



Constituintes químicos do pó comercial de *Hoodia gordonii* utilizado no tratamento da obesidade

Chemical constituents of the commercial formula of *Hoodia gordonii* used in the treatment of obesity

Recebido em 22/08/2011

Aceito em 18/06/2012

Chrystian Araújo Pereira^{1*}, Luciana Lopes Silva Pereira², Angelita Duarte Corrêa², Stefânia Priscilla de Souza³, Abel Gonzalez Galan⁴ & Pricila M Batista Chagas²

¹ Universidade Federal do Triângulo Mineiro

² Universidade Federal de Lavras

³ Instituto Militar de Engenharia

⁴ Universidad Autonoma Gabriel Rene Moreno

RESUMO

Hoodia gordonii é uma planta suculenta nativa de regiões áridas do continente africano consumida há séculos por tribos de nativos devido às suas supostas propriedades de supressão da fome e da sede. Objetivou-se neste estudo determinar os constituintes químicos de pós comerciais de *H. gordonii* (PHG). Para tanto, duas amostras de PHG adquiridas em farmácias de manipulação foram submetidas a análises de composição centesimal, amido, vitamina C, β-caroteno e antinutrientes. Na composição centesimal destacaram-se os elevados teores de ENN (acima de 90 g 100 g⁻¹ MS) confirmados pela dosagem de amido que revelou teores em torno de 50 g 100 g⁻¹ MS, semelhantes aos encontrados no seu principal adulterante. Entre os antinutrientes analisados foram detectados apenas polifenóis e nitratos, mas em níveis considerados seguros para o consumo. Os teores de ENN e amido são sugestivos, mas insuficientes para afirmar que as amostras foram adulteradas, o que deve ser investigado por análises cromatográficas para determinação da presença do glicosídeo ativo P57. Em algumas análises houve variações entre as duas amostras, reforçando a necessidade de fiscalização e padronização desse fitoterápico, para garantir a uniformidade no consumo independentemente do fornecedor ou época de comercialização.

Palavras chave: *Hoodia*, nutriente, antinutriente, constituintes químicos, obesidade

ABSTRACT

Hoodia gordonii (Masson) Sweet ex Decne is a succulent native plant from arid regions of Africa consumed for centuries by tribes of natives because of its supposed properties to suppress hunger and thirst. This study aimed to determine chemical constituents of commercial powders of *H. gordonii* (PHG). For this, we analyzed two samples of PHG purchased in dispensing pharmacies for proximate composition, starch, vitamin C, β-carotene and anti-nutrients. In the proximate composition the high levels of ENN (above 90 g 100 g⁻¹ DM) were confirmed by measuring levels of starch content revealed that around 50 g 100 g⁻¹ DM, similar to those found in the main adulterant. Among the anti-nutrients analyzed were detected only polyphenols and nitrates, but at safe levels for consumption. The contents of ENN and starch are suggestive but not enough to say that the samples were adulterated, which should be investigated by chromatographic analysis to determine the presence of active glycoside P57. In some analysis there were variation between the samples, reinforcing the need for supervision and standardization of herbal medicine to ensure uniformity in the consumption regardless, of supplier or time marketing.

Keywords: *Hoodia*, nutrient, anti-nutrient, chemical constituents, obesity

INTRODUÇÃO

A *Hoodia gordonii* (Masson) Sweet ex Decne é uma planta suculenta nativa de regiões áridas do continente africano (Janssen *et al.*, 2008). Há séculos tribos de nativos do deserto de Kalahari no sul da África, conhecidos como “Bushmen” consomem a *H. gordonii* in natura durante longas caçadas e caminhadas para suprimir a fome e a sede

(MacLean & Luo, 2004). Tais efeitos despertaram o interesse de cientistas e pesquisas realizadas pelo Council of Scientific and Industrial Research (CSIR) na África do Sul, levaram ao isolamento de um glicosídeo denominado P57 que foi imediatamente patentado devido a sua ação supressora do apetite (Van Heerden *et al.*, 1998).

