

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Luciana Mouta de Oliveira

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS
LIOFILIZADOS DE *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd) O. Berg**

Rio de Janeiro

2015

Luciana Mouta De Oliveira

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS
LIOFILIZADOS DE *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd) O. Berg**

Dissertação de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, com requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.
Orientador: Prof. Dr. Alexandre Porte.
Coorientador: Dr. Ronoel Luiz de Oliveira Godoy

Rio de Janeiro

2015

Luciana Mouta De Oliveira

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS
LIOFILIZADOS DE *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd) O. Berg**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós Graduação em Alimentos e
Nutrição da Universidade Federal do Estado do
Rio de Janeiro.

Aprovado em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Dr. Alexandre Porte

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

Dr. Ricardo Felipe Alves Moreira

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

Dr. Ronoel Luiz de Oliveira Godoy

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Dr^a. Manuela Cristina Pessanha De Araújo Santiago

Embrapa Agroindústria de Alimentos

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Ana Lúcia e Luiz Ricardo, por todo amor, carinho, apoio e incentivo.

Aos meus irmãos, Jansen, Júlia e Maria Eduarda, por estarem sempre por perto.

Ao meu orientador, Dr. Alexandre Porte, por todo o tempo dedicado, pela orientação, amizade e incentivo.

Ao meu coorientador, Dr. Ronoel Luiz de Oliveira Godoy, pelas orientações desde a graduação, ter me incentivado a realização deste curso, por toda dedicação e amizade.

A toda equipe do Laboratório de Cromatografia Líquida da Embrapa Agroindústria de Alimentos, a Pesquisadora Renata Galhardo Borguini, os analistas Manuela Cristina P. de A. Santiago, Sidney Pacheco, Luzimar da S. de M. do Nascimento, e estagiários, por toda ajuda, atenção e esclarecimentos prestados.

Aos alunos de pós-graduação Carolina P. da Cunha, Joana de N. Pereira, e Amanda M. D. Martins, por dividirem o tempo no laboratório, toda contribuição, amizade e bons momentos.

A Ana Christina Miranda Senna Gouvêa, por me acompanhar desde a graduação como orientadora e amiga, sempre disposta a dedicar um pouco do seu tempo a minhas dúvidas e preocupações.

Ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da UNIRIO pela oportunidade de realização do mestrado.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desta dissertação.

Ficha Catalográfica

RESUMO

Nos últimos anos o consumo de frutas e hortaliças passou a ser cada vez mais estimulado, não somente pelos benefícios nutricionais destes alimentos, mais por ser notória a presença de substâncias bioativas capazes de reduzir o risco do desenvolvimento de doenças degenerativas, como por exemplo, as substâncias antioxidantes. Neste contexto, torna-se interessante o estudo de substâncias bioativas em frutas e hortaliças a fim de estabelecer novas fontes destas substâncias. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi a avaliação de substâncias bioativas, a composição centesimal, de voláteis e atividade antioxidante em frutos de *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) O.Berg. Para tal, os frutos foram coletados na APA da Restinga de Maricá (Rio de Janeiro). As análises de umidade, cinzas e proteínas, da composição centesimal, foram realizadas segundo metodologias da AOAC, lipídios foram determinados segundo a metodologia da AOCS e carboidratos totais foram calculados por diferença. Os compostos bioativos (carotenoides, flavonoides, ácidos fenólicos e ácido ascórbico) e açúcares livres foram determinados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e os voláteis por Cromatografia Gasosa de alta resolução. Atividade antioxidante foi determinada pelos métodos ABTS^{•+} e DPPH[•]. O liofilizado de polpa com casca de camboim apresentou 52.22 mg.100g⁻¹ de carotenoides, dos quais 85.61% são carotenoides provitaminicos A. A análise de flavonoides revelou a presença de 78.56 mg.100g⁻¹ de rutina. Foram identificados e quantificados os ácidos gálico (5.45 mg.g⁻¹) e elágico (2.21 mg.g⁻¹). A atividade antioxidante apresentada de 550.14 μmol Trolox.g⁻¹ (ABTS^{•+}) e EC₅₀ de 85.68 g.g⁻¹ DPPH[•] mostrou-se superior a de diversos outros frutos da mesma família. A análise dos voláteis revelou o β-cis-Ocimeno como composto majoritário, representando 50.9% do total. As análises de composição centesimal revelaram um baixo teor de lipídeos e proteínas quando comparado a outros frutos da mesma família. A polpa e casca de camboim liofilizadas revelaram-se fontes de nutrientes, compostos bioativos e antioxidantes.

Palavras chave: Myrtaceae, *Myrciaria floribunda*, antioxidantes, substâncias bioativas, Ácido Ascórbico, Carotenoides, Flavonoides, Ácidos fenólicos, voláteis.

ABSTRACT

Last years the consumption of fruits and greenery began to be even more stimulated, not only because of their nutritional benefits, but also for it remarkable presence of bioactive compounds capable of decreasing the risk of degenerative disease development, for example antioxidant compounds. In this context, become interesting study bioactive compounds in fruits and greenery with the objective of setting new sources of these compounds. Thus, the aim of this work is to evaluate bioactive compounds, chemical composition, volatiles and antioxidant activity in fruits of *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) O.Berg. Therefore, fruits will be collected in Restinga de Maricá (RJ), splitted and sampled by size and maturity. Analysis of humidity, ashes, proteins of centesimal composition were made according to the methodology of AOAC, lipids were determined according to the methodology of AOCS, and total carbohydrates were calculated by difference. Bioactive compounds (carotenoids, flavonoids, phenolic acids and ascorbic acid) and free sugars were determined by high performance liquid chromatography and volatiles by high resolution gas chromatography. Antioxidant activity was determined by methods ABTS⁺ and DPPH. The freeze-dried of camboim's pulp and peel showed 52.22 mg.100g⁻¹ of carotenoids, of which 85.61% were pro-vitaminic A carotenoids. Analysis of flavonoids revealed presence of 78.56 mg.100g⁻¹ of rutin. Were identified and quantified gallic (5.45 mg.g⁻¹) and ellagic (2.21 mg.g⁻¹) acids. Antioxidant activity presented of 550.14 μmol Trolox.g⁻¹ (ABTS⁺) and EC₅₀ of 85.68 g.g⁻¹ DPPH showed itself superior of the one found in various fruits of the same family. Analysis of volatiles revealed as majority component β-*cis*-ocimene, that represents 50.9% of its total. Analysis of centesimal composition revealed low contents of lipids and proteins when compared to others fruits of the same family. Freeze-dried camboim's pulp and peel showed itself as source of nutrients, bioactive compounds and antioxidants.

