

Seme di guaranà (*Paullinia cupana* Kunth) della regione di Maués, Amazzonia, Brasile: studio di alcune caratteristiche chimiche

W. Gomes da Silva^{1,2,*}
P. Rovellini²
L. Folegatti²
P. Fusari²
S. Venturini²
D. Baglio²

¹ Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal do Amazonas
Manaus, AM, Brasil

² INNOVHUB
Stazioni Sperimentali per l'Industria S.r.l.
Area Oli e Grassi – Milano

(*) AUTORE CORRISPONDENTE:
Via Spezzaferri, 6
26900 Lodi, Italia
E-mail: 037134100@iol.it

Guaranà (*Paullinia cupana* Kunth). Maués region, Amazonia, Brazil: study of same chemical characteristics.

Guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) is a climbing evergreen plant originated in the Amazonia forest and belonging to the Sapindaceae family. In particular, the pulverised seed is used in foods, cosmetics and pharmaceuticals and it is also exported. The objective of this research is the chemical characterisation of guarana cultivated in the Maués region, Amazon, Brazil, by means of specific analytical methodologies that can define the minced quality obtained from this product. For seeds, the oil content, moisture, and ashes were determined obtaining values ranging between 2.6-3,8%, 10.1-11,8% and 1.2-1.6%, respectively, while the raw fibre and dietary content, showed values ranging between 2.7-4.4% and 56.5-57.9%, respectively. Proteins, total reducing sugars and free and total amino acids had values ranging between 12.4-13.4%, 0.185-0,324 g/100g and 4.296-4.874 g/100 g of sample, respectively. Fatty acids showed a composition with oleic acid as the predominant component and a ratio between unsaturated and saturated fatty acids of 80/20 whereas sterols showed the presence of beta-sitosterol as the majority constituent, followed by campesterol, campestanol and stigmasterol.

Caffeine content was analysed by HPLC comprising between 3.54 and 4.65%. Tocopherols content was analysed by HPLC and showed values comprising between 961 and 1321 mg/kg. Alpha-tocopherylquinone was analysed under the same analytical conditions and the content ranged from 24 to 53 mg/kg. The oxidised fatty acids content ranged from 17.31 and 22.27 mg/100 mg of oil, the conjugated fatty acids trienic content was 0.09-0.16 mg/100 mg of oil, and dienic ranged from 1.02% to 1.36 mg/100 mg of oil while for contaminants, polycyclic aromatic hydrocarbons were considered and quantified by HPLC showing values ranging from 26.5 and 415.6 mg/kg.

Keywords: *Paullinia cupana*, aminoacids, fatty acids, sterols, tocopherols, oxidised fatty acids, polycyclic aromatic hydrocarbons.

INTRODUZIONE

In Brasile nello Stato dell'Amazzonia, il guaranà (*Paullinia cupana* Kunth) appartenente alla famiglia delle Sapindacee viene coltivato principalmente nella Regione di Maués. Si tratta di una pianta rampicante sempreverde che allo stato spontaneo può arrivare a 10/13 metri di altezza; tuttavia quando viene coltivata in aree aperte arriva fino alla dimensione di 2/3 metri, il che facilita la raccolta dei frutti. Il frutto, in forma di capsula deiscente di colore rosso arancio, quando è maturo si apre, lasciando intravedere il seme che è avvolto parzialmente da una polpa bianca la quale viene rimossa durante le fasi del processo, liberando il seme che è ricoperto da una pellicola nera brillante (*rama*).

La polvere ottenuta dai semi di guaranà è una fonte di caffeina, di tocofero-

li, di acidi grassi insaturi oleico, vaccenico, linoleico, γ -linolenico, α -linolenico, eicosenoico e ricca di fibra dietetica/alimentare. Gli effetti osservati sull'uomo sono legati soprattutto alla presenza della caffeina. Il guaranà veniva usato dagli indios dell'Amazzonia come tonico-stimolante per aumentare la resistenza fisica durante le giornate di caccia e di pesca. Viene utilizzato anche industrialmente per la preparazione di polvere e di capsule usate nella medicina alternativa e infine nella produzione di una bibita frizzante chiamata guaranà, molto utilizzata e apprezzata in tutto il Brasile e in altri paesi per il sapore dolciastro e l'effetto dissetante [1, 2, 3].

Le prime notizie sull'esistenza del guaranà si ebbero da Bettendorf che lo trovò tra gli indios Adirà durante il viaggio realizzato nel 1669 attraverso il Rio delle Amazzoni. Secondo Ducke il guaranà è stato classificato per la prima volta dai botanici Humboldt e Bonpland nel sec. XIX durante un viaggio nell'Orinoco Venezuelano come *Paullinia cupana*. In seguito, Watzel, Figueiredo, Brito e Pantajos attribuiranno la classificazione della *Paullinia cupana* a Kunth che nel 1824 realizzò un viaggio attraverso i territori abitati dalla tribù dei Maués, in Amazzonia, dove si trova grande piantagione [4].

I semi di guaranà grezzi (*rama*) sono essiccati secondo il metodo tradizionale: inizialmente sotto i raggi del sole e poi sottoposti a essiccazione/torrefazione in un padellone (*tacho*) di metallo o in forno di mattoni riscaldati col fuoco.

La produzione annuale di seme grezzo di guaranà nel Brasile nel 2015 è stata pari a 10.691 tonnellate ed è in continuo aumento. Il 70% viene utilizzato dalle industrie di bevande analcoliche ed il restante 30% è distribuito nel mercato interno ed esterno, in polvere, compresse, sciroppo e sotto forma di un bastone che viene grattugiato [1-6]. Attualmente l'Istituto Embrapa dell'Amazzonia Occidentale studia nuove varianti genetiche di guaranà, sviluppate attraverso il processo di clonazione, selezionando specie resistenti all'antracnosi, malattia a cui è soggetta la pianta, e cercando di migliorare la produttività dei frutti fino a cinque volte rispetto alla specie tradizionale nativa.

Il seme viene utilizzato tradizionalmente dalla popolazione come stimolante del sistema nervoso, grazie alla presenza di caffeina, e come alimento dissetante ed energetico nella forma di bevanda rinfrescante analcolica conosciuta in tutto il Brasile come guaranà. Nella medicina popolare è impiegato come analgesico, antipiretico, antifermentativo, diuretico, ipocolesterolemico e nell'insufficienza circolatoria in generale. Il suo impiego si sta sempre più diffondendo anche in settori quali l'alimentazione e la cosmetica e nella farmacologia [1-5, 7-11].

Lavori di letteratura mostrano effetti benefici sui pazienti in trattamento chemioterapico con l'uso concomitante di guaranà [7, 8, 9, 11].

In relazione alle teorie sugli effetti fondamentali dei tocoferoli, nella conservazione dell'integrità delle mem-

brane cellulari e nella riduzione dei radicali liberi, l'uso del guaranà potrà essere considerato efficace per la presenza e l'elevata concentrazione di tali antiossidanti [10, 12, 13, 14]. Il *mito* del guaranà: "elisir di lunga vita e afrodisiaco" potrà essere quindi sostenuto per la sua concentrazione significativa di tocoferoli. Il presente lavoro ha avuto come oggetto la caratterizzazione chimica di alcuni dei componenti del seme di guaranà grezzo (*rama*), coltivato e proveniente dalla Regione di Maués, Amazzonia, Brasile e dei componenti di guaranà in forma di polvere acquistato nel mercato municipale Adolpho Lisboa di Manaus.

MATERIALI E METODI

Sono stati utilizzati 3 diversi materiali di guaranà (*Paullinia cupana* Kunth): 1 (varietà tipica/nativa), 2 (ibrido/cultivar BRS) e 3 (biologico), sotto forma di seme grezzo (*rama*), nella quantità di 1,5 kg per ciascuno, provenienti da 3 diverse aree della regione di Maués, Amazzonia, Brasile, raccolti nel periodo 2009-2010.

