figura 37 - Espectro de FTIR comparativo das amostras AD (cor preta) e CA (cor vermelha). O espectro foi realizado com 20 escaneamentos, sendo resolução de 2.0, e range de comprimento de onda de 400 a 4000 cm^{-1} . Resultados apresentados em absorbância.116

Figura 38 - Extratos obtidos através de extração com solvente orgânico etanol das matérias-primas AD, FA, OB, AM e CA.117

Figura 39 - Extratos obtidos através de extração com solvente supercrítico CO_2 e co-solvente orgânico etanol a temperatura de 50°C das matérias-primas AD e OB.118

Figura 40 - Conteúdo reacional da análise de Folin-Ciocalteu para as matérias-primas AD, FA, OB, AM e CA.119

Figura 41 - Conteúdo reacional da análise de DPPH para as matérias-primas AD, FA, OB, AM e CA. 124

Figura 42 - Resultados de Atividade Antioxidante expressos em % de Sequestros de Radicais Livres (%SRL) para os processos de extração com solvente orgânico e banho-maria à 50°C e solvente orgânico e banho de ultrassom à temperatura ambiente para as matérias-primas AD, FA, OB, AM e CA. 126

Figura 43 - Comparação entre resultados de Acidez (%) com utilização dos extratos obtidos através do (a) processo extração com solvente orgânico em banho de ultrassom a temperatura ambiente e (b) extração com solvente orgânico em banho-maria a 50°C, para as matérias-primas AD, FA, OB, AM, CA. E comparação com amostra de Branco. 130

Figura 44 - Comparação entre resultados de Índice de Peróxidos (meq/kg) com utilização dos extratos obtidos através do (a) processo extração com solvente orgânico em banho de ultrassom à temperatura ambiente e (b) extração com solvente orgânico em banho-maria a 50°C, para as matérias-primas AD, FA, OB, AM, CA. E comparação com amostra de Branco e com aplicação de mix de antioxidantes BHA/BHT. 132

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AACC – American Association of Cereal Chemists

AD – Aveia descascada

AM – Aveia maltada

CA – casca de aveia

FA – Flocos de aveia

FDA – Food and Drug Administration

OB – Farelo de aveia

PBQP – Programa Brasileiro de Qualidade e Produtividade

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| SUMÁRIO | 21 |
| INTRODUÇÃO..... | 25 |
| 1.1 OBJETIVOS | 26 |
| 1.1.1 Objetivo Geral..... | 26 |
| 1.1.2 Objetivos Específicos | 26 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 27 |
| 2.1 AVEIA | 27 |
| 2.1.1 Morfologia | 30 |
| 2.1.1.1 Estrutura e química da aveia | 32 |
| 2.1.1.1.1 Casca..... | 32 |
| 2.1.1.1.2 Farelo..... | 33 |
| 2.1.1.1.3 Endosperma amiláceo | 34 |
| 2.1.1.1.4 Germe..... | 36 |
| 2.1.1.2 Lipídios, enzimas e qualidade da aveia..... | 36 |
| 2.1.1.2.1 Antioxidantes da aveia e estabilidade lipídica | 37 |
| 2.1.1.2.2. Antioxidantes lipofílicos | 37 |
| 2.1.1.2.3 Outros antioxidantes | 38 |
| 2.1.2 Processamento da Aveia..... | 39 |
| 2.1.2.1 Recepção | 39 |
| 2.1.2.2 Limpeza e classificação..... | 40 |
| 2.1.2.3 Secagem | 41 |
| 2.1.2.4 Armazenagem | 42 |
| 2.1.2.5 Descascamento..... | 42 |
| 2.1.2.6 Estabilização e tostagem | 42 |
| 2.1.2.7 Corte..... | 43 |
| 2.1.2.8 Condicionamento e flocagem..... | 45 |
| 2.1.2.9 Secagem e resfriamento | 46 |
| 2.1.2.10 Moagem | 46 |
| 2.1.2.11 Ensaque e empacotamento | 47 |
| 2.1.3 Maltagem..... | 47 |
| 2.1.3.1 Maceração | 49 |

| | | |
|---------|--|----|
| 2.1.3.2 | Germinação..... | 50 |
| 2.1.3.3 | Secagem..... | 51 |
| 2.2. | ANTIOXIDANTES FENÓLICOS | 51 |
| 2.2.1 | Ácidos fenólicos conjugados com aminas – Avenantramidas | 53 |
| 2.2.2 | Biossíntese e Metabolismo | 54 |
| 2.3 | EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS..... | 56 |
| 2.3.1 | Extração com solvente orgânico..... | 56 |
| 2.3.2 | Extração em banho de ultrassom..... | 58 |
| 2.3.3 | Extração Supercrítica | 60 |
| 2.3.3.1 | Características dos fluidos supercríticos..... | 63 |
| 2.3.4 | Extração supercrítica com co-solvente | 66 |
| 2.4 | MÉTODOS DE AVALIAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE | 66 |
| 2.4.1 | Compostos fenólicos totais..... | 67 |
| 2.4.2 | Atividade antioxidante pela captura do radical DPPH..... | 68 |
| 2.4.3 | Teste acelerado de estufa | 69 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 71 |
| 3.1 | OBTENÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS | 71 |
| 3.1.1 | Preparo das amostras..... | 73 |
| 3.2 | CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS..... | 73 |
| 3.2.1 | Determinação do teor de umidade | 74 |
| 3.2.2 | Determinação do resíduo mineral fixo (cinzas)..... | 74 |
| 3.2.3 | Determinação de lipídios..... | 75 |
| 3.2.4 | Determinação de proteínas | 75 |
| 3.2.5 | Determinação de carboidratos | 76 |
| 3.2.6 | Determinação de ácidos graxos livres..... | 77 |
| 3.2.7 | Determinação de acidez | 77 |
| 3.2.8 | Determinação de atividade enzimática | 78 |
| 3.2.9 | Determinação de concentração de β -glucana..... | 79 |
| 3.2.10 | Análise de microscopia eletrônica de varredura..... | 80 |
| 3.3 | CARACTERIZAÇÕES DA AVEIA MALTADA | 81 |
| 3.3.1 | Potencial de germinação | 81 |

| | |
|--|------------|
| 3.4 PROCESSOS DE MALTAGEM | 83 |
| 3.4.1 Maceração | 83 |
| 3.4.2 Germinação | 84 |
| 3.4.3 Secagem | 84 |
| 3.5 EXTRAÇÕES | 84 |
| 3.5.1 Extração com solvente orgânico | 84 |
| 3.5.2 Extração com banho de ultrassom | 85 |
| 3.5.3 Extração com fluido supercrítico | 86 |
| 3.5.4 Extração com fluido supercrítico e co-solvente..... | 88 |
| 3.5.5 Extrações x Amostras | 88 |
| 3.6 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTIOXIDANTES | 89 |
| 3.6.1 Compostos fenólicos totais – Método de Folin-Ciocalteu.. | 89 |
| 3.6.2 Atividade Antioxidante – Método DPPH..... | 90 |
| 3.6.3 Teste Acelerado de estufa – Schall Oven Test..... | 91 |
| 3.6.3.1 Análise de acidez em ácido oleico | 91 |
| 3.6.3.2 Análise de Índice de Peróxido..... | 92 |
| 3.7 FTIR – ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER | 92 |
| 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 93 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 95 |
| 4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA | 95 |
| 4.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA..... | 102 |
| 4.3 ANÁLISE DE FTIR..... | 112 |
| 4.4 CARACTERIZAÇÃO DA AVEIA MALTADA | 116 |
| 4.5 OBTENÇÃO DE EXTRATOS | 117 |
| 4.6 QUANTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS DAS EXTRAÇÕES UTILIZANDO SOLVENTE ORGÂNICO | 119 |
| 4.6.1 Análise do conteúdo de compostos fenólicos | 120 |

| | |
|--|------------|
| 4.7 QUANTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS COM SOLVENTE ORGÂNICO | 123 |
| 4.7.1. Análise de atividade antioxidante | 124 |
| 4.8 EXTRATOS OBTIDOS COM FLUIDOS SUPERCRÍTICOS | 127 |
| 4.9 TESTE ACELERADO DE ESTUFA – SCHAAL OVEN TEST.. | 129 |
| 5. CONCLUSÕES | 135 |
| 6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS..... | 137 |
| REFERÊNCIAS | 139 |

INTRODUÇÃO

O consumidor preocupado com seu bem estar tem olhado para os alimentos não só como fonte de nutrientes, mas também com o intuito de melhorar a qualidade de vida. Isso porque certos alimentos são fontes muito ricas em compostos bioativos que proporcionam enormes benefícios à saúde. Recentes estudos epidemiológicos contribuem para um conjunto de evidências do papel de proteção dos cereais integrais contra muitas doenças cardiovasculares (POUTANEN, 2009). Fitoquímicos e antioxidantes provenientes de cereais até então eram pouco citados devido à sua atividade antioxidante que se acreditava ser baixa, contudo novas evidências mostram que cereais integrais tem composição de antioxidantes e fitoquímicos igual ou superiores a muitos vegetais e frutas (LIU, 2004).

Alimentos à base de cereais fornecem cerca de 30 a 60% da energia diária, e sua contribuição é mais alta em países desenvolvidos (POUTANEN, 2009); logo, o tipo e o papel dos alimentos à base de cereais na manutenção da saúde tem que ser cuidadosamente considerados. DE MUNTER *et al* (2007) demonstraram que o consumo de cereais integrais reduz o risco de doenças crônicas ligadas à síndrome metabólica, como a diabetes tipo 2, e o risco de doenças cardiovasculares (MELLEN *et al*, 2007).

Dentre estes cereais, por exemplo, a aveia e a cevada possuem reconhecimento por ajudar na redução de colesterol e na manutenção dos níveis de glicose através de sua fibra solúvel, a β -glucana (TIWARI & CUMMINS, 2011), sendo comprovado cientificamente que o consumo de cereais integrais reduz as chances de desenvolvimento de certos cânceres como o intestinal (SCHATZKIN *et al*, 2008).

Contudo, existe uma grande diversidade de outros compostos em cereais que são benéficos, dentre eles pode-se citar as avenantramidas. Estes são fenólicos que compreendem um conjunto de compostos exclusivos da aveia, formados por um ácido antranílico e um hidroxicinâmico, podendo estar presentes tanto nos grãos como também na casca e nas folhas da planta do cereal (DIMBERG *et al*, 1993). E mesmo estando presente em quantidades não muito significativas, este componente da aveia, pode ter grandes efeitos sobre os processos inflamatórios típicos e de dermatites atópicas (FOWLER & SILVERBERG, 2009).

Com o objetivo de ampliar o conhecimento sobre a aveia e seus antioxidantes fenólicos, produziram-se estudos que visam determinar

meios de obtenção e detecção nos tecidos da aveia de compostos fenólicos e sua atividade quando aplicado. Objetivando desta forma futuras aplicações como antioxidante e estabilizante de alimentos.

1.1 OBJETIVOS

Este trabalho apresenta dois grandes objetivos:

1. A caracterização físico-química da aveia, de forma a conhecer melhor suas partes constituintes para utilização eficiente dos compostos fenólicos.
2. A obtenção de compostos fenólicos de cinco frações constituintes do cereal aveia por diferentes métodos de extração, objetivando determinar a melhor metodologia.

1.1.1 Objetivo Geral

Tem-se como objetivo geral comparar os extratos obtidos das frações da aveia através de diferentes modos de extração. Pretende-se assim determinar a fração e o método de extração mais adequado para a obtenção de antioxidantes fenólicos.

1.1.2 Objetivos Específicos

Como objetivos específicos tem-se:

- ✓ Determinar o tipo de extração e a fração da aveia mais indicados para a obtenção de compostos fenólicos.
- ✓ Determinar os efeitos do tratamento térmico e da etapa de maltagem na concentração dos compostos fenólicos.
- ✓ Avaliar a atividade antioxidante de extratos oleosos obtidos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 AVEIA

A aveia é uma espécie de gramínea que pertence à família *Poaceae*, da subfamília *Pooideae* e gênero *Avena*. As espécies de aveia mais cultivadas no mundo são *Avena sativa* e *Avena byzantina* (PETERSON *et al*, 2002).

A aveia caracteriza-se como um cereal de clima frio e úmido, originária da Ásia e do Mediterrâneo (HOSENEY, 1991), e pode ser colhida com a casca ou não dependendo da espécie. Este cereal desempenhou um importante papel através da história como fonte de alimentação animal e como alimento devido ao seu alto conteúdo nutricional.

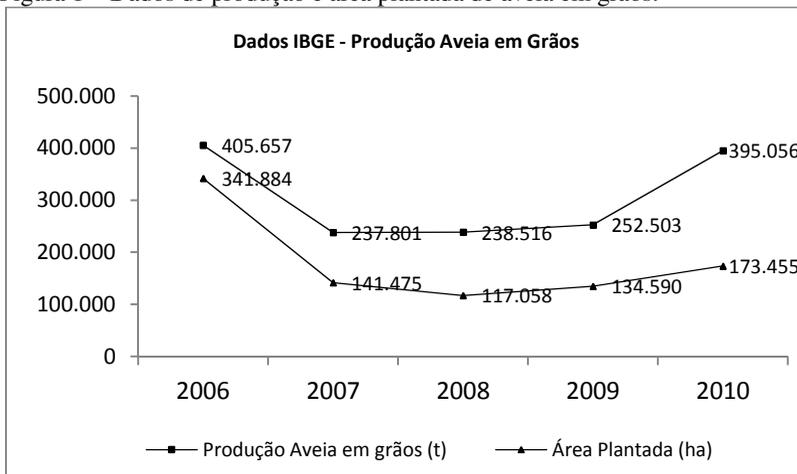
Historicamente, evidências mostram que a aveia foi um dos últimos grãos que foi cultivado pelo homem, cerca de 3.000 anos atrás na Europa, contudo registros certificam que houveram plantações na China ancestral, cerca de 7.000 A.C. Para o Brasil, provavelmente a aveia foi trazida pelos espanhóis em épocas não determinadas, sendo a espécie *Avena byzantina* a primeira a ser cultivada e posteriormente *Avena sativa* e *Avena stringosa* (FEDERIZZI & ALMEIDA, 1998). O seu cultivo, apresenta-se como uma alternativa técnica e economicamente viável para o cultivo no período de inverno/primavera na região centro-sul do Brasil, ocupando área de solos que ficam em pousio nesta época do ano (CARDOZO *et al*, 2002). Os estados que mais se destacam neste cultivo são Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina e Mato Grosso do sul. A produção nacional de aveia em 2012 foi de aproximadamente 395 mil toneladas e a estimativa para a produção de 2013 é de 400 mil toneladas (IBGE, 2012). Devido a várias possibilidades de uso, tem-se notado um crescimento na produção do grão nos últimos 20 anos, quando a produção total aumentou em mais de 100% (CARDOZO *et al*, 2002). Sendo que o principal fator para o aumento da demanda por aveia branca é o crescimento do consumo humano de derivados de seus grãos, que apresentam alto valor nutritivo, alto teor de proteínas, bom balanceamento de aminoácidos, sais minerais e vitaminas (VELLOSO & FEDERIZZI, 2000).

O rank de produção mundial de cereais tem a aveia como sexto colocado, seguido por milho, trigo, cevada, sorgo e milheto (WELCH, 2011). A aveia representa menos de 2% do total de grãos produzidos

(WELCH, 2011). Belarus, Estônia, e Finlândia tem o maior nível de aveia consumida como alimento, 18~24g por dia por pessoa.

Segundo dados do IBGE (2011), a área cultivada com aveia no Brasil em 2010 foi de 173.455 hectares com uma produção de 395.056 toneladas. A área de produção está em constante evolução, apesar de uma queda registrada entre os anos de 2006/2007. A FIGURA 1 mostra a queda na produção entre os anos de 2006/2007 e a nova ascensão a partir de então tanto em área quanto em produção.

Figura 1 – Dados de produção e área plantada de aveia em grãos.



Fonte: IBGE – www.sidra.ibge.gov.br

Dados históricos do CONAB mostram a prevalência de produção de aveia entre os estados do sul, e Mato Grosso Sul, porém, com pequena quantidade produzida. A FIGURA 2 mostra dados históricos da produção do cereal nos estados do sul.

Figura 2 – Dados históricos dos estados brasileiros que mais cultivam aveia.



Fonte: CONAB – www.conab.gov.br

Os grãos de cereais são denominados de cariopses, ou seja, um fruto-semente, em que parte do fruto está aderido à semente. A caripose é constituída pelo embrião, endosperma e circundada pela camada de aleurona, testa e pericarpo. A casca representa 25% do peso total do grão, sendo cerosa, fibrosa e totalmente indigerível pelos seres humanos. Visualmente, a aveia lembra a semente do trigo ou do centeio, exceto pelo germe conter um longo escutelo e o seu cerne ser coberto por tricomas (cabelos). O germe se estende por cerca de um terço do comprimento do grão, sendo tão grande e estreito como o germe do trigo. A semente da aveia possui maior quantidade de lipídios e proteína que outros cereais. Também é fonte de várias enzimas. O maior problema do processamento da aveia é a enzima lipase. A menos que o sistema da lipase seja desnaturado, produtos de aveia moídos tem curta vida-de-prateleira (HOSENEY, 1986).

A enzima lipase, presente na aveia, está localizada quase inteiramente na camada de aleurona. A ação da lipase nos lipídios da aveia se dá principalmente no glicerol e nos ácidos graxos, principalmente oleico, linoleico e palmítico, os quais são hidrolisados em glicerol e ácidos graxos livres (KENT, 1964). Na semente intacta, os lipídios da aveia não entram em contato com a lipase, por suas diferentes localizações, desta forma, a lipase exerce pequeno ou nenhum efeito sobre os lipídios. Porém, quando a aveia sofre alguma ruptura ou

é moída, a lipase na aleurona é posta em contato com os lipídios no endosperma e germe, e o processo de oxidação é acelerado. Este processo também depende da umidade do produto, temperatura e granulometria da moagem.

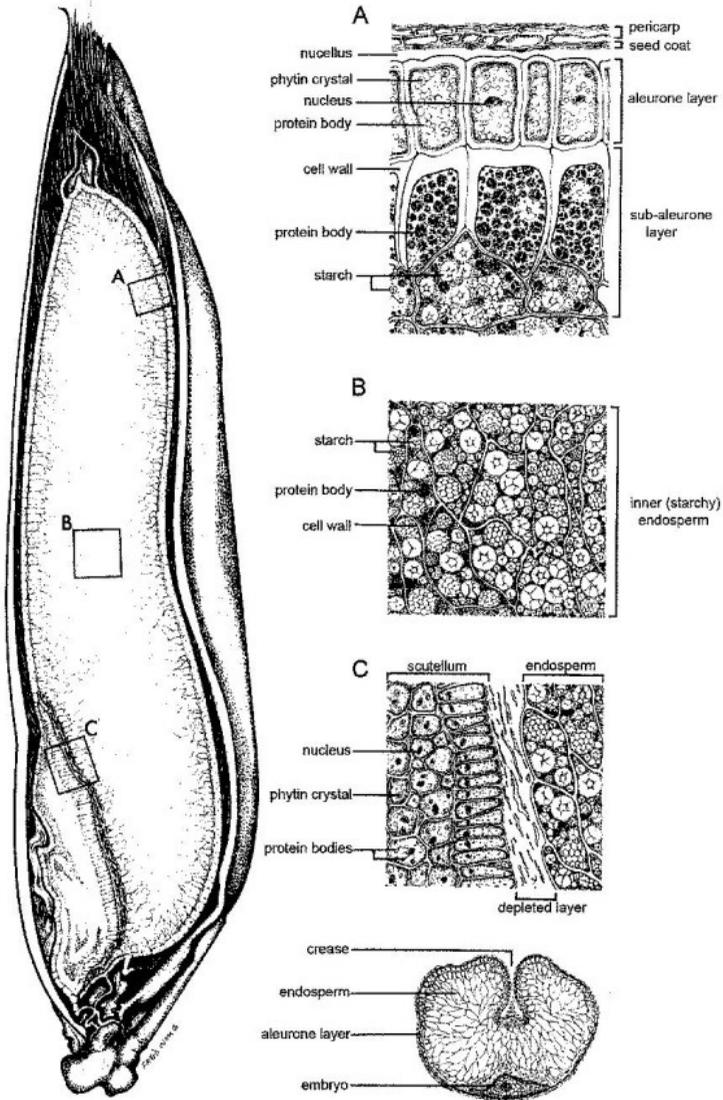
Para evitar qualquer tipo de problemas com a rancidez enzimática na aveia, o cereal passa por um processamento que visa inativar as enzimas causadoras do problema. Desta forma, o produto seco chega atingindo um ano de validade.

2.1.1 Morfologia

A aveia é um cereal relativamente semelhante aos demais, porém que apresenta algumas peculiaridades significativas que afetam diretamente o seu processo. Dentro da casca protetora, a cariopse de aveia pode ser dividida em três principais componentes: o farelo, o germe, e o endosperma amiláceo (MILLER & FULCHER, 2011). A FIGURA 3 mostra a anatomia da semente dentro da casca em corte longitudinal. Aproximações das três maiores frações industriais são mostradas na figura como o farelo (A), o endosperma amiláceo (B), e parte do germe adjacente ao endosperma amiláceo (C).

O grão de aveia possui um comprimento que varia de 6 a 13 mm, espessura de 1,0 a 4,5 mm e peso médio de 32 mg, sendo que sua densidade varia de 520 a 756 kg/m³ (BUTT *et al*, 2008). Apresenta uma estrutura composta por quatro principais partes, dentre elas a casca que responde por cerca de 25% do total do grão; entre 9 e 12% é a proporção do pericarpo que é composto pelas camadas de epiderme, hipoderme, células finas, intermediárias, cruzadas e tubulares; entre 63 e 84% é a composição percentual do endosperma, sendo o mesmo composto pelo endosperma amiláceo e camada de aleurona e 2,8 e 3,7% de germe. O endosperma amiláceo contém grande quantidade de células amiláceas e contribui com 55 a 68,3% do peso total da cariopse.

Figura 3 – Diagrama mostrando a estrutura da cariopse da aveia. Na esquerda a cariopse com casca. E na direita, corte transversal com as partes (A) farelo, (B) endosperma amiláceo e (C) interface germe-endosperma.



Fonte: MILLER & FULCHER, 2011.

2.1.1.1 Estrutura e química da aveia

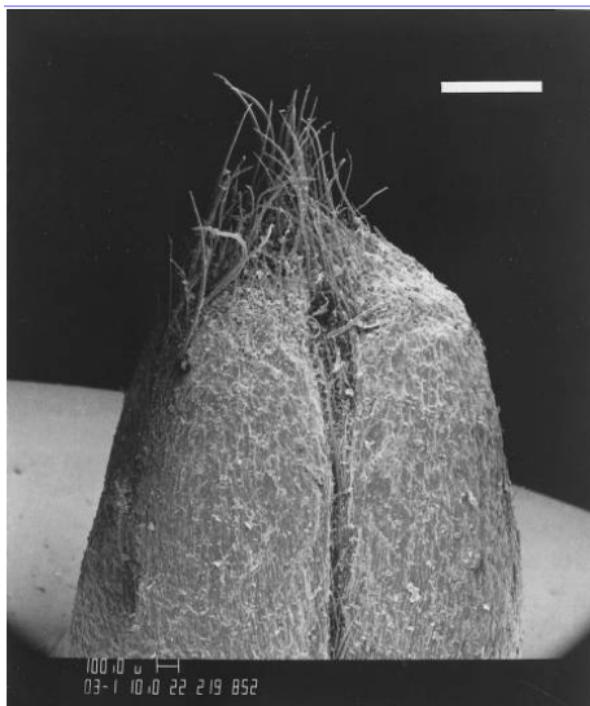
2.1.1.1.1 Casca

A casca é mantida até a maturidade e colheita da aveia. Durante o desenvolvimento inicial, fazem parte da casca diferentes tecidos, incluindo tecidos fotossintéticos e vasculares para o transporte de nutrientes e contribuem significativamente para a nutrição da aveia (JENNINGS & SHIBLES, 1968). Na maturidade, no entanto, a casca é seca, frágil e é isenta de significativa atividade metabólica (MILLER & FULCHER, 2011), perfazendo um total de 25% do peso seco do grão. Tradicionalmente, a casca de aveia é utilizada para a produção de furfural e para alimentação animal. Mais recentemente, *oat fiber*, uma fibra derivada da casca tem entrado no mercado de ingredientes para alimentos com um total de 90% de fibras totais.

Os maiores constituintes químicos da casca são celulose e hemicelulose, com menores quantidades de lignina. Segundo EMMONS & PETERSON (1999), o conteúdo total de fenólicos normalmente é mais alto em cascas de variedades de aveia que possuem maior atividade antioxidante no grão. Catorze componentes já foram separados na casca da aveia e da aveia usando HPLC com fase reversa (MILLER & FULCHER, 2011). Ácido cafeico, ácido gálico, e três avenantramidas foram encontrados em significantes quantidades na aveia, enquanto que casca contém significantes quantidades de ácido protocateico, p-hidroxibenzaldeído, vanilina, ácidos p-cumárico, ácido ferúlico, e ácido vanílico (MILLER & FULCHER, 2011).

Depois da casca da aveia ser removida, a semente restante é bastante similar a outro cereal em sua morfologia geral, contudo, a aveia é normalmente mais longa e delgada que as sementes de trigo ou cevada. E ainda a aveia tem sua estrutura mais coberta por cabelos ou tricomas que outro cereal. A Figura 4 mostra a aveia com detalhes dos tricomas.

Figura 4 – Micrografia da superfície da aveia, mostrando os tricomas.



Fonte: DELCOUR & HOSENEY, 2010.

2.1.1.1.2 Farelo

Circundando a semente estão os tecidos que formam o farelo ou popularmente conhecido pelo nome inglês *Oat bran*. Esta camada mais externa da semente, isto é, o farelo, contém a maior quantidade de minerais (PETERSON *et al*, 1975); vitaminas (FULCHER *et al*, 1981), fitatos (FULCHER *et al*, 1981) e atividade antioxidante (PETERSON *et al*, 2001) que qualquer outra parte do grão, a maior parte reside na camada de aleurona.

A camada de aleurona não se separa claramente do endosperma da aveia como no trigo. O farelo de aveia tipicamente é composto por pericarpo, tegumento, nucelo, camada de aleurona e uma grande porção do sub-aleurona do endosperma amiláceo como é encontrado no farelo

de trigo. O pericarpo, o tegumento, e o nucelo são todos remanescentes do ovário e são comprimidos e metabolicamente inativos na maturidade. Estas camadas são principalmente compostas por polissacarídeos insolúveis, provavelmente com abundância de compostos fenólicos (MILLER & FULCHER, 2011).

Imediatamente abaixo do nucelo está a camada de aleurona, a qual, com a camada externa circunda o endosperma amiláceo e uma pequena porção do germe. Durante o processamento, a camada de aleurona na aveia adere na camada mais externa (assim como no trigo), esta é a parte do endosperma amiláceo (MILLER & FULCHER, 2011).

A parede celular da camada de aleurona contém (1→3)-(1→4)-β-D-glucana, β-glucana (WOOD & FULCHER, 1978). A parede celular do endosperma também é rica em β-glucana, fibra solúvel que tem mostrado efeitos benéficos na dieta humana.

2.1.1.1.3 Endosperma amiláceo

O endosperma amiláceo é o maior tecido de todos os cereais, o qual pode constituir até 70% do peso de uma semente que alcançou a maturidade (YOUNGS, 1972). Na aveia, o mesmo é a armazenagem primária do amido, da proteína, dos lipídios e β-glucana. Todos estes componentes são hidrolisados durante a germinação por enzimas derivadas da camada de aleurona e escutelo para provisionar nutrientes para o crescimento do embrião.

Como a maioria dos cereais, o componente de maior abundância na semente é o amido. Nos cereais e em outras plantas, os grânulos de amido são formados em amiloplastos. Em cereais com grânulos de amido simples (trigo, milho, centeio, cevada, e sorgo), cada amiloplasto contém um grânulo. Mas na aveia e no arroz, muitos grânulos são encontrados em cada amiloplasto, ou seja, o amido da aveia é formado por muitos multifacetados grânulos individuais. A FIGURA 5 mostra a forma do amido individual (A) e da composição do mesmo por grânulos menores de forma poligonal.

O amido da aveia tem algumas características especiais e únicas que o fazem diferente de outros amidos, como os grânulos pequenos (HARTUNIAN-SOWA & WHITE, 1992), alto conteúdo lipídico (HARTUNIAN-SOWA & WHITE, 1992), alta cristalinidade relativa, e cadeias curtas de amilose (WANG & WHITE, 1994). Estas propriedades fazem com que haja várias possibilidades do uso deste amido em produtos comerciais. Estudos comparando o amido da aveia

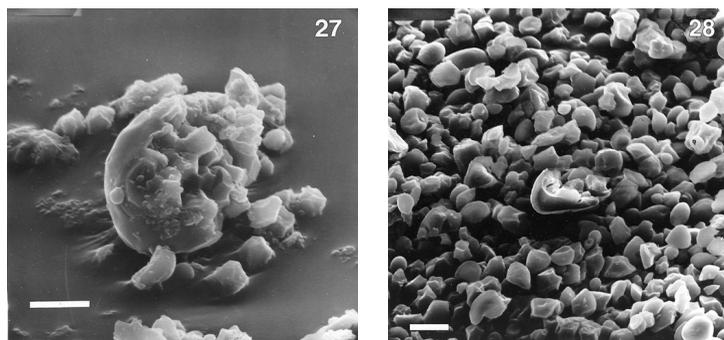
com o de outros cereais mostrou que o amido de aveia tem o conteúdo de amilose similar aos amidos do trigo e do milho (HARTUNIAN-SOWA & WHITE, 1992). O amido da aveia exibe relativa alta absorção de água em testes de panificação e baixa gelatinização a temperatura de 55°C (MACARTHUR & D'APPOLONIA, 1979). Existem diferenças na condução do resfriamento do amido de aveia. Alta viscosidade se desenvolve rapidamente, e géis resfriados são claros e menos susceptíveis a retrogradação que o amido de outros cereais.

A aveia é considerada um cereal superior nutricionalmente baseado na quantidade de proteínas e lipídios presentes e pela alta concentração de β -glucana.

Mais que 90% dos lipídios da aveia são encontrados no endosperma, a maior parte deste são lipídios neutros com pequenas quantidades de glicolipídios e fosfolipídios (YOUNGS *et al*, 1977). Os ácidos graxos predominantes são linoleico, seguido em menores quantidades pelo oleico e palmítico (YOUNGS *et al*, 1977).

As células do endosperma estão rodeadas por parede celular e esta é diferente em aparência e composição química da de outros tecidos de outros grãos, exceto cevada. A parede celular do endosperma da aveia é rica em β -glucana, com pequenas quantidades de arabinosilanas, celulose e glucomanas (MILLER & FULCHER, 1995).

Figura 5 – (A) Granulo de amido de aveia composto por pequenos grânulos de forma poligonal. (B) Grânulos menores de forma poligonal.



Fonte: DELCOUR & HOSENEY, 2010.

2.1.1.1.4 Germe

Como a camada de aleurona, o germe é uma estrutura viável com atividade metabólica, e é através do germe que se forma uma nova planta.

A composição química do germe é alta em proteína e lipídios, mas não possui amido. Contudo, o germe normalmente não atinge mais que 7% do total de proteínas do grão. Cada corpo de proteína do germe é rodeado por corpos de lipídios semelhantes às células da camada de aleurona (WHITE *et al*, 2006). Como com proteínas, o germe conta com a menor proporção dos lipídios totais do grão. A parede celular do germe é muito mais fina que a da camada de aleurona.

2.1.1.2 Lipídios, enzimas e qualidade da aveia

Comparada com outros cereais, é sabido que a aveia contém alto conteúdo de lipídios. Muitas propriedades tecnológicas da aveia como propriedade de pasta e comportamento durante a moagem, extrusão, panificação, podem ser atribuídas ao alto conteúdo lipídico. Contudo, o alto conteúdo lipídico pode causar efeitos adversos na qualidade sensorial dos produtos a base de aveia. Desta forma, durante o processamento e estocagem de produtos de aveia, atenção especial deve ser dada para minimizar a deterioração dos componentes lipídicos.

Estudos relativos à quantificação de lipídios mostrou que este varia de 5,6 até 8,2%, isto realizado com múltiplas variedades (BRYNGELSSON *et al*, 2002).

Os lipídios na aveia estão presentes em toda a semente como corpos gordurosos e em duplas camadas. O eixo embriogênico e o escutelo têm o mais alto conteúdo lipídico e a maior proporção de lipídios neutros que o farelo e o endosperma (YOUNGS *et al*, 1977). Contudo, por causa da pequena proporção em peso das células embriogênicas, o efeito na fração total dos lipídios da aveia é pequeno. Segundo PRIME & PARSONS (1979), o germe contém somente 7,2% dos lipídios totais do grão comparados com a fração de 84,7% de lipídios do farelo-endosperma. PETERSON & WOOD (1997) descreveram a distribuição dos corpos gordurosos em duas variedades de aveias comerciais, e chegaram a conclusão que os lipídios estão concentrados em maior quantidade no aleurona do que no endosperma amiláceo. Os corpos gordurosos no aleurona, contudo, são muito mais discretos que os do endosperma, os quais tendem a se fundir quando o

grão se torna maduro e se agregam com o amido e as proteínas (HENEEN *et al*, 2009).

A casca da aveia contém relativo baixo conteúdo de lipídios. O conteúdo varia de 0,2 a 0,5% do total do peso da casca (BRYNGELSSON *et al*, 2002).

Entre os cereais a aveia contém, excepcionalmente, alta atividade da enzima lipase. A alta atividade lipolítica junto com o alto conteúdo lipídico, faz com que a estabilidade dos lipídios da aveia e a prevenção de *off-flavors* seja um desafio ao processamento industrial da aveia (LEHTINEN & KAUKOVIRTA-NORJA, 2011).

Para prevenir a formação de sabores e odores indesejáveis em produtos à base de aveia, a atividade da lipase, lipoxigenase e lipoperoxidase são geralmente inativadas em produtos comerciais da aveia (LEHTINEN & KAUKOVIRTA-NORJA, 2011). Caso o tratamento seja inadequado, a lipase da aveia pode efetivamente hidrolisar os lipídios endógenos do grão durante a estocagem e causar a deterioração através da liberação de ácidos graxos. A lipólise é geralmente iniciada quando é iniciado o processamento do grão.