* Contato: Chrystian Araújo Pereira, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Av. Frei Paulino, 30 - Bairro Abadia, 38025-180, Campus Universitário, Uberaba, MG, Brasil, (35) 9106-4442, E-mail: capfarma@yahoo.com.br

A perspectiva de um agente supressor de apetite natural e seguro tem despertado grande interesse na população e em empresas comerciais de todo o mundo. Atualmente, existem mais de 20 pedidos de patentes internacionais com *H. gordonii*, e muitas preparações comerciais contendo a planta estão disponíveis no mercado (Van Heerden, 2008). A demanda por produtos para perda de peso contendo *H. gordonii* aumenta acentuadamente e dados recentes indicam que existem mais de 100 produtos comercializados somente nos Estados Unidos em diversas apresentações como tabletes, cápsulas, géis, biscoitos, sucos, pós, “shakes” proteicos, chás e cafés (Avula *et al.*, 2008).

Apesar disso, até o momento, existem poucas informações a respeito da composição química da *H. gordonii* (Rader *et al.*, 2007), as quais limitam-se ao isolamento de glicosídeos ativos (Dall’acqua & Innocenti, 2007; Pawar *et al.*, 2007; Shukla *et al.*, 2009; Van Heerden *et al.*, 2007). Além disso, a possibilidade de adulteração de produtos comercializados como *H. gordonii* é significativa e se fundamenta na incompatibilidade entre o limitado suprimento e o aumento da demanda internacional pela planta (Avula *et al.*, 2008; Rader *et al.*, 2007), além da falta de referências para comparação, já que não existem estudos sobre a composição química de qualquer uma das 13 espécies já descritas do gênero *Hoodia*.

No Brasil, produtos a base de *H. gordonii* foram comercializados livremente, sem a necessidade de prescrição médica, em farmácias de manipulação, drogarias, lojas de suplementos dietéticos e até mesmo pela internet durante alguns anos. Em 2007 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária proibiu sua comercialização, manipulação e consumo por falta de regulamentação e informações científicas que garantissem sua eficácia e segurança (ANVISA, 2009).

Diante do exposto, fica clara a necessidade de estudos científicos para elucidação da composição química de extratos de *H. gordonii*, visando a obtenção de informações que subsidiem a avaliação de sua qualidade, procedência e regulamentação junto aos órgãos oficiais de controle.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi determinar os constituintes químicos de pós comerciais de *H. gordonii* (PHG) para fornecer informações até agora desconhecidas a respeito desses constituintes nessas amostras.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção do pó comercial de *Hoodia gordonii* (PHG)

Dois amostras comerciais do pó de *Hoodia gordonii* (denominadas HA e HB) foram adquiridas em farmácias de manipulação dos municípios de Lavras e Juiz de Fora, ambas no estado de Minas Gerais, acompanhadas de laudos de análises de controle da qualidade realizadas por fornecedores de matérias-primas nacionais, porém de procedência da China.

2.2 Análises

2.2.1 Composição centesimal

As umidades das amostras foram determinadas por dessecação em estufa a 105°C até peso constante. O

extrato etéreo foi determinado utilizando-se extrator contínuo tipo Soxhlet. A proteína bruta foi dosada pelo método Kjeldahl, utilizando-se o fator de conversão 6,25 (N x 6,25). A fibra alimentar, a cinza, resíduo mineral fixo, obtida pela incineração (550°C) em forno tipo mufla, a partir de uma quantidade definida do PHG, determinando-se a porcentagem do resíduo segundo AOAC, 2000. O extrato não nitrogenado foi calculado pela diferença de cem menos o somatório dos demais constituintes.

2.2.2 Açúcares totais

Os açúcares solúveis totais foram extraídos pelo método de Lane-Enyon (AOAC, 2000) e determinados pelo método de Somogy adaptado por Nelson (1944), no qual a redução de íons cobre em meio alcalino por açúcares redutores leva à formação de um produto azul com absorvância em 510nm, cuja intensidade da coloração é proporcional a quantidade de açúcares redutores presentes na amostra.

2.2.3 Amido

Determinado pelo método de Somogy adaptado por Nelson (1944) que consiste na hidrólise ácida do amido e posterior dosagem de açúcares redutores.

2.2.4 Vitamina C

A extração da amostra foi realizada de acordo com Strohecker & Henning (1967) e a determinação por CLAE segundo Silva *et al.* (2009), utilizando uma curva padrão de ácido ascórbico e detector UV.