I semi sono stati sbucciati e trasformati in polvere con l'ausilio di un mulino elettrico (Typ A1, IKA, Staufen, Germany), in laboratorio.

Il materiale 4 è stato invece acquistato già sotto forma di polvere nel mercato municipale Adolpho Lisboa di Manaus, Amazzonia, Brasile. I materiali sono stati conservati in frigorifero alla temperatura di 4°C fino al momento dell'analisi.

METODI DI LAVORO

DETERMINAZIONE DELLA COMPOSIZIONE CENTESIMALE

L'umidità dei semi è stata determinata secondo il metodo UNI 22601:1992 [18], le ceneri totali mediante il metodo UNI 22602:1992 [19], la sostanza grassa è stata estratta utilizzando il metodo UNI 22605:1992 [20], mentre la fibra grezza (Weende) è stata determinata con il metodo UNI 22606:1992 [21].

Gli zuccheri totali e gli zuccheri riducenti dopo inversione (Luff Schoorl) e la fibra alimentare totale, sono stati determinati, rispettivamente, secondo i metodi UNI 22608:1992 e UNI 22607:1992 [22, 23]. Gli zuccheri totali e gli zuccheri invertiti sono stati espressi in % di glucosio. L'amido e le maltodestrine sono stati ottenuti per differenza. La fibra dietetica è rappresentata dalla differenza a 100 della somma delle percentuali delle proteine, ceneri, umidità, sostanza grassa, zuccheri totali dopo inversione e amido e maltodestrine presenti nel campione.

La determinazione delle proteine è stata realizzata con il metodo di Kjeldahl, utilizzando un mineralizzatore con distillatore della Velp Scientifica, Italia (Mod DKG UDK 142) secondo il metodo UNI 22604:1992 [24]. Il valore percentuale delle proteine grezze è stato calcolato moltiplicando il tenore di azoto totale per il fattore convenzionale di trasformazione 6,25.

DETERMINAZIONE DELLA CAFFEINA MEDIANTE HPLC

Per la determinazione della caffeina è stato utilizzato un metodo interno: brevemente 1 g (\pm 0,0001 g) di guaranà in polvere è stato pesato e disciolto in 5 mL di NH_4OH 4M. Dopo la dispersione della polvere il solvente è stato evaporato in bagnomaria alla temperatura di 70°C e il residuo portato a volume a 100 mL con acqua per HPLC. In seguito, 1 mL della soluzione, è stato filtrato su filtro a membrana in PVDF 0,45 mm e 20 μL sono stati iniettati nel sistema HPLC costituito da: pompa quaternaria (P4000 Spectra System, San José Ca, USA), colonna analitica RP C18, 250 \times 4,6 mm, 5 μm (Spherisorb ODS2, 5 μm , 25 cm, 4 mm CROM-Germany), rivelatore UV-DAD (6000 LP Spectra System, San José, CA, USA), λ 272 nm, operando con un sistema di gradiente costituito da una fase mobile di acetonitrile (A), MeOH (B) H_2O + 0,2% H_3PO_4 (C). Programma di eluizione: 0 min. 2% A, 2% B, 96% C; 30min. 20% A, 20% B, 60% C; 31 min. 50%, 50% B, 0% C; 41 min. 2% A, 2% B, 96% C; 50 min. 2% A, 2% B, 96% C. I risultati sono stati calcolati secondo una curva di calibrazione realizzata con uno standard esterno di caffeina nell'intervallo di concentrazione tra 0,00 e 0,01 mg/mL.

DETERMINAZIONE DEGLI AMMINOACIDI

Per l'analisi degli amminoacidi è stato utilizzato un analizzatore automatico di amminoacidi Biochrom-30 (Erreci, Milano, Italia) che prevede la separazione dei singoli amminoacidi per cromatografia a scambio cationico e la derivatizzazione post-colonna mediante reazione con ninidrina. Per la separazione dei singoli amminoacidi è stata utilizzata una colonna al sodio a scambio ionico termostata e dei tamponi al sodio a diversi valori di pH e di forza ionica.

I tamponi utilizzati sono stati: tampone sodio citrato pH 2,20, 0,20 M, tampone sodio citrato pH 3,20, 0,20 M, tampone sodio citrato pH 4,25, 0,20 M, tampone sodio citrato pH 6,45, 1,20 M, soluzione sodio idrossido 0,40 M.

Per la filtrazione delle soluzioni campioni sono stati usati filtri a membrana in nitrato di cellulosa a grado di porosità 0,22 μm (Millipore).

La rivelazione degli amminoacidi è stata eseguita dopo reazione con ninidrina che forma due diversi tipi di cromofori rilevati fotometricamente alle lunghezze d'onda 440 e 570 nm.

I cromatogrammi sono stati acquisiti ed elaborati con il software EZ-Chrom. I risultati sono stati espressi in g di amminoacido/100 g di campione.

La determinazione degli amminoacidi liberi è stata eseguita secondo la seguente procedura: in breve circa 0,4 g (\pm 0,0001 g) di campione sono stati pesati in un matraccio da 10 mL, addizionati di 100 mg di acido solfosalicilico e portati a volume con tampone sodio citrato 0,20 M, pH 2,20. Dopo 30 minuti di agitazione con agitatore magnetico un'aliquota del

campione è stata filtrata su un filtro a membrana e quindi iniettato nell'analizzatore di aminoacidi, effettuando l'analisi strumentale secondo il metodo UNI 22615:1992 [25]. Gli amminoacidi totali sono stati determinati utilizzando i metodi UNI 22614:1992 e UNI 22615:1992 [25, 26].

La determinazione quantitativa e l'identificazione degli amminoacidi liberi e degli amminoacidi totali dopo idrolisi, è stata ottenuta costruendo per ciascun amminoacido una retta di calibrazione utilizzando uno standard contenente tutti gli amminoacidi considerati (Sigma Aldrich), ad una concentrazione di 2,50 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ tranne per la L-cistina che era 1,25 $\mu\text{mol}/\text{mL}$.

Nel presente lavoro l'intervallo di concentrazione della retta di calibrazione era compreso tra 0,0625 - 0,250 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ per tutti gli amminoacidi e tra 0,0312 - 0,125 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ per la cistina.

I reagenti impiegati sono stati: HCl (Sigma Aldrich) 6 M con aggiunta di 1% di fenolo, soluzione standard di amminoacidi (Sigma, cod. AA-S-18) ad una concentrazione di 2,50 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ tranne per la L-cistina che è 1,25 $\mu\text{mol}/\text{mL}$.

Gli amminoacidi solforati (cistina, cisteina e metionina) sono stati determinati secondo i metodi UNI 22619:2000 + UNI 22621:2000 [27, 28], utilizzando uno standard contenente acido cisteico e metionin-solfone (Fluka) per le rette di calibrazione le cui concentrazioni erano: 0,05 - 0,1 - 0,2 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ per entrambi gli amminoacidi. La cistina e la cisteina sono state determinate entrambe come acido cisteico negli idrolizzati del campione, ma calcolate come cistina in g di amminoacido/100 g di campione. La metionina è determinata come metionin-solfone negli idrolizzati del campione, ma calcolata come metionina.

Infine, l'amminoacido triptofano è stato determinato secondo i metodi UNI 22618:2000 + UNI 22620:2000 [29, 30], utilizzando uno standard di triptofano (Fluka) le cui concentrazioni per la retta di calibrazione erano: 0,1 - 0,25 - 0,5 $\mu\text{mol}/\text{mL}$.