2.1.1.2.1 *Antioxidantes da aveia e estabilidade lipídica*

As propriedades antioxidantes da aveia têm sido reconhecidas por longo tempo. Farinha de aveia foi adicionada em gorduras, margarina e maionese; pulverizada em bacons, *chips* de batata e em castanhas aumentando a estabilidade contra a oxidação (SUPOVA *et al*, 1959). Extratos de aveia diminuem a oxidação de semente de aveia e óleo de soja (TIAN & WHITE, 1994). Também, de acordo com DUVE & WHITE (1991), extratos de aveia aumentam a estabilidade do óleo de soja em altas temperaturas de fritura. Os antioxidantes estão concentrados principalmente na camada mais externa do grão de aveia (PETERSON, 2001). A atividade antioxidante da aveia consiste em vários compostos que podem ser divididos em dois grupos:

1. Antioxidantes Lipofílicos e
2. Outros compostos, principalmente fenólicos.

2.1.1.2.2. *Antioxidantes lipofílicos*

Tocóis juntamente com compostos fenólicos são os principais responsáveis pela atividade antioxidante. A quantidade média de tocóis

na aveia é de 20-30 mg/kg (PETERSON & QURESHI, 1993). Os principais tocóis em aveia integral e óleo de aveia são α -tocotrienol (43%) e α -tocoferol (18%). Também, β -, γ - e δ - tocoferóis já foram detectados em aveia em quantidades que variam de 1,4 a 9,1% (LEHTINEN & KAUKOVIRTA-NORJA, 2011). O conteúdo de tocotrienóis é relacionado com o conteúdo total de lipídios, mas não com o conteúdo de tocoferóis (PETERSON & WOOD, 1997). Os tocotrienóis são principalmente localizados no endosperma do grão de aveia, o qual contém o maior conteúdo de óleo da aveia, e os tocoferóis são principalmente concentrados no germe (PETERSON, 1995). Um estudo de WHITE *et al* (2006) supõe que os corpos gordurosos e os tocóis estão intrinsicamente associados, mostrando a importância do papel dos tocóis na proteção dos lipídios da aveia e suas membranas. BRYNGELSSON *et al*, (2002), mostrou que os tocóis são estáveis durante o processo. O processo de estabilização com vapor e a flocagem não influenciam o conteúdo de tocoferóis e causam moderadas perdas em tocotrienóis. O processo de autoclavagem parece aumentar os tocoferóis e tocotrienóis, provavelmente isso ocorre como resultado da liberação de tocóis das estruturas da aveia (LEHTINEN & KAUKOVIRTA-NORJA, 2011).

2.1.1.2.3 Outros antioxidantes

Outros importantes antioxidantes incluem ácido fítico, ácido fenólico e avenantramidas (PETERSON, 2001). EMMONS & PETERSON (1999), mostraram a forte relação entre o conteúdo total de fenólicos e a atividade antioxidante da aveia pelo método do β -caroteno. Outros métodos, como DPPH, mostrado por LEHTINEN & KAUKOVIRTA-NORJA (2011), apresentou resultados de aumento da atividade antioxidante da aveia durante a maltagem. O conteúdo total de fenólicos da aveia maltada é muito bem correlacionada com a atividade antioxidante total, indicando que significativa parte do aumento da atividade antioxidante é atribuída aos compostos fenólicos. Os compostos antioxidantes tem importante papel na proteção dos lipídios da aveia. Segundo com HEINIÖ *et al* (2002) a aveia maltada é menos susceptível a oxidação que a aveia *in natura*, indicando a influência da proteção com o aumento do nível da atividade antioxidante.

2.1.2 Processamento da Aveia

A aveia é instável ao armazenamento e possui forte tendência à rancidez devido a sua alta concentração de lipídios e presença de enzimas lipolíticas. Estas enzimas devem ser inativadas para evitar a hidrólise dos triacilglicerídeos em ácidos graxos livres (EKSTRAND *et al.*, 1993).

A enzima lipase é bastante sensível ao calor (MARINI, 2005). A lipoxigenase catalisa a oxigenação de certos ácidos graxos insaturados a monoperóxidos, produtos primários da rancidez oxidativa e estes podem ser degradados a produtos secundários, sendo os últimos os responsáveis pela rancidez ou o sabor amargo dos produtos da aveia (GALLIARD, 1983 *apud* HART, 2001). E a peroxidase, que é uma enzima termoestável capaz de decompor os hidroperóxidos em compostos hidroxilados de baixo peso molecular, os responsáveis pelo sabor amargo (GALLIARD, 1983 *apud* HART, 2001). Normalmente após a finalização do processamento térmico da aveia, a peroxidase é utilizada como indicador de processo térmico eficiente, ou seja, a sua ausência indica que as demais enzimas também foram desnaturadas.

Segundo HART (2001), o processamento hidrotérmico não ocasiona pré-gelatinização do amido, sendo o seu teor similar aos da matéria-prima nativa. Nesta etapa, ocorre a inativação enzimática e a aveia tem seu sabor fracamente realçado.

O processamento da aveia pode seguir em linhas gerais o descrito na FIGURA 6, o fluxograma de produção.

2.1.2.1 Recepção

A aveia que chega do campo passa por uma pré-avaliação antes de seu recebimento. Logo após a colheita, os grãos vêm acompanhados de materiais estranhos, impurezas e aveia verde na proporção de cerca de 1%. Também outros cereais acabam se misturando durante a colheita como a aveia preta, soja e trigo cerca de 2%.

Para a aveia ser recebida deve apresentar algumas características essenciais como a de ter o peso hectolitro mínimo de 44, umidade entre 17~18%, não apresentar contaminação química e índice de rancidez não superior a 2%.

Figura 6 - Fluxograma do processo produtivo da aveia para a obtenção produtos.



2.1.2.2 Limpeza e classificação

As etapas do processo de limpeza e classificação dos grãos de aveia objetiva-se na remoção materiais estranhos e de todos os tipos de sementes estranhas ou improdutivas (HOSENEY, 1986; KENT, 1964) como sementes duplas, pois resultam em um pobre desenvolvimento, com alto conteúdo de casca. Também são removidas sementes muito finas e pequenas ou sem semente (HOSENEY, 1986). Normalmente, estas sementes são removidas para alimentação animal. A classificação ocorre de acordo com a largura e comprimento do grão utilizando separadores de precisão, grãos com espessura acima de 2,8 mm e abaixo de 1.5 mm são descartadas. Os grãos são classificados em finos, regulares ou duplos (DORN, 1989).

A pré-limpeza é realizada com peneiras e ventiladores. E a classificação é realizada por peneiras cilíndricas de precisão, onde ocorre a classificação por espessura (cilindros) e por tamanho: pequena,

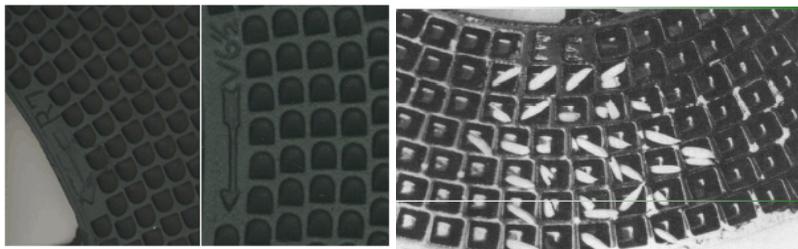
média e grande (separadores de disco). As FIGURAS 7 e 8 mostram os equipamentos utilizados para a realização da classificação do cereal que chega do campo.

Figura 7 – Separador de disco por comprimento.



Fonte: www.carterday.com

Figura 8 – Discos separadores.



Fonte: www.carterday.com

2.1.2.3 Secagem

A aveia para manter estabilidade durante o armazenamento e obter também padronização do produto processado, o cereal passa por secador onde sua umidade é padronizada para 12% (base úmida) antes da estocagem.

2.1.2.4 Armazenagem

Após a secagem, enquanto aguarda processamento, a aveia é armazenada em silos que possuem temperatura e umidade controladas, 18°C e 13% respectivamente.

É nos silos que os cereais passam pelo primeiro expurgo, evitando qualquer tipo de infestação na linha de processamento.

2.1.2.5 Descascamento

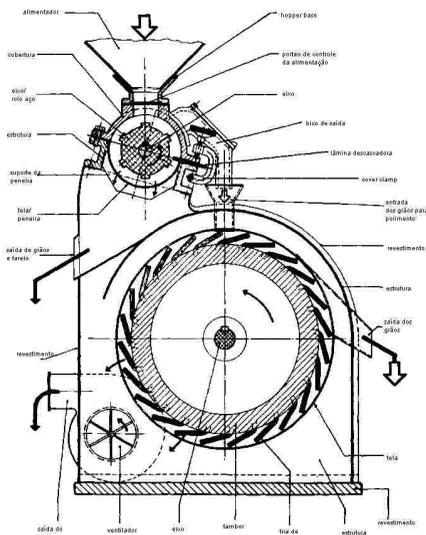
A aveia após ser classificada por tamanho é descascada. Os grãos são separados em pratos separadores em largos ou curtos. Ambas são descascadas, porém, separadamente. O descascador mais comumente utilizado é de impacto (HOSENEY, 1986). A aveia entra no centro de um rotor em alta velocidade, o qual joga a aveia contra um forro de borracha fixado na parte mais externa do equipamento. O forro de borracha auxilia na redução da quebra dos grãos e na separação do grão da casca. A casca é removida por aspiração. A aveia descascada é separada da não descascada por peneiras ou por discos separadores. Separadores chamados de *paddys* são os mais efetivos nesta separação, utilizando a diferença de densidades. A FIGURA 9 mostra esquematicamente o funcionamento de um descascador utilizado no processamento de aveia.

Após descascada, a aveia passa por polimento, onde por fricção de um grão no outro, os tricomas (cabelos) e cascas aderidas são retirados.

2.1.2.6 Estabilização e tostagem

Depois de todos os processos de limpeza e classificação, o cereal passa pelo tratamento térmico. Este normalmente consiste no aquecimento da aveia por cerca de uma a duas horas em colunas com vapor. A aveia alcança temperaturas em torno de 93°C e perde 3-4% da umidade. Como resultado do tratamento térmico, a aveia adquire aroma de tostado (*roasted flavor*), considerado desejável (HOSENEY, 1986). O tratamento térmico tem também como resultado a inativação da lipase, de muita importância para que os produtos tenham maior

extensão da vida-de-prateleira (KENT, 1964). A FIGURA 10 apresenta o desenho esquemático de um processo de estabilização. Figura 9 – Esquema de um descascador de aveia.



Fonte: www.portalsaofrancisco.com.br

Na etapa de tostagem são retirados de um produto sólido, quantidades de substância volátil, normalmente água, caracterizando a umidade do material (PARK *et al*, 2007). A tostagem ocorre para evitar a rancificação dos grãos de aveia, estes são submetidos a vapor e calor, geralmente a uma temperatura elevada. Através da tostagem, ocorre a inativação de enzimas lipolíticas, fundamental para obter produtos de boa conservação (HOSENEY, 1991).

2.1.2.7 Corte

Para a produção de aveia em flocos e flocos finos é necessário que o grão da aveia seja cortado em três ou quatro partes respectivamente, por facas estacionárias rotativas. Então os pedaços passam por coluna com vapor e posteriormente são flocados e secos. A FIGURA 11 mostra esquematicamente um cortador de aveia.

Figura 10 – Esquema de um estabilizador de aveia.

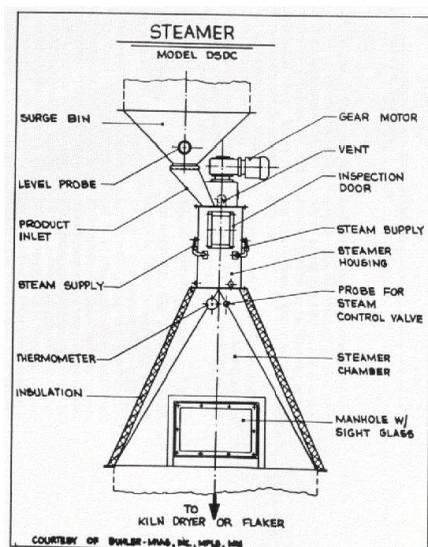
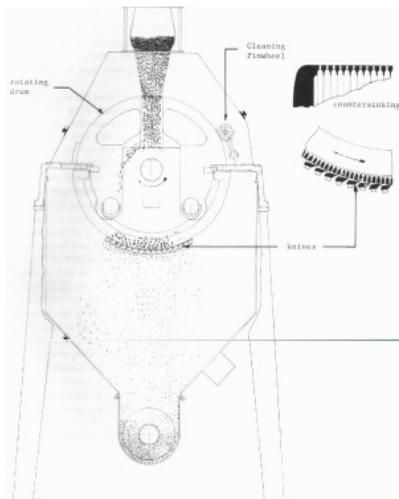


Figure 10. Steamer (D5DC)

Fonte: www.portalsaofrancisco.com.br

Figura 11 – Esquema cortador de aveia.



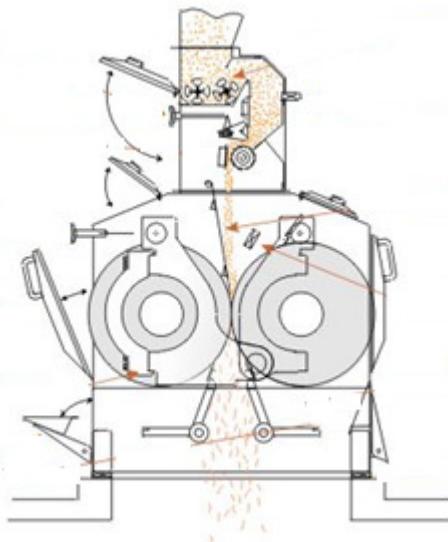
Fonte: www.portalsaofrancisco.com.br

2.1.2.8 Condicionamento e flocagem

Para a produção de aveia flocada (*old-fashioned rolled oats*), os grãos livres da casca são utilizados. Para a produção de aveia em flocos inteiros, a mesma passa por uma coluna com vapor e imediatamente por rolos, onde é formado o flocado (HOSENEY, 1986). Também é possível produzir flocos menores, onde o grão de aveia cortado passa por condicionamento e após por rolos para flocagem. A FIGURA 12 mostra o desenho esquemático do processo de flocagem da aveia.

A passagem da aveia pelo vapor antes da flocagem é importante por diversas razões. A primeira é pelo vapor tornar a aveia mais flexível, desta forma menor número de grãos são quebrados durante a flocagem. Também, auxilia na desnaturação das enzimas que causam rancificação. Os flocos normalmente são empacotados em embalagens capazes de trocar gases com o ambiente. Este tipo de embalagem é necessária para a remoção dos odores de ranço que são produzidos durante a estocagem. Mesmo com as enzimas desnaturadas, uma pequena quantidade de odores de ranço ainda são produzidas.

Figura 12 – Esquema flocador de aveia.



2.1.2.9 Secagem e resfriamento

A secagem é a etapa final da produção de flocos de aveia. Ela ocorre normalmente em secadores de leito fluidizado onde a umidade do floco é reduzida ao máximo de 11,5% (base úmida). A FIGURA 13 mostra o esquema de um secador de leito fluidizado destinado à secagem dos flocos.

Figura 13 – Esquema de secagem em secador de leito fluidizado.

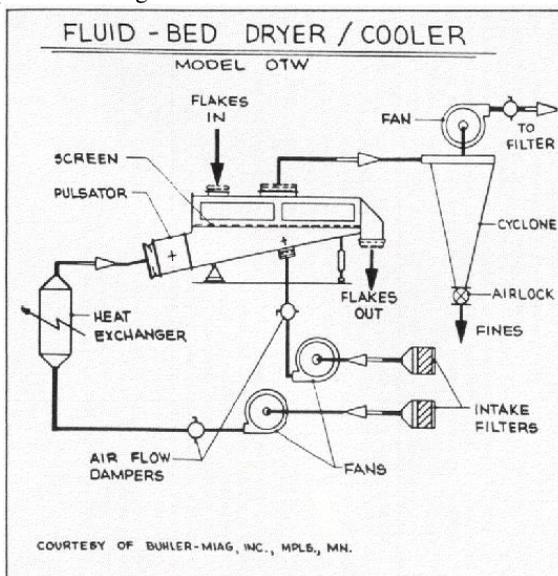


Figure 22. Fluid-Bed Dryer-Cooler

Fonte: Gentileza SL Alimentos.

2.1.2.10 Moagem

Na sequência a aveia pode passar pelo processo de moagem onde obtêm-se a farinha de aveia, iniciada com a abertura de grãos (trituração), extração de farinha (redução), compressão e moagem. A moagem, por sua vez, separa o máximo do endosperma da casca e do germe, além de conseguir a máxima extração por meio da redução de maior quantidade de endosperma em farinha.

Segundo a definição da AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS (AACC), o farelo de aveia deve conter no

máximo 50% da matéria-prima original (taxa de extração), no mínimo 16% de fibra alimentar total (base seca) e, desta, no mínimo 1/3 deve ser solúvel.

2.1.2.11 Ensaque e empacotamento

O empacotamento de produtos processados de aveia pode ser realizado de várias formas, big bags (900 à 1000 kg), sacos de papel kraft (30 kg), pacotes (250 a 500 g) e cartuchos (250 a 500 g).

2.1.3 Maltagem

Aveia (*Avena sativa*) é um dos cereais mais populares para o consumo humano e tem recebido crescente interesse por causa das suas excelentes propriedades relativas à saúde, como alto conteúdo de fibra dietética, especialmente a β -glucana, assim como minerais e antioxidantes (KLOSE *et al*, 2009). Os antioxidantes mais abundantes são a vitamina E (tocóis), ácido fítico, compostos fenólicos e avenantramidas, estes estão concentrados na camada mais externa da semente (PETERSON, 2001). A aveia maltada é outra possibilidade de apresentação do cereal, sendo que os atributos sensoriais mais salientes são odor e sabor de torrado, sabor doce, odor intenso, *after taste* intenso; e textura dura e frágil. Os compostos fenólicos parecem influenciar significativamente o *flavor* da aveia.

A cevada maltada, o cereal mais popular que passa por malteação, tem hoje sua maior utilização para a produção de cerveja e bebidas destiladas, e vem sendo utilizada por longo tempo pela indústria de alimentos como fonte de sabor, cor, doçura, enzimas e outros componentes nutricionais (BAMFORTH & BARCLAY, 1993). Já a aveia maltada tem sido largamente utilizada como um ingrediente para a produção de cerveja desde os tempos medievais. Atualmente, a aveia maltada é utilizada na indústria cervejeira principalmente como coadjuvante de sabor para a produção de cervejas especiais como *lagers*, *ales* e *stouts* (KLOSE *et al*, 2009). Também pode ser utilizada em produtos alimentícios como pães especiais, cookies, produtos de confeitaria, e em preparados de cereais matinais (VALENTINE, 1995).

Sementes de cereais tem sido germinadas por séculos para amolecer a estrutura da semente, aumentar a concentração dos compostos nutritivos e diminuir a composição dos compostos anti-

nutricionais (KAUKOVIRTA-NORJA *et al*, 2004). O principal propósito da malteação é a produção de enzimas e a quebra da parede celular que circunda os grânulos de amido (KLOSE *et al*, 2009). Uma das mais importantes mudanças físico-químicas que ocorrem durante a maltagem é a degradação da matriz proteica que circunda os grânulos de amido dentro das células do endosperma e sua conversão em peptídeos solúveis e aminoácidos para fornecer substratos para a síntese de proteínas para o embrião em desenvolvimento (BRIGGS *et al*, 1981).

A maltagem é uma germinação controlada com limite de crescimento seguida por uma secagem controlada da semente. O objetivo é produzir alta atividade enzimática e odor e sabor característicos com a mínima perda de peso seco (HOSENEY, 1986). Somente grãos selecionados devem ser maltados, para haver alta capacidade germinativa. A germinação é um processo fisiológico no qual componentes estocados no grão são degradados para o desenvolvimento de uma nova planta.

A germinação é iniciada pela maceração, onde grãos secos absorvem água, até o seu conteúdo de umidade atingir 43-45%, e reativar as atividades metabólicas. Durante o processo de germinação, a síntese de enzimas e as modificações da semente realizam-se. Pequena atenção é dada aos efeitos da germinação sob os compostos fenólicos da aveia, mas estudos tem mostrado que o conteúdo de avenantramidas, com a aceleração da atividade da enzima HHT, aumenta durante a germinação (MATSUKAWA *et al*, 2000).

Existem alguns fatores de interesse no processo de maltagem de cereais. O primeiro é com relação à biodisponibilidade de nutrientes fornecidos pelos cereais. A biodisponibilidade destes nutrientes é afetada por muitos complexos e outros fatores interrelacionados. Os fitatos são compostos normalmente presentes em grande quantidade nos cereais, e supõe-se que seja o fator que mais comprometa a absorção de vários elementos essenciais, como o zinco, o ferro, o magnésio e o cálcio (MORRIS, 1986). Altos níveis de fitatos em produtos alimentícios a base de aveia podem reduzir a absorção de minerais (PETERSON, 1998). A concentração de fitatos em cereais pode ser diminuída ativando uma enzima de ocorrência natural, a fitase, a qual hidrolisa os fitatos para fosfatos, o que aumenta a biodisponibilidade dos minerais (SANDBERG & SVANBER, 1991; BRUNE *et al*, 1992; LARSSON & SANDBERG, 1992). Além de ocorrer substancial aumento na atividade da fitase durante a germinação do trigo, da cevada, do centeio e da aveia.

Outro fator de interesse no processo de maltagem da aveia, é que ela tem alto nível de atividade de lipase se comparada com outros cereais (O'CONNOR *et al*, 1989). Também o fato de possuir alta concentração de lipídios (BROWN & CRADDOCK, 1972), requer que a aveia processada seja tratada com vapor para a inativação das enzimas (HUTCHINSON *et al*, 1951; EKSTRAND *et al*, 1993). Também, a oxidação dos ácidos graxos livres, liberados dos triacilgliceróis pelas lipases levam à rancificação do produto (HUTCHINSON & MARTIN, 1952). A rancificação não é um problema usual na estocagem de grãos intactos à temperatura e umidade ambientes (WELCH, 1977). PETERSON (1998), durante seus experimentos de viabilidade de aveia maltada, descobriu que a concentração de ácidos graxos livres durante a fase de germinação da maltagem aumenta a níveis inaceitáveis para a maioria dos seus usos.

Alguns estudos preliminares com aveia maltada examinaram o efeito do ácido giberélico, da atividade enzimática e outras características relativas à cevada maltada e outros cereais (PALMER, 1970; POMERANZ & SHANDS, 1974). A atividade da enzima α -amilase em aveia maltada é similar à cevada maltada, mas o poder diastático (DP – *diastatic power*) da aveia é consideravelmente mais baixo. O extrato de malte da aveia é mais baixo em relação ao da cevada (POMERANZ & SHANDS, 1974), possivelmente pela combinação de maior porcentagem de casca e o alto conteúdo proteico da aveia.

O Fluxograma do processo de maltagem é apresentado na FIGURA 14.

2.1.3.1 Maceração

O processo de maltagem começa com rigorosa limpeza das sementes, com remoção de sementes estranhas, ou quebradas. E posterior seleção, onde somente as de maior diâmetro são utilizadas.

A primeira etapa do processo de maltagem é a maceração (*steeping*), onde o objetivo é introduzir água no grão. A maceração normalmente está completa quando o conteúdo de umidade do grão atinge 42~44% (HOSENEY, 1986). É importante que a umidade atinja até o centro da semente por causa do mecanismo de difusão no qual a água tem que penetrar no grão, a maceração é um processo lento. O tempo requerido depende da distância que a água tem que ser difundida. Outro fator que afeta o tempo de maceração é a temperatura. Altas

temperaturas necessitam menor tempo de maceração, pois a difusão é mais rápida.

O conteúdo de umidade de 42~44% é um valor de equilíbrio. É neste ponto que a pressão hidrostática na célula se iguala a pressão osmótica gerada pela seiva da célula (HOSENEY, 1986).

Figura 14 – Fluxograma de produção da aveia maltada.



2.1.3.2 Germinação

A etapa seguinte é a germinação. Nela, os grãos são removidos da água e colocados em camas para germinar. Fisiologicamente, germinação é o processo no qual uma nova planta começa sua formação (HOSENEY, 1986). Ambos, radícula e acróspório (primeira folha formada) são formados. A germinação normalmente leva de quatro a cinco dias. Durante este tempo, ar úmido é forçado através da cama de germinação. A temperatura geralmente fica em torno de 16°C.

Durante a germinação, como uma nova planta começa seu desenvolvimento, um grande número de enzimas são desenvolvidas ou ativadas. Normalmente quando se pensa em malte, as principais enzimas são α - e β -amilase (HOSENEY, 1986).

O crescimento de uma nova planta é controlada pela umidade do grão, pela temperatura, e pelo ar forçado através da cama. O objetivo é um crescimento mínimo para obter um máximo rendimento de malte com alta atividade enzimática. Germinação a alta temperatura apresenta uma alta taxa de crescimento da nova planta, mas a atividade enzimática e o rendimento do malte são ambos baixos. Como regra geral, a germinação é interrompida quando o acróspório tem o comprimento de um terço da semente (HOSENEY, 1986).

2.1.3.3 Secagem

A última etapa é a secagem. Após o grão ter sido germinado, o “malte verde” tem cerca de 45% de umidade. Então tem que ser seco para ser um produto apto a ser estocado e desenvolver as características do malte de aroma e sabor.

O maior problema da maltagem é a secagem do “malte verde” de forma a retirar a umidade sem danificar a atividade enzimática. Em alta umidade, muitas enzimas são sensíveis ao calor. A atividade enzimática é afetada da mesma forma que a solubilidade das proteínas. Então, para proteger as enzimas, o “malte verde” tem que ser cuidadosamente seco somente com baixas temperaturas. Conforme a umidade é removida, a temperatura pode ser aumentada no intuito de ativar a reação de escurecimento para dar ao malte as características desejadas. Durante o processo de maltagem, de 7-10% do peso é perdido.

2.2. ANTIOXIDANTES FENÓLICOS

Antioxidantes tradicionalmente são descritos como compostos que protegem os sistemas biológicos contra efeitos nocivos de processos ou reações que possam causar a oxidação. Já o *FDA (Food and Drug Administration)* define os antioxidantes como substâncias usadas com a finalidade de conservar os alimentos pelo retardamento da deterioração, rancidez ou descoloração causada pela oxidação. Sendo que substâncias tóxicas são formadas pela peroxidação lipídica durante o processamento dos alimentos e podem levar a efeitos adversos como carcinogênese,

mutação do DNA celular e envelhecimento. A atuação destes compostos pode se dar por alguns possíveis mecanismos: alteração da produção de radicais; eliminação de precursores de radicais; quelação de metais; e elevação dos níveis de antioxidantes endógenos (PIMENTEL *et al*, 2005). Os antioxidantes primários atuam como doadores de prótons, impedindo deste modo, o processo de iniciação da reação de oxidação que é desencadeada pelos radicais livres. Atuando como antioxidantes primários encontramos os antioxidantes fenólicos, tocoferóis, aminoácidos, carotenoides e os antioxidantes sintéticos. Já os conhecidos como antioxidantes secundários atuam no bloqueio da decomposição dos peróxidos e hidroperóxidos, e por consequência a reação em cadeia através da captação de intermediários reativos como os radicais peroxila e alcooxila. Antioxidantes sintéticos, vitaminas A, C e E e também compostos fenólicos se enquadram nesta classificação (PIETTA, 2000). Ou seja, os antioxidantes primários são capazes de interromper a cadeia de radicais, cedendo hidrogênio a um radical lipídico livre e assumindo a forma de radical estável, sendo os fenóis representantes deste grupo, que apresentam grupos doadores de elétrons nas posições *orto* e *para* de sua cadeia cíclica. Os secundários reduzem o processo de iniciação, utilizando agentes quelantes de metais como o ácido cítrico (GORDON, 1990).

Dentre as mais variadas classes de antioxidantes naturais, uma classe tem se mostrado muito eficiente pelas suas propriedades redutoras e estrutura química, os compostos fenólicos. Com estas características, estes compostos têm o potencial de neutralizar ou sequestrar os radicais livres e de quelar os metais de transição, agindo desta forma tanto na etapa de iniciação como a de propagação do processo oxidativo (NACZK & SHAHIDI, 2004).

Os compostos fenólicos dos alimentos vegetais incluem diversos compostos e um amplo espectro de atividades funcionais. Tradicionalmente, esses compostos são considerados importantes em alimentos vegetais, devido a seu impacto sobre o sabor e a cor, além de existir um grande interesse em seus potenciais efeitos benéficos à saúde, sua atividade antioxidante e seus efeitos antimicrobianos (BRECHT *et al*, 2010). Os fenólicos são associados à resistência de alguns tecidos imaturos de frutas ao ataque de micro-organismos patogênicos (BRECHT *et al*, 2010).

Em plantas, os compostos fenólicos são metabólitos secundários que são sintetizados por elas durante o desenvolvimento normal e são os responsáveis pelos mecanismos de defesa das plantas contra patógenos, pragas e qualquer outra condição de estresse, sendo a resposta de defesa

das plantas (PARR & BOLWELL, 2000). Sendo que os compostos fenólicos normalmente apresentam propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anticancerígenas (GRAY *et al*, 2002).

A estrutura básica dos compostos fenólicos é constituída por um grupamento quimicamente heterogêneo de fitoquímico derivado da tirosina e fenilalanina, contendo um grupo fenol, que é um grupo hidroxila funcional em um anel aromático (PETERSON, 2001; NACZK & SHAHIDI, 2006). Ácidos fenólicos e flavonoides estão presentes em cereais tanto na forma livre como na forma conjugada. A maior concentração dos mesmos se encontra na camada de aleurona dos cereais, porém, também são substâncias encontradas no germe e na casca do grão.

Dentre os compostos fenólicos pertencentes aos cereais, os mesmos podem ser classificados como livres (6%), solúveis (17-30%) ou ligados (66-80%) (KLAJN, 2011). Em geral, a maioria dos compostos fenólicos em cereais está ligada através de ligação covalente com células de polissacarídeos e sua remoção requer condições extremas de extração (KLAJN, 2011). E ainda existe a fração solúvel dos compostos fenólicos simples de forma livre, sendo estes, os mais importantes em termos de benefícios nutricionais (GRAY *et al*, 2002).

2.2.1 Ácidos fenólicos conjugados com aminas – Avenantramidas

Uma série de compostos análogos a arilaminas conjugadas baseadas no ácido antranílico e ácido hidroxiantranílico, coletivamente conhecidas como avenantramidas foram descritas como sendo provenientes da aveia (COLLINS, 2011). Em 1989, COLLINS identificou e caracterizou um grupo de alcaloides que contém grupos fenólicos nas cascas e grãos de aveia. Estes compostos são oriundos do metabolismo secundário da planta como uma resposta de defesa das mesmas (KLAJN, 2011). Estes compostos fenólicos são caracterizados por possuírem baixo peso molecular, por serem conjugados, solúveis em etanol aquoso e por serem únicos da aveia (COLLINS, 2011). As avenantramidas são conjugados substituídos do ácido hidroxicinâmico, que apresentam atividade antioxidante, descritos como fitoalexinas com potencial propriedade de promover benefícios à saúde (PETERSON & DIMBERG, 2008).

MAYAMA *et al* (1981), isolou três fitoalexinas das folhas da aveia que foram inoculadas com um fungo muito comum neste tipo de plantações, a *Puccinia coronata*, e caracterizou estas três fitoalexinas

como avenalumins I, II e III. Posteriormente, em 1989, COLLINS publicou a ocorrência de uma série complexa de pelo menos 20 distintos compostos, na cariopse da aveia, conjugados dos ácidos antranílico e 5-hidroxiantranílico com os ácidos *p*-cumárico e ferrúlico, que foram chamadas de avenantramidas.

A FIGURA 15 mostra as estruturas das avenantramidas presentes na cariopse da aveia e que foram descritas na patente de COLLINS & PATON em 1992. Contudo, a constituição e quantidade das avenantramidas variam muito de acordo com o genótipo, clima, ano de cultivo, a localização do cultivo e o tecido analisado (COLLINS, 2011). Atualmente são conhecidas cerca de 40 diferentes avenantramidas identificadas por cromatografia (COLLINS, 1989), três são notadamente mais abundantes nos grãos de aveia (EMMONS & PETERSON, 1999; BRATT *et al*, 2003):

- ✓ *N*-(40-hidroxi-30-metoxicinamoil) – ácido 5-hidroxiantranílico (B_f);
- ✓ *N*-(40-hidroxicinamoil) – ácido 5-hidroxiantranílico (B_p);
- ✓ *N*-(30, 40-dihidroxicinamoil) – ácido 5-hidroxiantranílico (B_c)

Contudo, as concentrações de avenantramidas no grão, já provado exaustivamente, são influenciadas pelo genótipo e pelo ambiente de crescimento em que se desenvolvem (EMMONS & PETERSON, 1999; BRYNGELSSON *et al*, 2002; PETERSON *et al*, 2005).