Key words: Myrtaceae, *Myrciaria floribunda*, antioxidants, bioactive compounds, ascorbic acid, carotenoids, flavonoids, fenolic acids, volatiles.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVO	12
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3. REVISÃO DA LITERATURA	13
3.1. MYRTACEAS DO RIO DE JANEIRO	13
3.1.1. <i>Myrciaria floribunda</i> (H.West ex Willd) O.Berg	14
3.2. SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS	14
3.2.1. Ácidos fenólicos	15
3.2.2. Flavonoides	16
3.2.3. Carotenoides	17
3.2.4. Ácido Ascórbico	19
3.3. COMPOSTOS VOLÁTEIS	20
3.4. ANTIOXIDANTES	21
3.5. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA – CLAE	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1. REAGENTES	24
4.2. AMOSTRA	25
4.3. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	26
4.3.1. Umidade	26
4.3.2. Análise de cinzas	26
4.3.3. Análise de lipídeos	27

4.3.4.	Análise de proteínas.....	27
4.3.5.	Análise de Carboidratos totais	28
4.4.	ANÁLISE DE CAROTENÓIDES	29
4.4.1.	Extração de carotenoides	29
4.4.2.	Análise por CLAE	29
4.5.	ANÁLISE DE ÁCIDO ASCÓRBICO	30
4.5.1.	Extração de Ácido Ascórbico	30
4.5.2.	Análise por CLAE	31
4.6.	ANÁLISE DE AÇÚCARES	31
4.6.1.	Extração de açúcares.....	31
4.6.2.	Análise por CLAE	32
4.7.	ANÁLISE DE FLAVONOIDES.....	32
4.7.1.	Extração de flavonoides.....	33
4.7.2.	Análise por CLAE	33
4.8.	ANÁLISE DE ÁCIDOS FENÓLICOS	34
4.8.1.	Extração de ácidos fenólicos.....	34
4.8.2.	Análise por CLAE	35
4.9.	ANÁLISE DE VOLÁTEIS	35
4.9.1.	Extração dos voláteis	35
4.9.2.	Análise por CG	36
4.10.	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	37
4.10.1.	Extração dos antioxidantes.....	37
4.10.2.	Determinação da atividade antioxidante	37

4.10.2.1. Método ABTS ⁺	38
4.10.2.2. Método DPPH	38
4.11. ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E AÇÚCARES LIVRES	39
5.2. ÁCIDO ASCÓRBICO	41
5.3. FLAVONÓIDES	42
5.4. ÁCIDOS FENÓLICOS	43
5.5. CAROTENOIDES	45
5.6. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	47
5.7. COMPOSTOS VOLÁTEIS	48
6. CONCLUSÃO	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
ANEXO I: Myrtaceas encontradas no Rio de Janeiro	61

1. INTRODUÇÃO

Myrtaceae é uma família de grande representatividade no Brasil. A vegetação de restinga do Estado de Janeiro é rica em espécies desta família, com variedades de alto potencial alimentar (SOBRAL *et al.*, 2013; PEREIRA *et al.*, 2012). Muitas destas espécies já tiveram a composição centesimal e de substâncias bioativas de seus frutos elucidadas, apresentando-se como boas fontes destas substâncias. Estes frutos são amplamente conhecidos e consumidos pela população.

Restingas são ecossistemas de formação arenosa característicos do litoral originários de planícies sedimentares. Esta formação é encoberta por vegetações herbáceas e arbustivas-arbóreas, rodeada por dunas que separam lagos, lagoas, pântanos e brejos (RAMOS, MONTEIRO, SILVA, NAKAMURA & SIANI, 2010; AMARAL *et al.*, 2013). A Restinga de Maricá constitui uma área de proteção ambiental (APA). A APA de Maricá localiza-se no município de Maricá, estado do Rio de Janeiro, a cerca de 20 km a leste da entrada da Baía de Guanabara, com uma extensão de aproximadamente 8 km. Apesar de constituir uma APA, esta restinga é constantemente ameaçada pela ocupação humana, através de atividades ilegais como a extração de areia, a prática de trilha e exercícios militares, onde veículos trafegam sobre as dunas e áreas de vegetação destruindo a flora e a fauna local; além do despejo irregular de lixo doméstico, entulho de obras da construção civil, carcaças de automóveis, e o depósito de oferendas religiosas, que eventualmente provocam queimadas (RIZZINI, PEREIRA, OCCHIONI & AGAREZ, 1990; SILVA, ABREU & SILVESTRE, 2012).

A *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) O.Berg é uma espécie frutífera da família das Mirtáceas. Esta espécie é encontrada em vários trechos de vegetação nativa de restinga no Estado do Rio de Janeiro (SOUZA & MORIM, 2008). Seus frutos, popularmente conhecidos como camboim, são consumidos pela população sob a forma de geleias ou *in natura*. No Município de Maricá seus frutos são conhecidos pela utilização em bebida aguardente, na qual são armazenados para conferir sabor. As informações difundidas sobre esta espécie estão relacionadas a suas características botânicas, a utilização popular, e a composição e atividade terapêutica do óleo essencial de suas folhas (APEL *et al.*, 2006). No entanto informações sobre seu valor nutricional e funcional não são encontrados na literatura. Uma avaliação da

composição química destes frutos traria maiores informações sobre o conteúdo de substâncias bioativas podendo agregar um maior valor a espécie.

Substâncias bioativas são moléculas com atividade biológica, ditas promotoras da saúde. Estas substâncias apresentam-se como uma alternativa para auxiliar no tratamento de diversas doenças degenerativas, tais como as cardiopatias, aterosclerose, problemas pulmonares e certos tipos de câncer, e reduzir o risco do desenvolvimento destas patologias. Uma de suas atividades de grande destaque é a sua propriedade antioxidante (PINTO, 2008; PENNINGTON, 2002). Estas substâncias compreendem inúmeras moléculas, com as mais variadas estruturas, dentre as quais se destacam os carotenoides, flavonoides e o ácido ascórbico, que atualmente têm sido amplamente estudados devido esta propriedade (CABRAL *et al.*, 2009; BRAGA *et al.*, 2010; COUTO & CANNIATTI-BRAZACA, 2010; EINBOND *et al.*, 2004; SHEN *et al.*, 2009; LUXIMON-RAMMA *et al.*, 2003; KLOPOTEK *et al.*, 2005).

2. OBJETIVO

Estabelecer a composição centesimal, atividade antioxidante, quantificação e identificação de substâncias bioativas e açúcares em frutos de *Myrciaria floribunda*.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer a composição centesimal, quantificação de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, fibras e carboidratos
- Análise qualitativa e quantitativa de carotenoides
- Análise qualitativa e quantitativa de Ácido Ascórbico
- Análise qualitativa e quantitativa de açúcares

- Análise qualitativa e quantitativa de ácidos fenólicos
- Análise qualitativa e quantitativa de flavonoides
- Análise qualitativa de voláteis
- Determinação da atividade antioxidante (AAT)

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. MYRTACEAS DO RIO DE JANEIRO

A família Myrtaceae é composta por cerca de 130 gêneros e 5671 espécies (GOVAERTS *et al.*, 2008). No Brasil, Myrtaceae é uma das famílias mais importantes, sendo representada por aproximadamente 1000 espécies distribuídas em 24 gêneros. Muitas destas espécies possuem alto potencial alimentar e são comercializadas *in natura* para aplicação na produção de sorvetes, sucos, geleias e outros produtos manufaturados (SOBRAL *et al.*, 2013; PEREIRA *et al.*, 2012). É uma família de grande representatividade na flora do Rio de Janeiro, apresentando-se como a família de maior riqueza em diversos trechos de Mata Atlântica nas diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro (SOUZA & MORIN, 2008; KUTZ & ARAÚJO, 2000; PEREIRA *et al.*, 2012; PEIXOTO *et al.*, 2004; PEREIRA *et al.*, 2001). As espécies encontradas no Estado do Rio de Janeiro bem como sua localização dentro do Estado podem ser observadas no anexo I.

Muitas destas espécies são amplamente utilizadas pela medicina popular brasileira, algumas já foram estudadas e tiveram sua composição química e propriedades elucidadas (CRUZ & KAPLAN, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2012). Entretanto, ainda existem poucos estudos etnomedicinais, fitoquímicos e farmacológicos sobre esta importante família (CRUZ & KAPLAN, 2004).