DETERMINAZIONE DELLA COMPOSIZIONE E DELLA PERCENTUALE DI ACIDI GRASSI E DI STEROLI.

La determinazione della composizione e della percentuale di acidi grassi e di steroli è stata eseguita secondo le metodologie [31, 32, 59, 60], utilizzando un gascromatografo (HRCG Mega 2 Carlo Erba Instruments, Milano, Italia) dotato di rivelatore a ionizzazione di fiamma. Gli acidi grassi sono stati analizzati nelle seguenti condizioni: colonna capillare Supelcowax in silice fusa di lunghezza 30 m, diametro interno 0,25 mm, spessore del film 0,25 μm nelle seguenti condizioni: temperatura della camera termostatica con temperatura da 190°C a 230°C con incrementi di 2,5°C al minuto, temperatura dell'iniettore: 250°C, temperatura del rivelatore: 270°C. Gas di trasporto: He a 115 KPa e gas ausiliari: aria per cromatografia a 301 mL/min. e idrogeno a 30 mL/min. Make-up: azo-

to a 30 mL/min, registratore automatico. Per gli steroli è stata impiegata colonna HP in silice fuse di lunghezza 25 m, diametro interno 0,20 mm, spessore del film 0,10 µm, temperatura della camera: 250°C, temperatura dell'iniettore: 280°C, temperatura del rivelatore: 290°C. Gas di trasporto: He a 180 KPa, gas ausiliari: aria a 310 mL/min e idrogeno a 30 mL/min. Make-up: azoto a 30 mL/min, registratore automatico.

DETERMINAZIONE DEI TOCOFEROLI E DELL'ALFA-TOCOFERILCHINONE MEDIANTE HPLC-UV

In matraccio tarato ambrato da 10 mL sono stati pesati circa 0,5 g ($\pm 0,0001$ g) di olio di guaranà, previamente disidratato su sodio solfato e omogeneizzato. Il campione è stato portato a volume con acetone per HPLC. Per evitare la degradazione ossidativa, è stato subito iniettato, in quantità di 20 µl nel sistema HPLC costituito da pompa quaternaria, con rivelatore UV-DAD UV 6000 LP (Thermo fisher), λ di registrazione 292 nm, colonna RP C18, 250 mm \times 4,6 mm, 5 µm (Allsphere, 25 cm, 4,6 mm i.d., 5 µm - Phenomenex - Italia), fase mobile isocratica costituita da metanolo/acetone nitrile 50:50 V/V con flusso di 1,3 mL/min. I risultati sono stati espressi in alfa-tocoferolo. L'alfa-tocoferilchinone è stato analizzato con le stesse condizioni cromatografiche utilizzate per la determinazione dei tocoferoli, impiegando una λ di registrazione di 268 nm e utilizzando uno standard esterno di α -tocoferilchinone. La concentrazione è stata espressa in mg/kg di olio [33-38].

DETERMINAZIONE DI ACIDI GRASSI OSSIDATI TOTALI E DEGLI ACIDI GRASSI TRIENICI E DIENICI CONIUGATI MEDIANTE HPLC

Per questo tipo di determinazione, l'olio è stato estratto a freddo, partendo da 50 g di guaranà in polvere pesato in pallone da 250 mL e addizionato con 100 mL di esano per l'estrazione in bagno ad ultrasuoni per 30 min. La fase esanica è stata filtrata e trasferita in pallone. Il residuo è stato estratto due volte con la stessa modalità; la soluzione è stata filtrata ed evaporata per il recupero dell'olio. È stata eseguita la reazione di transesterificazione con benzilato sodico [33, 36-38].

Gli acidi grassi ossidati sotto forma di benzilesteri sono stati iniettati in HPLC in quantità di 20 µl. Il sistema era costituito da: pompa quaternaria (P 4000 Thermo Separation Productus, Saint Jose, CA, USA), degasatore (SCM 1000 Thermo Separation Productus, Saint Jose, CA, USA), colonna analitica (Allsphere C18 ODS-2, 5 µm, 250 \times 4,6 mm Alltech, USA), λ di registrazione 255 nm con rivelatore spettrometrico (UV 6000 LP, Thermo Separation Productus, Saint Jose, CA, USA), utilizzando una fase mobile costituita: da acqua (A); acetone nitrile (B) nei rapporti di 40% di A e 60% di B, con flusso di 1,0 mL/min, con il seguente

programma d'eluizione: 0 min. 60% B; 65 min. 100% B; 75 min. 100% B; 76 min. 60% B; 90 min. 60% B. Il contenuto dei composti ossidati totali è stato espresso in mg/100 mg di olio. Con la stessa metodologia sono stati quantificati anche i contenuti di acidi grassi coniugati del linolenico e del linoleico nelle forme *c,t*; *t,c*; *t,t* [33, 36-38].

DETERMINAZIONE DEI IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI (IPA).

I campioni sono stati preparati secondo il metodo interno precedentemente sviluppato [39 - 41]. Per l'analisi è stato utilizzato il sistema cromatografico HPLC (FL 3000 Thermo Electron Corporation Separation Productus, Saint Jose, CA, USA), costituito da pompa quaternaria (P4000 Thermo Separation Productus, Saint Jose, CA, USA) e colonna analitica specifica per analisi HPLC (Lichrocart-Lichrospher 5 µm, 250 \times 3 mm i.d. Merck) con forno di termostatazione alla temperatura di $30 \pm 0,1^\circ\text{C}$. (TC2000 Thermo Electron Corporation, Saint Jose, CA, USA), con il seguente programma di eluizione: A: acetone nitrile; B: acqua HPLC, flusso di 0,9 mL/min.

I composti sono stati identificati in base al tempo di ritenzione dei rispettivi standard esterni, utilizzando uno standard interno di benzo(b)crisene per verificare il recupero dell'estrazione degli IPA durante la preparazione del campione. Sono stati iniettati 20 µl nel sistema con il seguente programma di eluizione: A: acetone nitrile; B: acqua HPLC, flusso di 0,9 mL/min: 50% A (0-5 min.); 50-85% A (50-20 min.); 85-90% A (20-30 min.); 90-100% A (30-35 min.).

RISULTATI E DISCUSSIONE

In Tabella I vengono riportati i valori relativi alle caratteristiche chimiche dei 4 diversi semi di guaranà, in cui la composizione centesimale è stata espressa come % in umidità, ceneri, sostanza grassa, proteine, fibra grezza, fibra dietetica, zuccheri totali di cui amido e maltodestrine e zuccheri riducenti dopo inversione. Come si può osservare dai dati riportati nella Tabella I, all'analisi della composizione centesimale i campioni di guaranà hanno presentato, mediamente, valori abbastanza simili, ad eccezione del campione 4, acquistato in un mercato municipale e di cui non si conosceva la provenienza, che ha riportato la minore percentuale di resa in olio. I valori dell'umidità nei campioni risultano compresi tra 10,1 e 11,8%, valori molto simili si possono ritrovare in altri prodotti alimentari, quali i cereali, il mais e i fagioli crudi con tenori compresi tra 11,2 e 13,5% [42].

I valori delle ceneri totali nei campioni di guaranà analizzati sono risultati compresi tra 1,2 e 1,6%: essi esprimono il contenuto totale dei sali presenti. Valori molto simili sono presenti in alimenti vegetali a base

Tabella I - Alcune caratteristiche chimiche del Guaraná (*Paullinia cupana*) della Regione di Mauès, Amazonia, Brasile.