2.2.5 β -caroteno

Para a determinação de β -caroteno, o PHG foi homogeneizado com uma mistura de acetona e hexano (4:6) e levado para leitura de absorvância em espectrofotômetro a quatro comprimentos de onda: 453; 505; 645 e 663 nm (Nagata & Yamashita, 1992). O teor de β -caroteno em mg/100 mL foi então calculado segundo a fórmula:

$$(0,216 \times \text{Abs } 663) - (1,22 \times \text{Abs } 645) - (0,304 \times \text{Abs } 505) + (0,452 \times \text{Abs } 453)$$

2.2.6 Lectinas

A atividade de hemaglutinação foi realizada nos extratos dissolvidos em solução salina tamponada segundo metodologia descrita por Calderon de La Barca *et al.* (1985), empregando placa de microtitulação para diluições sucessivas da amostra com salina tamponada seguidas de incubação com solução de hemácias a 2%. A leitura foi realizada após 60 e 120 minutos para detecção de aglutinação visível.

2.2.7 Nitratos

O teor de nitrato foi obtido segundo Cataldo *et al.* (1975), empregando-se KNO₃ como padrão. O complexo formado pela nitração do ácido salicílico, lido em 410nm apresenta absorvância proporcional à quantidade de nitrato na amostra.

2.2.8 Polifenóis

Foram dosados segundo metodologia descrita por Goldstein & Swain (1963), utilizando ácido tânico como padrão. O método colorimétrico baseia-se na medida espectrofotométrica em 760nm da intensidade da cor azul produzida na redução do reagente Folin-Denis por polifenóis presentes na amostra.

2.2.9 Saponinas

Análise segundo Baccou *et al.* (1977), utilizando como padrão a digitonina. A saponina extraída com etanol por agitação contínua é determinada pela reação com anisaldeído em meio ácido, produzindo um composto vermelho com absorvância máxima em 430nm.

2.2.10 Ácido oxálico

Foi analisado segundo Loures & Jokl (1990), utilizando titulação do extrato de ácido oxálico com permanganato de potássio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição centesimal (Tabela 1) dos PHG estudados revelou diferenças entre as amostras em todos os constituintes analisados, exceto para o extrato etéreo.

Tabela 1. Composição centesimal em g 100g⁻¹ de matéria seca¹ (MS) de duas amostras do pó comercial de *Hoodia gordonii*

Amostra ²	Extrato etéreo	Fibra alimentar			Cinza	ENN ³
		Proteínas	Solúvel	Insolúvel		
HA	0,24 ± 0,03	1,72 ± 0,18	1,03 ± 0,26	2,8 ± 0,08	2,76 ± 0,08	91,45 ± 0,30
HB	0,21 ± 0,03	1,21 ± 0,16	0,90 ± 0,12	0,5 ± 0,05	1,94 ± 0,03	95,24 ± 0,20

¹Dados são a média de triplicatas ± desvio padrão.

²Umidade, em g 100 g⁻¹: amostra HA = 5,07 ± 0,57; amostra HB = 0,95 ± 0,09.

³ENN: Extrato não nitrogenado.

Os níveis dos constituintes da composição centesimal dos PHG para as duas amostras foram baixos, à exceção do extrato não nitrogenado (ENN) que se mostrou elevado. Considerando que o ENN corresponde em sua maior parte aos carboidratos totais (Cecchi, 2003), os teores encontrados para os PHG são próximos aos presentes no cactus *Opuntia ficus* (palma forrageira) cujos teores variaram de 77,89 a 87,96 g 100g⁻¹ MS (Silva *et al.*, 2005; Tosto *et al.*, 2008; Wanderley *et al.*, 2002;). Já para o cacto do gênero *Pereskia* (ora-pro-nóbis) os níveis situam-se em torno de 30 a 40 g 100g⁻¹ MS (Rocha *et al.*, 2008).

Na Tabela 2 são apresentados os níveis de açúcares e amido no PHG de duas amostras comerciais do pó de *H. gordonii*. Observa-se que para ambas os teores são muito próximos.

A dosagem de açúcares e amido nos PHG foi realizada em função dos elevados teores de ENN, que são, a princípio, controversos por se tratar de um extrato com suposta ação auxiliar no emagrecimento. No entanto, considerando a dose recomendada diariamente do PHG de 1.600mg/adulto 70kg, os teores de açúcares presentes

nessa dose não representam quantidades significantes em termos calóricos.

A análise de amido dos PHG também revelou teores semelhantes aos descritos na literatura para *O. ficus* em torno de 50 a 60 g 100g⁻¹ MS (Silva *et al.*, 2005; Tosto *et al.*, 2008; Wanderley *et al.*, 2002).