3.1.1. *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) O.Berg

A *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) O.Berg (Figura 1A) é uma árvoreta de até 5 m de altura distribuída na América do Sul e América Central (SOUZA & MORIM, 2008). No Brasil, é conhecida popularmente como camu-camu arbustivo ou camboim, podendo ser encontrada desde o estado do Pará até o Rio Grande do Sul, na Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (SOUZA & MORIM, 2008; LOURENÇO & BARBOSA, 2012; MOREIRA FILHO & FERREIRA, 2009). Possui inflorescências com até 6 flores brancas e de superfície glabra (sem pelos) (LOPÉZ *et al.*, 2006; SOUZA & MORIM, 2008; LOURENÇO & BARBOSA, 2012). Seus frutos (Figura 1B) globosos ácidos e suculentos de coloração alaranjada ao vermelho escuro quando maduros são consumidos *in natura*, em forma de doces ou geleias (SOUZA & MORIM, 2008; LOURENÇO & BARBOSA, 2012; LORENZI *et al.*, 2006).



Figura 1: *Myrciaria floribunda* (A) e seus frutos (B).

Segundo Apel *et al.* (2006), o óleo essencial das folhas de *M. floribunda* apresenta atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e efeito citotóxico em células de glioblastoma. Outro estudo, realizado por Tietbohl *et al.* (2012), revelou ainda que o óleo essencial das folhas, flores e caule possui atividade anticolinesterase, atividade esta atribuída a presença do monoterpene oxigenado 1,8-cineol.

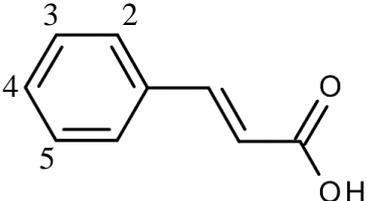
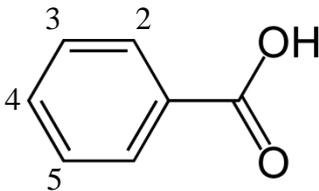
3.2. SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS

Os alimentos de origem vegetal apresentam substâncias com atividade biológica, ditas promotoras da saúde, capazes de reduzir o risco do desenvolvimento ou auxiliar no tratamento de doenças cardiovasculares, câncer, acidentes vasculares, osteoporose, desordens imunológicas, e outras. Estas substâncias são comumente conhecidas como substâncias bioativas ou funcionais. Os mecanismos pelo qual estas substâncias proporcionam estes benefícios estão relacionados á atividades como: antioxidante, desintoxicante, antimicrobiana, citotóxica, fungicida, hipocolesterolêmica, anticoagulante, antiinflamatória, etc (PINTO, 2008; PENNINGTON, 2002). Os compostos bioativos compreendem inúmeras substancias químicas com as mais variadas estruturas, dentre elas podemos citar os carotenoides, ácidos fenólicos, flavonóides e a vitamina C, que atualmente tem sido amplamente estudados devido suas propriedades antioxidante (CABRAL *et al.*, 2009; BRAGA *et al.*, 2010; BOLELLI *et al.*, 2007; COUTO & CANNIATTI-BRAZACA, 2010; EINBOND *et al.*, 2004; SHEN *et al.*, 2009; LUXIMON-RAMMA *et al.*, 2003; KLOPOTEK *et al.*, 2005).

3.2.1. Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos, quando referidos aos vegetais, são um grupo de metabólitos secundários aromáticos com a função ácido carboxílico. Estes ácidos são derivados hidroxilados dos ácidos benzoico e cinâmico (Tabela 1). Os derivados do ácido cinâmico, como os ácidos *p*-cumárico, cafêico e ferúlico, são encontrados frequentemente em alimentos sob a forma de ésteres simples ligados ao ácido quinico ou glicosilados, enquanto os derivados do ácido benzóico, como os ácidos *p*-hidroxibenzoico e vanílico, são encontrados em alimentos sob a forma de glicosídeos. Nos vegetais, estes ácidos são importantes ao desempenho de diversas funções, estando envolvida na síntese de proteínas, atividades enzimáticas, fotossíntese, componentes estruturais, alelopatia e na captação de nutrientes. Nos alimentos estão associados a características organolépticas, qualidade nutricional e atividade antioxidante. O consumo de alimentos ricos nestas substâncias tem sido associado a diminuição do risco de desenvolvimento de diversas doenças, incluindo câncer, cardiopatias e patologias de origem microbiana (MATTILA & KUMPULAINEN, 2002; ROBBINS, 2003).

Tabela 1: Ácidos fenólicos derivados hidroxilados dos ácidos cinâmico e benzoico.

Precursor	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Derivado
 <p>Ácido Cinâmico</p>	OH	H	H	H	Ác. <i>o</i> -cumarico
	H	H	OH	H	Ác. <i>p</i> -cumarico
	H	OH	H	H	Ác. <i>m</i> -cumarico
	H	OCH ₃	OH	H	Ác. Ferúlico
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Ác. Sináptico
	H	OH	OH	H	Ác. Cafêico
 <p>Ácido Benzóico</p>	OH	H	H	H	Ác. Salicílico
	H	H	OH	H	Ác. <i>p</i> -hidroxibenzoico
	H	OCH ₃	OH	H	Ác. Vanílico
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Ác. Sríngico
	H	OH	OH	H	Ác. Protocatecuico
	OH	H	H	OH	Ác. Gentísico
	OH	OH	OH	OH	Ác. Gálico
	H	OCH ₃	OCH ₃	H	Ác. Verátrico

3.2.2. Flavonoides

Os flavonoides são um grupo de compostos fenólicos facilmente encontrados em frutas, flores, vegetais e seus produtos de preparação (geleias, vinhos, chás, compotas, entre outros). A ingestão destes compostos está associada com a longevidade e redução na incidência de doenças cardiovasculares, devido suas propriedades benéficas à saúde humana, tais como atividade antioxidante, anti- inflamatória, anti-tumoral e anticoagulante (VOLP *et al.*, 2008).

Os flavonoides são formados por uma estrutura de 15 átomos de carbono na formação C6-C3-C6, composta por dois anéis aromáticos ligados por três carbonos e um átomo de oxigênio formando um anel heterocíclico oxigenado, denominado anel C (GOUVÊA, 2010). Existem 13 subclasses de flavonoides, dentre as quais os 4 maiores grupos (Figura 2) são: as flavonas, flavanonas, catequinas e antocianinas (TRUEBA, 2003; VOLP *et al.*, 2008; MARTÍNEZ-FLÓREZ, 2002).