Analisi di guaraná	Campione 1	Campione 2	Campione 3	Campione 4
Umidità %	11,6	11,8	10,1	11,0
Ceneri %	1,2	1,4	1,4	1,6
Olio %	3,3	3,3	3,8	2,6
Proteine % (Kjeldahl N × 6,25)	12,6	12,8	13,4	12,4
Fibra grezza %	3,4	4,4	2,7	3,4
Fibra dietetica %	57,4	56,6	56,5	57,9
Zuccheri totali (% glucosio)	15,0	15,1	15,9	15,6
di cui: Zuccheri invertiti %	4,2	5,1	4,7	4,5
Amido e maltodestrine %	9,7	9,0	10,1	10,0
Caffeina %	3,54	3,96	3,92	4,65
Tocoferoli totali (mg/kg)	1321	961	1114	1116
α-Tocoferil chinone (mg/kg)	27	24	26	53

di cereali e nei legumi [42, 43].

La sostanza grassa estratta dai semi è compresa tra 2,6 e 3,8%, tali valori sono simili a quelli riscontrati in altri lavori precedenti svolti sul guaraná [4, 12]. Essendo basso il contenuto di olio, i semi sono stati sottoposti preliminarmente a un'idrolisi con acido cloridrico 4 M per liberare le frazioni lipidiche legate nella matrice.

È noto che le pareti delle cellule vegetali sono costituite da polisaccaridi strutturali e polisaccaridi di riserva. I costituenti strutturali sono rappresentati da cellulosa, emicellulose e lignina in grado di assorbire acqua, mentre i costituenti di riserva sono formati da oligosaccaridi e polisaccaridi diversi tra loro per la lunghezza delle loro catene e delle loro ramificazioni.

In Tabella I sono riportati i valori della fibra grezza nei campioni di guaraná, rappresentata da cellulosa, emicellulose e lignina. I valori trovati, compresi tra 2,7 e 4,4%, sono molto bassi e senza differenze significative tra loro, anche se il campione 3 ha mostrato il contenuto minore di fibra grezza.

I semi di guaraná invece sono caratterizzati da un elevato contenuto di fibra dietetica i cui valori sono compresi tra 56,5-57,9%. Per fibra dietetica si intende la somma dei polisaccaridi non celluloseici (gomme, mucillagini, polisaccaridi alginici, sostanze peptiche ed emicellulose) e della fibra grezza (cellulose e lignina). La fibra dietetica è una componente importante degli alimenti di origine vegetale, costituita da carboidrati complessi senza valore nutrizionale per l'organismo umano, però indispensabile nell'alimentazione per una serie di effetti benefici sulla salute, in quanto favorisce una serie di funzioni quali: stimolare il senso della sazietà, migliorare la funzione intestinale (regolazione intestinale), ridurre il rischio di diverticolosi e di malattie degenerative, quali tumori al colon-retto. Il guaraná con più del 50% in media di fibra dietetica presenta valori elevati rispetto ai valori di altre principali fonti alimentari: crusca, frutta fresca, frutta secca, legumi, verdure, tuberi [46].

Il contenuto di proteina grezza riscontrato nei campioni analizzati utilizzando il metodo Kjeldahl è risulta-

to molto simile con valori compresi tra 12,4 e 13,4% in accordo con quanto riportato in letteratura, per questa matrice pari a 15% [44]. Il maggior contenuto in proteina è stato trovato nel campione 3. Il contenuto proteico è tipico di molti semi, quelli del guaraná hanno un contenuto di proteine inferiore rispetto ai semi delle più comuni oleaginose, quali la colza, il girasole, la canapa e la soia, quest'ultima ritenuta la più importante fonte di proteine vegetali (42,1%). Concentrazioni molto simili al guaraná, invece si ritrovano nei chicchi di caffè arabica e robusta tostati, con valori compresi tra 13 e 15% [16, 42, 45].

Al fine di valutare la qualità delle proteine nei semi di guaraná, sono stati determinati gli amminoacidi liberi e totali dopo idrolisi nei campioni in esame, i cui valori sono riportati nelle Tabelle II e III espressi come g di amminoacido/100 g di campione.

Dei 18 amminoacidi determinati alcuni sono considerati essenziali per l'uomo, in quanto l'organismo non è in grado di sintetizzarli in quantità sufficiente per far fronte ai propri bisogni e devono essere introdotti con la dieta.

Per l'adulto sono considerati sempre essenziali i seguenti amminoacidi: fenilalanina, isoleucina, istidina, lisina, leucina, metionina, treonina, triptofano e valina, mentre arginina, cisteina e tirosina sono essenziali nell'infanzia e nello sviluppo.

Come si può osservare i semi di guaraná contengono tutti gli amminoacidi, compresi quelli essenziali, i cui valori complessivi come amminoacidi liberi e amminoacidi totali dopo idrolisi sono compresi, rispettivamente, tra 0,185 e 0,324 g/100 g di campione e tra 4,296 e 4,874 g/100 g di campione. Dalle tabelle si vede come il contenuto di ciascun amminoacido libero e dopo idrolisi non presenta differenze significative tra le quattro tipologie di campioni, mentre si evidenziano bassi contenuti negli amminoacidi solforati e nel triptofano in ciascuna tipologia. Anche i contenuti totali degli amminoacidi sono simili tra loro, ad eccezione del campione 1 "varietà tipica" che mostra un minor contenuto sia negli amminoacidi liberi che totali (Tab. II e III). Il contenuto totale degli amminoacidi rappresenta il

Tabella II - Composizione e concentrazione di amminoacidi liberi del Guaraná (*Paullinia cupana*) della Regione di Mauès, Amazonia, Brasile.

Amminoacidi (g/100 g di campione)	Campione 1	Campione 2	Campione 3	Campione 4
Acido aspartico	0,014	0,013	0,022	0,022
Treonina	0,011	0,012	0,018	0,014
Serina	0,007	0,006	0,012	0,009
Acido glutammico	0,038	0,059	0,072	0,059
Glicina	0,002	0,002	0,004	0,002
Alanina	0,041	0,042	0,078	0,060
Cistina	0,007	0,007	0,009	0,006
Valina	0,010	0,011	0,020	0,015
Metionina	0,000	0,000	0,000	0,000
Isoleucina	0,004	0,004	0,009	0,006
Leucina	0,006	0,005	0,011	0,007
Tirosina	0,015	0,010	0,020	0,013
Fenilalanina	0,009	0,009	0,013	0,010
Istidina	0,002	0,002	0,003	0,002
Lisina	0,004	0,006	0,010	0,007
Arginina	0,006	0,007	0,011	0,008
Prolina	0,008	0,007	0,011	0,010
Totale	0,185	0,200	0,324	0,250

Tabella III - Composizione e concentrazione di amminoacidi totali dopo idrolisi del Guaraná (*Paullinia cupana*) della Regione di Mauès, Amazonia, Brasile.

Amminoacidi (g/100 g di campione)	Campione 1	Campione 2	Campione 3	Campione 4
Acido aspartico	0,396	0,436	0,440	0,447
Treonina	0,213	0,229	0,229	0,235
Serina	0,235	0,251	0,248	0,257
Acido glutammico	0,585	0,645	0,656	0,681
Glicina	0,305	0,343	0,341	0,326
Alanina	0,241	0,257	0,291	0,291
Cistina	0,089	0,101	0,098	0,093
Valina	0,251	0,276	0,281	0,288
Metionina	0,110	0,123	0,117	0,112
Isoleucina	0,189	0,208	0,209	0,221
Leucina	0,313	0,331	0,339	0,357
Tirosina	0,173	0,188	0,209	0,203
Fenilalanina	0,271	0,291	0,287	0,294
Istidina	0,131	0,153	0,148	0,149
Lisina	0,217	0,305	0,298	0,266
Arginina	0,296	0,352	0,342	0,350
Prolina	0,206	0,232	0,219	0,228
Triptofano	0,074	0,080	0,070	0,076
Totale	4,296	4,802	4,821	4,874