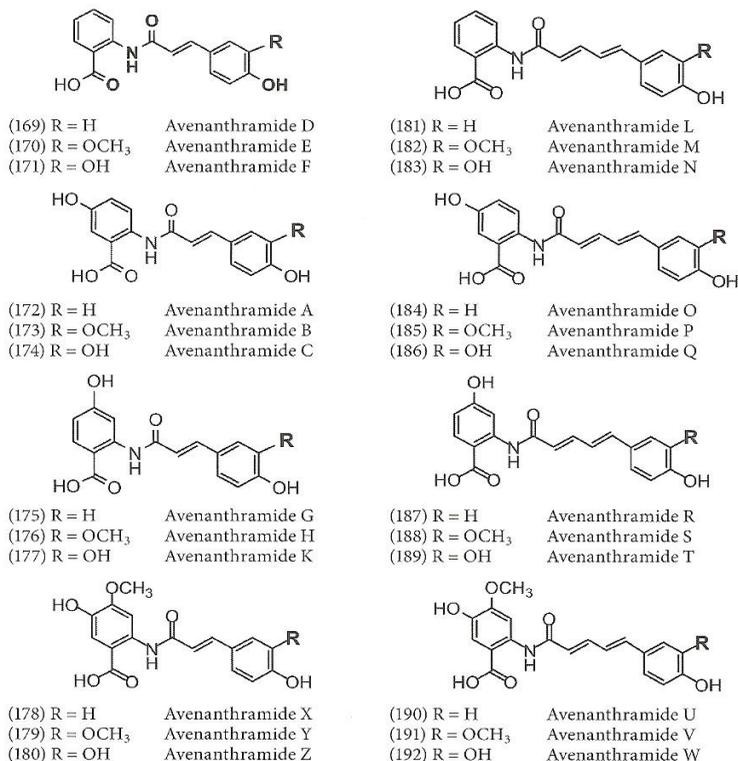
2.2.2 Biossíntese e Metabolismo

O grupo dos compostos alcaloides derivados do ácido antranílico ligado a um derivado do ácido hidroxinâmico por uma ponte pseudo-peptídica, avenantramidas, são muito comuns em grãos de aveia (COLLINS, 1989; DIMBERG *et al*, 1996), possuem atividade antioxidante *in vitro* (PETERSON *et al*, 2002; BRATT *et al*, 2003) e *in vivo* (CHEN *et al*, 2007) são ácidos fenólicos conjugados da aveia e são sintetizados do correspondente ácido antranílico substituído como aceptores acil, com ácidos fenólicos hidroxil-substituídos com CoA-ativada com doadores acil (COLLINS, 2011). Na aveia, ácido hidroxicinâmico, antes do ácido hidroxibenzóico, é o principal doador (COLLINS, 2011). A aveia é o único dentre os cereais no qual são acumuladas preferencialmente arilaminas conjugadas (as avenantramidas) ao invés de alquilaminas conjugadas, nas suas folhas

em resposta a infecção fúngica e tratamento contra o ataque de outros elicitores.

ISHIHARA *et al* (1999) descreveu a importância do papel de uma enzima chamada hidroxicinamoil-CoA:hidroxiantranilato N-hidroxinamoiltransferase (HHT) como sendo a responsável pela condensação final entre o ácido e o éster. BRYNGELSSON *et al* (2002), mostrou que a maceração acompanhada de incubação de cariopses de aveia sem processamento ter aumento na enzima HHT. O aumento é dependente do tempo, temperatura, e da manutenção da integridade dos tecidos, se houver tratamento térmico ou moagem, este aumento na enzima não ocorre.

Figura 15 – Estrutura química das avenantramidas descritas por COLLINS & PATON em 1992.



FONTE: COLLINS (2011) resumido de COLLINS & PATON (1992).

2.3 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

A extração de compostos fenólicos de materiais vegetais tem influência da natureza química do composto, do método de extração empregado, do tamanho das partículas da amostra envolvida, do tempo de armazenamento e condições, bem como, pela presença de substâncias interferentes (NACZK & SHAHIDI, 2004). O tipo de solvente e a polaridade podem afetar a transferência de elétrons e a transferência de átomos de hidrogênio, que são aspectos chaves na medida da capacidade antioxidante. A presença de outros compostos nas soluções testadas também podem afetar os resultados (PÉREZ-JIMÉNEZ & SAURACALIXTO, 2006).

Durante as extrações, algumas variáveis podem interferir no bom funcionamento da reação. A solubilidade é afetada pela polaridade dos solventes utilizados, desta forma, torna-se bastante difícil desenvolver um procedimento de extração de fenólicos que seja adequado para todos os compostos. Assim como, variáveis de operação de equipamentos de extração podem ser decisivas para a extração.

Dentre os processos de extração, estaremos comentando quatro principais utilizados para a extração dos compostos fenólicos nominados avenantramidas de aveia.

2.3.1 Extração com solvente orgânico

A operação unitária de extração por solventes é uma das mais amplamente utilizadas, devido aos seus resultados satisfatórios e a sua simplicidade de procedimento. Normalmente busca-se extrair um componente específico de um alimento ou planta, sendo muito importante para um grande número de aplicações: extração de óleos essenciais, remoção da cafeína do café (ESPINOZA *et al*, 2007) e do chá (PERVA-UZUNALIC *et al*, 2006) e extração de compostos ativos como antioxidantes de alecrim (HOSSAIN *et al*, 2011), de frutas (POMPEU *et al*, 2009) e de cereais como o trigo (ZHOU & YU, 2004) e a aveia (ALRAHMANY & TSOPMO, 2012). A extração com solventes orgânicos é também frequentemente utilizada para o isolamento dos compostos bioativos (ANDREO & JORGE, 2006). O rendimento da extração e a determinação da atividade antioxidante dependem do tipo de solvente, devido às diferenças nos potenciais antioxidantes e à polaridade dos compostos (MARINOVA & YANISHLIEVA, 1997).

A extração sólido-líquido envolve a remoção de um componente, o soluto, de um alimento usando um líquido, o solvente, o qual deve ter a capacidade de dissolvê-lo (FELLOWS, 2000). Os solventes orgânicos, como por exemplo, metanol, etanol, propanol, acetona, acetato de etila e suas combinações têm sido utilizados, frequentemente com diferentes proporções de água (ANTOLOVICH *et al.*, 2002).

Um solvente é usualmente um líquido que dissolve um sólido, líquido ou uma substância gasosa (o soluto), resultando na formação de uma solução (HOLLIDAY, 2006). Os solventes são utilizados para extrair compostos solúveis de uma mistura. A atuação do solvente será na criação de interações químicas fracas com o soluto, a fim de solubilizá-lo. As interações mais comuns são ligações de *Van der Waals* (interações dipolo induzidas), interações dipolo-dipolo, e pontes de hidrogênio. Contudo, as interações seguem regras de polaridades, sendo solventes e solutos classificados como polar (hidrofílico) e não polar (lipofílico). É a polaridade do solvente que determina que tipo de composto ele poderá dissolver e com qual outro solvente ou composto líquido ele é miscível. Porém, não existe sistema de extração com solvente que seja eficaz com todas as classes de antioxidantes (antocianinas, ácidos fenólicos e taninos). A natureza química destes compostos nos alimentos pode variar de simples ou altamente polarizado além da possibilidade de interação com outros componentes (ANDREO & JORGE, 2006). A extração por solvente envolve as fases de mistura (alimento e solvente), contato solvente-soluto e separação do solvente (FELLOWS, 2000). Durante o período de contato entre o solvente e o alimento ocorre a transferência de massa do soluto do alimento para o solvente. Primeiro o soluto se dissolve no solvente formando uma solução, a solução se move através das partículas do alimento até a sua superfície e então a solução se torna dispersa em maior quantidade de solvente.

Os fatores que alteram a extração são: temperatura, superfície de contato, viscosidade do solvente e fluxo do solvente (FELLOWS, 2000).

A decomposição térmica é um dos principais fatores da redução do conteúdo de fenóis. Na decomposição térmica, os fenóis podem reagir com outros componentes e impedir a sua extração (MOURE *et al.*, 2001). O conteúdo total de fenólicos diminui com o aumento da temperatura (CONDE *et al.*, 1998 apud ANDREO & JORGE, 2006).

Apesar da extração com solvente ser um método conveniente, os efeitos tóxicos deixados pelos resíduos devem-se levar em conta.

A obtenção de compostos fenólicos da aveia é comumente realizada com a utilização de solventes orgânicos como água, etanol,

éter e metanol. No caso da extração de avenantramidas, que são moléculas fenólicas de baixo peso molecular são prontamente extraídas com álcoois como metanol e etanol, já moléculas menos polares como tocoferóis, tocotrienóis e a maioria dos fitatos são mais solúveis em solventes menos polares (SUN *et al*, 2006).

2.3.2 Extração em banho de ultrassom

O processo de ultrassom é utilizado para a extração de compostos voláteis de plantas com solventes orgânicos em temperatura ambiente. O mesmo utiliza energia de ondas sonoras de origem mecânica que são transmitidas em frequência superior à capacidade auditiva humana. As ondas sonoras se propagam na matéria em frequências de 20 a 100 kHz, criando no meio que se propagam ciclos de expansão e compressão (BENELLI, 2010) fazendo com que as moléculas do meio se aproximem e se afastem repetidas vezes. Essas variações na pressão do líquido empregado no processo gera cavitação, bolhas ou micro fluxos causando mudanças, físicas e químicas permanentes, como ruptura de sólidos e instabilidade na interface de sistemas líquido-líquido e líquido-gás (MELECCHI, 2005).

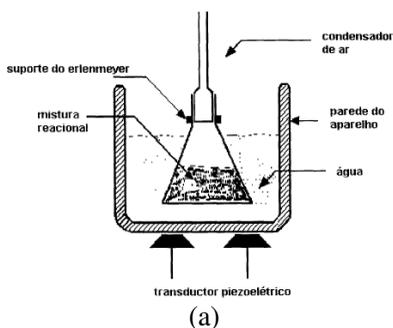
A extração por ultrassom segue um mecanismo que atribui seu comportamento a formação de cavitação na propagação das ondas acústicas, que acontece quando a pressão negativa resultante dos ciclos de expansão e compressão excede a tensão superficial do líquido naquele ponto. A cavitação ocorre quando, sob efeito de ondas ultrassônicas houver uma diminuição de pressão para que a distância entre as moléculas ultrapasse a distância molecular crítica que mantém o líquido intacto. Formam-se espaços vazios no líquido, que são chamados de bolhas de cavitação. Quando a pressão aumenta pelo efeito da aproximação das moléculas do líquido levada a efeito pelo onda sônica injetada, a bolha entra em colapso e implode (OLIVEIRA, 2010). O colapso das bolhas pode produzir efeitos físicos, químicos e mecânicos que resultam no aumento da permeabilidade das paredes celulares, melhorando o processo de difusão e de transferência de massa (LUQUE-GARCÍA & CASTRO, 2003). Em alguns casos, pode ocorrer a ruptura da parede celular causando a saída de compostos aromáticos da célula além de aumentar a eficiência da extração e a redução do tempo de extração, é aumentada a área de contato entre o sólido e a fase líquida (LUQUE-GARCÍA & CASTRO, 2003).

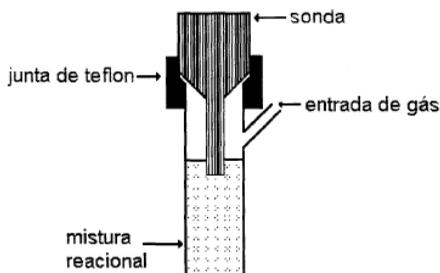
A cavitação envolve três estágios: a nucleação (formação de bolhas de ar próximas às superfícies irregulares de partículas sólidas presentes), o crescimento das bolhas e a violenta implosão (OLIVEIRA, 2010).

Existem dois tipos de equipamentos utilizados para extrações com ultrassom: banhos e sondas. O banho de ultrassom tem o transdutor preso no fundo da cuba do aparelho e a energia ultrassônica é transmitida através de um líquido, normalmente é utilizada água fria. Contudo, esta característica do equipamento gera muita dispersão da energia ultrassônica e, conseqüentemente, menor influência nos sistemas reacionais. Já a sonda ultrassônica tem o transdutor fixado na extremidade do amplificador, mantém contato direto com o sistema reacional apresentando como vantagens a potência totalmente disponível, promovendo cavitação mais eficiente no líquido, não há transferência de irradiação ultrassônica pelas paredes do vaso. Em ambos os casos, a energia ultrassônica provém de uma cerâmica piezoelétrica (LUQUE-GÁRCIA & CASTRO, 2003).

Dentre as principais vantagens do uso de ultrassom podemos destacar: a simplicidade e economia de custo inicial; redução do tempo e temperatura de extração; pode-se utilizar uma ampla gama de diferentes solventes assim como redução da quantidade de reagente. A FIGURA 16 apresenta o esquema das extrações com ultrassom utilizando banho de ultrassom (a) e sonda de ultrassom (b).

Figura 16 - Esquema das extrações com ultrassom: (a) banho de ultrassom e (b) sonda de ultrassom.





(b)

FONTE: OLIVEIRA, 2010.

O processo de extração com ultrassom utiliza amostras trituradas misturadas ao solvente em um recipiente que é imerso em um banho de ultrassom por um tempo pré-determinado e uma frequência própria do banho. Após extração, o extrato é filtrado e concentrado. A extração com ultrassom é utilizada em diversas áreas que incluem a extração de compostos naturais, compostos antioxidantes e fitoquímicos como hidrocarbonetos, polissacarídeos, alcaloides, óleos, fenóis, esteróis (LUQUE-GARCÍA, 2003). Já em aplicações industriais, a limpeza com ultrassom é a operação mais conhecida e difundida.

2.3.3 Extração Supercrítica

Atualmente fluidos supercríticos vêm adquirindo ampla utilidade em muitos processos e aplicações industriais, principalmente devido às restrições quanto ao uso de solventes orgânicos (MOHAMED, 1997). Em área de nutracêuticos, produtos farmacêuticos, cosméticos, essências, alimentos e produtos agrícolas, as aplicações de extração supercrítica são múltiplas, como descafeinação de café (TELLO *et al*, 2011) e chá (IÇEN & GÜRÜ, 2009), extração de aromas (HAAN *et al*, 1990; YONEL *et al*, 1995), pigmentos (MARCÍAS-SÁNCHEZ *et al*, 2005), óleos essenciais (BERNA *et al*, 2000), antioxidantes de sementes (PASSOS *et al*, 2010) e especiarias entre outros (REVERCHON & DE MARCO, 2006). A técnica de extração supercrítica de antioxidantes naturais e compostos com atividade microbiana, compostos de alto valor agregado, é de fundamental importância para a definição de qualidade do produto. As vantagens em

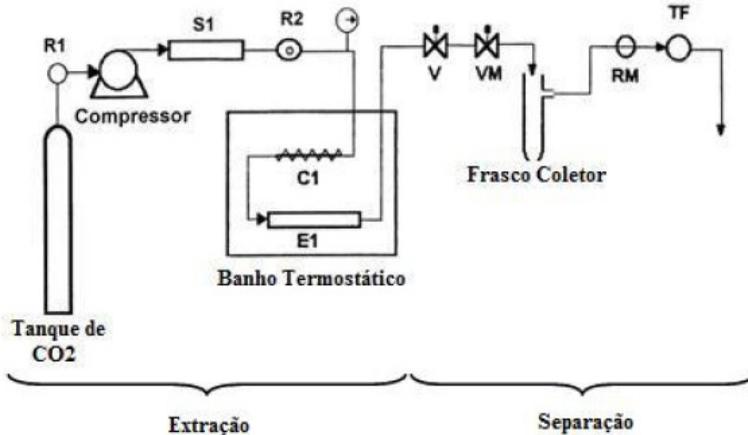
relação aos métodos tradicionais são várias como o uso de baixas temperaturas, redução do consumo de energia e alta quantidade de produto, devido à ausência de solvente em fase de soluto (MICHIELIN *et al.*, 2005; BRUNNER, 2005).

A extração supercrítica explora as propriedades particulares dos fluidos quando próximos aos seus pontos críticos. Nesta região as propriedades termodinâmicas são particularmente sensíveis às alterações de temperatura e pressão. O estado supercrítico na prática é obtido através de um aumento simultâneo da temperatura e da pressão de uma substância (ou mistura de substâncias) de forma a modificar o estado de agregação entre suas moléculas (LANÇAS, 2002). Várias propriedades dos fluidos são alteradas sob essas condições, a densidade do fluido supercrítico é similar a dos líquidos, sua viscosidade assemelha-se a dos gases e sua capacidade de difusão é intermediárias entre os dois estados (ANDREO & JORGE, 2006). Desta forma, o CO₂ age como um líquido, porém tem baixa viscosidade, e difunde-se como um gás (FELLOWS, 2000; PERRUT, 2000). Portanto, o estado supercrítico de fluidos pode ser definido como o estado no qual líquido e gás são indistinguíveis entre si (HERRERO *et al.*, 2006). A solubilidade é um parâmetro de grande relevância na determinação das condições de operação, enquanto, que a seletividade permite a obtenção de informações sobre qualidade e composição dos extratos (FERREIRA *et al.*, 1999). A seletividade na extração supercrítica pode ser determinada pela escolha do fluido supercrítico ou pelo ajuste de parâmetros como temperatura e pressão do processo dentro da região supercrítica, ou seja, controlando a densidade do solvente (BENELLI, 2010). A definição das condições de extração (temperatura e pressão) indicam o poder de solvatação do solvente, assim quanto maior o poder de solvatação maior a solubilidade de um determinado composto e maior o número de compostos solubilizáveis de uma mistura, ou seja, alta solubilidade significa baixa seletividade e vice-versa (BENELLI, 2010).

O processo de extração com fluidos supercríticos consiste em duas etapas de processo: a solubilização e a separação da mistura soluto/solvente. Durante o processo de extração, o solvente supercrítico flui através de um extrator com leito fixo de partículas sólidas e solubiliza os componentes passíveis de extração do sólido (BENELLI, 2010). O solvente sai do extrator, carregando os compostos solubilizados e passa através de uma válvula de expansão, onde o extrato é liberado do meio gasoso devido a menor pressão e coletado (REVERCHON & DE MARCO, 2006). A FIGURA 17 mostra o

diagrama esquemático de uma extração supercrítica de uma matriz sólida.

Figura 17 – Diagrama esquemático da extração supercrítica de matrizes sólidas: (R1) regulador de pressão do cilindro; (S1) pistão de compressão; (R2) regulador de pressão; (C1) serpentina; (E1) coluna de extração; (V) válvula abre-fecha; (VM) válvula micrométrica; (RM) medidor de vazão; (TF) Totalizador.



FONTE: FERREIRA *et al*, 1999 adaptado por MEZZOMO, 2008.

A extração supercrítica pode proporcionar uma gama de possibilidades de extrações em diversas situações. Como vantagens da utilização desta técnica podemos citar:

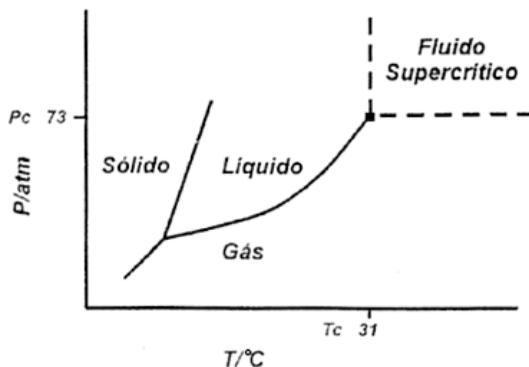
- ✓ Uma variada gama de solventes e mistura de solventes pode ser utilizada como em extrações tradicionais, contudo por motivos como saudabilidade e segurança o dióxido de carbono é o solvente que vem sendo mais largamente utilizado, considerando principalmente a sua aplicação em alimentos e indústrias relacionadas (KING & BOTT, 1993).
- ✓ Com o controle da pressão, uma variedade de seletividades e poderes de dissolução podem ser conseguidos com um dado solvente a uma dada temperatura (KING & BOTT, 1993).

- ✓ Por causa do comportamento de difusividade e viscosidade dos solventes supercríticos, eles podem proporcionar melhores penetrações nos poros e matrizes e por esta razão proporcionar uma extração mais rápida e eficiente quando em contato com o material a ser extraído havendo maior controle do processo do que em extrações normais (KING & BOTT, 1993).
- ✓ A etapa de recuperação do solvente é realizada com requerimento menor de energia do que em casos de extrações convencionais e a remoção dos últimos traços do solvente do produto não apresenta dificuldade (KING & BOTT, 1993).
- ✓ Comparativamente baixo poder de dissolução de solventes supercríticos tendem a ser associados com boa seletividade, resultando em produtos limpos e de boa qualidade (KING & BOTT, 1993).

2.3.3.1 Características dos fluidos supercríticos

Os fluidos supercríticos apresentam uma série de vantagens perante outros tipos de extração assim como na extração de produtos naturais, como a utilização de gases inertes e baixas temperaturas de processo. Por outro lado, a extração com CO₂ supercrítico exige um investimento maior devido aos custos de aquisição de equipamentos de alta pressão. Um fluido supercrítico normalmente é representado por pelo diagrama de Pressão x Temperatura, onde a região supercrítica demarca o final da coexistência das fases líquida e vapor. Na proximidade de seu ponto crítico, o fluido tem uma densidade semelhante a da fase líquida e por tanto, poder de solubilização também (RODRIGUES, 2005). Juntamente com a compressibilidade e coeficiente de expansão semelhantes aos da fase gasosa (RODRIGUES, 2005). Estas propriedades são muito sensíveis à temperatura e pressão, pequenas mudanças na temperatura e pressão geram enormes mudanças na densidade e, por tanto, no poder de solubilização. A FIGURA 18 mostra o diagrama de fases característico para um fluido supercrítico, no caso o dióxido de carbono.

Figura 18 – Diagrama pressão/temperatura e os equilíbrios entre os estados sólidos, líquido e gasoso. Definição de região supercrítica para o CO₂



FONTE: CARRILHO *et al*, 2001.

O dióxido de carbono é um solvente seguro, não combustível, sem odor, sem sabor, barato e um solvente prontamente disponível. Possui baixa viscosidade sendo capaz de penetrar o material em que se deseja extrair algum composto. Também possui baixo calor latente de evaporação e alta volatilidade o que significa que pode ser facilmente removido sem deixar resíduos de solvente. O mais importante, variando a temperatura e a pressão do CO₂ durante o processo de extração, ele pode ser usado na extração seletiva de componentes específicos. O dióxido de carbono (CO₂), o fluido mais utilizado devido a sua moderada temperatura (31,3°C) e pressão crítica (72,9 atm), é gasoso em temperatura ambiente. Entretanto, o CO₂ supercrítico (pela baixa polaridade) é menos efetivo para a extração de compostos com maior polaridade em fontes naturais. Tal fato é superado com a adição de modificadores, também conhecidos como co-solventes (DEL VALLE & AGUILLERA, 1999).

Em recentes comparações da extração com CO₂ e outras extrações com solventes, concluiu-se que dentre todos os solventes avaliados, o CO₂ resulta extratos com sabor e odor mais naturais (MOYLER, 1991). Em altas pressões e temperaturas, o CO₂ supercrítico age similarmente a um solvente orgânico, semelhante na distribuição e no peso molecular dos componentes no extrato são de interesse. A solubilidade relativa de classes de compostos tipicamente presentes em ervas e outras materiais de plantas no CO₂ líquido apresenta-se resumido

na TABELA 1. E com relação ao rendimento deste tipo de extração, quando usado para uma extração seletiva a baixas temperaturas, o CO₂ líquido pode dar rendimentos de óleos essenciais de plantas similares aos obtidos em destilação com vapor (MOYLER, 1993).

Tabela 1 - Solubilidade relativa em CO₂ líquido de classes de compostos tipicamente encontrados em materiais de plantas.

| Muito solúvel | Parcialmente solúvel | Totalmente insolúvel |
|---|---|---|
| Compostos orgânicos não polares ou parcialmente polares com baixo peso molecular (<250) | Compostos orgânicos com alto peso molecular (maior que 400) ou alta polaridade. | Açúcares e proteínas. |
| Exemplos incluem terpenos, tióis, pirazinas e tiazoles, ácido acético, benzaldeído, hexanol, glicerol, acetatos. | Exemplos incluem terpenos substituídos e sesquiterpenos, água, ácido oleico, glicerol, decanol e lipídios saturados com mais que C12. | Taninos, ceras, sais inorgânicos, clorofilas, carotenóides, cíclicos, ácido málico, glicina, nitratos e a maioria dos componentes dos pesticidas e inseticidas. |

FONTE: MOYLER, 1993

Como uma generalização dos extratos de CO₂, como aqueles obtidos com solventes orgânicos, contem antioxidantes presentes naturalmente nos materiais de plantas e são eles que consequentemente protegem contra a oxidação. Os extratos de CO₂ tipicamente contem lipídios saturados a cadeias de carbono C12, no entanto lipídios insaturados, lipídios oxigenados e lipídios com cadeias de comprimentos superiores a C12 são ausentes. Os lipídios usualmente são os responsáveis por altos valores de peróxidos e pela rancidez ser tão alta tanto em peso molecular e polaridade dos extratos com CO₂ líquido. Quando altas temperaturas ou pressões de CO₂ são usadas (condições supercríticas), mais lipídios com maior peso molecular são extraídos. Eles não são uma contribuição favorável para os aromas. Qualquer extração com CO₂ supercrítico pode ser seguida por uma etapa de fracionamento, onde os lipídios insaturados do óleo essencial podem ser retirados. Os lipídios não são detrimentais nos extratos de CO₂ em formulações, contudo eles podem melhorar a solubilidade em alguns produtos (MOYLER, 1993).

2.3.4 Extração supercrítica com co-solvente

Os co-solventes se caracterizam por solventes orgânicos que apresentam volatilidade intermediária entre o solvente supercrítico e o soluto a ser extraído, sendo adicionada em pequenas quantidades para alterar as características da mistura co-solvente/solvente, tais como polaridade e interações específicas com o soluto (pontes de hidrogênio), podendo interagir com sítios ativos da matriz sólida e favorecer a difusão do CO₂ para extrair os compostos desejados, sem mudar de forma significativa a densidade e compressibilidade do solvente supercrítico original (DÍAZ-REINOSO *et al*, 2006). A utilização de co-solventes ou modificadores na extração supercrítica é utilizada para favorecer a recuperação de substâncias polares. Estas substâncias, que são líquidas nas condições ambientais, tem sido usadas extensivamente para alterar as propriedades de solvatação do CO₂ supercrítico (TAYLOR, 1996).

Quando se adota o uso de co-solventes, os benefícios no aumento de solubilidade tem de ser balanceados contra o impacto negativo resultante na complexidade do processo. A adição de co-solvente será vantajosa no processo de separação se a seletividade puder ser melhorada devido a interações específicas entre o co-solvente e componentes específicos de uma mistura, desde que a solubilidade de todos os componentes da mistura é aumentada devido a efeitos de densidade (TEMELLI, 2008).

Diversos solventes orgânicos podem ser utilizados como co-solventes na extração supercrítica, entre eles o etanol, este atende as exigências legais para o uso de solventes orgânicos em insumos para a indústria de alimentos (MICHIELIN, 2009).

2.4 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Substâncias antioxidantes desempenham um papel importante na saúde através de seus efeitos na modulação dos processos oxidativo que ocorrem no organismo. A formação de espécies reativas de oxigênio e subsequente oxidação de moléculas biológicas constitui um mecanismo de dano tecidual presente em vários processos patológicos como inflamação, derrame, infarto do miocárdio, arteroesclerose, doença de Alzheimer e Parkinson e em alguns tipos de câncer (OZBEN, 1998).

Segundo NACZK & SHAHIDI (2006) a quantificação de compostos fenólicos em plantas é influenciada pela sua natureza química, método de extração empregado, granulometria da amostra, tempo e condições de estocagem, bem como o método analítico empregado, escolha de padrões e presença de substâncias interferentes tais como lipídios, ceras, terpenos e clorofilas.

O conhecimento dos potenciais antioxidantes em alimentos não indica necessariamente sua capacidade antioxidante *in vivo*, e que os efeitos de cooperação que existem entre diferentes antioxidantes sinérgicos significam que o efeito do conjunto de antioxidantes é maior que a soma da atividade antioxidante individual (KLAJN, 2011). Deste modo, os métodos de quantificação são também conhecidos como Atividade Antioxidante Total, ou seja, parâmetros que quantificam a capacidade de uma amostra (natural ou artificial) atuar sobre radicais livres em um meio determinado.

2.4.1 Compostos fenólicos totais

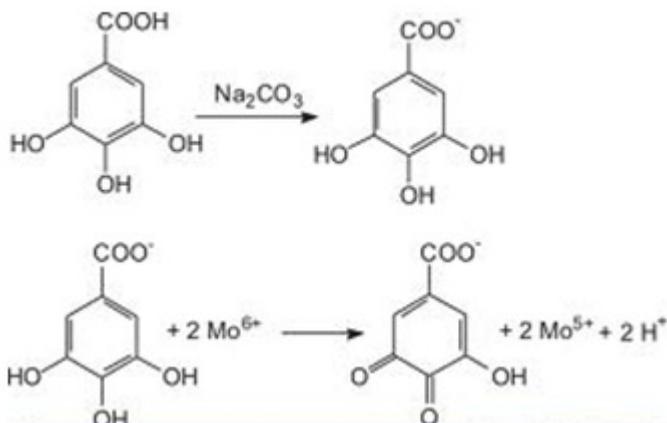
A análise espectrofotométrica para a determinação dos compostos fenólicos totais é realizada pelo método descrito por ROSSI & SINGLETON em 1965 e testado outras vezes por estudiosos de compostos fenólicos da aveia como VERARDO *et al* (2011). Este método utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu e tem como o princípio a reação em meio alcalino dos compostos fenólicos presentes na amostra reduzindo-se na mistura de ácidos fosfotungstícos e fosfomolibdicos presentes no reagente em óxidos de tungstênio e molibdênio de cor azul, tornando possível leituras de absorbância em espectrofotômetro na faixa visível do espectro de 750 nm.

O reagente de Folin-Ciocalteu consiste em uma mistura dos ácidos fosfomolibdico e fosfotungstíco, no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação (VI) (cor amarela no complexo $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), mas quando em presença de agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se compostos molibdênio-tungstênio azuis I, sendo a média do estado de oxidação dos metais entre 5 (V) e 6 (VI) e cuja a coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, que não necessariamente precisam ter natureza fenólica (NACZK & SHAHIDI, 2004). A vantagem deste método é que o resultado está associado ao aparecimento de absorbância na região do visível, que fornece um

resultado mais sensível que a medida de análise espectral na região de UV.

A FIGURA 19 mostra a desprotonação dos compostos fenólicos, usando como padrão o ácido gálico, em meio básico, gerando os ânions fenolatos. A partir daí, ocorre uma reação de oxirredução entre o ânion fenolato e o reagente de Folin, no qual, segundo SINGLETON *et al.*, (1999), o molibdênio, componente do reagente de Folin, sofre redução e o meio reacional muda de coloração amarela para azul.

Figura 19 – Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.



FONTE: qnint.s bq.org.br

O experimento conta com uma curva de calibração de ácido gálico, e desta forma os resultados são apresentados em equivalentes de ácido gálico.

2.4.2 Atividade antioxidante pela captura do radical DPPH

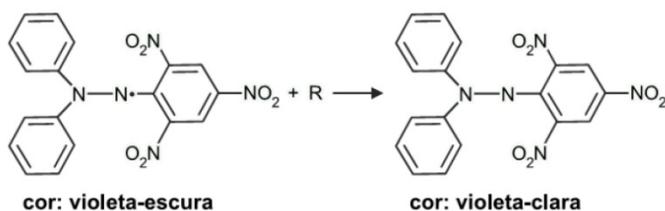
O método de captura de radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes foi descrito por BRAND-WILLIAMS *et al* (1995). Sendo considerado que o DPPH é um radical estável e tem sua absorção máxima em 517 nm. Quando este composto recebe um elétron ou um radical hidrogênio para se tornar um composto mais estável, sua

absorção diminui (BRAND-WILLIAMS *et al*, 1995). O DPPH é um radical estável, não natural, cujas propriedades diferem dos radicais de oxigênio altamente reativos como os radicais hidroxil, alcoxil, superóxidos de oxigênio, dentre outros, que apresentam um importante papel nos processos oxidativo biológicos.

O ensaio fundamenta-se no fato da propriedade do DPPH apresentar uma forte absorção no espectro visível, no comprimento de onda de 517 nm, caracterizado por uma coloração violácea intensa, devido à presença de radicais livres. Quando o DPPH é colocado em presença de substâncias capazes de sequestrar radicais livres, a absorção é inibida, resultando em uma descoloração estequiométrica em relação ao número de elétrons retirados e independente de qualquer atividade enzimática. O grau de descoloração indica a capacidade sequestradora de radical livre (OZBEN, 1998).

O princípio do método consiste na capacidade do DPPH reagir com doadores de hidrogênio. Na presença de substâncias antioxidantes o mesmo recebe H⁺ sendo então reduzido. A capacidade da amostra de reduzir o DPPH, ou seja, evitar sua oxidação é evidenciada pela porcentagem de DPPH restante no sistema. Então, a porcentagem de DPPH restante é proporcional à concentração de antioxidante e apresenta a coloração amarela (BRAND-WILLIAMS *et al*, 1995). A FIGURA 20 apresenta a reação de descoloração do radical DPPH.

Figura 20 – Estabilização do radical livre DPPH[•].



FONTE: RUFINO *et al*, 2007.

2.4.3 Teste acelerado de estufa

O teste acelerado de estufa ou conhecido como o método *Schall*, ou teste de oxidação acelerada. Neste as amostras são submetidas a condições extremas de degradação, o que possibilita a avaliação rápida

de diferentes técnicas analíticas e verificação da eficácia dos antioxidantes. Nele, óleo é submetido à temperaturas entre 60 e 65°C, na ausência de alimento, em um determinado período de tempo, com a finalidade de conhecer a sua estabilidade e prever sua vida útil. Os resultados fornecidos por este tipo de teste apresentam boa correlação com a avaliação efetuada em condições normais de armazenamento (FERREIRA *et al*, 1999; GÓMEZ-ALONSO *et al*, 2007). A oxidação neste teste é mensurada pelo índice de peróxidos em intervalos regulares, estes compostos normalmente são resultantes das reações de oxidação. Os principais compostos originados por este tipo de tratamento são os monômeros oxidados.

Uma forma de avaliar a capacidade de antioxidantes naturais é compará-los aos antioxidantes sintéticos, contudo, esta avaliação é dependente do tipo de composto analisado e da concentração utilizada.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo serão descritos os materiais e métodos utilizados na elaboração e desenvolvimento dos experimentos em busca da caracterização físico-química das frações da aveia, extração e avaliação dos antioxidantes obtidos de diferentes frações provenientes da aveia. Foram utilizados quatro tipos de extração: com solvente orgânico etanol em banho-maria a 50°C, com solvente orgânico etanol em banho de ultrassom à temperatura ambiente, com fluido supercrítico CO₂ e fluido supercrítico CO₂ utilizando co-solvente. Para a definição de metodologias foram utilizadas referências de trabalhos de pesquisa anteriores. E no caso das extrações com fluido supercrítico e com fluido supercrítico e co-solvente, como não há relatos na literatura de extrações deste tipo com aveia, foram utilizados como parâmetros de extração os mesmos em que se obtiveram os melhores rendimentos e resultados em outros materiais.