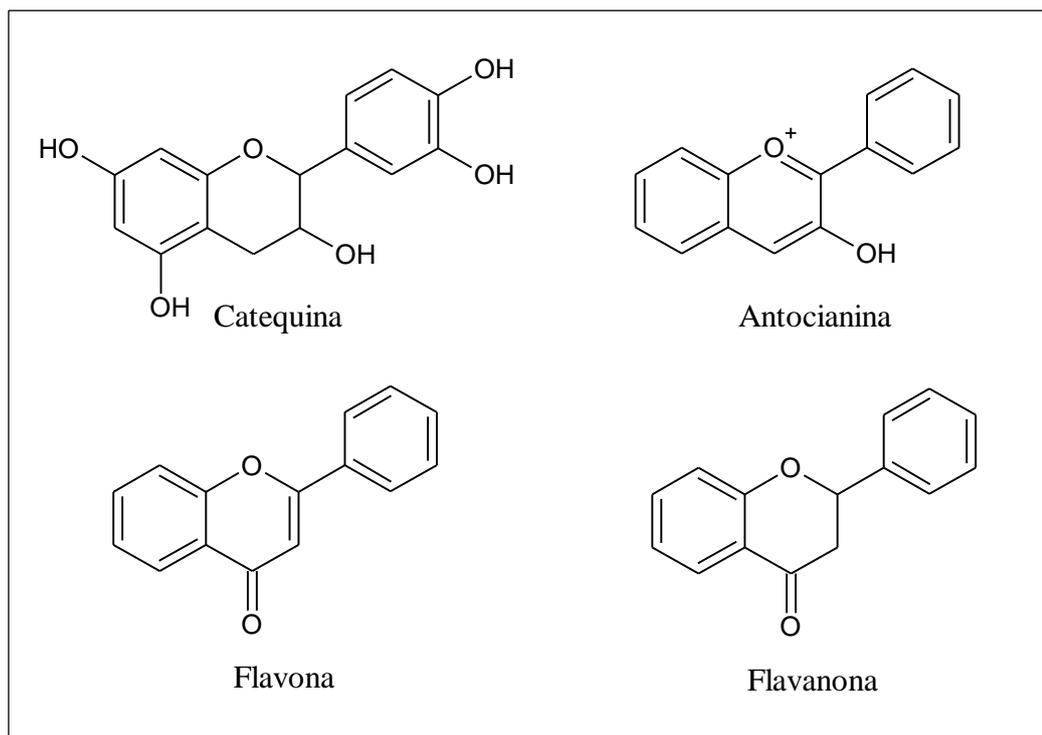


Figura 2: Flavonoides, Estrutura química básica dos quatro grupos mais encontrados em alimentos.

3.2.3. Carotenoides

Os carotenoides são uma família de pigmentos naturais responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha em diversos organismos. Podendo ser armazenado por organismos não fotossintetizantes, como fungos, bactérias e alguns animais, e produzido por organismos não fotossintetizantes, como algas e plantas superiores. Estima-se que sejam produzidas por estes organismos cerca de 100 milhões de toneladas de carotenoides por ano (FRASER & BRAMLEY, 2004). Existem, aproximadamente, 700 carotenoides na natureza, destes apenas 40 podem ser absorvidos, metabolizados e utilizados pelo organismo humano, onde apenas 6 dentre os 40 são observados a nível plasmático, o β -caroteno, α -caroteno, licopeno, β -criptoxantina, zeaxantina e a luteína (Figura 3) (FERNÁNDEZ-GARCÍA *et al.*, 2012). Processos de ciclização, hidrogenação, desidrogenação, migração de duplas ligações, encurtamento ou alongamento de cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de funções com

oxigênio ou a combinação destes processos resultam nesta grande diversidade de estrutura dos carotenoides (DIAS *et al.*, 2008).

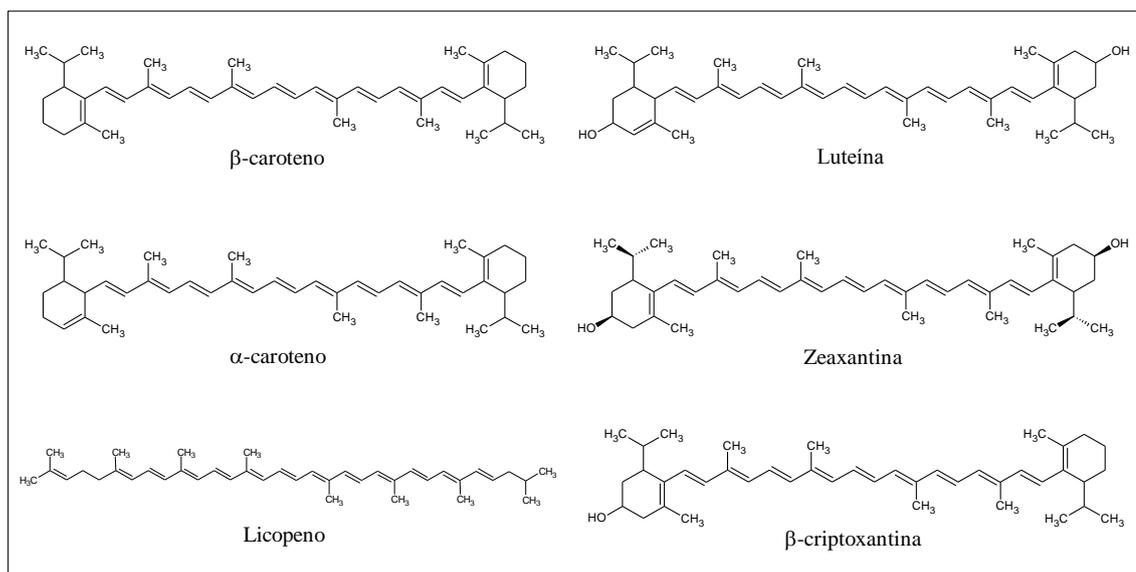


Figura 3: Carotenóides

Estruturalmente os carotenoides são tetraterpenóides de 40 carbonos unidos por unidades opostas no centro da molécula. Esta cadeia pode ter de 3 a 15 ligações conjugadas que determinam o espectro de absorção e, assim, a cor da molécula carotenóide (STAHL & SIES, 2005; FRASER & BRAMLEY, 2004). Este espectro é de fundamental importância para análise de carotenoides, através deste é possível obter diversas informações sobre a estrutura da molécula (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007).

Os carotenoides podem ser classificados em dois grupos, os carotenos e as xantofilas. Os carotenos são carotenoides compostos apenas por carbono e hidrogênio, já as xantofilas apresentam grupos substituintes com oxigênio. β-caroteno, α-caroteno e licopeno são importantes membros do grupo dos carotenos, enquanto luteína, zeaxantina e α e β-criptoxantina, são das xantofilas (STAHL & SIES, 2005).

Durante muitos anos o estudo de carotenoides focou-se na composição e identificação de carotenoides pró-vitâmicos A em alimentos, isto é, aqueles carotenoides que quando absorvidos pelo organismo humano são clivados em uma ou duas moléculas de vitamina A, com destaque para o β-caroteno, o carotenóide que possui maior atividade (KIMURA & RODRIGUEZ-AMAYA, 2008). Atualmente os estudos encontram-se direcionados para atividade antioxidante destes compostos, buscando avaliar e quantificar os compostos de

maior atividade. Dentre os carotenoides mais amplamente estudados o que possui maior atividade antioxidante é o licopeno (DIAS, CAMÕES E OLIVEIRA, 2008; UENOJO *et al.*, 2007).

3.2.4. Ácido Ascórbico

O ácido-*L*-ascórbico (Vitamina C), nomenclatura definida pela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), é uma vitamina hidrossolúvel amplamente encontrada em frutas e vegetais (CARDOSO *et al.*, 2011).