valore % delle proteine presenti nei semi. Come si può osservare, nei semi di guaraná i valori degli amminoacidi totali (Tab. III) presentano un certo scostamento rispetto ai valori % di proteine determinate secondo Kjeldahl (N x 6,25). Infatti, confrontando la percentuale di azoto derivante da ogni singolo amminoacido con l'azoto totale calcolato con il metodo Kjeldhal si riscontra una decisa discrepanza dovuta al fatto che più del 70% dell'azoto contenuto nei semi di guaraná è azoto non proteico. Con il metodo Kjeldhal viene

determinato l'azoto totale sotto forma amminica, iminica, amidica e ammoniacale. Nei semi di guaraná le fonti di azoto consistono, oltre che negli amminoacidi, in alcuni composti alcaloidi quali la caffeina, la xantina, la guaranina e alcuni composti purinici [61, 62.] Nonostante il basso contenuto di proteine presenti nei semi di guaraná, sono stati ugualmente calcolati i valori degli amminoacidi essenziali in mg di amminoacido/100 g di proteine e confrontati con il fabbisogno di amminoacidi essenziali di una fascia della popola-

zione che ha una richiesta nutrizionale elevata (fascia di età prescolare, da 2-5 anni), secondo le indicazioni fornite dalla FAO/WHO/UNU, la quale ha stabilito delle tabelle per le diverse fasce di età, compresi gli adulti [45].

In Tabella IV sono riportati i valori degli amminoacidi essenziali dei 4 campioni di guaranà in confronto con le indicazioni fornite dalla FAO/WHO/UNU.

Confrontando i valori trovati con la quelli relativi alla fa-

processo di ossidazione (luce e temperatura).

Per quanto riguarda la composizione degli acidi grassi, i campioni non hanno mostrato differenze significative, presentando una prevalenza degli acidi grassi insaturi rispetto ai saturi (80:20).

La peculiarità consiste nella prevalenza di acido oleico accompagnata da una marcata presenza di acido vaccenico e di acido eicosenoico (Tab. V). Tra gli acidi grassi saturi la maggiore percentuale è rappresentata

Tabella IV - Confronto degli amminoacidi essenziali dei semi di Guarànà con i valori raccomandati dalla FAO/WHO

Amminoacido (Valori espressi in mg/100 g di proteine)	Campione 1	Campione 2	Campione 3	Campione 4	Bambini 1 anno	Bambini 2-5 anni	Ragazzi 10-12 anni	Adulti
Cisteina + Metionina	16	18	16	17	42	25	22	17
Fenilalanina + Tirosina	35	37	37	40	72	63	22	19
Isoleucina	15	16	16	18	46	28	28	13
Leucina	25	26	25	29	93	66	44	19
Valina	20	22	21	23	55	35	25	13
Triptofano	6	6	5	6	17	11	9	5
Lisina	17	24	22	21	66	58	44	16
Treonina	17	18	17	19	43	34	28	9
Istidina	10	12	11	12	26	19	19	16

scia di età da 2 a 5 anni, si vede come il guaranà non fornisce gli amminoacidi essenziali per uno sviluppo corretto, mentre se il confronto viene fatto sulla base dei fabbisogni degli adulti, il guaranà, ad eccezione della istidina, che rappresenta l'amminoacido limitante, assicura tutti gli amminoacidi essenziali (Tab. IV). Pertanto, il guaranà risulta adatto ad un utilizzo come integratore alimentare per la fascia adulta, anche in virtù della presenza di altri costituenti, come la caffeina, tocoferoli, acidi grassi e i suoi coniugati dieni e trienici.

La caffeina trovata nei campioni ha presentato valori di concentrazione compresi tra 3,54-4,65% (Tab. I), simili ai valori trovati in precedenti lavori su questa matrice presenti in letteratura [4, 12] e comunque sempre superiori a quelli riscontrati comunemente nella matrice caffè tostato e nelle fave di cacao, rispettivamente, tra 0,9-2,0% e 0,3-0,7% [16, 17, 42]. Nella Tabella I si trovano anche i valori del contenuto dei tocoferoli totali presenti nei campioni, compresi tra 961 e 1321 mg/kg: il contenuto maggiore è presente nel campione 1 (nativa/tipica), mentre il valore minore è presente nel campione 2.

Nella stessa Tabella si trovano anche i dati sul prodotto di ossidazione dell'alfa-tocoferil chinone con concentrazioni di 27 mg/kg, 24 mg/kg e 26 mg/kg, rispettivamente per i campioni 1, 2, 3 e il campione 4 con concentrazione maggiore, pari a 53 mg/kg. La differenza sostanziale di tale concentrazione dalle altre può essere attribuita, probabilmente, ai processi tecnologici che sono impiegati per la preparazione dei semi per la produzione della polvere di guaranà, e agli eventuali fattori che potrebbero aver scatenato un

dall'acido palmitico, con valori compresi tra 9,92 e 12,06%, seguiti dall'acido stearico e dall'acido arachico. È noto che l'acido oleico e gli acidi grassi insaturi svolgono un ruolo importante per l'organismo umano in quanto intervengono nella regolazione e nella prevenzione delle malattie cardiovascolari (riduzione dei livelli di colesterolo e delle patologie coronariche).

Nei campioni di guaranà l'acido oleico è presente in una percentuale compresa tra 26,21 e 30,78% sul totale degli acidi grassi. L'acido grasso vaccenico è presente nei grassi dei ruminanti, nel latte e derivati, ed è stato identificato nei campioni di guaranà con una percentuale compresa tra 19,91 e 17,74%. L'acido eicosenoico è presente in una misura compresa tra 9,72 e 11,72%. Questo acido grasso normalmente si trova in percentuali molto basse negli oli vegetali, se si eccettuano l'olio di camelina e pochissimi altri oli. Gli acidi grassi polinsaturi sono invece rappresentati dall'acido linoleico (18:2 ω6), che rappresenta il maggior costituente (15,09 - 18,57%), dall'acido α-linolenico (18:3 ω3) presente tra 2,50 e 4,00%, seguiti dall'acido γ-linolenico (18:3 ω6) e dall'acido eicosadienoico (20:2 ω6). L'acido grasso γ-linolenico, molto raro negli oli, si forma a seguito delle trasformazioni metaboliche dell'acido linoleico, ed è presente nei campioni tra 0,19 e 0,27%. Fonti naturali di γ-linolenico sono l'olio di borragine, l'olio di ribes nero, l'olio di canapa e l'olio di primula [45]. Per quanto riguarda gli acidi grassi insaturi, si osserva una grande differenza nel rapporto acidi grassi insaturi/saturi tra guaranà, caffè e cacao, con valori percentuali per gli insaturi di 80,00%, 6,80% e 40,00% rispettivamente [16, 17, 48].

Tabella V - Composizione e percentuale di acidi grassi, acidi grassi ossidati totali, dieni e trieni coniugati dell'acido linoleico e linolenico, del Guaraná (*Paullinia cupana*) della Regione di Mauès, Amazonia, Brasile.