Como matérias-primas foram utilizadas cinco diferentes frações provenientes da aveia (*Avena sativa* L): a aveia descascada (AD), flocos de aveia (FA), *oat bran* (OB), aveia maltada (AM) e casca de aveia (CA). O objetivo em avaliar diferentes matérias-primas é a de confirmar estudos e algumas questões ainda pouco esclarecidas na literatura.

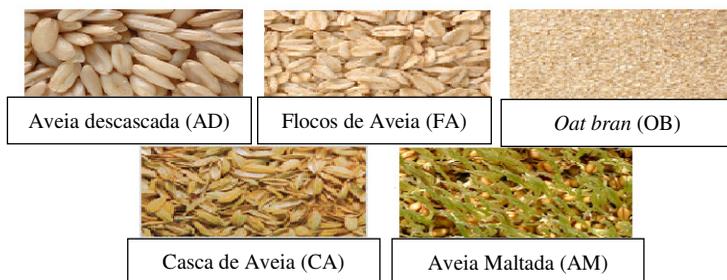
3.1 OBTENÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

As amostras de aveia (*Avena sativa* L.) e seus derivados: aveia descascada (AD), flocos de aveia (FA), *oat bran* (OB) e casca de aveia (CA) foram fornecidas pela empresa SL Cereais e Alimentos, retiradas diretamente de sua unidade fabril que está localizada em Mauá da Serra no estado do Paraná. A aveia maltada (AM) consiste na aveia descascada que passou por processo de maltagem. Este processo de maltagem será posteriormente descrito, foi realizado em escala piloto no Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento da empresa SL Cereais e Alimentos. Todas estas matérias-primas foram fornecidas a partir de um mesmo lote de aveia de variedades mistas de URS 21, usualmente plantadas na região. Esta aveia foi cultivada no ano de 2012 e processada no mês de junho de 2012.

Todas as matérias-primas foram coletadas imediatamente após seu processamento característico. A aveia descascada (AD) foi produzida através de simples descascamento do cereal com casca, sendo que este descascamento foi realizado por equipamentos fabris. Os flocos

de aveia (FA) passaram por processo hidrotérmico para inativação enzimática ainda na forma de aveia inteira descascada, após por condicionamento, e então flocada e seca. O *oat bran* (OB) passou por processo hidrotérmico de inativação enzimática, moagem e peneiramento para a separação das frações, a fração de maior granulometria caracterizada como *oat bran*. As cascas de aveia (CA) foram retiradas do processamento de descascamento da aveia e não passaram por nenhum processo. E a aveia maltada (AM) após descascamento, passou por processo de maltagem e por finalização secagem. Todas as amostras após processamento, foram acondicionadas em embalagem de polietileno com 1 kg e armazenadas em *freezer* tipo doméstico marca Brastemp) do Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento em temperaturas que variaram de -18°C e -20°C, sendo as mesmas frequentemente monitoradas, até o momento em que seguiram para as extrações. A FIGURA 21 apresenta imagens ilustrativas referentes a cada matéria-prima utilizada.

Figura 21 - Matérias-primas utilizadas para realização das extrações.



A TABELA 2 apresenta as características de cada tipo de amostra utilizada com relação ao processamento industrial a que foi submetida após o seu recebimento na planta de processamento.

Tabela 2 - Descrição dos tratamentos industriais a que foram submetidas às amostras a serem analisadas.

| AMOSTRA | PROCESSOS |
|------------------------------|---|
| Aveia descascada (AD) | Descascamento |
| Flocos de aveia (FA) | Descascamento – tratamento térmico com vapor (inativação enzimática) – corte – condicionamento – flocagem - secagem |

| | |
|-----------------------------|--|
| Oat bran (OB) | Descascamento – tratamento térmico com vapor (inativação enzimática) – condicionamento – flocagem – moagem – separação por peneiras. |
| Cascas de aveia (CA) | Resíduo da aveia descascada |
| Aveia maltada (AM) | Descascamento – maceração – germinação – secagem. |

3.1.1 Preparo das amostras

As amostras, antes de passarem pelos processos de extração, foram moídas em moinho de laboratório IKA A 11 Basic.

10 g de cada matéria-prima foram inseridas no copo do moinho laboratorial por um período de 3,0 minutos até que as partículas atingissem granulometria inferior a 0,6 mm, sendo selecionadas em peneira 30 mesh (abertura 0,595 mm).

3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

As matérias-primas foram caracterizadas com análises de teor de umidade, resíduo mineral fixo (cinzas), determinação de lipídios, proteínas, carboidratos e β -glucana. Também análise de acidez e ácidos graxos livres. Além de análise de microscopia eletrônica de varredura e FTIR.

As análises de caracterização das matérias-primas foram realizadas no Laboratório Analítico da empresa SL Cerais e Alimentos. A análise de microscopia eletrônica no Laboratório de Microscopia eletrônica e microanálise da Universidade Estadual de Londrina - UEL. As extrações com solvente e banho de ultrassom foram realizadas no Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento da empresa SL Cereais e Alimentos. As extrações supercríticas foram realizadas no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica – LATESC, do Departamento de Engenharia Química e Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina. A análise de Infravermelho por transformada de Fourier no Laboratório de Controle de Processos – LCP, da Universidade Federal de Santa Catarina.

3.2.1 Determinação do teor de umidade

A determinação dos teores de umidade de cada matéria-prima (AD, FA, OB, CA, AM), após sofrerem seus respectivos tratamentos, foram realizadas de acordo com o método AACC 44-19, secagem a 130°C. Análises realizadas em triplicata.

Três cápsulas, limpas e secas, com tampa semiaberta foram levadas para estufa a 130 +/- 2 °C por 60 minutos para padronização. Após as cápsulas foram resfriadas em temperatura ambiente dentro dessecador com sílica e pesadas em balança analítica Shimadzu AY220, considerando P₁. Então de 1 a 5 g de amostra foram pesadas nas cápsulas taradas, P₂. As amostras seguiram para a estufa de secagem (Fanem / Mod. 320-SE Circulação mecânica) em temperatura 130 +/- 2°C aonde permaneceram durante 2 horas. As cápsulas com o material já dessecado foram resfriadas em dessecador com sílica à temperatura ambiente com as tampas fechadas e posteriormente pesadas, P₃. O cálculo de umidade que exprime os resultados em porcentagens é dado pela EQUAÇÃO 1.

$$Umidade (\%) = \frac{(P_3 - P_1)}{P_2} \times 100 \quad (1)$$

3.2.2 Determinação do resíduo mineral fixo (cinzas)

A determinação do resíduo mineral fixo foi realizada de acordo com o método analítico AACC 08-01 (1995). Análises realizadas em triplicata.

Três cadinhos de porcelana foram padronizados sendo lavados, secos e mantidos em mufla (Tecnal / EDG 3000) por 60 minutos, resfriados em dessecador e pesados em balança analítica Shimadzu AY220, sendo este P₁. Amostras foram pesadas, de 3 a 5 g, em balança analítica nos cadinhos de porcelana previamente tarados, sendo este P₂. A amostra então foi carbonizada em bico de bussen e incinerado em mufla previamente aquecida a 550°C por 4 horas. Decorrido o tempo, o cadinho foi resfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado, sendo este P₃. O cálculo correspondente à porcentagem de cinzas é dado pela EQUAÇÃO 2.

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{(P_3 - P_1)}{P_2} \times 100 \quad (2)$$

3.2.3 Determinação de lipídios

Os lipídios de cada amostra foram determinados segundo metodologia AOCS Bc 3-49 modificada feita com extração em Soxhlet (Tecnal / TE - 044) seguido de evaporação do solvente empregado. Análises realizadas em triplicata.

Os tubos de extração foram padronizados mantidos em estufa por 1 hora a 130°C, resfriados em dessecador e pesados em balança analítica Shimadzu AY220 (P_1). De 2 a 5 g de amostra previamente moída foram pesadas em papel filtro (P_2). A amostra então foi acomodada em cartucho de celulose e o mesmo teve sua superfície obstruída com algodão. O solvente hexano (Fmaia) foi adicionado ao extrator em quantidade suficiente para haver refluxo. O cartucho de celulose com a amostra foi conectado no aparelho de extração tipo Soxhlet onde a amostra permaneceu mergulhada no solvente por 1 hora a 100°C. A extração foi realizada por 2 horas a 110°C e posteriormente o solvente evaporado a 150°C. O tubo extrator foi levado para estufa por 1 hora e 130°C a fim de evaporar resíduo de solvente restante, resfriado em dessecador até temperatura ambiente e então pesado em balança analítica (P_3). O cálculo que determina a porcentagem de lipídios é dado pela EQUAÇÃO 3.

$$\text{Lipídios (\%)} = \frac{P_3 - P_1}{P_2} \times 100 \quad (3)$$

3.2.4 Determinação de proteínas

A quantificação de proteínas ou determinação de nitrogênio total se resume nas etapas de digestão, destilação e titulação de acordo com o método AACC 46-12. Análises realizadas em triplicata.

Amostra de 0,2 g previamente moída foi pesada e colocada no tubo digestor. Acrescentou-se 0,25 g de mistura catalítica: sulfato de cobre (Synth), sulfato de potássio (Audaz) e 8 ml de ácido sulfúrico

(Fmaia) e então a amostra foi colocada no bloco digestor (Microdigestor Kjeldahl) onde a temperatura aumentou gradativamente até atingir 380°C até final da digestão e posteriormente resfriados em suporte específico, sendo adicionados mais 10 mL de água. A amostra diluída seguiu para destilador (Tecnal / TE - 036/1), o destilado foi recolhido em erlenmeyer com solução de ácido bórico 2% (Vetec) (10-30 mL) com 8 a 10 gotas de indicador misto (Merck). De 10 a 20 mL de NaOH (50%) (Química Moderna) foram adicionados sem ligar o aparelho, e todo o material destilado, até liberação completa da amônia. O destilado recolhido foi titulado com ácido sulfúrico 0,02 N (Fmaia) padronizado passando a solução de cor verde para rosa. Em paralelo foi realizada análise do branco nas mesmas condições. O cálculo para a determinação da porcentagem de proteína é dado pela EQUAÇÃO 4.

$$Proteína (\%) = \frac{(V_g - V_B) \times f_c \times N \times 14,007 \times 100 \times N}{P - 1000} \quad (4)$$

Onde:

V_g – volume gasto de ácido sulfúrico 0,2 N na titulação

V_B – volume gasto de ácido sulfúrico 0,2 N na titulação do branco

F_c – fator de correção do ácido sulfúrico 0,02N

N – normalidade do ácido sulfúrico

P – peso da amostra em gramas

N^* - fator de conversão do nitrogênio em proteína (para aveia $N^*=5,83$ (Instituto Adolfo Lutz, 2005)).

3.2.5 Determinação de carboidratos

A determinação de carboidratos foi realizada por diferença dos demais itens analisados. A porcentagem de carboidratos é calculada pela EQUAÇÃO 5 conforme utilizado por MAIA *et al* (1999):

$$\begin{aligned} \text{Carboidratos (\%)} &= 100\% \\ &- (\text{umidade (\%)} + \text{cinzas (\%)} + \text{lipídios (\%)} \\ &+ \text{proteínas (\%)}) \end{aligned} \quad (5)$$

3.2.6 Determinação de ácidos graxos livres

Esta análise é aplicável a materiais gordurosos e produtos que contenham estas substâncias. Os ácidos graxos participam da constituição dos mono, di e triglicerídeos, principais constituintes dos óleos e gorduras, e apresentam-se na forma livre após sofrerem algumas modificações como a hidrólise química e enzimática. Como os ácidos graxos são ácidos carboxílicos, eles podem ser neutralizados por ação de uma base forte como o hidróxido de sódio. O método seguido é AOCS Ca 5a – 40 e foi realizado em triplicata.

O procedimento iniciou-se com a extração de lipídios da amostra, como descrito no item 6.2.3, com o peso de lipídios anotado em gramas. No próprio tubo de Soxhlet, 100 mL de solução éter etílico (Fmaia):etanol (Química Moderna) neutralizada. Então a solução foi titulada com hidróxido de sódio 0,1 N (Química Moderna) até que a solução ficasse ligeiramente rósea. A cor deve persistir por 30 segundos. O volume de NaOH 0,1 N foi anotado. A porcentagem de ácidos graxos livres é calculada com ácido oleico. A EQUAÇÃO 6 apresenta como é realizado o cálculo da porcentagem de ácidos graxos livres em ácido oleico.

$$\text{Ácidos graxos livres em ácido oleico (\%)} = \frac{V_g \times N \times f_c \times 28,2}{\text{peso de lipídio (g)}} \quad (6)$$

Onde:

V_g – Volume gasto de NaOH 0,1 N

N – Normalidade do NaOH

F_c – fator de correção do NaOH 0,1 N

3.2.7 Determinação de acidez

Este método pode ser aplicado a cereais em geral, e visa determinar através de titulação com álcali padrão a acidez do produto decorrida de decomposição por hidrólise ou oxidação que altera a concentração dos íons de hidrogênio. Este método seguiu PEARSON (1970), SHULERUD (1932) e ZELENY & COLENAB (1938) e foi realizada em triplicata.

Cinco gramas de amostra foram pesadas em balança analítica (Shimadzu AY220) e transferidas para um erlenmeyer de 250 mL onde foram adicionados 50 mL de álcool etílico (Química Moderna) 98% neutro. A solução foi deixada em repouso por 24 horas com agitação ocasional. Então, filtrou-se a solução em papel filtro qualitativo e 10 mL desta solução foram titulados com solução de hidróxido de sódio 0,01 N (Química Moderna) até o aparecimento de coloração levemente rósea. A coloração deve persistir por 30 s. O cálculo da acidez dá como resposta mL de solução / 100 g de amostra é apresentado na EQUAÇÃO 7.

$$Acidez \left(\frac{mL \text{ de solução}}{100 \text{ g}} \right) = \frac{V \times f_c \times 100}{P \times 2 \times T_a} \quad (7)$$

Onde:

- V – volume gasto (mL) na titulação
- f_c – fator de correção NaOH 0,01 N
- P – peso da amostra (g)
- T_a – tomada da amostra (mL)

3.2.8 Determinação de atividade enzimática

É comum, em produções industriais, haver rigoroso controle de inativação enzimática para que seja garantida a qualidade do produto final assim como o sua vida-de-prateleira. Para a aveia, a enzima que causa maiores problemas é a lipase, que hidrolisa os lipídios do grão. Porém o controle é feito com análise de inativação de peroxidase. Esta é uma enzima mais resistente que aquela, então se a reação para peroxidase for negativa, com certeza a lipase também estará inativada. O teste de inativação de peroxidase baseia-se no aparecimento de coloração marrom caso afirmativo de presença de enzima no produto analisado. Caso contrário, será negativo.

A técnica inicia-se pesando 5 g de amostra moída em um bécker de 250 mL, aonde são adicionados 100 mL de água destilada. A mistura é deixada em repouso por 30 minutos. Após é filtrada em papel filtro qualitativo. 10 mL do filtrado são transferidos para um bécker de 100 mL e 2 mL de solução de guaiacol (Lafan) e de 2 a 3 gotas de solução de H_2O_2 (Synth) são adicionados. Caso ocorra desenvolvimento de

coloração marrom indica a presença de peroxidase, caso negativo, a enzima foi inativada.

3.2.9 Determinação de concentração de β -glucana

A determinação de β -glucanas foi conduzida conforme descrita nos métodos AOAC 995.16, AACC 32-23 e ICC Standard Method No. 168 e realizada em triplicata e sempre acompanhada de uma amostra padrão com concentração de β -glucana conhecida.

Para a realização da análise foi utilizando o kit *Mixed-Linkage beta-glucan* (K-BGLU) da Megazyme International Ireland Ltd., Irlanda. Este contém as enzimas que hidrolisam β -glucanas, especificamente [(1-3)(1-4)]- β -D-glucana: liquenase (EC 3.2.1.73) e β -glucosidase (EC 3.2.1.21). A D-glicose produzida é analisada utilizando um reagente glucose oxidase/peroxidase.

Para a determinação de β -glucana, aproximadamente 50 g de amostra, com umidade conhecida, foram moídas em moinho de laboratório IKA A 11 Basic até granulometria inferior à 0,5 mm. De 80 a 120 mg da farinha moída foram pesadas em tubo de vidro, com tampa, para centrífuga. A amostra foi umedecida com 0,2 mL de etanol aquoso (50% v/v) e posteriormente foram adicionados 4,0 mL de tampão de fosfato de sódio (20 mM, pH 6,5) e agitados em mixer vortex. Os tubos seguiram para incubação em banho-maria com água fervente por 60 s, após foram misturados vigorosamente em vórtex e incubados em banho-maria fervente por mais dois minutos. Passado o tempo, o tubo foi agitado em vortex e então incubado por 5 min em banho-maria a 50°C. Após a temperatura estar equilibrada, foram adicionados 0,2 mL da enzima lichenase, e o tubo agitado, tampado e então incubado por 1 h a 50°C, com regulares agitações (3 a 4 vezes durante incubação). Então foram adicionados 5,0 mL de tampão de acetato de sódio (200 mM, pH 4,0) e misturado vigorosamente em vortex. O tubo foi deixado à temperatura ambiente por 5 minutos até equilibrar a temperatura e então centrifugado (1000 g, 10 min). Alíquotas de 0,1 mL do sobrenadante foram transferidas para três tubos. 0,1 mL de β -glucosidase em tampão de acetato (50 mM, pH 4,0) foi adicionada à dois dos três tubos. Ao terceiro (branco), foi adicionado 0,1 mL de tampão de acetato (50 mM, pH 4,0). Todos os tubos foram incubados à 50°C por 10 minutos. Então 3 mL do reagente GOPOD (glicose oxidase mais peroxidase e 4-aminoantipirina) foram adicionados aos tubos que foram depois incubados a 50°C por 20 min. Os tubos então foram removidos do

banho e tiveram a sua absorvância medida dentro de 1 hora em espectrofotômetro em comprimento de onda 510 nm, sendo para cada reação (E_A) e o branco (E_B).A concentração de β -glucana foi calculada através da Equação 8.

$$\beta - glucana \left(\% \frac{p}{p} \right) = \frac{\Delta A \times F \times 27}{W} \quad (8)$$

Onde:

ΔA – média da absorvância após tratamento com β -glicosidase menos absorvância do branco.

F – fator de conversão de valor de absorvância para μg de glicose.

Equação (9).

$$F = \frac{100 (\mu g \text{ de } D - glicose)}{\text{absorvância de } 100 \mu g \text{ de } D - glicose}$$

(9)

W – peso seco em mg.

3.2.10 Análise de microscopia eletrônica de varredura

As amostras para a análise de MEV foram aderidas em pequenas peças de alumínio (*stubs*) utilizando fita adesiva dupla face de carbono. Esta fita além de fixar o material no *stub*, serve também como isolante. Todo material que é analisado no MEV precisa de uma superfície condutiva (capaz de refletir elétrons) pois a imagem é construída a partir dos elétrons que refletem da amostra. Considerando que um cereal não pode refletir elétrons por si só, foi aplicada uma fina camada de ouro em sua superfície. O ouro é o metal de escolha em microscopia eletrônica de varredura devido a sua excelente capacidade condutiva mesmo em quantidades muito pequenas. O processo de recobrimento com ouro é feito em um equipamento da marca BAL-TEC BALZERS (Sputter Coater, mod. SCD 050, Alemanha). Para se proceder ao recobrimento, as amostras foram acondicionadas em uma câmara de vácuo e, em seguida foi aplicada uma voltagem pré-definida em uma peça de ouro (*target*) quase puro (99,96% de pureza). Essa voltagem faz com que átomos de ouro se desprendam da peça e se fixem uniformemente na superfície da amostra. O tempo de deposição para recobrimento das amostras foi de 198 segundos, o que corresponde a uma espessura em

torno de 20 nanômetros. Após esse procedimento, as amostras foram analisadas no Microscópio Eletrônico de Varredura (Philipps-FEI, mod. Quanta 200) em diferentes aumentos.

3.3 CARACTERIZAÇÕES DA AVEIA MALTADA

A aveia para ser maltada necessita atingir algumas características iniciais de qualidade para que possam seguir seu processo. A germinação pode ser definida como a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando a sua aptidão para produzir uma planta normal sob condições favoráveis de campo (PBQP, 1992). Esta característica prediz a qualidade da semente e seu potencial em desenvolver uma nova planta. Caso a exigência mínima de qualidade não seja atingida, a semente não poderá seguir para cultivo ou processo de germinação. Uma das estruturas essenciais é a acrospório, e os testes de germinação correspondem a porcentagem de acrospórios normais obtidas sob as condições em que foram submetidas as sementes.

A germinação normalmente ocorre em câmaras de paredes duplas, adequadamente isolada por uma camada de ar ou de material isolante a fim de diminuir as variações internas de temperatura, e equipada com um conjunto de bandejas ou tipo de suporte, onde as amostras são colocadas para germinar no escuro ou na luz. O fundo do germinador é construído de modo a formar um depósito onde deve ser colocada água (PBQP, 1992). Normalmente a água é resfriada e passa entre as paredes do germinador ou através de tubos de refrigeração colocados ao longo de suas paredes internas. Com tais dispositivos pode-se obter qualquer temperatura desde, aproximadamente 8 a 40°C e manter a umidade relativa entre 90 e 95%, reduzindo a possibilidade de ressecamento dos substratos (PBQP, 1992).

3.3.1 Potencial de germinação

O teste de potencial de germinação representa a porcentagem de grãos que germinaram em 72 horas, sendo este fator diretamente ligado à atividade enzimática do grão e deve ser da ordem de 65 a 85 % (PALMER, 1989).

O potencial de germinação foi realizado utilizando 400 sementes de aveia, separadas por contadores de 100 unidades e dispostas pelos mesmos em papel de germinação úmido (Germitest®) e deixadas em

câmara de germinação De Leo a 20°C por 3 e 4 dias. A FIGURA 22 traz uma imagem dos germinadores utilizados.

A avaliação foi realizada contando-se as sementes que possuíam radículas maiores que 3 cm. Os lotes de sementes que atingiram valores inferiores aos mencionados acima não são aptos à maltagem e foram descartadas. Teste realizado em triplicata.

Figura 22 - Unidade de germinação utilizada nos experimentos.



Fonte: www.deleo.com.br

3.3.2 Poder germinativo

O teste de poder germinativo não deve apresentar-se resultado inferior a 95% das sementes germinadas. Caso isto ocorra, apresentará malte de baixa atividade enzimática e focos de contaminação com os grãos não germinados. 100 sementes foram enroladas em papel de germinação (Germitest[®]) úmido e deixadas em câmara de germinação, conforme apresentado no item 6.3.1, à 20°C por 5 dias.

A avaliação foi realizada contando-se todas as sementes que germinaram. Sementes que atingiram valores inferiores de germinação a 95% não estavam aptas à maltagem e foram descartadas. O teste foi realizado em triplicata.

3.4 PROCESSOS DE MALTAGEM

O processo que foi utilizado para o desenvolvimento de matéria-prima aveia maltada (AM), para a realização dos experimentos de extração, foi desenvolvido experimentalmente no laboratório de P&D da empresa SL Cereais e Alimentos, determinando as melhores condições para a matéria-prima aveia em questão. O processo foi realizado em escala laboratorial e o processo é composto das etapas de maceração, germinação e secagem semelhante à maltagem de cevada.

3.4.1 Maceração

A maceração é a etapa inicial do processo de maltagem e tem por objetivo final atingir umidade de 45% na semente da aveia, desta forma a atividade enzimática da semente seja despertada e a semente comece agir no sentido de formar uma nova planta. Para isso, cariopses de aveia, já selecionadas, passaram inicialmente por uma higienização de sua superfície utilizando solução de 1% de hipoclorito de sódio por 30s e após são mergulhadas em água abundante.

1 kg de aveia descascada (P_1) foi mergulhada em água até que seus grãos fossem totalmente cobertos e então deixados à temperatura de 16°C até que a umidade final do grão atingisse 45%. O tempo necessário para que as sementes atingissem este nível de umidade foi de 16 horas. Este tempo é variável e foi previamente determinado com testes preliminares. Durante este processo de maceração, no tempo de 12 horas, as sementes foram escorridas e deixadas por 30 minutos em descanso em ar ambiente. Após novamente foram cobertas por água e deixadas até que completassem o seu tempo de umidificação. No término das 16 horas, as sementes foram novamente escorridas e secas com papel toalha e pesadas (P_2). A umidade que as sementes de aveia atingiram pode ser determinada pela EQUAÇÃO 10.

$$\text{Umidade após germinação (\%)} = 100 - \left(\frac{P_2 \times 100}{P_1} \right) \quad (10)$$

3.4.2 Germinação

Após finalização da maceração as sementes drenadas e secas com papel toalha seguiram para câmara específica de germinação de sementes De Leo apresentada na FIGURA 22, onde foram deixadas a temperatura controlada de 16°C para seguirem o seu processo de germinação. As sementes foram dispostas em grades sobre papel de germinação úmido. A umidade dentro da câmara girava em torno de 90%.

A aveia foi germinada por 5 dias sendo revirada duas vezes ao dia.

3.4.3 Secagem

A secagem é a etapa aonde se deve ter maior critério, pois a mesma deve conseguir secar o grão por inteiro, desde o seu interior para que não ocorram problemas de conservação futuros. O malte verde, como são chamadas as sementes após germinação, foi seco à temperatura de 30°C em estufa até umidade final próxima de 12%, ou seja, a umidade próxima a inicial do grão. Então a aveia seca foi limpa, havendo eliminação das radículas e plântulas que foram emitidas pelas sementes através de fricção de uma semente contra a outra. Após a aveia maltada foi acondicionada em sacos de polietileno e armazenada em *freezer* à temperatura próxima de -20°C e aguardou a etapa posterior de extração.

3.5 EXTRAÇÕES

3.5.1 Extração com solvente orgânico

O método usado para a extração do conteúdo de fenóis em tecidos da aveia e produtos à base de aveia incluem o procedimento de moagem seguido por uma extração ácida (pH 2) com etanol à 50°C. Após o solvente é evaporado, o resíduo é dissolvido em um pequeno volume de metanol e centrifugado. Esta metodologia foi descrita por DIMBERG & JASTREBOVA (2009).

1 g de cada amostra moída foi pesada em balança analítica (Shimadzu AY220) e colocada de um tubo de 30 mL com tampa de rosca. Amostragem foi realizada em triplicata. Foram adicionados 20

mL de etanol aquoso 80% (v/v) (pH 2) no tubo. Utilizou-se ácido clorídrico (Synth) para acidificar o etanol aquoso. O álcool etílico utilizado foi Fmaia. Após, o tubo foi incubado em banho-maria (Tecnal modelo TE-056) a 50°C por 20 minutos, sendo agitado na metade do tempo. Na sequência da extração, o tubo foi centrifugado a 5000 rpm por 10 minutos em centrífuga (Excelsa Baby II Modelo 206 R da Fanem). Após centrifugação, o sobrenadante foi colhido em balão evaporador de 250 mL e ao resíduo novamente foram adicionados 20 mL de etanol aquoso, sendo repetido o processo de extração. Os sobrenadantes das duas sequências de extração foram combinados e o solvente da combinação dos sobrenadantes foi evaporado em um evaporador rotativo (Fisaton B503), com banho de 50°C até aparente secagem com controle de vácuo feito com bomba de vácuo (Tecnal modelo TE-058). Ao resíduo de secagem foram adicionados 2 mL de metanol Merck para reconstituição do extrato e o mesmo transferido para tubos de Eppendorf. Até as análises posteriores não serem realizadas, o extrato ficou armazenado a -20°C. Antes da utilização, os tubos foram centrifugados em 7000 rpm por 10 minutos.

3.5.2 Extração com banho de ultrassom

A extração com a utilização de banho de ultrassom é bastante utilizada dentre os estudiosos que realizam extrações de compostos naturais. Esta técnica para extração de compostos fenólicos da aveia foi utilizada por VERARDO *et al* (2011).

2 g desta farinha foram pesadas em balança analítica e colocadas em tubos com tampa de rosca de 30 mL. Realizou-se amostragem em triplicata. Junto às 2 g de amostra, 20 mL de uma solução solvente etanol (Fmaia) / água na proporção 4:1, foram adicionados. Então agitados e colocados em banho de ultrassom Limp Sonic Mod. LS – 1,3D-2, sem aquecimento, por um tempo de 10 minutos sendo agitado na metade do tempo. Na sequência da extração, os tubos foram centrifugados a 5000 rpm por 10 minutos em centrífuga (Excelsa Baby II Modelo 206 R / Fanem). Após centrifugação, o sobrenadante foi colhido em balão evaporador de 250 mL e ao resíduo novamente foram adicionados 20 mL de etanol aquoso, sendo repetido o processo de extração. Os solventes combinados foram evaporados dos sobrenadantes em evaporador rotativo (Fisaton / B503), com banho de 40°C até aparente secagem com controle de vácuo feito com bomba de vácuo (Tecnal / modelo TE-058). Para a reconstituição do extrato, foram

adicionados 2 mL de uma solução 1:1 metanol (Merk) : água destilada, o extrato então foi transferido para tubos de Eppendorf. Até que as análises posteriores não fossem realizadas, os extratos ficaram armazenados a -20°C em *freezer* tipo doméstico (Brastemp). Antes da utilização, os tubos foram centrifugados em 7000 rpm por 10 minutos.

3.5.3 Extração com fluido supercrítico

Os experimentos de extração supercrítica foram realizados no laboratório Latesc, no departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da UFSC, aonde se encontra disponível uma unidade de extração supercrítica a qual opera com uma pressão máxima de 300 bar e vazões de solvente de 1,67 g/min a 36,67 g/min.

Utilizou-se o método dinâmico de extração, que se caracteriza pela passagem contínua de solvente supercrítico pela matriz sólida (FERREIRA *et al.*, 1999). O equipamento utilizado para a realização das extrações supercríticas é apresentado na FIGURA 23. A unidade de extração supercrítica foi desenvolvida pelo laboratório *Thermische Verfahrenstechnik* da *Technische Universität Hamburg-Harburg* (TUHH), na Alemanha.

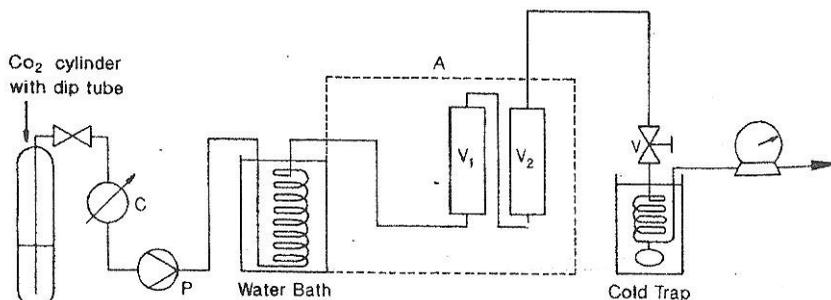
De forma esquemática, o processo de extração supercrítica ocorreu conforme apresentado na FIGURA 24. Dióxido de carbono líquido 99,9% de pureza foi fornecido do cilindro (White Martins Ltda) com um tubo pescador diretamente para a linha de extração. À temperatura ambiente o CO₂ foi bombeado a pressão desejada pela bomba P (M111, Maximator Niedersachsen). A linha onde o solvente passa é imersa em um resfriador C que mantém a temperatura inferior a 0°C, (C10 – k10, Thermo Haake Karlrunhe) necessário para prevenir cavitação e garantindo que o solvente permaneça em estado líquido antes da entrada na bomba. O fluxo de CO₂ foi levado, à temperatura e pressão desejadas, a passar através de uma serpentina localizada em um banho termostático, e posteriormente a passar pelos vasos de extração V1 e V2, os quais consistem em cilindros de aço inox encamisados de 32,9 de comprimento, 2,042 cm de diâmetro interno e volume de 10 mL, com extremidades rosqueadas. A temperatura de operação do extrator foi mantida constante através de um banho termostático de aquecimento A (DC30-B30, Thermo Haake). Estes vasos contem uma cama de material sólido para prevenir o arraste da amostra. A linha que liga a bomba ao extrator, bem com a linha após o extrator é mantida em banho termostático de aquecimento 65°C (MQBTZ99-20 Microquímica Ind.

Figura 23 - Unidade de Extração Supercrítica do LATESC



Com. e Repr.) para evitar que a linha sofra congelamento. O fluxo de solvente, contendo o soluto dissolvido, passou então através de uma válvula de medida, onde o solvente foi despressurizado e teve sua pressão levada próxima à ambiente, o soluto foi coletado dentro de um frasco. O fluxo (agora somente composto pelo gás solvente) passou através de um medidor de fluxo (10A61ABB, Automation Product) aonde foi descartado. As condições utilizadas para a extração supercrítica foram a de pressão de 300 Bar e temperatura de 50°C. O tempo de extração foi de 3 horas.

Figura 24 - Figura ilustrativa do processo de extração com fluido supercrítico.



Fonte: KING & CATCHPOLE, 1993

3.5.4 Extração com fluido supercrítico e co-solvente

Utilizando as mesmas condições da extração supercrítica de 300 Bar e 50°C, testou-se a aplicação de co-solvente adicionado ao solvente etanol em quantidade definida em relação à massa total de CO₂ empregada na extração supercrítica. O co-solvente etanol (Merck S. A) foi adicionado por uma bomba de co-solvente (BC) (Constametric 3200, SP Thermo Separation Products) que foi acoplada ao equipamento de extração supercrítica. A bomba de co-solvente trabalha numa faixa de vazão de 0,1 a 10 mL/min. Os experimentos com co-solvente etanol foram realizados nas condições de 300 bar, 50°C, vazão de etanol de 10% sobre o consumo de CO₂, ou seja, no tempo de 3 horas de extração utilizou-se 190 mL de etanol, ou 1,05 mL/min. Os extratos que foram obtidos ao final da extração foram submetidos à etapa de evaporação do solvente orgânico empregado em evaporador rotativo Fisaton B503, em banho com 50°C e controle de vácuo feito com bomba de vácuo Tecnal modelo TE-058, semelhante às extrações com solvente e banho de ultrassom. Os experimentos de extração em que se utilizou co-solvente foram realizadas em duplicata.

3.5.5 Extrações x Amostras

A TABELA 3 apresenta detalhadamente os tipos de extrações a que foram submetidas cada uma das amostras.