Estruturalmente, o ácido ascórbico é formado por um anel γ lactona quase planar com dois centros quirais nas posições 4 e 5 (Figura 4), determinando dois pares de estereoisomêros: os ácidos *L* e *D* ascórbico, e os ácidos *D* e *L* isoascórbicos. O ácido *L*-ascórbico é o que possui maior atividade vitamínica, o ácido *D*-ascórbico apresenta apenas 5% desta atividade, enquanto os ácidos *D* e *L* isoascórbicos não apresentam atividade vitamínica (ROSA *et al.*, 2007)

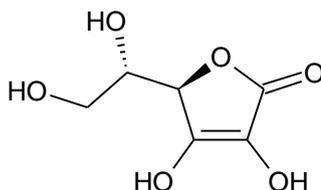


Figura 4: Estrutura do ácido ascórbico

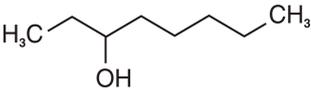
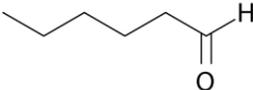
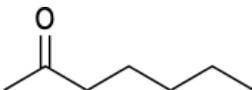
O ácido ascórbico é um dos ácidos orgânicos mais importantes da dieta humana (MELÉNDEZ *et al.*, 2004). O nome ácido ascórbico designa sua atividade vitamínica antiescorbútica e deriva da antiga forma inglesa da palavra escorbuto (*scorby*). O escorbuto é uma doença causada pela deficiência nutricional de ácido ascórbico que pode levar à morte (ROSA *et al.*, 2007). Os efeitos benéficos da vitamina C estão relacionados com a sua participação em diversos processos metabólicos, como a formação de colágeno e síntese de epinefrina, corticoesteróides e ácidos biliares. Além de atuar como cofator enzimático e participar de processos de óxido-redução, aumentado à absorção de ferro (ARANHA *et al.*, 2000). O ácido ascórbico age também como um potente antioxidante através da captura de

ânions superóxido ($-O_2\cdot$) auxiliando assim do tratamento e redução do risco de desenvolvimento de varias patologias causadas por estresse oxidativo, tais como câncer, aterosclerose, cardiopatias e algumas doenças degenerativas (VALDÉS, 2006; PINNELL, 2003; MANELA-AZULAY *et al.*, 2003; HEAD, 1998). Os seres humanos não são capazes de sintetizar ácido ascórbico, devido à ausência da enzima *L*-gulonalactona oxidase, enzima a qual catalisa a etapa final da síntese deste ácido a partir da glicose do sangue (STONE, 1984). Sendo assim os seres humanos adquirem esta vitamina através de sua alimentação, pelo consumo de frutas e vegetais.

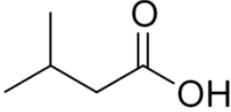
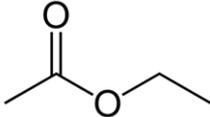
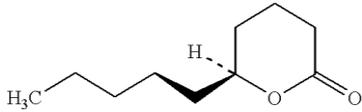
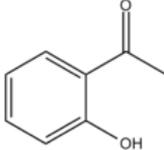
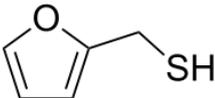
3.3. COMPOSTOS VOLÁTEIS

A aceitação dos alimentos está diretamente relacionada à suas características sensoriais, como sabor, odor, textura/consistência e aparência. O sabor, característica predominante na aceitação final do alimento, é percebido como uma mistura das características provenientes do gosto e aroma do alimento. Os compostos voláteis, substâncias responsáveis pelo aroma, são de diferentes classes químicas, termolábeis e presentes em quantidades extremamente diminutas nos alimentos. Estas substâncias pertencem às mais diversas classes de produtos químicos (tabela 2) incluindo os ésteres, alcoóis, aldeídos, cetonas e terpenos que podem ser derivados de ácidos (FRANCO, RODRIGUEZ-AMAYA & LAÇAS, 2004).

Tabela 2: Classes de compostos voláteis e seus exemplos.

Classe	Composto	Estrutura	Aroma característico
Alcoois	3-octanol		Cogumelo
Aldeídos	hexanal		Fruta não amadurecida
Cetonas	2-heptanona		Queijo <i>blue cheese</i>

Continuação...

Ácidos Carboxílicos	(S)-(+)-ácido-2-metilbutanóico		Fruta, doce
Ésteres	acetato de etila		Éter, conhaque
Lactonas	γ -decalactona		Creme de nozes, pessego
Pirazinas	2-acetilpirazina		Pipoca
Compostos sulfurados	2-furfurilmetanotiol		Café

Fonte: Kubota, 2007.

Os ácidos graxos são importantes precursores dos compostos voláteis. A formação de compostos voláteis a partir de ácidos graxos se dá por meio da atividade sequencial das lipoxigenases e hidroperóxido liase sobre os lipídeos. Os aminoácidos também contribuem para a formação de compostos voláteis como alcoóis, ácidos e ésteres. No metabolismo dos aminoácidos estes composto compostos são formados durante seu catabolismo por desaminação seguido de descarboxilação. Diversos compostos voláteis também podem ser formados a partir de degradação de carotenóides como é o caso de β -ionona formados a partir do β -caroteno e do β -damascenona obtido pela conversão da neoxantina (CORDEIRO, 2012)

3.4. ANTIOXIDANTES

O conhecimento sobre radicais livres (RLO) tem despertado grande interesse nas últimas décadas, devido seu papel no desenvolvimento de diversas patologias causadas por estresse oxidativo, incluindo alguns tipos de câncer e cardiopatias (ANDRADE JUNIOR *et al.*, 2005).

O oxigênio molecular (O_2) é fundamental para organismos aeróbicos, contudo, durante os processos metabólicos, esta molécula pode formar espécies reativas capazes de realizar a oxidação de biomoléculas, modificando suas estruturas e comprometendo processos biológicos importantes. Os RLO são espécies em que o oxigênio encontra-se com um ou mais elétrons desemparelhados, tornando-se mais reativos sendo capazes de retirar elétrons de outras substâncias (CERQUEIRA *et al.*, 2007; ANDRADE JUNIOR *et al.*, 2005). Os principais RLO conhecidos são o singlete de O_2 , hidroxila ($\cdot OH$), superóxido ($\cdot O_2^-$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), estas espécies podem causar danos ao DNA, ou oxidar lipídeos e proteínas (GUTIÉRREZ, 2002).

Como um meio de se proteger destas espécies reativas, o organismo possui um sistema de defesa endógeno, capaz de neutralizar estas espécies, são as enzimas antioxidantes. No entanto, este sistema pode ser saturado, sendo então necessária a aquisição compostos antioxidantes exógenos através da dieta (BIANCHI & ANTUNES, 1999; CERQUEIRA *et al.*, 2007). Antioxidantes são substâncias que reagem com os RLO formando espécies mais estáveis impedindo ou diminuindo o estresse oxidativo (FERREIRA & ABREU, 2007; ZAMORRA, 2007).

Os antioxidantes exógenos são obtidos da dieta principalmente através do consumo de frutas e hortaliças. Estes atuam protegendo os alimentos que os possuem e as células vivas de quem os consomem bloqueando a ação de RLO, formados pela oxidação química e, ou enzimática. Entre os antioxidantes mais conhecidos estão o α -tocoferol (Vitamina E), o ácido ascórbico, os carotenoides e os flavonoides (SOARES *et al.*, 2005; ZAMORRA, 2007).

O potencial de um antioxidante é dependente de diversos fatores, como sua própria estrutura, o radical a ser estabilizado e o local onde se encontra este radical. O ácido ascórbico, por exemplo, atua na fase aquosa como um excelente antioxidante sobre os RLO, mas não é capaz de agir nos compartimentos lipofílicos para inibir a peroxidação dos lipídeos. Além de tudo, o produto de oxidação do ácido ascórbico, o radical ascorbila, é de baixa reatividade e pode ser convertido novamente a ácido ascórbico por redutases encontradas no organismo (CERQUEIRA *et al.*, 2007; BIANCHI & ANTUNES, 1999). Por outro lado, os carotenoides tem uma maior afinidade por compartimentos lipofílicos, e reagem melhor com os radicais singlete de O_2 e peroxil (EL-AGAMEY *et al.*, 2004; STAHL & SIES, 2003). Já os flavonoides se unem a polímeros biológicos, tais como enzimas, transportadores de

hormônios, e DNA, quelando íons metálicos transitórios, como Fe^{2+} , Co^{2+} e Zn^{2+} , catalizando transporte de elétrons e depurando radicais livres (MARTÍNEZ-FLÓREZ *et al.*, 2002).