Composizione (%)	Campione 1	Campione 2	Campione 3	Campione 4
Acido miristico	0,07	0,09	0,09	0,08
Acido palmitico	9,92	12,06	10,43	11,16
Acido palmitoleico	1,66	1,59	1,92	1,78
Acido eptadecanoico	0,04	0,05	0,05	0,04
Acido eptadecenoico	0,04	0,04	0,03	0,04
Acido stearico	5,24	6,17	5,80	4,98
Acido oleico	29,06	30,78	30,36	26,21
Acido vaccenico	16,67	15,91	17,74	17,51
Acido linoleico (ω 6)	16,58	15,09	15,60	18,57
Acido γ -linolenico (ω 6)	0,22	0,19	0,21	0,27
Acido linolenico (ω 3)	3,36	2,50	3,21	4,00
Acido arachico	3,60	3,59	3,19	3,40
Acido eicosenoico	11,72	10,33	9,72	10,17
Acido eicosadienoico	0,66	0,56	0,52	0,69
Acido beenico	0,48	0,45	0,42	0,47
Acido erucico	0,15	0,13	0,15	0,13
Acido lignocericico	0,53	0,47	0,56	0,50
Totale	100,00	100,00	100,00	100,00
Rapporto medio insaturi/saturi: (80:20)	80,12/19,88	77,12/22,88	79,46/20,54	79,37/20,63
Acidi grassi ossidati totali - mg/100mg olio	17,31	20,28	17,22	22,27
Acidi grassi trieni coniugati (CLnC18:3) - mg/100mg olio	0,12	0,09	0,11	0,16
Acidi grassi dieni coniugati (CLA18:2): <i>cis,trans+trans,cis; trans,trans</i> - mg/100mg olio	1,06	1,02	1,36	1,16

Gli acidi grassi ossidati totali hanno mostrato valori compresi tra 17,22 e 22,27 mg/100 mg di olio (Tab. V), abbastanza elevati, se confrontati con i valori presenti in letteratura nei più comuni oli di semi ad uso alimentare e nell'olio extra vergine di oliva dopo 12 mesi di conservazione a temperatura ambiente nei quali solitamente non supera il valore di 4 mg/100 mg [33, 36, 49]. I valori ottenuti relativamente alti possono essere attribuiti alla struttura insatura di alcuni acidi grassi soggetti quindi ai fenomeni ossidativi e, praticamente, collegati ai processi tecnologici rudimentali impiegati per ottenere il seme. All'inizio vi è lo spolpamento del frutto in acqua per la liberazione del seme, l'essiccazione parziale al sole per vari giorni in presenza dell'alta umidità dell'Amazzonia ed essiccazione/torrefazione finale in contenitore (*tacho*) di metallo o in forno di mattoni riscaldati con fuoco di legna. Si osserva ancora nella stessa tabella la presenza degli acidi grassi trieni coniugati C18:3 (CLnA) e quelli dieni C18:2 (CLA) nelle forme *c,t/t,c/t,t*, con valori compresi rispettivamente tra 0,09 e 0,16 mg/100 mg e tra 1,02 e 1,36 mg/100 mg di olio. I valori riscontrati (Tab. V), sono considerevolmente elevati in relazione ad altre matrici studiate, come esempio l'olio extra vergine di oliva che presenta una concentrazione di 0,40 mg/100 mg [33, 45, 52, 55]. Gli acidi grassi dieni sono stati studiati per i loro effetti benefici sulla salute, mostrando importanza per la fluidità delle membrane, suscitando attenzione quando sono presenti naturalmente all'interno della matrice alimentare.

I fitosteroli sono steroli presenti negli oli vegetali e, in misura inferiore, in tutti gli alimenti di origine vegetale, sia in forma libera che esterificata [54]. Gli alimenti a maggior contenuto di fitosteroli sono gli oli vegetali, la frutta, i cereali, e i derivati nei quali i più comuni componenti sono: β -sitosterolo, campesterolo e stigmasterolo. I fitosteroli svolgono un ruolo importante in vari settori: farmaceutico/farmacologico, nutrizionale e cosmetico. Oltre alla conoscenza dell'efficacia del β -sitosterolo nella diminuzione del colesterolo, vi sono state altre ricerche scientifiche e cliniche che mostrano possibili effetti ipocolesterolemizzanti nel sistema cardiovascolare tra il 5 e il 15% da parte di altri fitosteroli. Nella Tabella VI sono riportati gli steroli riscontrati nei campioni di guaraná, rappresentati maggiormente dal β -sitosterolo, 55,1-58,7%; stigmasterolo, 19,1-22,4%; campesterolo, 14,7-16,2%; campestanolo, 1,4-1,6%, sitostanolo, 1,5-2,0%. Gli altri componenti presentano percentuali inferiori all'unità.

Mariani e Fedeli hanno trovato che nei chicchi di caffè sono stati identificati con maggiore concentrazione i seguenti steroli: β -sitosterolo 51,2%, stigmasterolo 21,9%, campesterolo 15,8%, Δ^5 -avenasterolo 2,7%, sitostanolo 2,0%, Δ^7 -stigmastenolo 2,2%, Δ^7 -avenasterolo 1,5% ed altri steroli in concentrazione inferiori all'unità [15].

Osservando la Tabella VI si può notare come il guaraná presenti gli stessi steroli del caffè, ma con minori concentrazioni nel Δ^5 -avenasterolo e con l'assenza del Δ^7 -stigmastenolo e del Δ^7 -avenasterolo. Il guaraná

Tabella VI - Composizione e percentuale di steroli del Guaraná (*Paullinia cupana*) della Regione di Mauès, Amazonia, Brasile.

Composizione %	Campione 1	Campione 2	Campione 3	Campione 4
Colesterolo	0,3	0,5	0,5	0,3
24-metilcolesterolo	0,2	0,2	0,2	0,1
Campesterolo	16,2	15,2	14,7	15,4
Campestanolo	1,5	1,6	1,4	1,5
Stigmasterolo	22,4	20,8	19,1	21,2
$\Delta^{5,23}$ - stigmastadienolo	0,6	0,6	0,7	0,6
Clerosterolo	0,6	0,7	0,7	0,5
β -sitosterolo	55,1	56,9	58,7	56,8
Sitostanolo	1,5	2,0	1,8	2,0
Δ^5 - avenasterolo	0,5	0,4	0,5	0,4
$\Delta^{5,24}$ - stigmastadienolo	0,9	0,8	1,1	1,0

con circa 58% di β -sitosterolo risulta adatto all'utilizzo come integratore alimentare per la diminuzione dell'ipercolesterolemia.

Per quanto riguarda il contenuto degli IPA in particolare il benzo(a)pirene e la somma dei quattro IPA (benzo(a)pirene, benzo(a)antracene, benzo(b)fluorantene e crisene), come dal Regolamento della Unione Europea e della Scientific Committee on Food - SCF/FAO/WHO/JECFA - [56, 57], i campioni di guaraná hanno presentato valori compresi tra 26,5 e 415,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Tab. VII), superiori ai limiti presenti nel regolamento europeo per la sicurezza alimentare che pone come limite per il benzo(a)pirene il valore di 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ e di 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ per la somma dei suddetti composti.

È da considerare però che la Legislazione Brasileira ANVISA fa riferimento ai limiti di contaminanti IPA benzo(a)pirene soltanto in acque imbottigliate, ghiaccio e prodotti alimentari addizionati da aromi di affumicato [58].

CONCLUSIONE

In linea di principio, i campioni non hanno presentato differenze significative tra i parametri analitici considerati, ad eccezione del campione 3 che ha presentato il minore contenuto di fibra grezza e il 4, acquistato sotto forma di polvere nel mercato municipale Adolpho Lisboa di Manaus, Amazonia, Brasile, che ha presentato il più basso tenore in olio. I campioni hanno mostrato valori elevati di acidi grassi ossidati, alfa-tocoferilchinone ma in particolare di IPA, se relazionati ai limiti di riferimento europei [56].

I costituenti del guaraná valutati globalmente (proteine, sostanza grassa, umidità, ceneri, fibra dietetica, caffeina, amminoacidi, acidi grassi, steroli, CLA e tocoferoli), hanno presentato valori che non differiscono molto dai principali generi alimentari, con concentrazioni abbastanza significative per qualche costituente (fibra dietetica, caffeina, tocoferoli, acido vaccenico,

Tabella VII - Idrocarburi policiclici aromatici del Guaraná (*Paullinia cupana*) della Regione di Mauès, Amazonia, Brasile.