Tabela 3 - Detalhamento dos experimentos de extração relacionados às amostras que foram utilizadas.

| Extrações / Amostras | Solvente orgânico etanol 80% - Banho-maria 50°C | Banho de ultrassom a temperatura ambiente com solvente orgânico etanol 80% | Extração com CO2 supercrítico: 300 Bar, 50°C por 3 horas | Extração com CO2 supercrítico e co-solvente etanol: 300 bar, 50°C por 3 horas |
|-----------------------|---|--|--|---|
| Aveia descascada (AD) | X | X | X | X |
| Flocos de aveia (FA) | X | X | | |
| Oat bran (OB) | X | X | X | X |
| Cascas de aveia (CA) | X | X | | |
| Aveia maltada (AM) | X | X | | |

3.6 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTIOXIDANTES

3.6.1 Compostos fenólicos totais – Método de Folin-Ciocalteu

A determinação do conteúdo total de compostos fenólicos totais presentes nos extratos das matérias-primas da aveia foi realizada através do método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu descrito por SINGLETON & ROSSI (1965).

Para a quantificação de compostos fenólicos, os extratos foram centrifugados (10.000 x g, 10 min) em centrífuga e 100 µL de cada extrato foram pipetados com pipeta automática em um balão volumétrico de 20 mL. Ao balão volumétrico foram adicionados 500 µL do reagente Folin-Ciocalteu (Sigma) e 6 mL de água destilada. A mistura foi agitada e incubada por 1 minuto a temperatura ambiente. Após adicionou-se 2 mL de solução de carbonato de sódio 15% (Na₂CO₃ da Merck) e agitada por 30 segundos. O volume do balão volumétrico foi completado com água destilada e o mesmo ficou em

repouso por 2 horas à temperatura ambiente. Água destilada foi utilizada como branco. Após o tempo de repouso, realizou-se leitura em espectrofotômetro (Micronal B582) com comprimento de onda de 750 nm à 25°C em cubetas de vidro. Como padrão de comparação foi feita curva padrão de ácido gálico (Fluka Analytical) nas concentrações de 0 a 1500 mg/L, esta curva é apresentada através do gráfico de absorvância versus concentração de ácido gálico (mg/L).

3.6.2 Atividade Antioxidante – Método DPPH

A capacidade antioxidante foi avaliada utilizando-se o método de sequestro de radicais livres do DPPH• (2,2 difenil-1-picrilhidrazida), que se baseia em um ensaio fotométrico onde o radical livre DPPH•, que apresenta coloração roxa intensa em solução alcoólica, absorve comprimentos de onda em espectrofotômetro de 515 nm. Por ação de um antioxidante ou de uma espécie radicalar (R•), o DPPH• é reduzido, formando o 2,2 difenil-1-picrilhidrazida, que é amarelo, com consequente decréscimo da absorvância. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional (BRAND-WILLIAMS *et al*, 1995)

Para a determinação da atividade antioxidante, 100 µL de cada extrato foram adicionados de 2,9 mL de uma solução 100 µM de DPPH (Aldrich) em solução 4/1 etanol/água (v/v). O decréscimo da absorvância foi determinado em espectrofotômetro (Micronal B582) no comprimento de onda de 517 nm no tempo 30 minutos a temperatura ambiente. O espectrofotômetro foi zerado utilizando solução 4/1 etanol/água (v/v) e a mesma solução adicionada de 2,9 mL de solução de DPPH utilizada como branco.

Para avaliar a atividade antioxidante, os resultados foram expressos por porcentagem de sequestro de radicais livres e os mesmos calculados através da EQUAÇÃO 11.

$$\begin{aligned} \% \text{ Descoloração do DPPH} &= 100 \\ &- \left(\frac{(\text{Absorvância Amostra} - \text{Absorvância branco})}{\text{Absorvância branco}} \times 100 \right) \end{aligned} \quad (11)$$

3.6.3 Teste Acelerado de estufa – Schall Oven Test

Volumes de 180 mL de óleo de soja extraídos em prensa extrusora Bindgalvão 7590 um dia antes foram preparados para aplicação de todos os extratos de aveia. O óleo foi centrifugado em centrífuga Excelsa Baby II Modelo 206 R / Fanem, para a retirada de impurezas. Foram utilizados 2500 mg/kg de cada um dos extratos AD, FA, OB, AM e CA, dos dois experimentos de extração, no óleo. E para apreciação comparativa utilizou-se 20 mg/kg de um antioxidante sintético de uso industrial em gorduras composto por BHA e BHT. Convencionou-se usar 20 mg/kg devido à atividade antioxidante semelhante à dos extratos. Esta mesma concentração foi utilizada por KLAJN (2011). Ao controle não houve adição de antioxidantes. As porções de 180 ml de óleo adicionados dos extratos ou não, foram divididos em 6 porções de 30 mL cada em tubos de ensaio de 50 mL. Os tubos de ensaio foram identificados e as amostras submetidas a estresse oxidativo térmico em estufa de circulação forçada de ar com temperaturas que variaram de 58 a 65°C durante 21 dias. As amostras foram retiradas nos tempos 0, 3, 7, 10, 14, 17 e 21 dias para a realização dos ensaios. A análise da amostra de tempo 0 não foi adicionada de nenhum antioxidante.

3.6.3.1 Análise de acidez em ácido oleico

O índice de acidez indica se o óleo ou a gordura em análise estão sofrendo quebras em suas cadeias, liberando seus constituintes principais, os ácidos graxos livres. Este índice é bastante importante na avaliação do estado de deterioração (rancidez hidrolítica) do óleo ou da gordura.

A determinação da acidez dos óleos foi realizada de acordo com o método descrito por NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008). 2 g de amostra foram dissolvidas em erlenmeyer de 125 mL com 25 mL da solução neutra de álcool-éter. À solução foram adicionados 0,5 mL de fenolftaleína a 1% e realizada a titulação com NaOH 0,01 N padronizada, até o aparecimento de coloração rósea permanente por 30 segundos. Os resultados foram expressos em percentual de acidez em ácido oleico.

3.6.3.2 Análise de Índice de Peróxido

O método de determinação de índice de peróxido indica qual a quantidade de oxigênio ativo, calculada em miliequivalentes de peróxido por 1000 g de óleo, medida a partir do iodo liberado do iodeto de potássio oxidado pelos peróxidos presentes no óleo, sob as condições do teste.

As amostras foram analisadas através de índice de peróxidos, metodologia extraída INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005). Para isso, foram pesadas 5 g de amostra em erlenmeyer de 250 mL, com tampa esmerilhada e a ele adicionou-se 30 mL de solução ácido acético-clorofórmio sob agitação até a amostra se dissolver na solução. Posteriormente, mais 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio (KI) foram adicionados e deixados em repouso ao abrigo da luz por exatamente um minuto. Decorrido o tempo, foram acrescentados 30 mL de água e a solução foi titulada lentamente com tiosulfato de sódio 0,1 N com constante e vigorosa agitação até a que a cor amarela tivesse quase desaparecido. Em seguida foram adicionados 0,5 mL de solução indicadora de amido a 1% e continuou-se a titulação até o desaparecimento da coloração azul. Os resultados foram expressos em miliequivalentes de oxigênio ativo/ kg de matéria graxa.

3.7 FTIR – ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER

A espectroscopia de infravermelho é um tipo de espectroscopia de absorção a qual usa a região do infravermelho do espectro eletromagnético. A radiação infravermelha corresponde à parte do espectro eletromagnético entre as regiões do visível e das micro-ondas. Esta é utilizada para identificar um composto ou a composição de uma amostra e para isso a região entre 4000 e 400 cm^{-1} é a mais utilizada.

Para a realização do experimento de FTIR das amostras de aveia: AD, FA, OB, AM e CA, passaram por moagem em moedor IKA A 11 Basic e foram misturadas com brometo de potássio (KBr) com auxílio de cadinho e pistilo. Esta mistura, na sequência, segue para prensagem a altas pressões em uma prensa hidráulica, para a formação de uma pastilha. É necessário garantir que esta pastilha seja translúcida. O brometo de potássio é utilizado, pois não absorve a radiação infravermelho.

O equipamento utilizado para a realização da análise de FTIR foi IR PRESTIGE – 21 Fourier Transform Spectrophotometer Shimadzu. A análise foi realizada no LCP – Laboratório de Controle de Processos UFSC. O branco utilizado pelo equipamento é o ar ambiente presente dentro do equipamento. O número de escaneamento realizados pelo FT-IR é de 20, sendo a resolução de 2.0. O range de comprimento de onda utilizado foi de 400 a 4000 cm^{-1} . O resultado observado foi um gráfico construído com “número de onda” em cm^{-1} no eixo horizontal e a transmitância ou absorbância em % no eixo vertical.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados foram analisados através da Análise de Variância ANOVA. Para a identificação de diferenças significativas entre as médias utilizou-se o teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($P < 0,05$). A análise estatística foi realizada com auxílio do programa Statistica 7.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A aveia hoje é um cereal já bastante estudado pelo mundo devido às suas características benéficas à saúde, principalmente relacionadas à sua fibra solúvel β -glucana.

Os produtos à base de aveia são diversos nas gôndolas dos supermercados. Aveias em flocos grossos, normais ou finos; farinhas; cereais matinais ou biscoitos. Estes produtos convencionais somente sofrem o processo de inativação enzimática antes do consumo. Porém a aveia maltada e outros cereais maltados vêm por algum tempo sendo utilizados para a fabricação de bebidas. A atividade da enzima α -amilase, considerada a principal enzima no processo de maltagem, é semelhante à encontrada na cevada. A aveia sofre algumas modificações durante a maltagem que a diferenciam do seu grão sem este processo, como é o caso da redução de fitatos através da enzima fitase. A alta concentração de fitatos nos produtos a base de aveia podem reduzir a absorção de minerais.

4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

A atividade da peroxidase, assim como concentrações de lipídios, AGL, proteínas, carboidratos, umidade, matéria mineral e concentração da fibra β -glucana, da aveia e das suas frações estudadas estão apresentadas nas TABELAS 4 até 8.

A TABELA 4 apresentada refere-se à análise de presença ou ausência de enzimas, sendo a análise realizada pela presença de peroxidase. Este teste é realizado industrialmente no controle dos tratamentos térmicos a que os grãos de aveia já descascados são submetidos. É um teste indicativo com resposta por coloração, contudo não indica total inativação enzimática. De acordo com MARINI *et al* (2005), a enzima lipase é lábil ao calor e muito mais sensível ao calor úmido. Já a enzima peroxidase é altamente termoestável, contudo o estudo de MARINI *et al* (2005) observou decréscimo na atividade da lipase e peroxidase com secagem estacionária a partir dos 80°C.

Dentre as frações de aveia analisadas, duas delas não apresentam atividade enzimática, a FA e OB, o que não ocorreu com as demais frações. Os resultados estão apresentados na TABELA 4.

Tabela 4. Atividade enzimática da peroxidase (Presença/Ausência) nas matérias-primas utilizadas para a realização das extrações.

| Matérias-primas | AD | FA | OB | CA | AM |
|------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Peroxidase | Positiva | Negativa | Negativa | Positiva | Positiva |

Os flocos de aveia e o *oat bran* são entre as frações que chegam até o consumidor. Para o consumo ser possível e o produto poder contar com relativa vida-de-prateleira, os grãos passam por tratamento térmico. Em um processo industrial, quando este teste apresenta resposta positiva, todo lote é novamente processado. As demais matérias-primas apresentaram resposta positiva, por não terem sido tratadas termicamente, conseqüentemente tem ação de atividade enzimática mais pronunciada, podendo se degradar rapidamente caso nenhum tratamento seja realizada nas mesmas.

Na análise enzimática da casca, a mesma apresentou atividade enzimática, porém na fase de senescência na qual a casca se encontra quando colhida não apresenta mais atividade enzimática. O resultado positivo é devido a restos de aveia, pequenos pedaços que seguem junto com a casca no processo durante o descascamento. O processamento de micro moagem e conservação de produtos de casca é de difícil aceitação devido à estes pequenos fragmentos de aveia que dificilmente conseguem ser separados da casca.

A TABELA 5 analisa os resultados relativos aos lipídios $\left(\frac{g \text{ lipídios}}{100 g \text{ de amostra}}\right)$, ácidos graxos livres (AGL) $\left(\frac{g \text{ AGL}}{100 g \text{ de lipídios}}\right)$ e acidez $\left(\frac{mL \text{ solução}}{100 g \text{ amostra}}\right)$ das frações de aveia analisadas. Com os dados analíticos presentes nesta tabela já se podem analisar as conseqüências da ação da atividade enzimática.

Tabela 5 - Teor de Lipídios, Ácidos graxos livres e Acidez de todas as matérias-primas em análise: AD, FA, OB, AM e CA.

| Matérias-primas | AD | FA | OB | AM | CA |
|------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Lipídios (%) | 6,24 ^c ± 0,17 | 7,13 ^b ±0,33 | 7,79 ^a ±0,11 | 7,68 ^a ±0,01 | 1,86 ^d ±0,04 |

| | | | | | |
|-------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| AGL (%) | 11,16 ^c ±0,11 | 4,83 ^d ±0,06 | 4,26 ^e ±0,03 | 18,16 ^b ±0,17 | 45,97 ^a ±0,07 |
| Acidez (%) | 2,11 ^c ± 0,04 | 1,62 ^{cd} ±0,01 | 1,70 ^d ±0,02 | 6,17 ^a ±0,25 | 3,54 ^b ±0,06 |

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão; médias seguidas de mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente no teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Analisando comparativamente a concentração de lipídios da amostra AD com a amostra AM é possível determinar que entre elas ocorram diferenças estatísticas significativas. A fração AD, representa a concentração comum encontrada em aveias em geral, já o produto maltado (AM), apresentou significativo aumento de lipídios, de cerca de 20%. No trabalho de PETERSON (1998), que realizou estudos com maltagem de diversos cultivares de aveia nua (que não possuem casca originariamente) e aveia com casca, encontrou que a concentração de lipídios do grão de aveia comparativamente com a aveia maltada decresce cerca de 1,1% para aveias nuas. Este decréscimo na concentração de lipídios provavelmente resulte em parte da degradação dos lipídios pela enzima lipase, onde triacilgliceróis são decompostos a ácidos graxos livres e outros compostos vindos da oxidação dos ácidos graxos livres em produtos não lipídicos. As diferenças de resultados encontradas entre o estudo atual e o de PETERSON (1998) provavelmente sejam decorrentes das diferenças entre os materiais genéticos em estudo, a origem, métodos de cultivo, clima e demais adversidades. Além de que os métodos utilizados na quantificação de AGL e lipídios também diferirem. Certificando a hipótese, no mesmo trabalho de PETERSON (1998), ele comenta que a concentração de lipídios decresce em alguns cultivares e aumento em outros cultivares com o processo de maltagem. Segundo ele, a atividade da lipase é muito maior durante a germinação da aveia nua do que na aveia coberta ou com casca. Já com relação aos números relativos à AGL, os resultados são condizentes com os encontrados por PETERSON (1998), na amostra maltada o número aumenta consideravelmente. Durante a germinação, o nível de AGL aumenta consideravelmente e a subsequente oxidação destes ácidos durante a estocagem do malte produz hidróxi-ácidos os quais resultam no desenvolvimento de sabor amargo (LEHTINEN & LAAKSO, 2004). Este dado confirma que houve atividade enzimática na maltagem dos grãos, havendo a quebra dos triacilgliceróis pela enzima lipase. Contudo, o aumento dos ácidos graxos livres durante a

fase de germinação é não desejável, pois pode levar a rancidez hidrolítica ou oxidativa (HAYDANEK &McGORRIN, 1986). GALLIARD (1983) considerou que a aveia pode ser considerada inapta para o processamento de produtos alimentícios se a concentração de ácidos graxos livres exceder 5% dos lipídios obtidos em extração com hexano. A diversidade de altos valores de ácidos graxos livres encontrados na literatura em aveias maltadas podem levar a pesquisas em bancos de germoplasmas de variedade que desenvolvam menos esta característica como possibilidade de nova matéria-prima para maltagem.

Outro fator importante a ser observado é com relação à concentração de AGL da amostra OB e FA, estes são os que apresentam a menor concentração. Isso ocorre, pois foram as matérias-primas que sofreram tratamento térmico e inativação enzimática, conseqüentemente, a atividade da enzima lipase foi menos pronunciada e a quantidade de AGL liberados foi bem inferior. Estes produtos se encaixam na definição fornecida por GALLIARD (1983).

A amostra CA, casca de aveia, apresentou valor consideravelmente alto quando comparado com as demais amostras com relação à AGL. Contudo, na etapa em que foram analisadas, estas cascas já se apresentavam na sua maturidade, isto é, após a aveia ser colhida. Visualmente as cascas estavam já secas e amareladas e segundo MILLER & FULCHER (2011) não apresentam mais atividade metabólica significativa nesta etapa. Logo, a formação da elevada concentração de AGL provavelmente tenha se dado ainda na planta e conforme a casca foi secando e envelhecendo, a mesma sofreu degradações e alcançou este elevado índice. E parte dos ácidos graxos livres devem-se aos resquícios de aveia que são providos do descascamento e seguem com a casca, estes não passaram por processamento térmico. E em análise realizada por HOSSEINI *et al* (2010) observou que amostras de aveia maltada com casca contem muito mais AGL que aveias maltadas descascadas.

Uma das mais importantes mudanças físico-químicas que ocorrem durante a maltagem é a degradação da matriz proteica que circundam os grânulos de amido com as células do endosperma e a sua conversão em peptídeos solúveis e aminoácidos que proporcionam substrato para a síntese de proteínas para o crescimento do embrião (BRIGGS *et al*, 1981). Contudo, uma das desvantagens da maltagem é a degradação da β -glucana e conseqüentemente sua menor concentração. Desta forma, a maltagem da aveia pode ser desejável ou indesejável, depende a sua aplicação. O aumento do conteúdo de carboidratos

solúveis pode contribuir para a doçura. A TABELA 6 apresenta os resultados para a análise de concentração da fibra solúvel β -glucana $\left(\frac{p}{p}\right)$.

Tabela 6 - Concentração de β -glucana nas matérias-primas utilizadas para a realização das extrações.

| Matérias-primas | AD | FA | OB | CA | AM |
|----------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| B-Glucana (%) | 3,13 ^b ±0,03 | 3,22 ^b ±0,70 | 9,49 ^a ±0,09 | 0,33 ^c ±0,03 | 1,22 ^c ±0,08 |

Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão; médias seguidas de mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente no teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

As beta-glucanas estão presentes em alta concentração na parede celular das células dos grãos de aveia. O farelo de aveia (OB) é produzido a partir das camadas mais externas do grão de aveia (principalmente a camada aleuroma e sub-aleuroma) por isso é a matéria-prima em análise mais rica nesta fibra (MIRA *et al.*, 2009), sendo produto obtido por separação mecânica da farinha de aveia (DE SÁ *et al.*, 1998).

No estudo de FUJITA & FIGUEROA (2003), mostrou que dentre os cereais, a aveia e a cevada são os que apresentam maior teor de fibra solúvel β -glucana. Neste, encontrou-se que a concentração da fibra para o farelo de aveia é de 9,68% e para flocos de aveia é de 7,03%. DE SÁ *et al.* (1998) também investigaram a concentração de β -glucana, especificamente no cultivar IAC 7 de aveia e seus produtos derivados, verificando se existia diferença no teor de fibra durante o seu processamento. Os maiores valores encontrados para a fibra em questão foram no farelo de aveia com média de 9,5% contra o menor de 3,74% na farinha de aveia. Para a amostra aveia descascada encontrou o valor de 5,11% e para os flocos de aveia 5,09%.

FUJITA & FIGUEROA (2003) sugerem que os teores de fibra podem variar com a safra e com fatores genéticos ligados ao grão. Provavelmente, este fator interferiu significativamente nos valores encontrados com relação às fibras solúveis no estudo atual. Como era esperado, a amostra de farelo de aveia (OB) chegou à concentração de 9,49% diferindo estatisticamente de todas as demais amostras e tendo relação com os valores encontrados por FUJITA & FIGUEROA (2003) e DE SÁ *et al.* (1998). Porém nos demais itens analisados, os valores para aveia descascada e flocos de aveia encontrados por DE SÁ (1998)

foram respectivamente de 5,11 e 5,09% enquanto que o estudo atual encontrou o valor de 3,13 e 3,22%. Os últimos valores seguem mesma linha de raciocínio dos anteriores, ou seja, não apresentam diferença significativa entre eles.

Também eram esperados os baixos valores de β -glucana encontrados para as amostra AM e CA. Durante o processo de maltagem, a enzima β -glucosidase quebra a β -glucana diminuindo assim, significativamente o seu valor, tornando-se uma característica pouco desejada da maltagem. E, a casca, regularmente não apresenta este tipo de fibra solúvel. Sendo as que a compõem principalmente insolúveis.

A TABELA 7 apresenta os dados relativos a carboidratos $\left(\frac{g \text{ proteína}}{100 g \text{ de amostra seca}}\right)$ e proteínas $\left(\frac{g \text{ carboidratos}}{100 g \text{ de amostra seca}}\right)$ das frações de aveia em análise.

Tabela 7 - Teor de Proteínas e Carboidratos nas matérias-primas utilizadas para a realização das extrações.

| Matérias-primas | AD | FA | OB | AM | CA |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Proteínas (%) | 15,68 ^d ±0,1 | 17,35 ^b ±0,11 | 21,62 ^a ±0,07 | 16,98 ^c ±0,02 | 4,52 ^e ±0,03 |
| Carboidratos (%) | 65,45 ^b ±0,22 | 63,73 ^c ±0,34 | 58,97 ^d ±0,13 | 64,94 ^b ±0,03 | 84,28 ^a ±0,06 |

Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão; médias seguidas de mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente no teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

O processo de germinação causa decomposição de carboidratos e proteínas, quando enzimas glicolíticas e proteolíticas são ativadas. O amido é hidrolisado vagarosamente durante a germinação, e aveia germinada tem aproximadamente, ou pouco inferior conteúdo de amido que aveia não germinada (PETERSON, 1998) e a hidrólise de proteínas levam a um aumento de aminoácidos essenciais, lisina e triptofano (DALBY & TSAI, 1976). Os carboidratos decresceram significativamente numa média de 4,5% para PETERSON (1998) da aveia sem maltagem para aveia maltada, é o que ocorre similarmente durante o processo de maltagem da cevada no trabalho de BRIGGS *et al* (1981). A concentração de amidos declina durante a germinação, mas é compensada pelo aumento de carboidratos solúveis. É o que é visível no atual estudo, ocorre um decréscimo na concentração de carboidratos da

amostra AD comparativamente com a AM, contudo, este decréscimo ficou na faixa de 1%, não havendo diferenças significativas. E se compararmos os valores anteriores com o valor da amostra FA, percebe-se não haver diferenças estatísticas significativas. Já a amostra OB apresenta menor concentração de carboidratos, logicamente devido à sua maior concentração de proteínas. Isso por ser extraído da parte do grão onde a parede celular é mais espessa e por consequência contendo maior concentração de proteínas.

O valor de carboidratos apresentado pela casca de aveia não configura carboidratos da forma amilácea como a dos demais itens. A maior constituição da casca da aveia é de celulose e hemiceluloses, com menor conteúdo de ligninas (MILLER & FULCHER, 2011).

E com relação aos últimos valores significantes em uma análise físico-química, a TABELA 8 apresenta os valores encontrados nas análises das matérias-primas para umidade $\left(\frac{g \text{ cinzas}}{100 g \text{ amostra seca}}\right)$ e cinzas $\left(\frac{g \text{ água}}{100 g \text{ amostra}}\right)$.

Tabela 8 - Teor de Cinzas e Umidade nas matérias-primas utilizadas para a realização das extrações.

| Matéria s-primas | AD | FA | OB | AM | CA |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Cinzas (%) | 1,94 ^c ±0,14 | 1,75 ^c ±0,14 | 3,64 ^b ±0,17 | 1,84 ^c ±0,04 | 4,32 ^a ±0,08 |
| Umidade (%) | 10,68 ^a ±0,04 | 10,04 ^b ±0,04 | 7,98 ^d ±0,02 | 8,57 ^c ±0,02 | 5,03 ^e ±0,03 |

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão; médias seguidas de mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente no teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

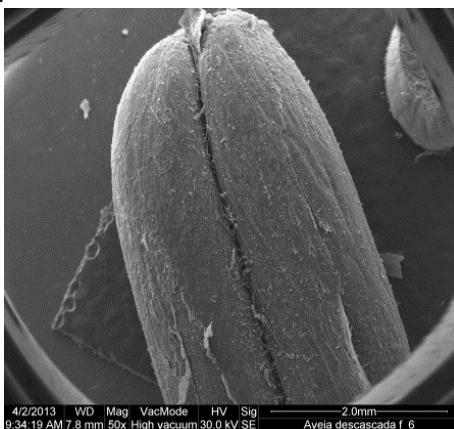
O conteúdo de umidade de todas as frações analisadas da aveia diferem estatisticamente, fato que se deve aos diferentes processos a que foram submetidas todas as amostras. Assim como, os diferentes valores encontrados para a concentração de matérias minerais. A determinação do teor de cinzas é um importante indicativo para a diferenciação das frações avaliadas, pois a constituição externa do grão de aveia possui maior concentração de minerais que na parte interna do grão. Neste caso ocorre correlação positiva entre as amostras AM, FA e CA, isso, pois todas as matérias-primas citadas apresentam a mesma constituição, sendo que os tratamentos a que foram submetidas não interferiram na concentração de minerais.

4.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

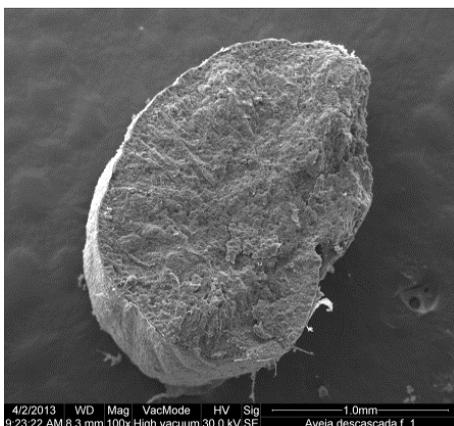
Nas imagens de microscopia eletrônica de varredura das amostras em estudo, foram obtidos interessantes detalhes além de que características peculiares puderam ser observadas.

A FIGURA 25 apresenta a imagem superficial da amostra de aveia descascada (a) e a imagem da sua superfície fraturada por criogenia (b).

Figura 25 - Imagens de MEV da amostra Aveia descascada (AD). (a) Imagem superficial com aumento de 50x, e (b) superfície fraturada por criogenia com aumento de 100x.



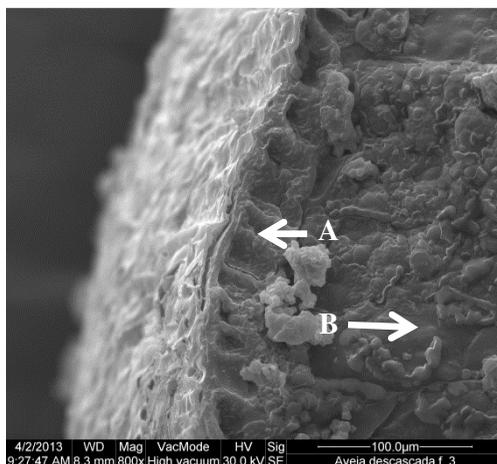
(a)



(b)

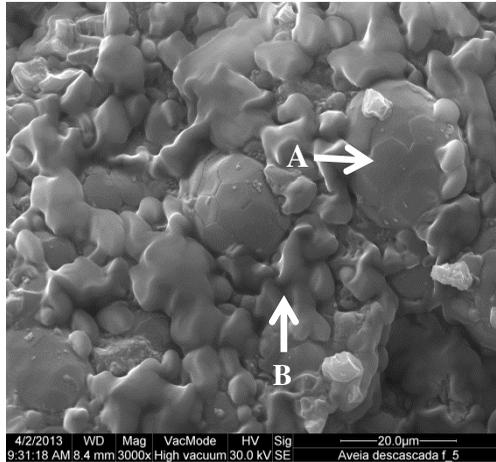
No detalhe da fratura, a FIGURA 26 apresenta a diferenciação entre a camada de aleurona (A) e o endosperma amiláceo (B). Ambas as camadas possuem a constituição bastante semelhante, porém na camada de aleurona a parede celular mais espessa. É desta parede mais espessa do grão de aveia que o *oat bran* ou farelo de aveia é obtido. Já na parte mais interna é possível visualizar os grânulos de amido.

Figura 26 - Imagens de MEV da amostra Aveia descascada (AD). Detalhe da fratura mostrando a diferenciação da camada de aleurona e endosperma amiláceo em aumento de 800x.



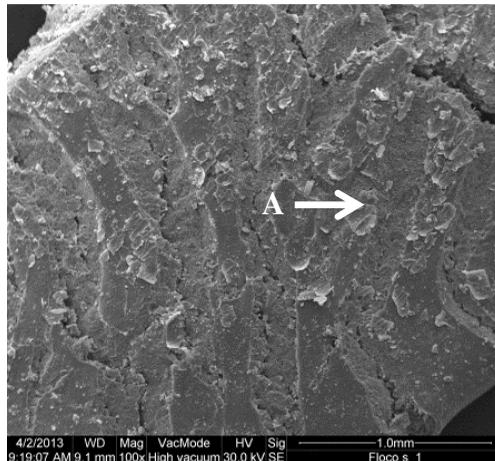
No detalhe da FIGURA 27, aparecem os grânulos maiores de amido (A). Estes grânulos maiores tem forma esférica, sendo os mesmos constituídos por grânulos menores de formato poligonal (B).

Figura 27 - Imagens de MEV da amostra Aveia descascada (AD). Detalhe dos grânulos de amido de formato esférico formados por grânulos menores de formato poligonal em aumento de 3000x.

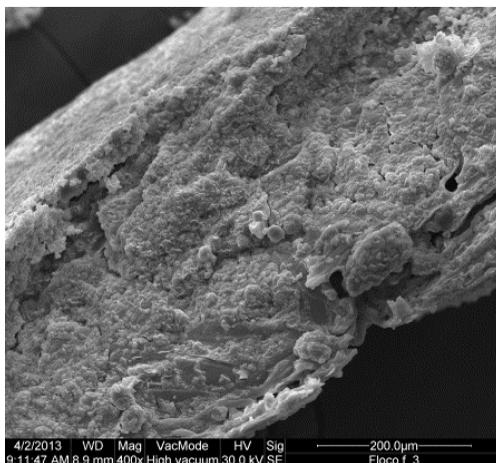


Na FIGURA 28, aparecem as imagens superficiais de um floco de aveia (a) e a fratura criogênica em sentido transversal. No detalhe da imagem (a) aparecem as rupturas da camada de aleurona (A).

Figura 28 - Imagens de MEV da amostra Flocos de Aveia (FA). (a) Imagem da superfície com aumento de 100x e (b) Fratura criogênica em sentido transversal em aumento de 400x.



(a)



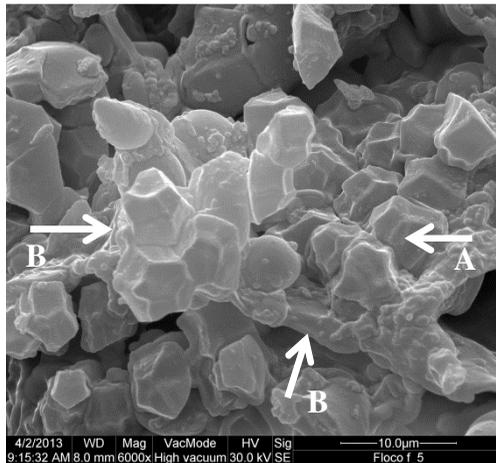
(b)

Mais detalhadamente, na FIGURA 29 (a) são mostradas características dos grânulos de amido do interior do floco de aveia e o detalhe da parede celular (A), e em (b) a conformação perfeita dos grânulos menores de amido de forma poligonal que formam o grânulo de amido (A), e a parede celular rompida (B).

Figura 29 - Imagens de MEV da amostra Flocos de Aveia (FA). (a) Imagem da superfície de fratura criogênica com visualização dos grânulos de amido do interior do floco em aumento de 800x e (b) Visualização dos grânulos menores de amido de forma poligonal em aumento de 6000x.



(a)

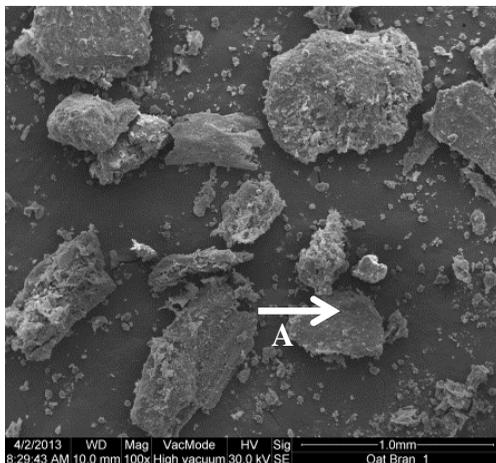


(b)

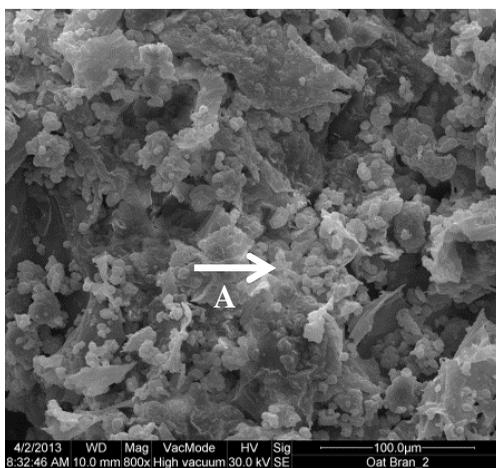
Nesta FIGURA 29 é possível visualizar que o tratamento térmico e posterior tratamento de flocagem e secagem do grão modificaram a estrutura dos grânulos de amido, isto é, os grânulos maiores de amido se romperam sendo apresentados agora, em maior quantidade, os grânulos menores.