A pouca disponibilidade de plantas nativas e a escassez do cultivo comercial aliadas à recente popularidade mundial da *H. gordonii* como suplemento dietético, tornaram a adulteração dos extratos comercializados um grande problema (Van Heerden, 2008). A limitada oferta e a crescente demanda pela planta aumentam significativamente a possibilidade de adulteração dos produtos comercializados como *H. gordonii*, configurando-se o gênero *Opuntia*, como um dos principais e possíveis adulterantes (Rader *et al.*, 2007).

Tabela 2 Teores de açúcares e de amido em g 100 g⁻¹ MS¹, de duas amostras do pó comercial de *H. gordonii*.

Amostra ²	Açúcares			Amido
	Totais	Redutores	Não-redutores	
HA	6,31 ± 0,59	4,61 ± 0,41	2,14 ± 0,30	48,25 ± 0,75
HB	6,90 ± 0,40	4,37 ± 0,33	2,32 ± 0,26	49,19 ± 0,44

¹Dados são a média de triplicatas ± desvio padrão.

²Umidade, em g 100 g⁻¹: amostra HA = 5,07 ± 0,57; amostra HB = 0,95 ± 0,09.

Outra hipótese a ser considerada com relação ao amido é a investigação de sua presença no PHG como constituinte natural do extrato ou como ingrediente inativo adicionado no momento do preparo e manipulação do extrato com a função de complementar o volume das cápsulas.

Tal possibilidade fundamenta-se no fato de que comumente são utilizados na produção de medicamentos (industrializados ou manipulados) os chamados excipientes ou ingredientes inativos que são substâncias destituídas de poder terapêutico, usadas para assegurar a estabilidade e as propriedades físico-químicas e organolépticas dos produtos farmacêuticos (Oliveira & Storpirtis, 1999). Dessa forma, o amido, a lactose, celulose, talco e outras substâncias atuam como diluentes em formulações farmacêuticas.

O desenvolvimento e utilização de técnicas analíticas para análises quantitativas do princípio ativo P57 são cruciais para o monitoramento da composição e segurança de uso de produtos que contenham *H. gordonii*, bem como essenciais na prevenção e detecção de possíveis adulterações (Rader *et al.*, 2007; Van Heerden, 2008).

Adicionalmente foram realizadas análises de vitamina C e β-caroteno, não sendo detectada a presença de ambos.

Os resultados encontrados são sugestivos, porém insuficientes para afirmar que as amostras analisadas estão em desacordo com as indicações terapêuticas propostas ou mesmo que se tratam de casos de adulterações. Tais hipóteses devem ser investigadas e esclarecidas com o auxílio de técnicas analíticas como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), capazes de determinar a presença do princípio ativo nas amostras em questão.

Por outro lado, foram realizadas análises de antinutrien-

tes para investigar a presença dessas substâncias potencialmente deletérias nas amostras comerciais de *H. gordonii*. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Antinutrientes¹ de duas amostras do pó comercial de *H. gordonii*

Amostra ²	Polifenóis	Nitratos	Lectinas	Saponinas	Ácido oxálico
	mg 100g ⁻¹ MS	g kg ⁻¹ MS	UH	µg digitonina	g 100g ⁻¹ MS
HA	0,10 ± 0,004	2,14 ± 0,08	ND	ND	ND
HB	0,08 ± 0,003	2,34 ± 0,12	ND	ND	ND

¹Dados são a média de triplicatas ± desvio padrão.

²Umidade, em g 100 g⁻¹: amostra HA = 5,07 ± 0,57; amostra HB = 0,95 ± 0,09.

³ND = Não detectada.

Observa-se que as duas amostras analisadas revelaram quantidades não detectadas de lectinas, saponinas e ácido oxálico e baixos teores de polifenóis que corrigidos e expressos em mg 100g⁻¹ de matéria integral, correspondem a 0,09 e 0,07, respectivamente. Esses teores são muito menores que os encontrados por Faller & Fialho (2009) na mesma unidade, em frutas como abacaxi (85,1), manga (110,5), laranja (114,6) e tangerina (134,1) e hortaliças como cenoura (45,1), repolho (66,9) e brócolis (68,0). Dessa forma, pode-se dizer que as amostras de *H. gordonii* não apresentam os potenciais efeitos prejudiciais de interação com proteínas alimentares (Deshpande *et al.*, 1986) relacionados aos polifenóis.