Composizione ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Campione 1	Campione 2	Campione 3	Campione 4
Benzo(c)fluorene+pirene	88,5	55,5	1033,2	169,3
Benzo(a)antracene ¹	21,1	8,5	74,8	40,8
Crisene ¹	17,9	11,7	180,2	32,8
Metilcrisene	2,2	5,8	9,7	2,4
Benzo(e)pirene	6,3	6,1	65,5	0,5
Benzo(b)fluorantene ¹	6,6	5,0	130,6	3,7
Benzo(k)fluorantene	2,8	2,0	5,0	0,7
Benzo(a)pirene ¹	1,6	1,3	30,0	3,5
Dibenzo(a,l)pirene	2,3	< 0,5	4,1	1,5
Dibenzo(a,h)antracene	1,9	0,5	14,7	4,2
Dibenzo(g,h,i)pirene	3,1	2,4	3,6	1,2
Indenopirene	4,0	< 0,5	11,2	72,4
Dibenzo(a,e)pirene	0,3	1,5	17,2	14,5
Dibenzo(a,i)pirene	0,4	< 0,5	0,7	0,5
Dibenzo(a,h)pirene	0,2	< 0,5	0,2	0,3
¹ Σ 4 IPA	¹ Σ 47,2	¹ Σ 26,5	¹ Σ 415,6	¹ Σ 80,8

¹ Σ : sommatoria delle concentrazioni dei composti indicati in apice con il numero 1

γ-linolenico, eicosenoico, acidi grassi coniugati). Si suggerisce comunque in base ai risultati ottenuti, la necessità di monitorare la raccolta dei frutti di guaraná, e i processi tecnologici per la preparazione del seme e del prodotto finito, cercando di minimizzare gli effetti che possono portare ad un elevato stato di ossidazione lipidica e la contaminazione da IPA, che possono interferire nella qualità finale del prodotto e di conseguenza, nella sicurezza alimentare dei consumatori.

BIBLIOGRAFIA

- [1] SEBRAE, 2005. Informações de Mercado sobre guaraná. (www. Informações de mercado sobre guaraná - semi.org). Data consultazione: 03/09/2016.
- [2] SUFRAMA, 2003. Potencialidades regionais e estudos de viabilidade econômica do guaraná. (www.suframa.gov.br/publicacoes/proj_pot_regionais/sumario/guarana.pdf). Data consultazione: 15/09/2016.
- [3] EMBRAPA, 2008. Novas cultivares da Embrapa estimulam a produção de guaraná no Brasil. (www.novas cultivares da Embrapa). Data consultazione: 14/09/2016.
- [4] W. Gomes da Silva, Il guaraná: Studio e metodologia di analisi per l'individuazione di qualità [Tesi di Laurea]. Milano: Università degli Studi di Milano Facoltà di Farmacia (1992).
- [5] S.A.V. Tfouni, M.C.R. Camargo, T.F. Mene-gario, M.C.F. Toledo, S.H.P. Vitorino. Contribuição do guaraná em pó (*Paullinia cupana*) como fonte de cafeína na dieta. Rev. Nutri. 20, 63-68 (2007).
- [6] IBGE/GCEA, 2012. www. Levantamento sistemático da produção agrícola - guaraná - FTP - IBGE.ftp//ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Producao/lspa_201202.pdf. Consultazione 23/07/2016.
- [7] V. Da Costa Miranda, D.C. Trufelli, J. Santos, M.P. Campos, Nobuo, M. C.F. Schlinder *et al.* Effectiveness of guaraná (*Paullinia cupana*) for postradiation fatigue and depression: results of a pilot double-blind randomized study. Journal of Alternative and Complementary Medicine 15, 431-433 (2009).
- [8] M.P. De Oliveira Campos, B.J. Hassan, R. Riechelmann, A. Del Giglio. Fadiga relacionada ao câncer: uma revisão. Rev. Assoc. Med. Bras. 57, 3-4 (2011).
- [9] L.S. Bittencourt; D.C. Machado; M.M. Machado; G.F. Santos; T.D. Algarve; D.R. Marinowic. The protective effects of guaraná extract (*Paullinia cupana*) on fibroblast NIH-3T3 cells exposed to sodium nitroprusside. Food and Chemical Toxicology 53, 119-125 (2013).
- [10] R.L. Portella, R.P. Barcelo, E.J. Da Rosa, R.R. Ribeiro, I.B. Da Cruz, L. Suleiman, F.A. Soares. Guaraná (*Paullinia cupana*, Kunth) effects on LDL oxidation in elderly people: an *in vitro* and *in vivo* study. Lipids in Health and Disease 12, 12-12 (2013).
- [11] M.P. De Oliveira Campos, R. Riechelmann, L.C. Martins; B.J. Hassan; A.F.B. A. Casa Del Giglio. Guaraná (*Paullinia cupana*) improves fatigue in breastcancer patients undergoing systemic chemotherapy. Journal of Alternative and Complementary Medicine 17, 505-512 (2011).
- [12] W. Gomes da Silva *et al.* Il guaraná dei Saterés Maués dell'Amazzonia brasiliana. Nota I. Caratterizzazione chimiche e fisiche. Riv. Ital. Sostanze Grasse 77, 31-36 (2000).
- [13] M. Guinaz, M.R.R.C. Milagres, P. H. M. Sant'Anna, P. J. B. Chaves. Tocoferois e tocotrienois em óleos vegetais e ovos. Quím. Nova 32, 2098-2103 (2009).
- [14] N. Smith, A.L. Atroch. Guaraná's Journey from Regional Tonic to Aphrodisiac and Global Energy Drink. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 7, 279-282 (2010).
- [15] C. Mariani, E. Fedeli. Gli steroli delle specie Arabica e Robusta del caffè. Riv. Ital. Sostanze Grasse 68, 111-116 (1991).
- [16] Dentro il caffè. www.londoni.it/dentroil.htm. Data consultazione: 22 marzo 2017
- [17] Quale è la composizione chimica e fisica delle fave di cacao, burro, massa e polvere di cacao. www.food-info.net/it/qa/qa-fp48.htm. Data consultazione: 22 maggio 2017.
- [18] UNI - Ente Nazionale Italiano di Unificazione - Milano. Determinazione dell'umidità. Metodo UNI 22601-1992.
- [19] UNI - Ente Nazionale Italiano di Unificazione - Milano. Determinazione delle ceneri totali. Metodo UNI 22602-1992.
- [20] UNI - Ente Nazionale Italiano di Unificazione - Milano. Determinazione della sostanza grassa. Metodo UNI 22605 -1992.
- [21] UNI - Ente Nazionale Italiano di Unificazione - Milano. Determinazione della fibra grezza. Metodo UNI 22606 - 1992.
- [22] UNI - Ente Nazionale Italiano di Unificazione - Milano. Determinazione degli zuccheri secondo Luff Schoorl. Metodo UNI 22608 - 1992.
- [23] UNI - Ente Nazionale Italiano di Unificazione - Milano. Determinazione del contenuto di fibra alimentare totale. Metodo UNI 22607 - 1992.
- [24] UNI - Ente Nazionale Italiano di Unificazione - Milano. Determinazione dei protidi grezzi. Metodo UNI 22604 - 1992.
- [25] UNI - Ente Nazionale Italiano di Unificazione - Milano. Determinazione degli amminoacidi.