Na sequência, a FIGURA 30 caracteriza a amostra *Oat Bran* (OB), aonde é possível visualizar que sua constituição é diversa, isto é, aparecem os pedaços das camadas de aleurona e sub-aleurona (A). É nesta camada onde se encontra a maior concentração da fibra solúvel β -glucana. Esta camada possui células com parede celular bastante espessa formada principalmente por polissacarídeos insolúveis. Contudo, diferentemente do que ocorre com o trigo, o endosperma amiláceo não é individualizado da camada de aleurona, e desta forma aparecem pequenas porções de amido que não foram eficientemente separadas (b) (A), assim como as paredes celulares também (B). Na imagem (c) é possível visualizar a deposição dos grânulos de amido (A) em cima das paredes celulares (B).

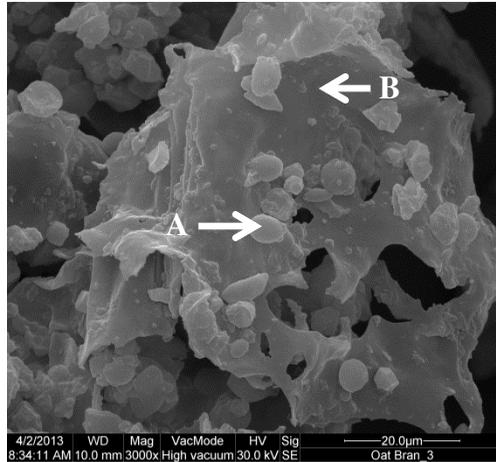
Figura 30 - Imagens de MEV da amostra *Oat bran* (OB). (a) Imagem da superfície e caracterização do farelo, em aumento de 100x, (b) e detalhe de grânulos de amido presentes em aumento de 800x e (c) imagem da deposição dos grânulos de amido em cima das placas de farelo em aumento de 3000x.



(a)



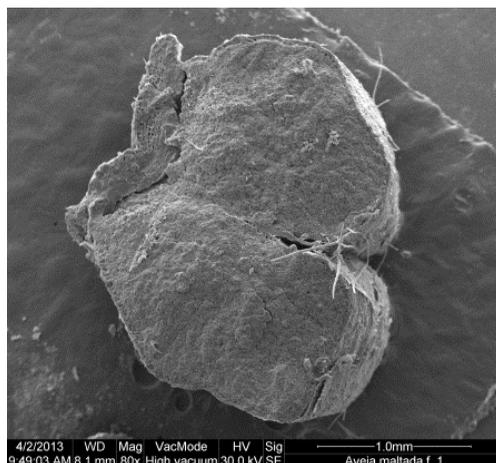
(b)



(c)

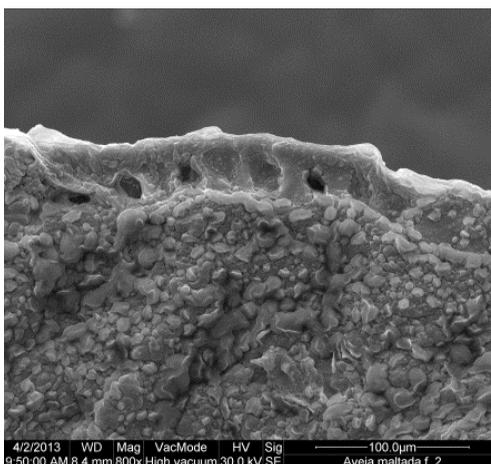
Na FIGURA 31 as imagens são referentes à amostra de Aveia Maltada (AM), sendo a fratura criogênica do grão em sentido transversal. Neste caso, após processo de germinação algumas alterações acontecem no grão, contudo não puderam ser visualizadas de forma clara na análise de MEV.

Figura 31 - Imagens de MEV da amostra Aveia Maltada (AM). Imagem da superfície fraturada por criogenia em corte de sentido transversal do grão em aumento de 80x.

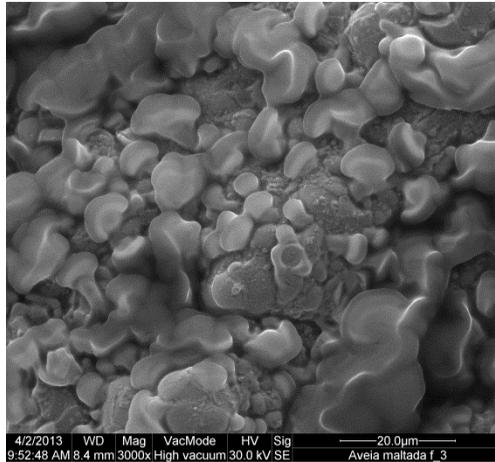


A FIGURA 32 (a) apresenta o detalhe da camada de aleurona que apresenta forma muito semelhante à apresentada na FIGURA 26 da aveia descascada. Na imagem (b) os grânulos de amido apresentam algumas irregularidades não visíveis anteriormente. Somente na imagem (c) é possível afirmar que houve quebra dos grânulos maiores de amido restando praticamente somente os grânulos menores. Em todas as imagens, contudo, percebe-se não haver mais a presença da parede celular que foi hidrolisada pelas enzimas durante a maltagem.

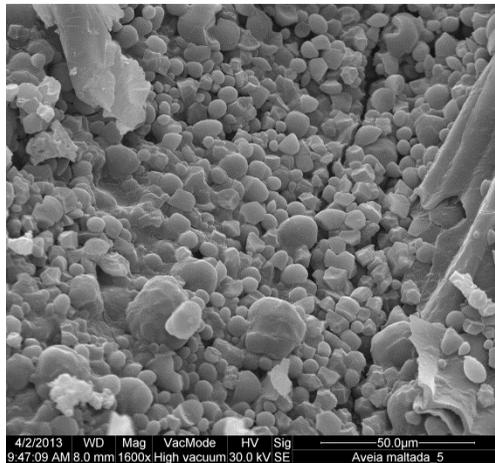
Figura 32 - Imagens de MEV da amostra Aveia Maltada (AM). (a) Detalhe da camada de aleurona em aumento de 800x, (b) e (c) detalhe do endosperma amiláceo em aumento de 3000x e grânulos de amido em aumento de 1600x respectivamente.



(a)



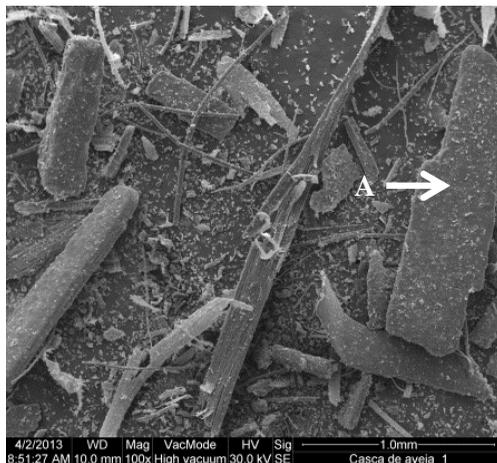
(b)



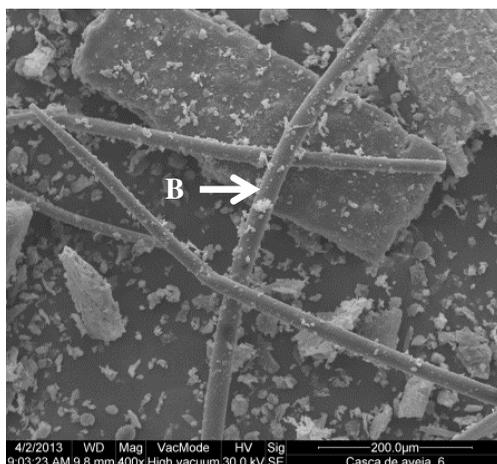
(c)

Na FIGURA 33 aparecem imagens da constituição da amostra Casca de Aveia (CA). Nestas imagens (a) e (b) é possível determinar que amostra não seja formada exclusivamente da casca da aveia, mas sim, de forma geral de resíduos industriais do processamento da aveia. Isto significa que além da casca (A) é possível visualizar tricomas da aveia (B) assim como pequenas frações de amido (C).

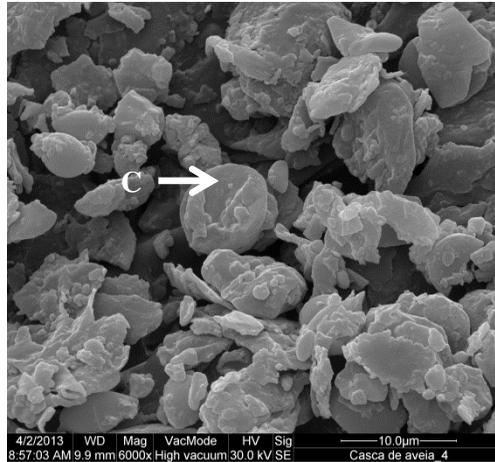
Figura 33 - Imagens de MEV da amostra Casca de Aveia (CA). (a) Superfície da amostra em aumento de 100x. (b) Detalhes da constituição da amostra com o aparecimento de tricomas em aumento de 400x e (c) grânulos de amido remanescentes do processo.



(a)



(b)



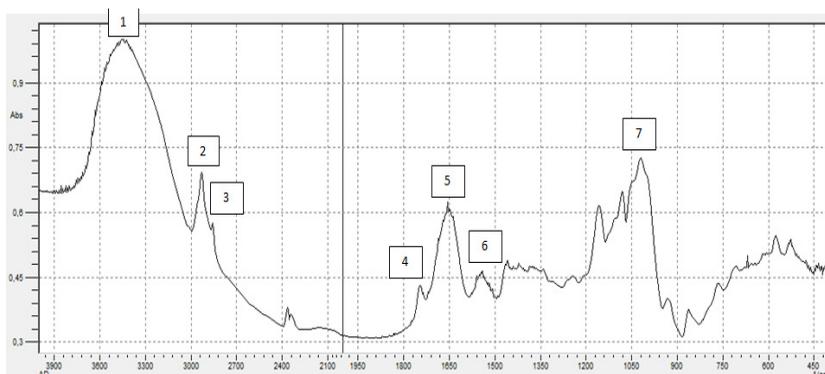
(c)

4.3 ANÁLISE DE FTIR

WETZEL & FULCHER (1990) utilizaram espectroscopia de FTIR para a avaliação da microestrutura química dos alimentos. Estes pesquisadores demonstraram que é possível obter espectros *in situ* de secções finas de materiais alimentares com a resolução espacial tão pequena quanto 10µm. WETZEL & REFFNER (1993) usaram experimentos de mapeamento de lâminas finas de milho e trigo e demonstraram a existência de diferenças químicas entre o pericarpo, a camada de aleurona e o endosperma. Também mostraram através de espectros espaciais de FTIR que o teor de lipídios é maior no pericarpo que no endosperma e que a densidade dos carboidratos é maior no centro do endosperma.

No caso das amostras de aveia, pouca literatura há disponível, porém os o espectro de FTIR é bastante semelhante ao do milho e ao do trigo. CREMER & KALETUNÇ (2003) fizeram análise de FTIR de farinhas de milho, de aveia e da mistura de aveia e milho extrusadas. A análise por eles realizada é apresentada em termos de absorbância. Desta forma, utilizamos a absorbância na análise de FTIR também. A FIGURA 34 apresenta o espectro característico para a amostra aveia, descascada (AD). Foi utilizado este espectro para a identificação dos grupos funcionais característicos da aveia.

Figura 34 - Espectro da aveia descascada (AD). O espectro foi realizado com 20 escaneamentos, sendo resolução de 2.0, comprimentos de onda variando de 400 a 4000 cm^{-1} . Resultados apresentados em absorvância.



O espectro mostra um pico largo na região de alongamento do OH nas imediações de 3450 cm^{-1} (ponto 1 da FIGURA 34). Para alguns casos de farinhas de aveia extrusadas, a região de alongamento do OH tem a forma triangular como resultado da grande contribuição das vibrações de alongamento do NH (simétrico 2857 cm^{-1} e assimétrico 2930 cm^{-1}) se sobrepondo à banda OH (CREMER & KALETUNÇ, 2003).

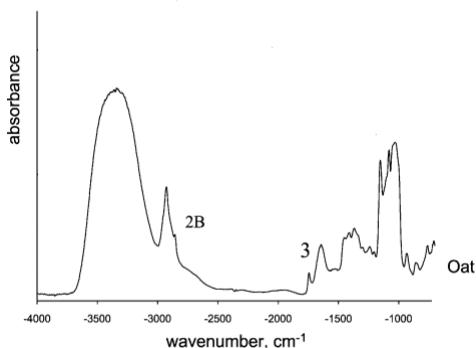
O alto conteúdo de lipídios da amostra resulta em uma região mais pronunciada de alongamento de CH. O pico principal a 2930 cm^{-1} (alongamento do CH_2 , assimétrico) (ponto 2) é acompanhado por um segundo pico menor, mas muito mais acentuado aparecendo em 2857 cm^{-1} (alongamento do CH_2 , simétrico) (ponto 3). O alto conteúdo de lipídio é evidente através do alongamento da banda do éster carbonila em 1745 cm^{-1} que aparece no ponto 4.

A primeira banda que caracteriza as proteínas é apresentada no espectro através do ponto 5, ela representa a banda da amida I (vibração primária de alongamento $\text{C}=\text{O}$) apresenta seu máximo em 1654 cm^{-1} . Segundo COOPER & KNUTSON (1995), está bem estabelecido que as vibrações de flexão do H-O-H da água absorvem fortemente perto 1640 cm^{-1} em torno da qual a banda de amida I absorve. Adicionalmente, uma fraca deformação C-O-H do anel de glicose de amido contribui a 1650 cm^{-1} .

A banda da amida II é representada pelo ponto 6, e é em grande parte devido à vibração de flexão do NH, observado em 1540 cm^{-1} .

A comparação entre os espectros do presente estudo com os espectros de farinhas de aveia extrusadas obtidos por CREMER KALETUNÇ (2003), mostraram-se muito similares como mostra a FIGURA 35. Simplesmente algumas bandas não coincidiram exatamente nos pontos indicados, porém todas as bandas foram bem perceptíveis. Se compararmos com os espectros do endosperma de milho obtidos por WETZEL (1993), os mesmos mostram que a banda de amida II da farinha de aveia é mais ampla, menos intensa e mais disforme e, portanto, menos bem definida que o do grupo amida II do endosperma do milho. O alargamento da banda da amida II pode ser relacionado com as estruturas aleatórias das proteínas.

Figura 35 – Espectro de FTIR para a farinha de aveia extrusada obtido por CREMER & KALETUNÇ (2003).



Fonte: CREMER & KALETUNÇ (2003).

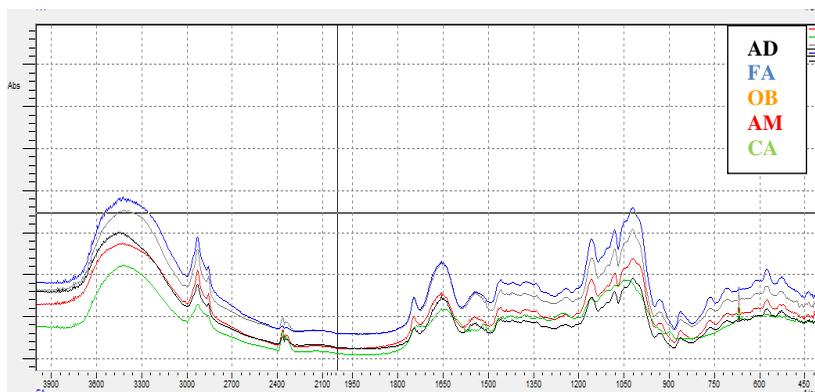
A banda de amida I que normalmente ocorre na região entre 1600 e 1700 cm^{-1} é conhecida por apresentar informações sobre a estrutura secundária das proteínas. Embora as características espectrais possam variar um pouco dependendo do ambiente, da distorção estrutural, e das interações de domínios, tipicamente a α -hélice e β -folha, são estruturas atribuídas aleatoriamente às bandas de frequência que variam de 1650-1658, 1620-1635 e 1640-1650 cm^{-1} (FABIAN & SCHULTZ, 2000).

Normalmente nas proteínas, a taxa integrante da amida I:II pode variar 3:1 - 2:1. A proporção aproxima de 3:1 no caso das proteínas puramente alfa-helice e 2:1 em proteínas puramente folha beta. Por isso é razoável assumir que o amido e a umidade podem influenciar a taxa mais no sentido da amida I.

Na região de impressão digital, em torno do ponto 7 da FIGURA 34, de hidratos de carbono na proximidade de $1300\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ a aveia exibiu picos fortes e característicos em $1159, 1081, 1021\text{ cm}^{-1}$. Exibindo as deformações de C-C-O, C-C, O-C-O, anel do açúcar, carboidratos (amido).

A FIGURA 36 apresenta todos os espectros de FTIR das matérias-primas em análise neste trabalho. Todas as curvas são bastante semelhantes e apresentam aproximadamente a mesma leitura.

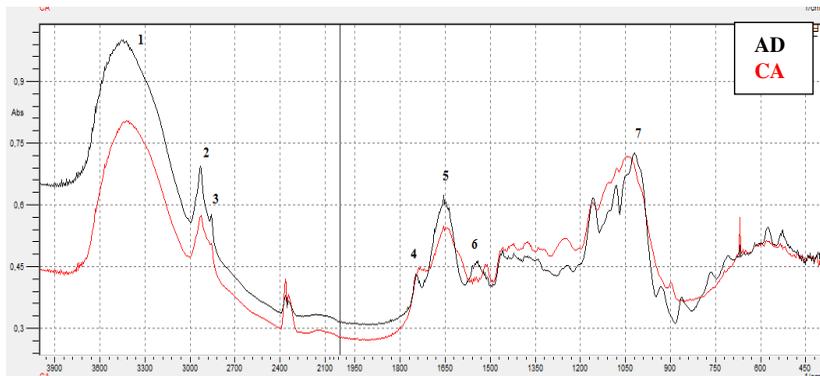
Figura 36 - Espectro de FTIR das amostras AD (cor preta), FA (cor azul), OB (cor marrom), AM (cor vermelha) e CA (cor verde). O espectro foi realizado com 20 escaneamentos, sendo resolução de 2.0, e range de comprimento de onda de $400\text{ a }4000\text{ cm}^{-1}$. Resultados apresentados em absorvância.



Dentre os espectros observados na FIGURA 36, o que se diferencia dos demais é principalmente o da casca de aveia (CA). Devido principalmente a sua constituição diferenciada.

Comparativamente, a primeira diferença que pode ser percebida é com relação aos pontos 3 e 4 da FIGURA 37. Estes indicam grupamentos característicos da composição lipídica, que no caso da CA não apresentam definição. Isto deve-se ao baixo conteúdo lipídico presente na casca. Fato que pode ser comprovado com os dados obtidos na TABELA 5. Da mesma forma, ocorrem distorções com as curvas 5 e 6 relativas ao conteúdo proteico. Sendo que o mesmo apresenta baixa concentração como mostrado na TABELA 7.

Figura 37 - Espectro de FTIR comparativo das amostras AD (cor preta) e CA (cor vermelha). O espectro foi realizado com 20 escaneamentos, sendo resolução de 2.0, e range de comprimento de onda de 400 a 4000 cm^{-1} . Resultados apresentados em absorvância.



No ponto 7 da FIGURA 37 percebe-se que diferentemente da amostra de aveia AD, a amostra CA não apresenta os mesmos três picos característicos dos carboidratos. Apresenta somente um no comprimento da banda 1038 cm^{-1} . A constituição da casca é grandemente de carboidratos, porém os mesmos são de conformação complexa como celulosos e hemicelulosos.

Os demais espectros do FA, AM e OB apresentam-se bastante semelhantes ao da AD, devido às suas constituições bastante parecidas.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DA AVEIA MALTADA

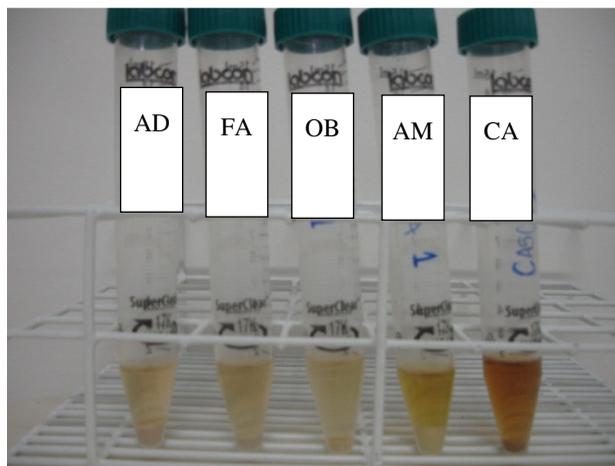
Os resultados encontrados para a aveia maltada em questão foi de Potencial de germinação $\left(\frac{n^{\circ} \text{aveia germ. radícula maior } 3 \text{ cm}}{n^{\circ} \text{ de aveias totais}}\right)$ de 66,5% e de Poder germinativo $\left(\frac{n^{\circ} \text{ de aveias germinadas}}{n^{\circ} \text{ de aveias totais}}\right)$ de 99,25%. Estes resultados para a aveia com casca da variedade URS, cultivada em 2012. E de acordo com os resultados, as sementes atingiram a conceituação desejada para seguirem para o processo de maltagem e posteriormente serem utilizadas no processo de extração e obtenção de compostos fenólicos.

4.5 OBTENÇÃO DE EXTRATOS

Em busca da obtenção dos antioxidantes fenólicos da aveia, e ainda dos exclusivamente encontrados em aveia, as avenantramidas, foram realizados diferentes experimentos de extração com diferentes matérias-primas. Os extratos obtidos das matérias-primas provindas da aveia: aveia descascada (AD), flocos de aveia (FA), *oat bran* (OB), aveia maltada (AM) e casca de aveia (CA) apresentaram-se de formas distintas de acordo com o método de extração utilizado. Foram utilizados quatro diferentes tipos de extração: extração utilizando o solvente orgânico etanol aquoso (80%) acidificado (pH 2) em banho-maria a 50°C, extração utilizando solvente orgânico etanol aquoso (80%) acidificado (pH 2) e com banho de ultrassom em temperatura ambiente, extração utilizando solvente supercrítico CO₂ e extração utilizando solvente supercrítica CO₂ com co-solvente etanol.

A FIGURA 38 representa o aspecto dos extratos conseguidos utilizando-se solvente orgânico etanol.

Figura 38 - Extratos obtidos através de extração com solvente orgânico etanol das matérias-primas AD, FA, OB, AM e CA.

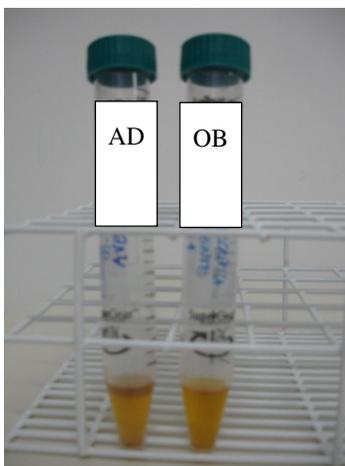


Como é possível observar na FIGURA 38, as extrações que utilizaram o etanol como solvente, foram obtidos extratos de colorações diferentes. Na extração que utilizou temperatura de 50°C em banho-maria, o maior destaque foi com relação à coloração da amostra CA,

bastante intensa e totalmente diferente das demais. Assim como há bastante diferença relacionando a AD e AM. As modificações de processo que a AM passou modificaram significativamente a sua coloração. Também é possível observar a maior quantidade de fundo do extrato AM. Isso se deve provavelmente aos amidos com baixo peso molecular que formaram durante a maltagem e foram também extraídos durante o processo de obtenção de antioxidantes. O fundo em todos os extratos podem ter sido decorrentes da precipitação das β -glucanas, já que as mesmas possuem esta característica em presença de álcoois. Na extração que utilizou banho de ultrassom, observou-se diferenças menores de coloração dos extratos. Todos de uma forma geral são mais claros que os obtidos pela extração com solvente orgânico. O que volta a acontecer nesta extração é novamente a grande quantidade de resíduo do extrato AM, notadamente, a extração com o banho de ultrassom novamente teve a capacidade de extrair os carboidratos mais solúveis da amostra.

A FIGURA 39, representa os extratos obtidos da extração utilizando solvente supercrítico CO_2 e co-solvente orgânico etanol.

Figura 39 - Extratos obtidos através de extração com solvente supercrítico CO_2 e co-solvente orgânico etanol a temperatura de 50°C das matérias-primas AD e OB.



Como pode-se visualizar acima, os extratos são bastante semelhantes, amarelados e não apresentam nenhum tipo de resíduo. Contudo, tanto os extratos da ESC e da ESC co-solvente apresentam uma característica bastante diferenciada dos demais extratos, a de serem

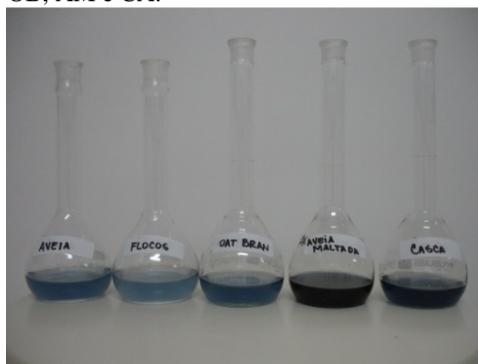
oleosos. Esta característica é comum aos extratos obtidos de ESC, ou seja, normalmente estes extratos são considerados como óleos essenciais obtidos das amostras. Notadamente, o que ocorre é a extração do óleo presente nas amostras e nele solúveis os compostos de características polares semelhantes. Neste tipo de extração, pelo solvente ser bastante seletivo, pode prejudicar a extração de compostos que não sejam lipossolúveis, como é o caso dos compostos fenólicos e sim auxiliar na melhor extração dos compostos lipossolúveis como os tocóis.

4.6 QUANTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS DAS EXTRAÇÕES UTILIZANDO SOLVENTE ORGÂNICO

O teste de Folin-Ciocalteu é popularmente reconhecido como o teste para medir o conteúdo total de fenóis. Na realidade mede a capacidade redutora das amostras. Outro ponto fraco são os interferentes não fenólicos conhecidos, entre eles, a vitamina C (OLIVEIRA *et al*, 2009). Para avaliação dos resultados utilizou-se uma curva padrão de ácido gálico. A equação referente à curva de calibração do ácido gálico é $A = 661,45C + 15,34$, e o coeficiente de correlação é $R^2=0,9998$. Os resultados foram expressos em Equivalentes de Ácido Gálico (mg EAG) por 100 gramas de amostra (100 g).

Na FIGURA 40 são ilustrados os resultados das reações de Folin-Ciocalteu para todas as matérias-primas. A reação de Folin-Ciocalteu para o extrato de aveia maltada (AM) foi a que apresentou coloração mais intensa seguida pela amostra de casca (CA). Estas colorações tem relação direta com o conteúdo de compostos fenólicos.

Figura 40 - Conteúdo reacional da análise de Folin-Ciocalteu para as matérias-primas AD, FA, OB, AM e CA.



4.6.1 Análise do conteúdo de compostos fenólicos

Numerosos métodos analíticos de determinação de compostos fenólicos têm sido publicados (ANTOLOVICH *et al*, 2002). O conteúdo de compostos fenólicos foi determinado através da Reação de Folin-Ciocalteu com leituras de absorbância realizadas em triplicatas de cada amostra. Com os resultados das leituras de absorbância encontrados, a média das três leituras teve seu valor subtraído do branco (feito com água destilada), e este aplicado na equação de calibração do ácido gálico, $A = 661,45C + 15,34$. Aonde que o fator “A” corresponde à média das absorbâncias e o fator “C” refere-se à concentração de compostos fenólicos encontrados. Os resultados são apresentados na TABELA 9, sendo expressos como a média dos valores C encontrados, mais ou menos, desvio padrão. O conteúdo de fenóis é dado em mg EAG/100 g amostra.

Tabela 9. Conteúdo de compostos fenólicos solúveis totais para todas as matérias-primas AD, FA, OB, AM e CA em experimentos de extração com solvente orgânico em banho-maria a 50°C e banho de ultrassom à temperatura ambiente.

| Extrações / Matérias-primas | Solvente orgânico em banho-maria 50°C | Solvente orgânico em banho ultrassom temperatura ambiente |
|--------------------------------|--|---|
| AD | 194,01 ^c ± 9,67 A | 81,53 ^c ± 5,84 B |
| FA | 156,74 ^c ± 12,61 A | 44,45 ^d ± 1,73 B |
| OB | 183,50 ^c ± 24,03 A | 78,74 ^c ± 4,37 B |
| AM | 1162,15 ^a ± 48,95 A | 281,36 ^a ± 12,29 B |
| CA | 316,81 ^b ± 3,97 A | 138,05 ^b ± 6,06 B |

Compostos fenólicos solúveis totais expressos como mg equivalente de ácido gálico (mg EAG) por 100 grama de amostra (g); os resultados apresentam-se como a média ± desvio padrão. E médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (comparação entre materiais) e maiúscula (comparação entre processos) na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

No que tange a análise relativa aos diferentes processos, os valores do conteúdo total de fenólicos mostram-se superiores na extração com solvente orgânico em banho-maria a 50°C do que para a extração com ultrassom à temperatura ambiente para todas as matérias-primas utilizadas. Existindo diferença significativa estatística no nível

de significância 5% entre os dois processos. Nestas extrações, como o solvente utilizado foi o mesmo, as condições de tempo, temperatura e o modo que os compostos fenólicos foram induzidos a solubilizarem é que determinaram estas diferenças. A temperatura utilizada na extração com solvente orgânico a 50°C foi superior a do ultrassom que foi realizada a temperatura ambiente. E deste modo, a extração com ultrassom, no caso de compostos fenólicos da aveia, mostrou-se menos eficiente. Então, pode-se notar que temperaturas brandas tem influência significativa na extração e solubilização de compostos fenólicos. E de acordo com BRAND-WILLIAMS *et al* (1995) o aumento da temperatura durante as extrações de compostos fenólicos tem a tendência de aumentar a atividade antioxidante.

Avaliando, para os casos da extração com solvente em banho-maria e extração com banho de ultrassom, pode-se observar que a amostra de aveia maltada (AM) obteve o maior percentual de compostos fenólicos em relação às demais amostras analisadas. Sendo que todas as demais frações de aveia estudadas apresentaram diferença estatística ($P \leq 0,05$) em relação ao malte.

A amostra maltada apresentou significativo aumento do conteúdo de fenólicos e, provavelmente, do conteúdo de avenantramidas. Pequena atenção tem sido dada aos efeitos que a germinação tem no conteúdo de compostos fenólicos na aveia, mas estudos têm mostrado que o conteúdo de avenantramidas, em alguns casos, com o aumento da atividade da enzima HHT, aumenta durante a maceração e germinação de grãos intactos (BRYNGELSSON *et al*, 2003). Semelhantemente ao que ocorre com a enzima lipase, o início do processo de formação de uma nova planta acentua também a ação da enzima HHT. Essa é responsável pela catálise da condensação final entre o ácido e o éster, consequentemente aumento o conteúdo de avenantramidas. Além de catalisar a fase final da biossíntese das avenantramidas, acredita-se que a enzima HHT é a razão limitante da produção de avenantramidas (ISHIHARA *et al*, 1999).

Dentre as frações do grão de aveia: casca, cariopse e o farelo, a casca apresentou maior concentração de fenóis seguida pela cariopse e após pelo farelo.

Para XING & WHITE (1997), o conteúdo total de fenólicos tem sido reportado como superior na casca de aveia do que na cariopse. EMMONS & PETERSON (1999) analisaram 5 variedades de aveia: na forma integral, somente a casca e a cariopse. O conteúdo total de fenólicos encontrados por eles na casca foi bastante semelhante ao do atual trabalho. Para as variedades Belle e Dane, 306 mg EAG/100 g e

308 mg EAG/100 g respectivamente para extração com solvente etanol 80%. Enquanto que no trabalho atual, o valor foi de 316 mg EAG/ 100 g no mesmo caso de extração. Já na análise da cariopse ou amostra AD, o valor encontrado foi de 194 mg EAG/100 g para a variedade URS em questão, que pode ser comparado com os valores encontrados para a variedade Dane de 209 mg EAG/100 g, porém esta, foi a que apresentou a menor concentração de fenólicos de todas as variedades analisadas que variaram até 294 mg EAG/ 100 g. SERPEN *et al* (2008) quantificou o conteúdo de fenólicos solúveis totais em diversos cereais, e para o caso da aveia descascada e moída, o valor encontrado foi de 285 mg EAG /100 g. As diferenças observadas no conteúdo de compostos fenólicos na cariopse descascada provavelmente seja devida à diferença de variedade analisada e de qualquer fator que envolva a sua cadeia produtiva e de transformação.

Em uma análise comparativa, considerando amostras que possuam maior quantidade de farelo ou amido em sua constituição, diferenças podem ser encontradas. Em trabalhos de IQBAL *et al* (2007 e 2005), nos quais foram analisadas amostras de farelo de trigo e farelo de arroz de diferentes genótipos, a composição de fenólicos encontrados na faixa de 268 mg EAG / 100 g foi observada para o trigo, e de 251 a 359 mg EAG / 100 g para o arroz. Contudo para LIYANA-PATHIRANA & SHAHIDI (2006), o mais alto conteúdo de compostos fenólicos no trigo é observado no germe, onde está o maior conteúdo de lipídios. Para PETERSON (2001), os compostos fenólicos da aveia estão associados principalmente ao pericarpo. Estudos de GRAY *et al* (2000), que extraiu lipídios polares com isopropanol e analisaram o conteúdo de compostos fenólicos totais utilizando a técnica de quimiluminescência em frações de aveia rica em amido e ricas em farelo, valores médios de 43 mg/kg e 82 mg/kg respectivamente foram encontrados. Estes resultados confirmam a afirmação dos autores de que frações ricas em fibras contém maior concentração de compostos fenólicos quando comparadas às frações ricas em amido. Porém, no estudo atual, diferentemente da maioria dos relatos, o *oat bran*, não apresentou considerável concentração de fenóis quando comparada à cariopse intacta. A fração rica em fibras (OB) apresentou uma das menores concentrações de fenólicos. Este resultado pode ser comparado com os obtidos por KLAJN (2011), que analisou frações de aveia da variedade URS 21 para dois diferentes tratamentos térmicos industriais. Um convencional e outro mais drástico. Os valores de composição fenólica total para todas as frações analisadas foram significante inferiores para as frações do tratamento mais drástico, inclusive a fração de farelo que apresentou

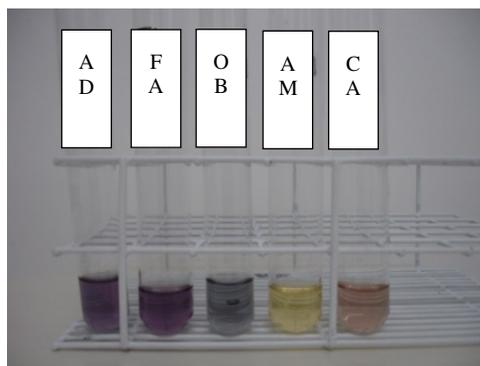
concentração de 717 mg EAG/100 g para o tratamento convencional e apresentou 493 mg EAG/100 g para o tratamento drástico. Com relação à este estudo, podemos concluir que o tratamento térmico que foi aplicado às amostras OB e FA analisadas, provavelmente tenha sido similar ao drástico aplicado por KLAJN (2011) que é de 110°C com tempo de retenção em coluna de 110 minutos. Os compostos fenólicos, em função de suas características químicas podem ser parcialmente solubilizados no vapor d'água durante o tratamento hidrotérmico da aveia (KLAJN, 2011), porém não indica necessariamente a redução da sua capacidade antioxidante *in vivo*, na mesma proporção. Diferenças também relacionadas com as variedades de aveia analisadas e toda a complexidade de sua produção desde a plantação até o processamento, também devem ser consideradas.