A maioria das substâncias bioativas possui capacidade antioxidante e o somatório desses potenciais confere a capacidade antioxidante total. Ainda, os antioxidantes presentes em frutas e hortaliças podem produzir sinergismo ou inibição entre si. Por isso, além de avaliar o potencial antioxidante de substâncias isoladamente, torna-se interessante, estudar o potencial no contexto mais complexo, ou seja, em extratos totais obtidos de frutas (ROMBALDI *et al.*, 2006).

3.5. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA – CLAE

A cromatografia líquida é um método de separação de espécies químicas que ocupa um lugar de destaque entre os métodos analíticos modernos, através deste método é possível facilmente separar, assim como identificar e quantificar espécies quando há a presença de padrões externos (RUTZ, 2009). Este método físico-químico fundamenta-se na migração diferencial dos componentes de uma mistura, o que ocorre devido a diferentes interações entre duas fases imiscíveis, uma fase estacionária, que tem uma grande área superficial de contato, e um fluido, que se move através da fase estacionária, chamada de fase móvel (DEGANI *et al.*, 1998).

Nos últimos 40 anos, a CLAE foi à técnica analítica mais desenvolvida, difundida e empregada em laboratórios de análise de indústrias químicas e farmacêuticas, em áreas médicas e em muitos outros campos da ciência e até em órgãos governamentais (MALDANER & JARDIM, 2009). Seu diferencial está na utilização de colunas com um reduzido diâmetro partículas (2-10 μm), o que promove uma maior eficiência de análise e permite a diminuição do tamanho da coluna levando a um menor tempo de análise, além de um sistema de bombeamento de alta pressão, responsável por bombear a fase móvel líquida que elui sobre a fase estacionária que está no interior da coluna, assim, os solutos com maior afinidade com a fase móvel serão eluídos primeiro e posteriormente os que têm maior afinidade com a fase estacionária. Partículas menores que 2 μm promovem uma maior eficiência, porém elevam a pressão do sistema a níveis não suportados pela CLAE, permitindo

que este tamanho de partícula seja utilizado apenas na Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (RUTZ, 2009, MALDANER & JARDIM, 2009).

A separação de espécies por CLAE pode ser realizada por diferentes mecanismos, podendo esta ser por partição, adsorção, troca iônica ou exclusão de tamanho. Modificações ainda podem ser realizadas em relação ao tipo de fase utilizada, podendo a separação ser efetuada em fase normal, fase estacionária polar e fase móvel apolar, ou em fase reversa, fase estacionária apolar e fase móvel polar. Um sistema de CLAE é dotado de um sistema de abastecimento e programadores da fase móvel, bombas de alta pressão; injetor; coluna; e detectores, sendo o registro dos dados feito por um registrador, integrador ou mesmo um microcomputador, que também é utilizado na programação de todas as etapas do processo (RUTZ, 2009).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. REAGENTES

Acetona, éter de petróleo, álcool metílico, éter metil-terc-butilico, acetonitrila, ácido fórmico, éter etílico, acetato de etila (Tedia®, Ohio, EUA, pureza grau HPLC). Álcool etílico (Tedia®, Ohio, EUA, pureza grau ACS), celite 545 e sulfato de sódio anidro (Tedia®, Ohio, EUA), ácido sulfúrico (H₂SO₄) e ácido clorídrico (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha), ácido acético glacial e ácido bórico (Vetec Química Fina Ltda, Rio de Janeiro, Brasil, pureza grau HPLC), hidróxido de sódio (NaOH) (Sigma-Aldrich®, Missouri, EUA), ácido fosfórico (Spectrum Chemical Manufacturing, California & Nova Jersey, EUA, pureza de 85%), persulfato de potássio (Sigma-Aldrich®, Missouri, EUA, pureza grau ACS). ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid), Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxylic acid) e DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil) (Sigma-Aldrich®, Missouri, EUA). Padrões analíticos de ácido gálico, ácido elágico, rutina, glicose,

frutose e sacarose obtidos da Sigma-Aldrich® (Missouri, EUA). Toda água purificada utilizada nas análises foi obtida pelo sistema de purificação de água Milli-Q® Gradient 10A (Millipore Corporation, Massachusetts, EUA).

4.2. AMOSTRA

Os frutos de *Myrciaria floribunda* (Figura 5A), camboim, foram coletados na APA da Restinga de Maricá (22°56'57,35229''S, 42°53'14,2337''W), em novembro de 2013. Uma exsicata foi depositada no herbário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (35924 RBR). Foram coletados 1,8 quilogramas de frutos maduros (Figura 5B). Após coletados, os frutos foram lavados e descaroçados manualmente. A polpa obtida foi armazenada em freezer a -18°C. Após o congelamento, a polpa com casca foi liofilizada (Figura 5C) à temperatura de -40°C em liofilizador Liotop modelo L 101 por um período de 24 horas, e não até peso constante, por este motivo foi realizada análise de umidade do liofilizado. Da amostra liofilizada foi obtido um pó (Figura 5D) utilizando-se o moinho IKA modelo A11, armazenado em freezer a -18°C até o momento das análises.



Figura 5: *M. floribunda*. (A) Frutos de *M. floribunda*, camboim. (B) Frutos coletados. (C) Frutos desencaroçados liofilizados. (D) Liofilizado de polpa e casca de camboim.

4.3. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

4.3.1. Umidade

A análise de umidade foi realizada segundo a metodologia da AOAC (1996) descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). O método utilizado foi o de secagem em estufa ($105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$), baseado na remoção da água por aquecimento. Foi pesado, em balança analítica de precisão, 1 g da amostra em cápsula de massa previamente determinada. O cadinho contendo a amostra foi levado à estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$, e retirado após a secagem da amostra, foi então resfriado, à temperatura ambiente, em dessecador, e teve sua massa novamente determinada. Logo após, os cadinhos retornaram à estufa e o procedimento foi repetido até a obtenção de massa constante (por aproximadamente 5 h). Utilizando-se os valores da massa inicial e massa final, foi então calculada a porcentagem de umidade nas amostras. A análise foi realizada em triplicata.

4.3.2. Análise de cinzas

A análise de cinzas foi realizada segundo a metodologia da AOAC (1996) descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). O método empregado foi o de incineração em mufla, no qual toda a matéria orgânica foi queimada. A amostra foi pesada (1g), em balança analítica de precisão, em cadinho de porcelana de massa previamente determinada. A amostra foi carbonizada no bico de bunsen e depois permaneceu na mufla ($550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) até total queima da matéria orgânica obtendo-se peso constante. A diferença entre a massa da amostra mais cadinho e a massa do cadinho forneceu a massa das cinzas da amostra. A análise foi realizada em triplicata.