- Metodo per cromatografia a scambio ionico. Metodo UNI 22615 – 1992.
- [26] UNI - Ente Nazionale Italiano di Unificazione - Milano. Preparazione del campione per la determinazione degli amminoacidi. Metodo UNI 22614 - 1992.
- [27] UNI - Ente Nazionale Italiano di Unificazione - Milano. Preparazione del campione per la determinazione degli amminoacidi solforati. Metodo UNI 22619 - 2000.
- [28] UNI - Ente Nazionale Italiano di Unificazione - Milano. Determinazione del contenuto di amminoacidi solforati mediante cromatografia a scambio ionico. Metodo UNI 22621 - 2000.
- [29] UNI - Ente Nazionale Italiano di Unificazione - Milano. Preparazione del campione per la determinazione dell'amminoacido triptofano. Metodo UNI 22618 – 2000.
- [30] UNI - Ente Nazionale Italiano di Unificazione - Milano. Determinazione del contenuto di amminoacido triptofano mediante cromatografia a scambio ionico. Metodo UNI 22620 - 2000.
- [31] A. Gasparoli, S. Tagliabue, C. Mariani. Caratterizzazione dell'olio di jojoba utilizzato nel settore cosmetico: sua composizione in esteri. Riv. Ital. Sostanze Grasse 87, 34-57 (2010).
- [32] A. Gasparoli, M.E. Gaboardi. Considerazione analitiche sul dosaggio del colesterolo. Riv. Ital. Sostanze Grasse 87, 177-185 (2010).
- [33] P. Rovellini, N. Cortesi. Oxidative status of extra virgin olive oils: HPLC evaluation. Italian Journal of Food Science 16, 333-342 (2004).
- [34] P. Rovellini, N. Cortesi. Alfa-tocopherol oxidation products. Riv. Ital. Sostanze Grasse 79, 333-335. (2002).
- [35] P. Rovellini, M. Azzolini, N. Cortesi. Tocoferoli e tocotrienoli in oli e grassi vegetali mediante HPLC. Riv. Ital. Sostanze Grasse 74, 1-5 (1997).
- [36] P. Rovellini. Indice di qualità dell'olio extra vergine di oliva, antiossidanti naturali e stato di ossidazione. Riv. Ital. Sostanze Grasse 81, 335-341 (2004).
- [37] P. Rovellini, N. Cortesi, E. Fedeli. Profilo ossidativo e struttura chimica dei prodotti di ossidazione mediante HPLC-ES-MS. Riv. Ital. Sostanze Grasse 75, 57-76 (1998).
- [38] W. Gomes da Silva, P. Rovellini. Guaranà dell'Amazzonia. Determinazione dello stato di ossidazione lipidica e del contenuto in tocoferoli. Riv. Ital. Sostanze Grasse 82, 185-89 (2005).
- [39] N. Cortesi, P. Fusari. Progressi nella determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici in matrici lipidiche. Riv. Ital. Sostanze Grasse 87, 167-172 (2005).
- [40] W. Gomes da Silva, N. Cortesi, P. Fusari. Copaiba oleoresin: evaluation of the presence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences 46(3), 596-602 (2010).
- [41] P. Rovellini, P. Fusari, S. Venturini. Contenuto di idrocarburi policiclici aromatici in oli e grassi vegetali. Riv. Ital. Sostanze Grasse 86, 85-91 (2009).
- [42] UNICAMP, 2011. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada). Data consultazione: 01/05/2016.
- [43] Alimenti che contengono ceneri - valori nutrizionali alimenti. www.valori-alimenti.com/cerca/ceneri.php. Data consultazione: 27 marzo 2017.
- [44] Paullinia cupana Kunth (Sapindaceae): A review of its ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology. L. Hamerski, G. Vieira Somner, N. Tamaio. Journal of Medicinal Plants Research. 7(30), 2221-2229 (2013)
- [45] L. Folegatti, P. Rovellini, D. Baglio, S. De Cesari, P. Fusari, S. Venturini, A. Cavalieri. Caratterizzazione chimica della farina ottenuta dopo la spremitura a freddo dei semi di Cannabis sativa L. Riv. Ital. Sostanze Grasse 91, 3-13 (2014).
- [46] Alimenti ricchi di fibre. www.my-personaltrainer.it. Data consultazione: 26/03/2017.
- [47] P. Capella, E. Fedeli, G. Bonaga, G. Lercker. Manuale degli oli e dei Grassi. Tecniche Nuove, Milano, 485, (1997).
- [48] Burro di cacao - Wikipedia. https://it.wikipedia.org/wiki/Burro_di_cacao. Data consultazione: 22 maggio 2017.
- [49] P. Rovellini, N. Cortesi, P. Fusari, N. Zaganeli. Nutritional-health quality index evaluation of novel extra virgin olive oils. Note I. Riv. Ital. Sostanze Grasse 87, 75-83 (2010).
- [50] O colesterolo e a gordura em queijos - Visão Bioquímica: Visão Bioquímica e Visão Nutricional. www.abiq.com.br/nutricao_29.asp Data consultazione: 22 maggio 2017.
- [51] N.X. Moreira, R. Curi, J. Mancini Filho. Fatty acids: a review. Journal Brazilian Society Food Nutrition 24, 105-123 (2002).
- [52] P. Rovellini, S. Venturini, P. Fusari., O. Bulgari., A.M. Caroli, C. Gigliotti. Fatty acids and carbonylic volatile compounds in cow's milk. Riv. Ital. Sostanze Grasse 90, 139 -152 (2013).
- [53] J. Nunes Lucatto, N. T. G Saraspthy de Mendonça, D. A. Drunkler. Revisão. Acido linleico conjugado: Estrutura química, efeitos sobre a saúde humana e análises em lacteos. www.revistadoilct.com.br/ri/ct/article/viewFile/282/318. Data consultazione: 26/03/2017.
- [54] A. Jong, J. Plat, R.P. Mensink. Metabolic effects of plant sterols and stanols (Review). Journal of Nutritional Biochemistry 14, 362-369 (2003).

- [55] FAO/WORLD/WHO/UNU, 1985, 2010: Fats and fatty acids in human nutrition Report of an expert consultation, FAO Food and Nutrition Paper 91, FAO, Rome, (2010). (www.fao.org/docrep/013/i1953e/i1953e00.pdf). Data consultazione: 31/08/2016.
- [56] Regulamento da União Européia (UE) N. 835, 2011. Teores máximos de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos presentes nos géneros alimentícios. G. U. dell'Unione europea, 20.08.2011, L 215/4, 2011. (www.iss.it/binary/rcca/cont/reg._n._835_del_2011.pdf). Data consultazione: 30/08/2017.
- [57] SCF [FAO/WHO/JECFA, 2008. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food scientific opinion of panel on contaminants in the food chain. (www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/724.pdf). Data consultazione: 03/09/2016.
- [58] MINISTERIO DA SAUDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA (ANVISA). Resolução RDC 274/2005 e RDC 2/2007. Contaminantes hidrocarbonetos em Alimentos. in [GARCIA, L.P. et al.] Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em alimentos: uma revisão. PUBVET, Londrina, 8, n. 19, Ed. 268, art. 1788, n°2/2007, (2014).
- [59] Norme italiane per il controllo dei grassi e derivati. NGD C41, C42, 3ª Ed., Stazione Sperimentale per le Industrie degli Oli e dei Grassi, Milano 1976.
- [60] Norme italiane per il controllo dei grassi e derivati. NGD C71, C72. Ed. Stazione Sperimentale per le Industrie degli Oli e dei Grassi. 1989.
- [61] H. G. M. Edwards, D.W. Farwell, L.F.Cappa De Oliveira, M. Almeida. FT-Raman spectroscopic studies of guaraná and some extracts. *Analytica Chimica Acta* 532(2):177-186 (2005).
- [62] F. Schimpl, E. Kiyota, J. L. Sampaio Mayer, P. Mazzafera. Molecular and biochemical characterization of caffeine synthase and purine alkaloid concentration in guaraná fruit. *Phytochemistry* 105, 25-36 (2014).

Received: November 8, 2017

Accepted: June 5, 2018