4.7 QUANTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS COM SOLVENTE ORGÂNICO

O método utilizado para avaliar a atividade antioxidante dos extratos das amostras de aveia, desenvolvido por BRAND-WILLIAMS *et al* (1995), avalia a atividade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•), que tem coloração púrpura e absorve em um comprimento de onda em torno de 516 nm. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar (R•), o DPPH• é reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H), de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento na banda de absorção, sendo a mesma monitorada pelo decréscimo da absorbância. O mecanismo da reação é baseado em transferência de elétrons de um composto antioxidante para um radical livre, enquanto a abstração de átomo de hidrogênio é uma reação marginal, pois a mesma acontece lentamente em solventes que estabelecem fortes ligações de hidrogênio. O método é influenciado pelo solvente e pelo pH das reações.

A avaliação dos resultados obtidos com a análise reacional do DPPH podem ser vistos representativamente na FIGURA 41 dos extratos obtidos com o solvente orgânico etanol. Nelas pode-se visualizar a coloração da reação de DPPH após o tempo de 30 minutos de reação na ausência de luz. A coloração amarela indica o maior potencial antioxidante.

Figura 41 - Conteúdo reacional da análise de DPPH para as matérias-primas AD, FA, OB, AM e CA.



Na FIGURA 41, dentre os extratos obtidos através de extração com solvente orgânico tanto utilizando temperatura de 50°C quanto à temperatura ambiente em ultrassom, é visível a atividade antioxidante mais acentuada do extrato de aveia maltada (AM), seguida pelo extrato da casca (CA).

4.7.1. Análise de atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada através da determinação da % de descoloração do DPPH, que pode ser expressa pela porcentagem por comparação com o branco.

Os resultados encontrados para a % de descoloração do DPPH estão apresentados na TABELA 10. Estes resultados foram calculados através da EQUAÇÃO 11 e expressam o quanto de coloração do reagente DPPH ainda resta após a reação com o antioxidante.

Tabela 10 - Porcentagem de descoloração (% descoloração do DPPH) para todas as matérias-primas AD, FA, OB, AM e CA em experimentos de extração com solvente orgânico em banho-maria a 50°C e banho de ultrassom a temperatura ambiente.

| Extrações / Matérias-primas | Solvente orgânico em banho-maria 50°C | Solvente orgânico em banho ultrassom temperatura ambiente |
|--------------------------------|--|---|
| AD | 18,31 ^b ± 2,99 A | 32,03 ^{bc} ± 4,30 B |

| | | |
|-----------|-----------------------------|-----------------------------|
| FA | 39,65 ^c ± 3,24 A | 37,31 ^c ± 1,77 A |
| OB | 20,15 ^b ± 4,92 A | 18,54 ^b ± 3,63 A |
| AM | 2,56 ^a ± 0,43 A | 3,88 ^a ± 2,15 A |
| CA | 18,77 ^b ± 4,03 A | 20,13 ^b ± 8,42 A |

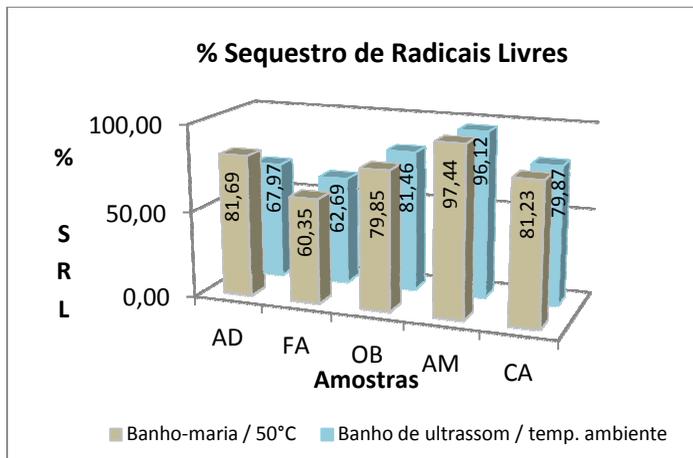
% de descoloração do DPPH expressos em %; os resultados apresentam-se como a média ± desvio padrão. E médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (comparação entre materiais) e maiúscula (comparação entre processos) na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A TABELA 10 mostra que estatisticamente para um nível de significância de 5%, os extratos relativos aos dois processos de extração não apresentam diferenças significativas na atividade antioxidante. Exceto para a amostra AD. Diferentemente do que ocorreu com o conteúdo de fenólicos dos extratos, onde os processos apresentaram diferenças estatísticas para todas as amostras analisadas.

Os resultados da atividade antioxidante também podem ser expressos pela Atividade Sequestrante de Radicais Livres de DPPH (%SRL), que é realizada por comparação com o branco, que quando apresentam baixa absorbância indicam maior atividade sequestrante de radicais livres (SANTOS *et al*, 2007). A FIGURA 42 apresenta agora os resultados expressos por % de Sequestro de Radicais Livres (% SRL).

Parâmetros de comparação para a aveia são difíceis de serem encontrados, devido ao vasto mundo de metodologias e diferentes formas de cálculo da atividade antioxidante. Porém, em avaliação semelhante feita para o potencial antioxidante da geleia real ao longo do tempo de armazenamento, BORGUINI *et al* (2012) encontrou máxima % de descoloração, aos 120 dias de estocagem, de 64,71% usando BHT como padrão, concluindo que a geleia real tem baixo potencial antioxidante. No trabalho de DUARTE-ALMEIDA *et al* (2006), que avaliou o potencial antioxidante de diversas frutas, mostrou que a acerola apresenta capacidade de cerca de 90% SRL quando comparado também com o BHT. Já no trabalho de STEVENSON *et al* (2008) citado anteriormente, o *oat bran* na forma normal e desengordurada apresentaram atividade antioxidante de 3,58 e 3,48 µmol Trolox/g.

Figura 42 - Resultados de Atividade Antioxidante expressos em % de Sequestros de Radicais Livres (%SRL) para os processos de extração com solvente orgânico e banho-maria à 50°C e solvente orgânico e banho de ultrassom à temperatura ambiente para as matérias-primas AD, FA, OB, AM e CA.



Analisando os dados é possível verificar que alguns dos extratos brutos de aveia que foram analisados têm atividade antioxidante bastante significativa como o da CA que chega a 81%, não apresentando diferenças estatísticas em relação à AD. A casca de aveia é um subproduto da indústria processadora de aveia, que apresenta baixíssimo valor de mercado, porém apresentou um dos maiores potenciais antioxidantes. Também o *oat bran* (OB) como já era esperado, apresentou considerável atividade antioxidante, devido à maioria dos compostos fenólicos estarem localizados no farelo (VERARDO *et al*, 2011). E a aveia maltada, que surpreendeu com altíssima atividade sequestrante de radicais, chegando a 97%, permanece inexplorada. A amostra FA foi a que apresentou menor %SRL, na faixa de 60%, semelhante aos valores encontrados por BORGUINI *et al* (2012) na geleia real. E de acordo com a pesquisa conduzida pela General Mills, a atividade antioxidante não é significativa para muitos compostos, mas os cereais apresentam notável teor de atividade antioxidante (MILLER *et al*, 2000).

4.8 EXTRATOS OBTIDOS COM FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

Estudos vêm demonstrando que a composição de diferentes ácidos fenólicos em amostras de aveia dependem do cultivar e dos tratamentos agrônômicos (DIMBERG *et al.*, 2005). Contudo, os compostos fenólicos na aveia, como em outros cereais, estão presentes na forma livre e na forma ligada. Geralmente, compostos fenólicos livres são extraídos com metanol, etanol ou acetona. Já os compostos fenólicos ligados são ligados à polímeros da parede celular por ligações éster e são extraídos por hidrólise alcalina ou ácida (NACZK & SHAHIDI, 2006).

Na literatura, porém, não há relatos de extração com fluidos supercríticos de amostras de aveia. Como este tipo de extração utiliza pressão e um fluido com alto potencial de extração, as extrações com fluido supercrítico CO₂ e a extração com fluido supercrítico CO₂ e co-solvente foram realizadas na tentativa obter os compostos fenólicos ligados da aveia.

A coloração dos extratos nos casos das extrações supercríticas, tanto para a amostra AD como para OB, é de característica leitosa com leve coloração azulada. Isso se deve à característica do extrato, que neste caso específico, era oleoso, sendo totalmente diferenciado dos extratos que foram obtidos com solvente orgânico. Nas amostras dos extratos com extração supercrítica com co-solvente, também é perceptível a característica leitosa do conteúdo das reações, porém, devido à utilização do etanol como co-solvente, esta característica é bastante reduzida e a coloração azulada é bastante perceptível.

A TABELA 11 apresenta os resultados do conteúdo de fenólicos relativos às extrações com solvente supercrítico CO₂ nas condições de 300 Bar e 50°C e com solvente supercrítico CO₂ e co-solvente etanol nas condições de 300 Bar e 50°C para as frações AD e OB

Tabela 11 - Conteúdo de compostos fenólicos solúveis totais para as matérias-primas AD e OB em experimentos de extração com CO₂ supercrítico e CO₂ supercrítico e co-solvente etanol.

| Extrações / Matérias-primas | ESC CO ₂ – 300 Bar e 50°C | ESC CO ₂ e co-solvente etanol – 300 Bar e 50°C |
|--------------------------------|---|--|
| AD | 109,67 ^a ± 3,30 A | 113,79 ^a ± 5,14 A |
| OB | 108,39 ^a ± 2,40 B | 121,81 ^a ± 2,81 A |

Conteúdo de compostos fenólicos totais pela análise de Folin-Ciocalteu; os resultados apresentam-se como a média ± desvio padrão. E médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (comparação entre materiais) e maiúscula

(comparação entre processos) na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

De acordo com os valores encontrados pela análise de Folin-Ciocalteu, para a amostra de AD não há diferenças estatísticas, do conteúdo fenólicos, entre os dois processos a que foi submetido. O que não ocorre com o OB, sendo que o conteúdo de fenóis obtidos na extração com co-solvente etanol foi superior à da extração sem co-solvente. Porém avaliando um mesmo processo para diferentes matérias-primas, observa-se que não houve diferenças estatísticas, para significância de 5%, na concentração de fenóis.

No trabalho de STEVENSON *et al* (2008), que utilizou extração tradicional com solvente etanol 100% em amostras de *oat bran*, encontrou conteúdo fenólico máximo de 11,5 mg EAG/g. Porém, quando primeiramente desengordurou a amostra utilizando extração supercrítica à temperatura ambiente, encontrou valores similares para etanol 50% e 100% na faixa de 9,0 mg EAG/g. Logo, o conteúdo oleoso extraído com o fluido supercrítico tem pequena quantidade de compostos fenólicos dissolvidos nele. Por este motivo, os valores de conteúdo fenólico observados para as extrações supercríticas, apresentam-se inferiores aos observados nas extrações que utilizaram solventes orgânicos. Os extratos obtidos com altas pressões apresentaram características mais oleosas, onde compostos como tocóis são solúveis e não compostos fenólicos. Outros trabalhos que utilizaram a extração supercrítica como meio para a obtenção de antioxidantes apresentam resultados diversos de acordo com o material utilizado. Foi relatada como pobre, por GOLI *et al* (2005), a extração de compostos fenólicos a partir de cascas de pistache. Em contraste, a extração de fenólicos tem sido bastante eficaz com a casca de cacau (ARLORIO *et al*, 2005), ervas (VÁGI *et al*, 2005) e com sementes de uva (MURGA *et al*, 2000).

Na reação de DPPH que determina a atividade antioxidante, notadamente ocorreu uma maior efetividade antioxidante, após 30 minutos, das amostras que foram obtidas com auxílio do co-solvente etanol. Os valores relativos à % descoloração do DPPH estão apresentados TABELA 12.

Neste caso específico da ESC, pode-se observar que não ocorreu significativa descoloração do radical DPPH•, mostrando deste modo pouca atividade antioxidante. Desta forma, pode-se concluir que houve o desengorduramento da amostra e consequente obtenção dos compostos

solúveis presentes neste óleo e não exatamente os compostos objetos da extração.

Tabela 12 - Porcentagem de descoloração (% descoloração do DPPH) para todas as matérias-primas AD e OB em experimentos de extração com solvente supercrítico CO₂ a 300 Bar e 50°C e solvente supercrítico CO₂ com co-solvente etanol a 300 Bar e 50°C.

| Extrações / Matérias-primas | ESC CO ₂ – 300 Bar e 50°C | ESC CO ₂ e co-solvente etanol – 300 Bar e 50°C |
|--------------------------------|---|--|
| AD | 65,05 ^a ± 5,79 A | 74, 76 ^a ± 22,85 A |
| OB | 55,02 ^a ± 0,84 A | 41,57 ^a ± 26,63 A |

% de descoloração do DPPH expressos em %; os resultados apresentam-se como a média ± desvio padrão. E médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (comparação entre materiais) e maiúscula (comparação entre processos) na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Algumas variáveis relativas à extração podem ter interferido no desempenho dos extratos obtidos por ESC da aveia. Sendo a aveia o cereal com grande concentração de lipídios e de acordo com as características da ESC a obtenção de óleos essenciais, o que ocorreu no processo de ESC da aveia foi principalmente a extração dos óleos da mesma. Junto com os óleos, alguns compostos fenólicos polares, os quais apresentaram a %SRL, assim como os tocóis lipossolúveis. A ESC consegue um excelente desempenho com extratos que são realmente solúveis em CO₂ em condições supercríticas, o que não ocorreu com a aveia. Talvez, novo processo deva ser testado: antes de fazer a ESC das amostras de aveia, as mesmas devem passar por processo de extração dos lipídios. Desta forma, outros compostos que são mais dificilmente extraídos passam a ter a preferência do solvente ao invés dos lipídios.

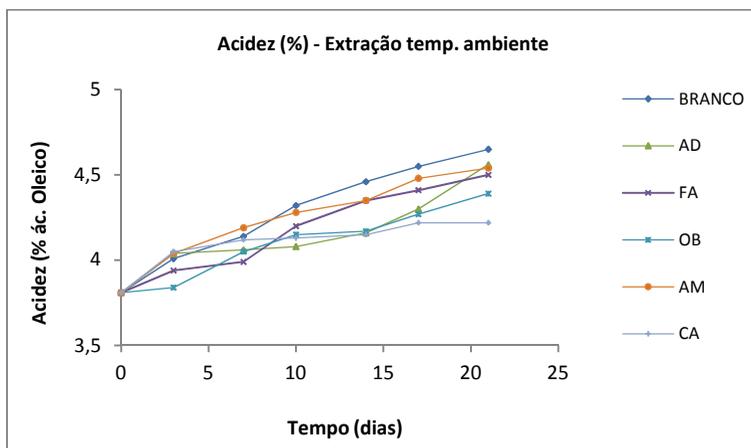
4.9 TESTE ACELERADO DE ESTUFA – SCHAAL OVEN TEST

Segundo ANTONIASSI (2001), testes sob condições padronizadas de oxidação acelerada, são uma forma de verificar a estabilidade dos óleos ou a sua suscetibilidade à oxidação. E no caso específico, verificar a funcionalidade dos extratos de aveia na proteção contra a oxidação destes óleos. A oxidação hidrolítica ou rancidez é acelerada pela luz ou pela temperatura e acarreta a decomposição dos glicérides e a consequente formação de ácidos livres, acidificando o

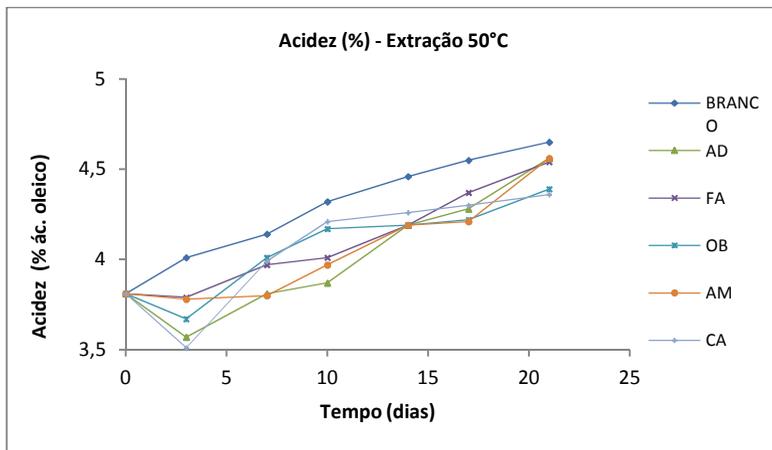
óleo. A acidez é um importante fator relacionado à qualidade de óleos. Segundo a RDC nº 270 de 22 de setembro de 2005, a legislação que regula os requisitos específicos para a comercialização de óleos diz que para óleos não refinados a acidez máxima aceita é de 4,0 mg KOH/g, e de peróxidos é de 15 meq/g.

Na FIGURA 43 (a) aparecem os resultados de acidez para os óleos em que foram aplicados os extratos de aveia obtidos através de extração com solvente orgânico em banho de ultrassom à temperatura ambiente. Assim como a acidez da amostra controle. E na FIGURA 43 (b), a acidez dos óleos aonde foram aplicados os extratos obtidos da extração o com solvente orgânico em banho-maria a 50°C.

Figura 43 - Comparação entre resultados de Acidez (%) com utilização dos extratos obtidos através do (a) processo extração com solvente orgânico em banho de ultrassom a temperatura ambiente e (b) extração com solvente orgânico em banho-maria a 50°C, para as matérias-primas AD, FA, OB, AM, CA. E comparação com amostra de Branco.



(a)



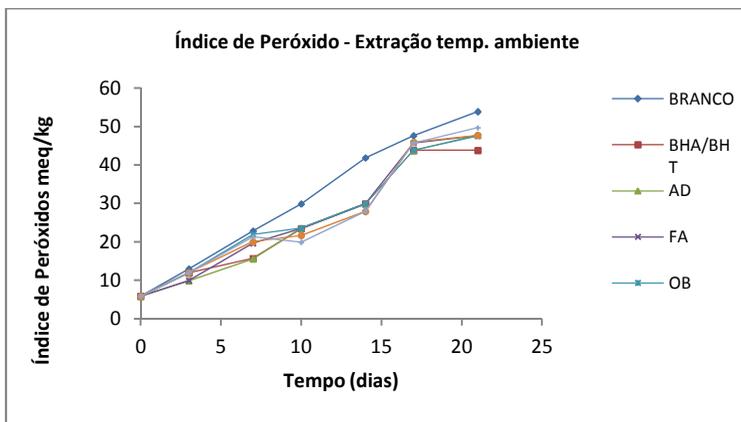
(b)

Comparativamente, os resultados de acidez das amostras em que foram aplicados os extratos de aveia foram inferiores aos da amostra aonde não houve aplicação. Isto nos demonstra que estes extratos apresentam sim atividade antioxidante considerada em óleos.

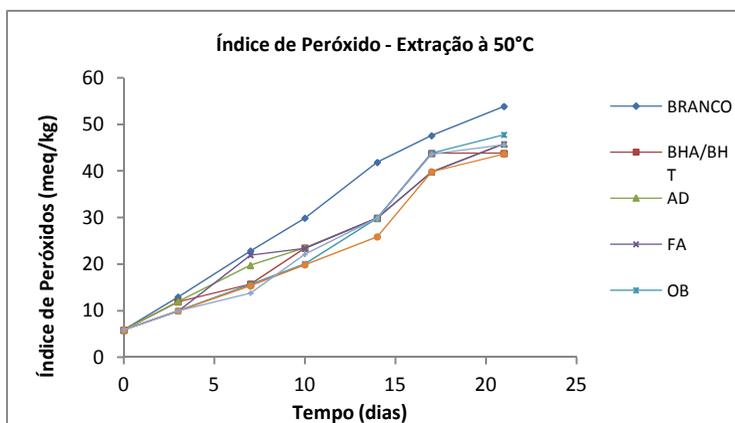
Surpreendentemente, em ambos os casos de extração, o óleo em que foi aplicado o extrato de AM não obteve bons resultados. A amostra AM, em todos os testes realizados sempre obteve o melhor desempenho. Contudo o extrato de CA obteve o menor nível de acidez. Com isso podemos de certa forma comprovar que possivelmente a AM apresente realmente maior quantidade de avenantramidas devido à ativação enzimática ocorrida durante o processo de maceração e germinação do grão. E a casca, possivelmente apresente uma grande variedade de antioxidantes que não só compostos fenólicos, capazes desta forma, de serem mais ativos em óleos. O extrato de OB também apresentou bons resultados na proteção contra a acidez. E comparativamente, entre os extratos obtidos dos dois diferentes métodos de extração empregados, o processo com solvente orgânico em banho-maria a temperatura de 50°C obteve extratos que de certa forma retardaram mais a quebra dos glicerídeos, ou seja, retardaram a acidificação da amostra.

E com relação aos níveis de peróxidos ou os compostos intermediários instáveis que podem ser facilmente detectado pelos *off flavors* liberados, tem seus resultados apresentados nas FIGURAS 44 (a) para a extração com solvente orgânico em banho de ultrassom à temperatura ambiente e (b) para a extração com solvente orgânico em banho-maria a 50°C.

Figura 44 - Comparação entre resultados de Índice de Peróxidos (meq/kg) com utilização dos extratos obtidos através do (a) processo extração com solvente orgânico em banho de ultrassom à temperatura ambiente e (b) extração com solvente orgânico em banho-maria a 50°C, para as matérias-primas AD, FA, OB, AM, CA. E comparação com amostra de Branco e com aplicação de mix de antioxidantes BHA/BHT.



(a)



(b)

Analisando os gráficos é visível que o índice de peróxidos aumenta com o passar dos dias e com a exposição à temperatura. KLAJN (2011) aplicou 2500 mg/kg de extratos de aveia de dois diferentes tratamentos hidrotérmicos em óleos de soja. No 6º dia de

exposição à temperatura de 63°C o índice de peróxidos foi de 10,5 meq/kg para o extrato de tratamento mais brando. Semelhantemente LUZIA & JORGE (2009), avaliaram óleo de soja com adição de 2400 mg/kg de extrato de sementes de limão galego exposto a 60°C por 12 dias, encontrando para o 6º dia de estocagem índice de peróxidos de 10,54 meq/kg. No atual trabalho, os valores encontrados para o 7º dia foram relativamente superiores aos observados na literatura. Para o extrato CA de extração à 50°C foi obtido 13,8 meq/kg, e para o extrato de FA também de extração à 50°C, 21,95 meq/kg, sendo os casos citados os extremos. Contudo, diferentemente dos estudos citados, o nível inicial de peróxidos (tempo de 0 dias) era superior. Neste caso, o tipo de extração pode ter influenciado. A prensa extrusora na qual foi realizada a extração aquece a soja por atrito na hora de extrair o óleo, desta forma acelerando a oxidação do produto.

Como pode-se observar pelos gráficos das FIGURAS 44 (a) e (b), todos os extratos seguiram comportamento semelhante em relação ao índice de peróxidos. Como uma forma comparativa utilizou-se um mix de antioxidantes sintéticos BHA/BHT na proporção citada por KLAJN (2011) e testada em laboratório com % de descoloração semelhante à dos extratos brutos. Esta proporção foi testada com a metodologia já citada de atividade antioxidante (DPPH), e obteve como resultado de % de descoloração 12,71%. Na aplicação, os valores de peróxidos do óleo adicionado de extratos de aveia foram inferiores ao do branco que é isento de antioxidante e muito semelhantes aos da amostra continha o mix de antioxidantes sintéticos BHA/BHT. Esta constatação revela que os extratos obtidos da aveia possuem capacidade de inibir a oxidação lipídica em proporções similares ou até superiores a dos antioxidantes sintéticos, durante períodos de estresse térmico. Conclusão semelhante a do trabalho de REHMAN (2006), que aplicou extrato da casca de citrus ao óleo de milho na concentração de 2000 mg/kg. O extrato obteve efeito semelhante ao do antioxidante sintético BHT na concentração de 200 mg/kg na proteção contra a formação de peróxidos em testes de estocagem acelerada a 45°C por 6 meses.

Resultados melhores poderiam ter sido obtidos se os compostos ativos tivessem sido purificados. Porém, a constatação de que é maior a demora para que o nível de peróxido aumente é de suma importância para que estudos posteriores sejam desenvolvidos.

5. CONCLUSÕES

O uso de aveia e seus derivados ou subprodutos apresenta-se bastante promissor devido à sua elevada quantidade de compostos antioxidantes e principalmente elevada qualidade e eficiência destes compostos. Dentre os diversos métodos de extrações testados, o que utilizou solvente orgânico etanol aquoso 80% acidificado à temperatura 50°C foi a que apresentou melhor desempenho, tanto no que diz respeito ao conteúdo de fenólicos como em atividade antioxidante. A extração que utilizou solvente orgânico etanol aquoso 80% utilizando ultrassom em banho à temperatura ambiente também mostrou resultados expressivos.

O uso de fluido supercrítico nas extrações (300 Bar, 50°C), não alcançou os resultados esperados. Não houve favorecimento da extração de compostos fenólicos e conseqüentemente a sua atividade antioxidante foi baixa. Somente ocorreu a extração do conteúdo lipídico das amostras de aveia. A utilização de co-solvente etanol na ESC mostrou a sua importância na obtenção de compostos fenólicos quando ocorre a utilização de fluidos em estado supercrítico.

Os diversos processos aos quais as amostras utilizadas para a extração foram submetidos mostram interferência significativa na ação antioxidante. O processo de maltagem foi o mais eficiente quanto ao teor final de fenólicos e, portanto, de acordo com a literatura, aumento considerável de avenantramidas quando comparado à uma amostra padrão. Contudo, o tratamento térmico de inativação enzimática aos quais os produtos de aveia são submetidos antes do consumo, altera a quantidade dos compostos fenólicos solúveis totais, diminuindo-os.

A amostra AM apresentou a maior concentração de compostos fenólicos seguida pela CA dos extratos obtidos com o solvente etanol à 50°C. Contudo, as atividades antioxidantes foram significativas nas amostras AM, AD, CA e OB para ambas as extrações que utilizaram o solvente etanol 80%.

A amostra CA, um subproduto do processamento da aveia com baixo valor comercial e grande volume, apresentou valores totais de compostos fenólicos e a atividade antioxidante bastante significativos quando comparados com as demais amostras utilizadas, desta forma sendo viável a sua utilização e conseqüentemente a sua valorização.

Todos os extratos obtidos apresentaram atividade de proteção contra rancificação acelerada quando comparados com amostra sem aplicação de extratos. E atividade antioxidante semelhante quando comparados à antioxidantes sintéticos.

Desta forma, a aveia apresenta-se como uma alternativa viável para a extração de antioxidantes. Matéria-prima abundante e com larga aplicação: de atividades funcionais, benéficas à saúde até aplicação em alimentos contra reações de degradação.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como o trabalho atual se configurou como sendo inicial na área de exploração de antioxidantes provindos de cereais, seguem algumas opções para implementação de pesquisas futuras:

- ✓ Sintetização de avenantramidas e identificação das mesmas no extratos obtidos de aveia e de seus derivados ou subprodutos;
- ✓ Extração de antioxidantes que se apresentam de forma ligada dentro do cereal aveia, através de hidrólises ácidas ou básicas;
- ✓ Purificação e aplicação dos antioxidantes fenólicos obtidos da aveia em alimentos e verificação da estabilidade oxidativa dos mesmos;
- ✓ Utilização de extração supercrítica na obtenção de compostos fenólicos da aveia utilizando um espectro mais amplo de variação das variáveis possível de controle;
- ✓ Estudo e quantificação de antioxidantes lipofílicos ou hidrofílicos de diferentes variedades de aveia;
- ✓ Pesquisa e quantificação antioxidantes fenólicos em outras porções da aveia como folhas e caules.

REFERÊNCIAS

- ALRAHMANY, R.; TSOPMO, A. Role of carbohydrases on the release of reducing sugar, total phenolics and on antioxidant properties of oat bran. *Food Chemistry* 132: 413–418. 2012.
- ANDREO, D., JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. B. CEPPA, Curitiba v. 24, n. 2, p. 319-336. 2006.
- ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.D.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. *The analyst*, v. 127, p. 183-198. 2002.
- ANTONIASSI, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. *Boletim Ceppa*, v.19, n.2, p.353-380. 2001.
- AOCS - Official Method Ca 5a-40. Free Fatty Acids. BS 684: Section 2.10 Determination of acidity. Acid value and Mineral Acidity. Method 3. For Fats Other than Oxidizable or Polymerized Fats, Linseed Oil, Lanolin or Wool Fat. ISO / R 660. Crude Vegetable Oils and Fats – Determination of Acidity. 1976.
- ARLORIO, M., COÏSSON, J. D.; TRAVAGLIA, F.; VARSALDI, F.; MIGLIO, G.; LOMBARDI, G.; *et al.* Antioxidant and biological activity of phenolic pigments from *Theobroma cacao* hulls extracted with supercritical CO₂. *Food Research International*, 38, 1009–1014. 2005.
- BAMFORTH, C. W., BARCLAY, A. H. P. Malting technology and the uses of malt. P. 297-354 Em *Barley: Chemistry and Technology*. A. W. MacGregor and R. S. Bhatta, eds. *Am. Assoc. Cereal Chem.*: St. Paul, MN. 1993.
- BENELLI, P. Agregação de valor ao bagaço de laranja (*Citrus sinensis* L. *osbeck*) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração. Florianópolis – Universidade Federal de Santa Catarina. Dissertação de Mestrado. 2010.
- BERNA, A.; TÁRREGA, A.; BLASCO, M.; SUBIRATS, S. Supercritical CO₂ extraction essential oils from Orange peel; effect of the height of the bed. *The Journal of Supercritical Fluids* 18:227-237. 2000.

- BEWLEI, J. D.; BLACK, M. Seeds: Physiology of Development and Germinations, second ed. *Plenum Press*. New York. 1994.
- BORGUINI, R. G.; DUARTE, F.; ALVES, M. L. T. M.; TEIXEIRA, E. W.; MORETI, A. C. C. C. Avaliação do potencial antioxidante da geleia real ao longo do tempo de armazenamento. *Biotemas*, 25 (3). 257-263. 2012.
- BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, v.28, p.25-30. 1995.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução – RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005, publicada no DOU em 23/09/2005.
- BRATT, K., SUNNERHEIM, K., BRYNGELSSON, S., FAGERLUND, A., ENGMAN, L., ANDERSSON, R.E., DIMBERG, L.H. Avenanthramides in oats (*Avena sativa* L.) and structure-activity relationships. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. V. 51, n.3, p.594–600. 2003.
- BRECHT, J. K.; RITENOUR, M. A.; HAARD, N. F.; CHISM, G. W. Fisiologia pós-colheita de tecidos vegetais comestíveis. Cap. 17, p. 759-817 em DAMODARN, S.; PARKIN, K. L. 2010.
- BRIGGS, D. E.; HOUGH, J. S. STEVENS, R.; YOUNG, T. W. Malting and Brewing Science. Second ed. Chapman & Hall, London, U. K. 1981.
- BROWN, C. M.; CRADDOCK, J. C. Oil content and groat weight of entries in the world oat collection. *Crop Science*. 12:514-515. 1972.
- BRUNE, M.; ROSSANDER-HULTÉN, L.; HALLBERG, L.; GLEERUP, A.; SANDBERG, A. S. Human iron absorption from breads: Inhibiting effects of cereal fiber, phytate and inositol phosphates with different numbers of phosphate group. *Journal of Nutrition*. 122:442-449. 1992.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. *Journal of Food Engineering* . 67:21-33. 2005.

BRYNGELSSON, S.; ISHIHARA, A.; DIMBERG, L. H. Levels of avenanthramides and activity of hydroxycinnamoyl-CoA:hydroxyanthranilate N-hydroxycinnamoyl transferase (HHT) in steeped or germinated oat samples. *Cereal Chemistry* 80, 356-360. 2003.

BRYNGELSSON, S.; MANNERSTEDT-FOGELFORS, B.; KAMAL-ELDIN, A.; ANDERSSON, R.; DIMBERG, L. H. Lipids and antioxidants in groats and hulls of Swedish oats (*Avena sativa* L.). *Journal of Science and Food Agriculture*. 82:606-614. 2002.

BUTT, M. S., TAHIR-NADEEM, M., KHAN, M.K.I., SHABIR, R., BUTT, M.S. Oat: unique among the cereals. *European Journal of Nutrition*, v. 47, n.2, p. 68-79. 2008.

CARDOZO, T. M.; SCHUCH, L. O. B.; ROSENTHAL, M. A. Efeito do retardamento da colheita sobre a qualidade fisiológica de sementes de aveia-branca (*Avena sativa* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, v. 24, n. 1, p. 331-338. 2002.

CATERDAY - www.carterday.com

CARRILHO, E.; TAVARES, M. C. H.; LANÇAS, F. M. Fluidos supercríticos em química analítica. I. Cromatografia com fluido supercrítico: conceitos termodinâmicos. *Química nova*, v. 24, n. 4, p. 509-515. 2001.

CHEN, C. Y.; MILBURY, P. E.; COLLINS, F. W.; BLUMBERG, J. B. Avenanthramides are bioavailable and have antioxidant activity in humans after acute consumption of an enriched mixture from oats. *Journal of Nutrition*. 137:1375-1382. 2007.