4.3.3. Análise de lipídeos

A análise de lipídeos foi realizada segundo a metodologia de determinação rápida de lipídeos utilizando solvente a alta temperatura (Am 5-04) da AOCS – American Oil Chemists’ Society (2009). Utilizando balança analítica de precisão, pesou-se em saquinhos Akon[®] XT4 1g da amostra (P₁). Os saquinhos foram vedados em seladora. As amostras foram então secas em estufa a 102 ± 2°C por 3 horas, em uma peneira com malha de 4mm. Após este período a amostra foi deixada em dessecador até chegar à temperatura ambiente e pesar (P₂). As amostras foram então acomodadas no Extrator de Gordura Akon[®] modelo XT10 e, com o auxílio de uma proveta, foram adicionados 200 mL de éter de petróleo no compartimento de extração e 150 mL de éter de petróleo no tubo de teflon. Em seguida, o equipamento foi ligado, selecionado o tempo de extração de 60 minutos e a temperatura de extração de 90°C. Após completo o processo de extração, as amostras foram retiradas do extrator com uma pinça, acomodadas em peneira de malha de 4mm e secas em estufa a uma temperatura de 102 ± 2°C por 30 minutos. As amostras foram resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e então pesadas (P₃). O resultado quantitativo será calculado através da fórmula:

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

P₁ = peso original da amostra / P₂ = peso da amostra seca mais o saquinho de filtração antes da extração / P₃ = peso da amostra seca mais o saquinho de filtração após a extração.

4.3.4. Análise de proteínas

A análise de proteínas será realizada segundo o método de Kjeldahl Clássico descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). O procedimento do método baseia-se na digestão da amostra com ácido sulfúrico e mistura catalisadora contendo sulfato de cobre e sulfato de potássio para acelerar a reação. Assim, todo o carbono e hidrogênio serão oxidados a gás carbônico e água. Pese 1 g da amostra em papel de seda. Transferir para o balão de Kjeldahl

(papel+amostra). Adicionar 25 mL de ácido sulfúrico e cerca de 6 g da mistura catalítica. Levar ao aquecimento em chapa elétrica, na capela, até a solução se tornar azul-esverdeada e livre de material não digerido (pontos pretos). Aquecer por mais uma hora. Deixar esfriar. Caso o laboratório não disponha de sistema automático de destilação, transferir quantitativamente o material do balão para o frasco de destilação. Adicionar 10 gotas do indicador fenolftaleína e 1 g de zinco em pó (para ajudar a clivagem das moléculas grandes de protídios). Ligar imediatamente o balão ao conjunto de destilação. Mergulhar a extremidade afilada do refrigerante em 25 mL de ácido sulfúrico 0,05 M, contido em frasco Erlenmeyer de 500 mL com 3 gotas do indicador vermelho de metila. Adicionar ao frasco que contém a amostra digerida, por meio de um funil com torneira, solução de hidróxido de sódio a 30% até garantir um ligeiro excesso de base. Aquecer à ebulição e destile até obter cerca de (250-300) mL do destilado. Titular o excesso de ácido sulfúrico 0,05 M com solução de hidróxido de sódio 0,1 M, usando vermelho de metila. O resultado quantitativo será calculado através da fórmula:

$$\frac{V \times 0,14 \times f}{P} = \text{protídeos por cento, m/m}$$

V = diferença entre o nº de mL de ácido sulfúrico 0,05 M e o nº de mL de hidróxido de sódio 0,1 M gastos na titulação / P = nº de g da amostra/ f = fator de conversão (6,25)

4.3.5. Análise de Carboidratos totais

Os carboidratos totais, que incluem monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos (amido, celulose e fibras dietéticas). O conteúdo de carboidratos totais foi determinado por diferença: descontam-se os valores de umidade, cinzas, lipídeos e proteína de 100g, o restante foi considerado carboidrato.

4.4. ANÁLISE DE CAROTENÓIDES

4.4.1. Extração de carotenoides

A extração dos carotenoides foi realizada segundo a metodologia de Rodríguez-Amaya (2001). Aproximadamente 0,1 g da amostra foi pesado em balança analítica, e então macerado em um gral de porcelana com ± 3 g de Celite e cerca de 50 mL de acetona. Em seguida, filtrou-se o macerado em um funil de vidro sinterizado sob vácuo, esta extração foi repetida três vezes, até a amostra não apresentou mais coloração característica. Transferiu-se a solução filtrada, quantitativamente, para um funil de separação de 500 mL, colocando aproximadamente 40 mL de éter de petróleo, seguido da adição de 300 mL de água ultrapurificada para extração dos carotenoides para a fase etérea por partição, esta extração foi realizada três vezes. Transferiu-se então a solução etérea para balão volumétrico de 25 mL passando através de um funil com sulfato de sódio anidro, avoluma-se o balão com éter de petróleo. Uma alíquota de 5 mL deste extrato foi saponificada com 5 mL de uma solução metanólica de KOH 10% (m/v) por 16 horas ao abrigo da luz e oxigênio, sendo então particionada com éter de petróleo e transferida para um balão volumétrico (25 mL). Logo após, retirou-se uma alíquota de 2 mL da solução obtida e secou-se em frasco âmbar sob fluxo de nitrogênio. Após seco, dissolveu-se em 100 μ L de acetona e transferiu-se para *vial* âmbar com redutor a fim de se realizar a análise por CLAE. Para quantificação de carotenoides totais, uma alíquota da solução etérea foi lida em Espectrofotômetro Shimadzu UV-1800 a 450 nm. A análise foi realizada em triplicata.

4.4.2. Análise por CLAE

O método baseia-se na separação cromatográfica da amostra em coluna de fase reversa e conseqüente determinação da concentração dos carotenoides utilizando método de padronização externa. Nesta etapa foi utilizada a metodologia proposta por Pacheco (2014). A

análise cromatográfica foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Waters® Modular composto por bomba 600, injetor automático 717 plus, com detector de arranjo de fotodiodos (DAD) Waters® modelo 996 (243,8nm), software Empower®, coluna YCM Carotenoid S-3 (4,6 x 250 mm). Condições cromatográficas utilizadas estão demonstradas na tabela 3.

Tabela 3: Condições cromatográficas da análise de carotenoides

Condições Cromatográficas	
Temperatura da coluna	33°C
Modo de eluição	Gradiente
Fase Móvel (Solvente A)	Metanol
Fase Móvel (Solvente B)	Éter metil- <i>terc</i> -butílico
Fluxo	0,8 mL/min
Volume de injeção	15µL
Tempo de corrida	28 min.
Temperatura do vial	15°C

4.5. ANÁLISE DE ÁCIDO ASCÓRBICO

A análise de vitamina C foi realizada segundo metodologia de Rosa *et al.* (2007).

4.5.1. Extração de Ácido Ascórbico

Pesou-se 0,5 g de amostra em balão volumétrico de 25 mL, ao qual foram adicionados 10 mL de ácido sulfúrico 0,1 N, seguido de extração em banho ultrassom por 10 min. Passada a extração, o balão volumétrico foi avolumado com ácido sulfúrico 0,1 N e o extrato filtrado (papel filtro) diretamente para o *vial* de injetor automático. A análise foi realizada em triplicata.

4.5.2. Análise por CLAE

O método baseia-se na separação cromatográfica da amostra em coluna de troca iônica e conseqüente quantificação do ácido ascórbico presente em alimentos em geral, através de método por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e padronização externa. A análise cromatográfica foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Waters® Alliance modelo 2690/5, com DAD Waters® modelo 2996 (243,8nm), software Empower®, coluna HPX 87 H BIO RAD (7,8 x 300mm). As condições cromatográficas estão demonstradas na tabela 4.