Com relação aos nitratos, os níveis encontrados estão próximos aos citados por Araújo (1995) em alimentos reconhecidamente ricos nesse antinutriente como espinafre (2,50g/kg) e rabanete (2,60g/kg). No entanto, considerando a dose diária usual de *H. gordonii* (1.600 mg/dia), o peso corporal médio de um adulto (70kg) e os níveis médios de nitratos encontrados (em torno de 2g kg⁻¹), a ingestão diária de nitratos provenientes da *H. gordonii* por um indivíduo adulto seria em torno de 0,05mg kg⁻¹ peso corporal, valor este, cem vezes menor que o máximo diário recomendado pela Organização Mundial de Saúde (Sgarbieri, 1987) para o nitrato.

CONCLUSÃO

Os valores de ENN e amido são sugestivos, mas insuficientes para afirmar que as amostras foram adulteradas ou são desprovidas do efeito terapêutico proposto. Tais hipóteses devem ser investigadas com auxílio de ensaios para determinação da presença do princípio ativo P57 por CLAE e ensaios biológicos para avaliação da toxicidade e eficácia após uso crônico dos extratos. Com relação aos antinutrientes os teores detectados não representam risco para o consumo.

Os resultados encontrados indicam diferenças entre as amostras comerciais de PHG em algumas das análises realizadas e, apesar de se tratarem de apenas dois fornecedores, tais diferenças podem ser ainda maiores considerando o grande universo de fornecedores que comercializavam o produto antes da sua proibição. Além disso, reforçam a necessidade de fiscalização e padronização de medicamentos fitoterápicos de acordo

com a legislação específica (ANVISA, 2009) para impedir adulterações e garantir que pacientes submetidos ao uso contínuo consumam sempre o mesmo produto independente do local de comercialização (farmácia, drogaria, lojas de suplemento) ou da origem da matéria-prima. Vale ressaltar que das 13 espécies descritas do gênero *Hoodia* (Muller & Albers, 2002) não existem relatos a respeito da composição centesimal.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos à CAPES pela bolsa de doutorado e à FAPEMIG pelo apoio financeiro ao projeto e pela bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

- Anvisa - Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). *Resolução RDC n.º 48, de 16 de março de 2004*. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em setembro 2009.
- Araújo JMA. Química de alimentos: teoria e prática. Viçosa:UFV, 1995. 335 p.
- Association Of Official Analytical Chemists (AOAC). Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists. 17. ed. Washington, 2000.
- Avula B, Wang Y, Pawar RS, Shukla YJ, Smillie TJ, Khan IA. A rapid method for chemical fingerprint analysis of *Hoodia* species, related genera and dietary supplements using UPLC-UV-MS. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 48(3): 722-731, 2008.
- Baccou JC, Lambert F, Sauvaire Y. Spectrophotometric method for the determination of total steroidal sapogenin. *Analyst.* 102(1215): 458-465, 1977.
- Calderón de La Barca AM, Ochoa JL, Valencia ME. Effect of the extraction of a hemagglutinin on the nutritive value of *Amaranthus leocarpus* seeds. *J. Food Sci.* 50(6): 1700-1702, 1985.
- Cataldo DA, Haaron M, Schrader LE, Young VL. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 6(1): 71-80, 1975.
- Cecchi HM. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. 2. ed. Campinas: Ed. Unicamp, 2003. 208 p.
- Dall'acqua S, Innocenti G. Steroidal glycosides from *Hoodia gordonii*. *Steroids.* 72(6/7): 559-568, 2007.
- Deshpande SS, Cheryan M, Salunke DK. Tannin analysis of food products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 24(4): 401-449, 1986.
- Faller ALK, Fialho E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. *Rev. Saúde Pública.* 43(2): 211-218, 2009.
- Ferreira DF. Análises estatísticas por meio do SISVAR para windows versão 4.0. In: Reunião Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45, 2000, São