COLLINS, F.W. Oat phenolics: avenanthramides, novel substituted Ncinnamoylanthranilate alkaloids from oat groats and hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v.37, n. 1, p. 60-66. 1989.

COLLINS, F. W. Oat phenolics: biochemistry and biological functionality. Cap. 10. P. 157-217 em WEBSTER, F. H.; WOOD, P. J.

Oats Chemistry and Technology, Second Edition AACC International. 2011.

COLLINS, F. W.; PATON, D. Methods of producing stable bran and flour products from cereal grains. U.S. patent 5,169,660. 1992.

CONAB

<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?t=&a=1252&filtrar=1&f=1&p=67&e=0&d=0&m=0&s=0&ac=0&tps=0&lvs=0&l=0&ed=0&i=>
ACESSADO EM 15/04/2012

CONDE, E.; CADAHÍA, E.; GARCIA-VALLEJO, M. C.; SIMÓN, B. F. Polyphenolic composition of *Quercus suber* cork from diferente Spanish provenances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 46, n. 8, p. 3166-3171. 1998.

COOPER & KNUTSON. Fourier transform infrared spectroscopy investigations of protein structure. Em J. HERRON, W. JISKOTT & D. CROMMELIN (Eds.), *Physical methos to characterize pharmaceutical proteins* (pp. 101 – 142). New York: *Plenum Press*. 1995.

CREMER, D. R.; KALETUNÇ, G. Fourier transform infrared microspectroscopic study of the chemical microstructure of corn and oat flour-based extrudates. *Carbohydrate Polymers* 52:53-65. 2003.

DALBY, A.; TSAI, C. Y. Lysine and tryptophan increasing during germination of cereal grains. *Cereal Chemistry*. V. 53, n. 2, p. 222-226. 1976.

DELCOUR, J. A.; HOSENEY, R. C. Principles of Cereal Science and Technology. Cap. 1. *Structure of Cereal*. Third Edition, p. 1-22. 2010.

DEL VALLE, J. M.; AGUILLERA, J. M. Review: high pressure CO₂ extraction. Fundamentals and applications in the food industry. *Food Science and Technology International*, London, v. 5, p. 1-24. 1999.

DE MUNTER, J. S. L.; SPIEGELMAN, D.; FRANZ, M.; VAN DAM, R. M. Whole grain, bran, and germ intake and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study and systematic review. *PLOS Medicine* 4:1385-1395. 2007.

DE SÁ, R.M.; FRANCISCO, A.; SOARES, F.C.T. Concentração de beta-glucanas nas diferentes etapas do processamento da aveia. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.18, p.425-427. 1998.

DÍAZ-REINOSO, B.; MOURE, A.; DOMÍNGUES, H.; PARAJÓ, J. C. Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 54, p. 2441-69, 2006.

DIMBERG, L. H.; GISSEN, C.; NILSSON, J. Phenolic compounds in oat grains (*Avena sativa* L.) grown in conventional and organic systems. *Ambio* 34, 331-337. 2005.

DIMBERG, L. H. & JASTREBOVA, J. Quantitative Analysis of Oat Avenanthramides, pg 113-127. in SHEWRY, P. R. & WARD, J. L.. Analysis os Bioactive Components in Small Grain Cereals. 2009.

DIMBERG, L. H.; MOLTEBERG, E. L.; SOLHEIM, R.; FROLICH, W. Variation in oat groats due to variety, storage and heat treatment. I: Phenolic compounds. *Journal of Cereal Science.*, 68, 365-370. 1996.

DIMBERG, L. H.; THEANDER, O.; AND LINGNERT, H.; Avenanthramides – A group of phenolic antioxidants in oats. *Cereal Chemistry*. 70 (6): 637-641. 1993.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenol antioxidants. *Trends Food Science & Technology*, Cambridge, v. 17, p. 505-512. 2006.

DORN, V. New machinery in oat milling. Association of operative millers: Bulletin. p. 5493-5502. 1989.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno / ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 26(2): 446-452. 2006.

DUVE, K. J.; WHITE, P. J. Extraction and identification of antioxidants in oats. *Journal of American and Oil Chemistry. Soc.* 68:365-370. 1991.

EKSTRAND, B.; GANGBY, I.; AKESSON, G.; STOLLMAN, U.; LINGNERT, H.; DAHL, S. Lipase activity and development of

rancidity in oats and oat products related to heat treatment during processing. *J. Cereal Science*. 17:247-254. 1993.

EMMONS, C. L.; PETERSON, D. M. Antioxidant activity and phenolic contents of oat groats and hulls. *Cereal Chemistry*, 76:902-906. 1999.

EMMONS, C. L.; PETERSON, D. M.; PAUL, G. L.; Antioxidant activity and phenolic content of oat as affected by cultivar and location. *Crop Science* 41, 1676-1681. 1999.

ESPINOZA, P. J. D; VARGAS, A; RODRIGUEZ, J. G. C.; GARCIA, A. M. A. Mathematical modeling of caffeine kinetic during solid-liquid extraction of coffee beans. *Journal of Food Engineering*, 81 -72- 78. 2007.

FABIAN, H.; SCHULTZ, C. P. Fourier transform infrared spectroscopy in peptide and protein analysis. 2000. Em R. A. MEYERS (Ed.) *Encyclopedia of analytical chemistry* (p. 5779-5803). Chichester: Wiley.

FAGERLUND, A.; SUNNERHEIM, K.; DIMBERG, L. H. Radical-scavenging and antioxidant activity of avenanthramides. *Food Chemistry* 113: 550-556. 2009.

FARDET, A.; ROCK, E.; REMESY, C. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo? *Journal of Cereal Science*. 48:258-276. 2008.

FEDERIZZI, L. C. & ALMEIDA, J. Análise de alguns parâmetros de qualidade do grão de aveia. Em REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, p. 49-50. 1998.

FELLOWS, P. *Food Processing Technology - Principles and Practice*. 2 ed. Boca Raton, Cap. 6, p. 1-30: Separation and concentration of food components. 2000.

FERREIRA, S. R. S.; NIKOLOV, Z. L.; DORAISWAMY, L. K.; MEIRELES, M. A. A.; PETENATE, A. J. Supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 14, pg. 235-245. 1999.

FOOD INGREDIENTS - <http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf> - Acesso em 20/09/2012.

FOWLER, J. J.; SILVERBERG, N. Active natural have a key role in atopic dermatitis. Botanical ingredients: powered by nature, proven by scienc. p. 8-10. 2009.

FUJITA, A.H., FIGUEROA, M.O.R. Composição centesimal e teor de beta-glucanas em cereais e derivados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.23, p.116-120. 2003.

FULCHER, R. G.; O'BRIEN, T. P.; WONG, S. I. Microchemical detection of niacin, aromatic amine, and phytin reserves in cereal bran. *Cereal Chemistry*. 58:130-135. 1981.

GALLIARD, T. Rancidity in cerreal products. Em: ALLEN, J.C.; HAMILTON, R.J. Rancidity in Foods. London: *Applied Science Publishers*, p.109-130. 1983.

GOLI, A. H.; BARZEGAR, M.; SHARI, M. A. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92, 521–525. 2005.

GÓMEZ-ALONSO, S.; MANCEBO-CAMPOS, V.; SALVADOR, M.D.; FREGAPANE, G. Evolution of major and minor components and oxidation indices of virgin olive oil during 21 months storage at room temperature. *Food Chemistry* . v. 100 p. 36–42. 2007.

GORDON, M. H. The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In: HUDSON, B. J. F. Food Antioxidants. London: Elsevier. Applied Science, p. 1-18. 1990.

GRAY, D.A.; AUERBACH, R.H.; HILL, S.; WANG, R.; CAMPBELL, G.M.; WEBB, C. SOUTH, J.B. Enrichment of oat antioxidant activity by dry milling and sieving. *Journal of Cereal Science*. v.32, n.1 ,p. 89-98. 2000.

GRAY, D.A.; CLARKE, M.J.; BAUX,C.; BUNTING, J.P.; SALTER, A.M. Antioxidant activity of oat extracts added to human LDL particles and in free radical tapping assays. *Journal of Cereal Science*. v.36, n.7 , p. 209-218. 2002.

HAAN, A. B.; GRAAUW, J.; SCHAAP, J. E.; BADINGS, H. T. Extraction of flavors from milk fat with supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids* . 3:15-19. 1990.

HART, F. Caracterização química da cultivar UPF-18 e estudo de farinhas estabilizadas termicamente por vapor e água quente. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2001.

HARTUNIAN-SOWA, M.; WHITE, P. J. Characterization of starch isolated from oat groats with different amounts of lipid. *Cereal Chemistry*. 69:521-527. 1992.

HAYDANEK, M. G., Jr.; MCGORRIN, R. J. Oat flavor chemistry: principles and prospects. P. 335-369. 1986. em *Oats: Chemistry and Technology*. F. H. WEBSTER, e. Am. Assoc. Cereal Chem.: St. Paul, MN.

HEINIÖ, R. L.; LEHTINEN, P.; OKSMAN-CALDENTY, K. M.; POUTANEN, K. Differences between sensory profiles and development of rancidity during long-term storage of native and processed oat. *Cereal Chemistry*. 79:367-375. 2002.

HENEEN, W. K.; BANÁS, A.; LEONOVA, S.; CARLSSON, A. S.; MARTTILA, S.; DEBSKI, H.; STYMNE, S. The distribution of oil in the oat grain. *Plant Signal. Behave.* 4:55-56. 2009.

HOLLIDAY, D. L. Phenolic compounds and antioxidant activity of oat bran by various extractions methods. 13 p. Thesis (Master of Science) – Nicholls State University. 2006.

HERRERO, M.; CIFUENTES, A. IBANEZ, E. Sub and supercritical fluid extraction of functional ingredients from diferente natural sources: plants, food-by-products, algae na microalgae: a review. *Food Chemistry*, London, v. 98, n. 1, p. 136-148. 2006.

HOSENEY, R. C. Principles of Cereal Science and Technology – A General Reference on *Cereal Science*. 1986. American Association of *Cereal Chemistry*.

HOSENEY, R.C. Princípios de ciências e tecnologia de los cereales. Zaragoza : Acribia. 1991.

HOSSAIN, M. B.; BARRY-RYANA, C.; MARTIN-DIANAA, A. B.; BRUNTONB, N. P. Optimasation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. *Food Chemistry* 126: 339–346. 2011.

HOSSEINI, E.; KADIVAR, M.; SHAHEDI, M. Optimization of enzymatic activities in malting of oat. *Engineering and Technology*, 67, P. 766-771. 2010.

HUTCHINSON, J. B.; MARTIN, H. F.; MORAN, T. Location and destruction of lipase in oats. *Nature* 167:758-759. 1951.

HUTCHINSON, J. B.; MARTIN, H. F. The measurement of lipase activity in oat products. *Journal of Science and Food Agriculture*. 3:312-315. 1952.

IBGE -

<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?t=2&z=t&o=11&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=> ACESSADO EM 15/04/2012

IBGE – www.sidra.ibge.gov.br

IBGE

http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201212_5.shtm - acesso 07/02/2013.

IÇEN, H.; GÜRÜ, M. Extraction of caffeine from tea stalk and fiber wastes using supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids* 50: 225-228. 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ –Métodos físico-químicos para análise de alimentos. IV Edição. 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ –Normas Analíticas; métodos químicos e físicos para a análise de alimentos. 4ª ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. 2008.

IQBAL, S.; BHANGER, M. I.; ANWAR, F. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. *Food Chemistry*, Oxford, v. 93, n.2, p. 265-272. 2005.

IQBAL, S.; BHANGER, M. I.; ANWAR, F. Antioxidant properties and components of bran extracts from selected wheat varieties commercially available in Pakistan. *LWT*, v. 40, p. 361-367. 2007.

ISHIHARA, A.; OHTSU, Y.; IWAMURA, H. Biosynthesis of oat avenanthramide phytoalexins. *Phytochemistry*. 50, 237-242. 1999.

JENNINGS, V. M.; SHIBLES, R. M. Genotypic differences in photosynthetic contributions of plant parts to grain yield in oats. *Crop Science*. 8:173-175. 1968.

KAUKOVIRTA-NORJA, A; WILHELMSSON, A.; POUTANEN, K., Review. Germination: a means to improve the functionality of oats. *Agricultural and Food Science in Finland* 13, 100-112. 2004.

KENT, N. L. Technology of Cereals. An introduction for students of food science and agriculture. Third Edition. Chapter 13 – Oats. 1964.

KING, M. B.; BOTT, T. R. Extraction of natural products using near-critical solvents. Cap. 1 – Introduction. p. 1-33 em KING, M. B.; BOTT, T. R. Blacie Academic & Professional. Ed. 1. 1993.

KING, M. B.; CATCHPOLE, O. Physico-chemical required for the design of near-critical fluid extraction process. Cap.7. pg.184-231 in KING, M. B.; BOT, T. R.. Extraction of natural products using near-critical solvents. 1993.

KLAJN, V. M. Tese: Efeitos do processamento hidrotérmico em escala industrial sobre parâmetros de composição química, estabilidade conservativa e atividade antioxidante em aveia. Universidade Federal de Pelotas. 2011.

KLOSE, C.; SCHEHL, E.; ARENDT, E. K. Fundamental study on protein changes taking place during malting of oats. *Journal of Cereal Science* 49 83-91. 2009.

LANÇAS, F. M. Extração com fluido supercrítico: *quo vadis?*. *Revista Analytica*. n. 02, p. 30-37. 2002.

LARSON, R.A. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*. 27 (4), 969 – 978. 1988.

LARSSON, M.; SANDBERG, A. S. Phytate reduction in oats during malting. *J. Food Science*. 57:994-997. 1992.

LEHTINEN, P., KAUKOVIRTA-NORJA, A. Oats lipids, enzymes, and quality. Chapter 9, pg. 143 in WEBSTER, F. H.; WOOD, P. J. *Oats Chemistry and Technology*, Second Edition AACC International. 2011.

LEHTINEN, P.; LAAKSO, S. Role of lipid reactions in quality of oat products. *Journal of Agriculture and Food Science*, vol. 13, n. 1-2, pp. 88-99. 2004.

LI, L.; HARFLETT, C.; BEALE, M. H.; WARD, J. L. Phenolic Acid. Cap. 5. P. 41-57 em SHEWRY, P. R.; WARD, J. L. *Analysis of bioactive components in small grain cereal – AACC International*. 2009.

LIU, L.; ZUBIK, L.; COLLINS, F. W.; MARKO, M.; MEYDANI, M.; The antiatherogenic potential of oat phenolic compounds. *Atherosclerosis* 175:39-49. 2004

LIYANA-PATHIRANA, C. M.; SHAHIDI, F. Antioxidant properties of comercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 477-485. 2006.

LUQUE-GARCÍA, J. L.; CASTRO, M. D. L. Ultrasound: a powerful tool for leaching. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 22, n. 1, p. 41-47. 2003.

LUZIA, D.M.M.; JORGE, N. Atividade antioxidante do extrato de sementes de limão (*Citrus limon*) adicionado ao óleo de soja em teste de estocagem acelerada. *Química Nova*, v. 32, n. 4, p. 946-949. 2009.

MACARTHUR, L. A.; D' APPOLONIA, B. L. Comparison of oat and wheat carbohydrates. II. Starch. *Cereal Chemistry*. 56:458-461. 1979.

MAIA, G. A.; CALVETE, Y. M. A.; TELLES, F. J. S. Eficiência da farinha desengordurada de gergelim como complemento proteico da farinha extrudada de caupi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 34, n. 7, p. 1295-1303. 1999.

MALKKI, Y.; VIRTANEN, E. Gastrointestinal effects of oat bran and oat gum – A review. *Levensm. Wiss. Technol.* 34:337-347. 2001.

MARCÍAS-SHÁNCHEZ, M. D.; MANTELL, C.; RODRÍGUEZ, M.; MARTÍNEZ DE LA OSSA, E.; LUBIÁN, L. M.; MONTERO, O.. Supercritical fluid extraction of carotenoids and chlorophyll *a* from *Nannochloropsis gaditana*. *Journal of Food Engineering* 66:245-251. 2005

MARINI, L.J.; GUTKOSKI, L.C.; ELIAS, M.C. Efeito da secagem intermitente na estabilidade de grãos de aveia. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v.8, n.3 p.260-267. 2005.

MARINOVA, E. M.; YANISHLIEVA, N. V. I. Antioxidant activity of extracts from selected species of the family *Lamiaceae* in sunflower oil. *Food Chemistry*, London, v. 58, n. 3, p. 245-248. 1997.

MATSUKAWA, T.; ISOBE, T.; ISHIHARA, A.; IWAMURA, H. Occurrence of avenanthramides and hydroxyanthranilate *N*-hydroxycinnamoyltransferase activity in oat seeds. *A Journal of Bioscience* 55, 30-36. 2000.

MAYAMA, S.; TANI, T.; MATSUURA, Y.; UENO, T. The production of phytoalexins by oat *Avena sativa* in response to crown rust *Puccinia coronate* f. sp. *Avenae. Physiology of Plant Pathology*. 19:217-226. 1981.

McCLEARY, B.V.; MUGFORD, D.C. Determination of β -glucan in barley and oats by streamlined enzymatic method: summary of collaborative study. *Journal of AOAC International*, v. 80, n.3, p. 580-583. 1997.

MELECCHI, M. I. S. Caracterização química de extratos de *Hibiscus tiliaceus* L: Estudo comparativo de métodos de extração. Porto Alegre: Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2005.

MELLEN, P. B.; LIESE, A. D.; TOOZE, J. A.; VITOLINS, M. Z.; WAGENKNECHT, L. E.; HERRINGTON, D. M. Whole-grain intake and carotenoid artery atherosclerosis in a multiethnic cohort, the insulin resistance atherosclerosis study. *American Journal of Clinical Nutrition*. 85:1495-2007.1502.

MEZZOMO, N. Óleo de amêndoa de pêssego: avaliação da técnica de extração, da qualidade dos extratos e parâmetros para ampliação de escala. Florianópolis: Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos. 2008.

MICHIELIN, E. M. Z. Obtenção de extrato de erva baleeira (*Cordia verbenácea* D. C.) por diferentes técnicas: medida de atividade biológica, modelagem matemática e determinação do equilíbrio de fases. Florianópolis: UFSC, Dissertação Mestrado em Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos. 2009.

MICHIELIN, E. M. Z.; BRESCIANI, L. F. V.; DANIELSKI, L.; YUNES, R. A.; FERREIRA, S. R.S. Composition profile of horsetail (*Equisetum giganteum*L.) oleoresin: comparing SFE and organic solvents extraction. *Journal of Supercritical Fluids* 33:131-138. 2005.

MILLER, S. S.; FULCHER, R. G.; SEN, A.; ARNASON, J. T. Oat endosperm cell walls I. Isolation, composition, and comparison with other tissues. *Cereal Chemistry*. 72:421-427. 1995.

MILLER, S. S.; FULCHER, R. G. Microstructure and Chemistry of the oat kernel. 2011. Cap. 5, pag 77 Em WEBSTER, F. H.; WOOD, P. J. Oats Chemistry and Technology, Second Edition AACC International.

MILLER, H. E.; RIGELHOF, F.; MARQUART, L.; PRAKASH, A.; KANTER, M. Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. *Journal of the American college of Nutrition* 19:312-319. 2000.

MIRA, G. S.; GRAF, H.; CÂNDIDO, L. M. B. Revisão. Visão retrospectiva em fibras alimentares com ênfase em betaglucanas no

tratamento do diabetes. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. vol. 45, n. 1. 2009.

MOHAMED, R. S. Extração e fracionamento de produtos de ocorrência natural com fluidos supercríticos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Vol. 17 n. 4. Campinas. 1997.

MORRIS, E. R. Phytate and dietary mineral bioavailability. Em *Phytic Acid: Chemistry and Applications*, E Graf (Ed.), p. 5. *Pilatus Press*, MN. 1986.

MOYLER, D. A. Oleoresins, tinctures, extracts, Ch. 3m. *Food Ingredients* (Ed. P. R. Ashurst), Blackie. 1991.

MOYLER, D. A. Extraction of flavours and fragrances with compressed CO₂ em KING, M. B.; BOTT, T. R. Extraction of natural products using near-critical solvents. Blackie Academic & Professional. Ed. 1. 1993.

MOLTEBERG, E. E.; SOLHEIM, R., DIMBERG, L. H.; FRÖLICH, W. Variation in oat groats due to variety, storage and heat treatment. II. Sensory quality. *Journal Cereal Science*. 24:273-282. 1996.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H. NÚÑEZ, M. J.; PARAJÓ, J. C. Natural Antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, London, v. 72, n. 2, p. 145-171. 2001.

MURGA, R.; RUIZ, R.; BELTRÁN & CABEZAS, J. L. Extraction of natural complex phenols and tannins from grape seeds by using supercritical mixtures of carbon dioxide and alcohol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3408–3412. 2000.

NACZK, M. & SHAHIDI, F. Extraction and analysis of fenolic in foods. *Journal of Cromatography A*, v.1054, n.1/2, p.411-424. 2004.

NACZK, M. & SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. v. 41, n.1, p.1523-1545. 2006.

O'CONNOR, J.; PERRY, H. J.; HARWOOD, J. L. Solubilization and studies of cereal lipases. *Biochem. Soc. Trans*. 17:687-688. 1989.

OLIVEIRA, D. A. Caracterização fitoquímica e biológica de extrator obtidos de bagaço de uva (*Vitis vinífera*) das variedades Merlot e Syrah. Dissertação. Florianópolis – Universidade Federal de Santa Catarina. 2010.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, A. S.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*. Vol. 32, No. 3, 689-702. 2009.

OZBEN, T. Free radical, oxidative stress and antioxidants. Pathological and Physiological Significance, Plenum Press, New York. 1998.

PALMER, G. H. Response of cereal grains to gibberellic acid. *J. Inst. Brew.* 76:378-380. 1970.

PALMER, G. H. Cereal Science and Technology – Aberdeen University Press, Grã-Bretanha. 1989.

PARK, K. J. *et al.* Conceitos de processo e equipamentos de secagem. Campinas: Unicamp, 127p. 2007.

PARR, A. J.; BOLWELL, G. P. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 80, p. 985-1012. 2000.

PASSOS, C. P.; SILVA, R. M., DA SILVA, F. A.; COIMBRA, M. A.; SILVA, C. M. Supercritical fluid extraction of grape seed (*Vitis vinífera* L.) oil. Effect of the operating conditions upon oil composition and antioxidant capacity. *Chemical Engineering Journal* 160: 634-640. 2010.

PBQP – PROGRAMA BRASILEIRO DA QUALIDADE E PRODUTIVIDADE.. Regras para Análise de Sementes. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária – Governo do Brasil. 1992

PEARSON, D. The Chemical Analysis of Foods. 6 ed., p. 173. 1970.

- PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International*, v. 39, p. 791-800. 2006.
- PERRUT, M. Supercritical fluid applications: industrial development and economic issues. *Supercritical fluid applications: industrial development and economic issues 1*. 2000.
- PERVA-UZUNALIC, A.; SKERGET, M.; KENEZ, Z.; WEINREICH, B.; OTTO, F.; GRÜNER, S. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry* 96: 597–605. 2006.
- PETERSON, D. M. Malting oat: Effects on chemical composition of hull-less and hulled genotypes. *Cereal Chemistry*. 75:230-234. 1998.
- PETERSON, D. M. Oat tocopherols: concentration and stability in oat products and distribution within the kernel. *Cereal Chemistry*, 72, 21-24. 1995.
- PETERSON, D. M. Oat antioxidants. *Journal of Cereal Science* 33, 115-129. 2001.
- PETERSON, D.M. & DIMBERG, L. H. Avenanthramide concentration and hydroxycinnamoyl-CoA: hydroxyanthranilate N-hydroxycinnamoyltransferase activities in developing oats. *Journal of Cereal Science*. v.47, n.1, p.101-108. 2008.
- PETERSON, D. M.; EMMONS, C. L.; HIBBS, A. Phenolic antioxidants and antioxidant activity in pearling fractions of oat groats. *Journal of Cereal Science* 33:97-103. 2001.
- PETERSON, D.M.; HAHN, M.J.; EMMONS, C.L. Oat avenanthramides exhibit antioxidant activities in vitro. *Food Chemistry*. v.79, n.4 ,p.473–478. 2002.
- PETERSON, D. M.; QURESHI, A. A. Genotype and environment effects on tocopherols in barley and oats. *Cereal Chemistry*. 70:157-162. 1993.

PETERSON, D. M.; SENTURIA, J.; YOUNGS, V. L.; SCHRADER, L. E. Elemental composition of oat groats. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 23:9-13. 1975.

PETERSON, D.M., WESENBERG, D.M., BURRUP, D.E., ERICKSON, C.A. Relationships among agronomic traits and grain composition in oat genotypes grown in different environments. *Crop Science*. v.45, n.3 ,p.1249–1255. 2005.

PETERSON, D. M.; WOOD, D. F. Composition and structure of high-oil oat. *Journal of Cereal Science*. 26:121-128. 1997.

PIETTA, P-G. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, v. 63, n. 7, p. 1035-1042. 2000.

PIMENTEL, C. V. M. L.; FRANCKI, K. M.; BOIAGO, A. P. Alimentos Funcionais – Introdução às principais substâncias bioativas em alimentos. 1ª ed., *Metha*, p. 95. 2005.

PRIME, P. B.; PARSON, J. Distribution of lipids in embryonic axis, bran-endosperm, and hull fractions of hullless barley and hullless oat grain. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 27:813-815. 1979.

POMERANZ, Y.; & SHANDS, H. L. Gibberellic acid in malting of oats. *Journal of Food Science*. 39:378-380. 1974.

POMPEU, D. R.; SILVA, E. M.; ROGEZ, H. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. *Bioresource Technology* 100: 6076–6082. 2009.

PORTAL SÃO FRANCISCO - www.portalsaofrancisco.com.br

POUTANEN, K. Healthgrain: EU approach to use more grains for health maintenance. *Cereal Foods World Suppl*. 54:A9. 2009.

QUÍMICA NOVA INTERATIVA - <http://qnint.sbq.org.br/qni/>

REHMAN, Z. Citrus peel extract: a natural source of antioxidant. I, v. 99, n. 3, p. 450-454. 2006.

REVERCHON, E.; DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *Journal of Supercritical Fluids*. v. 38, p. 146-166. 2006.

REVISTA FI

<http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf> - Dossiê Antioxidantes. Food Ingredients Brasil. Nº 6. 2009 – Acesso em 06/02/2013.

RODRIGUES, R. F. Extração da cumarina a partir das sementes da Emburana (*Torresea cearensis*) utilizando dióxido de carbono supercrítico. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Tese. 2005.

ROSSI, J. A. J.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enol. Vitic.* v. 16, p. 144-58. 1965.

RUFINO, M.S.M., ALVES, R.E., BRITO, E.S., MORAIS, S.M., SAMPAIO, C.G., PÉREZ-JIMÉNEZ, J., SAURA-CALIXTO, F.G. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH Comunicado técnico *on line* EMBRAPA Agroindústria Tropical, nº 127. 2007.

RYAN, D; KENDALL, M.; ROBARDS, K. Bioactivity of oats as it relates to cardiovascular disease. *Nutr. Res. Rev.* 20:147-162. 2007.

SANDBERG, A. S.; SVANBERG, U.. Phytate hydrolysis by phytase in cereals. Effect on in vitro estimation of iron availability. *Journal of Food Science*. 56:1330. 1991

SANTOS *et al.*, Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade do café (*Coffea arabica*). *Quimica Nova*. 30, 604-610. 2007

SCHATZKIN, A.; PARK, Y.; LEITZMANN, M. F.; HOLLENBECK, A. R.; CROSS, A. J. Prospective study of dietary fiber, whole grains foods, and small intestinal cancer. *Gastroenterology* 135:1163–1167. 2008.

SERPEN, A., GÖKMEN, V., PELLEGRINI, N., FOGLIANO, V. Direct measurement of the total antioxidant capacity of cereal products. *Journal of cereal Science*, v. 48, p. 816-820. 2008.

SHEWRY, P. R.; PIIRONEN, V.; LAMPI, A. M., NYSTROM, L.; LI, L.; RAKSZEGI, M.; FRAS, A.; BOROS, D.; GEBRUERS, K.; COURTIN, C. M.; DECOUR, J. A.; ANDERSSON, A. A. M.; DIMBERG, L.; BEDO, Z.; WARD, J. L. Phytochemical and fiber components in oat varieties in the healthgrain diversity screen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 9777-9784. 2008.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. S. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymol* 299:152-178. 1999.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144 e 158. 1956.

SHULERUD. *Cereal Chemistry*, 9, p. 129. 1932.

STEVENSON, D. G.; INGLETT, G. E.; CHEN, D.; BISWAS, A.; ELLER, F. J.; EVANGELISTA, R. L. Phenolic content and antioxidant capacity of supercritical carbon dioxide-treated and air-classified oat bran concentrate microwave-irradiated in water or ethanol at varying temperatures. *Food Chemistry* 108: 23-30. 2008.

SL ALIMENTOS – www.slalimentos.com.br

SUN, T., XU, Z., GODBER, J.S; PRINYAWIWATKUL, W. Capabilities of oat extracts in Inhibiting cholesterol and long chain fatty acid oxidation during heating. *Cereal Chemistry*. 83(4):451-454. 2006.

SUPOVA, J.; POKORNY, J.; JANICEK, G. The chemical components of oat and its products. II. Thermostable antioxidants of oat. 1959. Em WEBSTER, F. H.; WOOD, P. J. Oats Chemistry and Technology, Second Edition AACC International. 2011.

TAYLOR, L. T. Supercritical Fluid Extraction. John Wiley & Sons Inc., Canada, 180 p. 1996.

TEMELLI, F. Perspectives on supercritical fluid processing of fats and oils. *Journal Supercrit. Fluids*, oi:10.1016/j.supflu.2008.10.014. 2008.

- TELLO, J.; VIGUERA, M.; CALVO, L. Extraction of caffeine from Robusta coffee (*Coffea canephora* var. Robusta) husks using supercritical carbon dioxide. *Journal Supercritical Fluids* 59 53-60. 2011.
- TIAN, L. L.; WHITE, P. J. Antioxidant activity of oat extract in soybean and cottonseed oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71:1079-1086. 1994.
- TIWARI, U.; CUMMINS, E. Applied nutritional investigation – meta-analysis of the effect of β -glucan intake on blood cholesterol and glucose levels. *Nutrition* 27:1008-1016. 2011.
- VÁGI, E.; RAPAVI, E.; HADOLIN, M.; VÁSÁRHELYNÉ PERÉDI, K.; BALAZS, A.; BLÁZOVICS, A.; *et al.* Phenolic and triterpenoid antioxidants from *Origanum majorana* L. herb and extracts obtained with different solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 17–21. 2005.
- VALENTINE, J. Naked oats. P. 504-532 Em: The oat crop: production and utilization. R. W. Welch, ed. Chapman and Hall: London. 1995.
- VELLOSO, C.B.O. & FEDERIZZI, L.C. Delimitação preliminar da cadeia da aveia branca para consumo humano no Brasil. Em REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 20, Pelotas, 21/23 mar. 2000. Resultados Experimentais. Pelotas: EMBRAPA/UFPe1, p.181-183. 2000.
- VERARDO, V.; SEREA, C.; SEGAL, R.; CABONI, M. F. Free and bound minor polar compounds in oats: different extraction methods and analytical determinations. *Journal of Cereal Science*, 54: 211-217. 2011.
- XING, Y.; WHITE, P. J. Identification and function of antioxidants from oat groats and hulls. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 74, 303-307. 1997.
- WANG, L. Z.; WHITE, P. J. Structure and properties of amylose, amylopectin, and intermediate materials of oat starches. *Cereal Chemistry*. 71:443-450. 1994.

WELCH, R. W. The development of rancidity in husked and naked oats after storage under various conditions. *Journal of Science and Food Agriculture*. 28:269-274. 1977.

WELCH, R. W. Nutrient composition and nutritional quality of oats and comparisons with other cereals. Cap. 6, pg 95-107 in WEBSTER, F. H.; WOOD, P. J. Oats Chemistry and Technology, Second Edition AACC International. 2011.

WETZEL, D. L. Molecular mapping of grain with a dedicated integrated Fourier transform infrared microspectrometer. Em Food Flavors, ingredients and compositions (p. 679) Amsterdam: Elsevier. 1993.

WETZEL, D. L.; FULCHER, R. G. Fourier transform infrared microspectrometry of food ingredients. Em G. Charalambous (Ed.), Flavors and off-flavors (p. 485) Amsterdam: Elsevier. 1990.

WETZEL, D. L. & REFFNER, J. A. Using spatially resolved Fourier transform infrared microbeam spectroscopy to examine the microstructure of wheat kernels. *Cereal Foods World*, 38(1), 9-20. 1993.

WHITE, D. A.; FISK, I. D.; GRAY, D. A. Characterization of oat (*Avena sativa* L.) oil bodies and intrinsically associated E-vitamins. *Journal of Cereal Science*. 43:244-249. 2006.

WOOD, P. J.; FULCHER, R. G. Interaction of some dyes with cereal β -D-glucans. *Cereal Chemistry*. 55:952-966. 1978.

WOOD, P.J.; BRAATEN, J.T.; SCOTT, F.W.; RIEDEL, K.D.; WOLINETZ, M.S.; COLLINS, .W. Effect of dose and modification of viscous properties of oat gum on plasma and insulin following an oral glucose load. *Brit. J. Nutr.*, v.72, p.731-743. 1994.

YONEL, Y.; OHINATA, H.; YOSHIDA, R.; SHIMIZU, Y.; YOKOYAMA. Extraction of ginger flavor with liquid or supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids* 8:156-161. 1995.

YOUNGS, V. L. Protein distribution in the oat kernel. *Cereal Chemistry*. 49:407-411. 1972.

YOUNGS, V. L.; PÜSKÜLCÜ, M.; SMITH, R. R. Oat lipids. 1. Composition and distribution of lipid components in two oat cultivars. *Cereal Chemistry*. 54:803-812. 1977.

ZELENY, L.; COLEMAN, D. A. *Cereal Chemistry*, 15 p. 538. 1938.

ZHOU, J. R.; ERDMAN, J. W. Phytic acid in health and disease. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35:495-508. 1995.

ZHOU, K.; YU, L. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 37: 717–721. 2004.