- Carlos. *Livro de Resumos*. São Carlos: UFSCar, 2000. p. 235.
- Goldstein JL, Swain T. Changes in tannins in repening fruits. *Phytochemistry*. 2(4): 371-383, 1963.
- Heerden FRVan. *Hoodia gordonii*: a natural appetite suppressant. *J. Ethnopharmacol.* 119(3): 434-437, 2008.
- Heerden FRVan, Horak RM, Maharaj VJ, Vleggaar R, Senabe JV, Gunning PJ. An appetite suppressant from *Hoodia* species. *Phytochemistry*. 68(20): 2545-2553, 2007.
- Heerden FRVan, Vleggaar R, Horak RM, Learmonth RA, Maharaj V, Whittal RD. Steroidal glycosides, methods for their production and preparation, pharmaceutical compositions containing them, and their use as appetite suppressants. *International Patent*, WO n. PI 98/46243, 1998. 162 p.
- Janssen H, Swindells C, Gunning P, Wang W, Grün C, Mahabir K, Maharaj VJ, Apps PJ. Quantification of appetite suppressing steroid glycosides from *Hoodia gordonii* in dried plant material, purified extracts and food products using HPLC-UV and HPLC-MS methods. *Anal. Chim. Acta.* 617(1/2): 200-207, 2008.
- Loures A, Jokl L. Microtécnica para determinação de ácido oxálico em folhas e derivados. In: Encontro Nacional de Analistas de Alimentos, 6., 1990, Curitiba. *Livro de Resumos*. Curitiba: Instituto de Tecnologia do Paraná, 1990. p. 59.
- Maclean DB, Luo L. Increased ATP content/production in the hypothalamus may be a signal for energy-sensing of satiety: studies of the anorectic mechanism of a plant steroidal glycoside. *Brain Res.* 1020(1/2): 1-11, 2004.
- Muller B, Albers F. *Illustrated handbook of succulent plants*. New York: Springer, 2002.
- Nagata M, Yamashita I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish.* 39(10): 925-928, 1992.
- Nelson NA. A photometric adaptation of Somogy's method for determination of glucose. *J. Biol. Chem.* 153(1): 375-380, 1944.
- Oliveira PG, Storpirtis S. Toxicidade de excipientes: carência de informação nas bulas de medicamentos disponíveis no mercado brasileiro. *Rev. Bras. Cien. Farm.* 35(1): 71-72, 1999.
- Pawar RS, Shukla YJ, Khan SI, Avula B. New oxypregnane glycosides from appetite suppressant herbal supplement *Hoodia gordonii*. *Steroids.* 72(6/7): 524-534, 2007.
- Rader JI, Delmonte P, Trucksess MW. Recent studies on selected botanical dietary supplement ingredients. *Anal. Bioanal. Chem.* 389(1): 27-35, 2007.
- Rocha DRC, Pereira Júnior GA, Vieira G, Pantoja L, Santos AS, Pinto NAVD. Macarrão adicionado de ora-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) desidratado. *Alimentos e Nutrição.* 19(4): 459-465, 2008.
- Scott AJ, Knott M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics.* 30(3): 507-512, 1974.
- Sgarbieri VC. *Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento*. São Paulo: Almed, 1987. 387 p.
- Shukla YJ, Pawar RS, Ding Y, Li X, Ferreira D, Khan IA. Pregnane glycosides from *Hoodia gordonii*. *Phytochemistry.* 70(5): 675-683, 2009.
- Silva AEV, Guim A, Ferreira MA, Lima LE, Pessoa RAS, Sosa MY. Estratégia alimentar para dieta baseada em palma forrageira sobre o desempenho e digestibilidade em vacas em final de lactação. *Acta Sci. Anim. Sci.* 27(2): 269-276, 2005.
- Silva PA, Queiroz ER, Abreu CMP, Saczk AA. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação de vitamina C em morango por HPLC. In: Congresso de Pós-Graduação da Ufla, 18., 2009, Lavras. Lavras: UFLA, 2009. CD-ROM.
- Strohecker R, Henning HM. *Análisis de vitaminas: métodos comprobados*. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428 p.
- Tosto MSL, Araújo GGL, Oliveira RL, Jaeger SMPL, Menezes DR, Dantas FR. Utilização de uréia no resíduo desidratado de vitivinícola associado à palma forrageira na alimentação de caprinos: consumo e digestibilidade de nutrientes. *Rev. Bras. Zootec.* 37(10): 1890-1896, 2008.
- Wanderley WL, Ferreira MA, Andrade DKB, Vêras ASC, Farias I, Lima LE, Dias AMA. Palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) na alimentação de vacas leiteiras. *Rev. Bras. Zootec.* 31(1): 273-281, 2002.