Tabela 4: Condições cromatográficas da análise de vitamina C

Condições Cromatográficas	
Temperatura da coluna	Ambiente
Modo de eluição	Isocrático
Fase Móvel	Acido Sulfúrico 0,1N
Fluxo	0,7mL/min.
Volume de injeção	20µL
Tempo de corrida	10 min.
Temperatura do injetor	5°C

4.6. ANÁLISE DE AÇÚCARES

A análise de açúcares foi realizada segundo metodologia de Macrae (1998).

4.6.1. Extração de açúcares

Aproximadamente 0,3 g de amostra foram pesados em balão volumétrico de 25 mL, ao qual foram adicionados 10 mL de água ultrapurificada, com posterior extração em banho ultrassom por 20 minutos. Em seguida, adicionaram-se 5 mL de acetonitrila e avolumou-se o

balão volumétrico com água ultrapurificada. O extrato foi então filtrado (papel filtro) diretamente para o *vial* de injetor automático. A análise foi realizada em triplicata.

4.6.2. Análise por CLAE

O método baseia-se na separação cromatográfica da amostra em coluna de Fase Reversa e conseqüente determinação da concentração dos açúcares utilizando método de padronização externa. A análise cromatográfica foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Waters[®] Alliance modelo 2690/5, com detector de índice de refração Waters[®] modelo W2410, software Empower[®], coluna Amino 30 cm x 4,6 mm (High Performance Carbohydrate). As condições cromatográficas estão demonstradas na tabela 5.

Tabela 5: Condições cromatográficas da análise de açúcares

Condições Cromatográficas	
Temperatura da coluna	Ambiente
Modo de eluição	Isocrático
Fase Móvel	Acetonitrila 75%
Fluxo	1,4mL/min.
Temperatura interna do detetor	45°C
Volume de injeção	20µL
Tempo de corrida	20 min.
Temperatura do injetor	10°C

4.7. ANÁLISE DE FLAVONOIDES

A análise de flavonoides foi realizada segundo metodologia adaptada de Klump *et al.* (2001)

4.7.1. Extração de flavonoides

Foram pesados, em balança analítica de precisão, em frasco de vidro âmbar (50 mL) 0,3g da amostra. Adicionaram-se 10 mL de MeOH:Água (80:20). O frasco foi tampado e mantido em estufa por 2,5 horas a 65 °C. Retirado da estufa a amostra foi mantida em repouso até atingir a temperatura ambiente. Foram adicionados 600 µL de NaOH 0,1N, seguido de agitação e então repouso à temperatura ambiente por 10 min. Em seguida, adicionaram-se 200 µL de Ácido Acético Glacial seguido de agitação. Foi aguardada a decantação da amostra e o sobrenadante filtrado (filtro de papel) e transferido para vial de injetor automático. A análise foi realizada em triplicata.

4.7.2. Análise por CLAE

A análise cromatográfica foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Waters® Alliance modelo 2690/5, com DAD Waters® modelo 2996 (varredura 210 a 600 nm com quantificação em 260nm), software Empower®, coluna Thermo BDS HYPERSIL C₁₈ (100x4,6mm; 2,4µm). As condições cromatográficas estão demonstradas na tabela 6.

Tabela 6: Condições cromatográficas da análise de flavonoides

Condições Cromatográficas	
Coluna	Thermo BDS HYPERSIL C18 (100x4,6mm; 2,4µm)
Temp. da Coluna	45°C
Temp. do Injetor	15°C
Detector	DAD (260nm)
Fluxo	1 mL/min.
Vol. De Injeção	10 µL
Tempo de corrida	28 min.
Fase Móvel A	Ác. Fórmico 1%
Fase Móvel B	Acetonitrila

4.8. ANÁLISE DE ÁCIDOS FENÓLICOS

A análise de ácidos fenólicos será realizada segundo metodologia de Mattila & Kumpulainen (2002).

4.8.1. Extração de ácidos fenólicos

Foram pesados, em balança analítica de precisão, em frasco de vidro âmbar (50 mL) 0,3g da amostra ao qual adicionaram-se 10 mL da mistura: MeOH (contendo BHT 2g/L) / Ác. Acético 10 % (85:15). O frasco foi tampado, agitado vigorosamente e levado ao ultrassom por 30 minutos. Foi então aguardada a decantação da amostra e uma alíquota de 100µL do sobrenadante foi transferida para redutor de volume em vial de injetor automático. Foi realizada a análise cromatográfica para determinação dos ácidos fenólicos livres. Ao frasco, foram adicionados 17 mL de NaOH 3M, e borbilhado N₂ durante 1 minuto, seguido de agitação mecânica por 16 horas. O frasco então foi deixado em repouso, e o sobrenadante transferido para béquer de 100 mL, seguido de ajuste do pH para 2,0 com HCl 3N (aproximadamente 7 mL). Reservou-se o resíduo sólido no frasco original. Transferiu-se o conteúdo do béquer para funil de separação e foi realizada 3 vezes a extração dos ácidos fenólicos com 15mL de Éter Etílico / Acetato de Etila (1:1). Combinadas as fases etéreas (superior) das 3 extrações em balão volumétrico de 50mL, este foi avolumado com a mistura Éter Etílico / Acetato de Etila (1:1). Sob fluxo de N₂ uma alíquota de 1 mL do extrato foi seco, então dissolvido em 100µL de Metanol e realizada a análise cromatográfica. Em seguida, retornou-se a fase aquosa para o frasco original contendo o resíduo sólido e adicionaram-se 2,5mL de HCl concentrado. O frasco foi tampado e levado a estufa a 85°C durante 35 minutos. Após o resfriamento até temperatura ambiente, o conteúdo foi transferido para béquer de 100 mL e ajustado o pH para 2,0 com NaOH 1,5N (aproximadamente 5 mL) Procedeu-se nova extração, evaporação e análise cromatográfica conforme realizado anteriormente. Após a quantificação foram somados os resultados das três análises cromatográficas para se obter os ácidos fenólicos totais. A análise foi realizada em triplicata.

4.8.2. Análise por CLAE

A análise cromatográfica foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Waters® Alliance modelo 2690/5, com DAD Waters® modelo 2996 (varredura 210 a 400nm - Extrair cromatogramas em 270 e 310nm), software Empower®, coluna Thermo BDS HYPERSIL C₁₈ (100x4,6mm; 2,4µm). As condições cromatográficas estão demonstradas na tabela 7.

Tabela 7: Condições cromatográficas da análise de ácidos fenólicos

Condições Cromatográficas	
Coluna	Thermo BDS HYPERSIL C ₁₈ (100x4,6mm; 2,4µm)
Temp. da Coluna	30°C
Temp. do Injetor	20°C
Detector	DAD (270 e 310nm)
Fluxo	1 a 1,2 mL/min.
Vol. De Injeção	10 µL
Tempo de corrida	28 min.
Fase Móvel A	Ácido Fosfórico 1,5mL/L em Água
Fase Móvel B	Acetonitrila

4.9. ANÁLISE DE VOLÁTEIS

A análise de voláteis foi realizada por cromatografia gasosa (CG) utilizando os detectores de ionização de chamas e espectrômetro de massa (MS).

4.9.1. Extração dos voláteis

A análise dos voláteis foi realizada segundo a metodologia descrita por Godoy *et al.* (2013). A extração dos voláteis para análise por cromatografia gasosa foi realizada por SPME (Solid Phase Microextraction). Durante 60 min, a temperatura ambiente, os voláteis foram extraídos de 0,3 g da amostra e adsorvidos, no headspace, por uma fibra de adsorção

Supelco® CAR/DVB/PDMS (Carboxen/divinylbenzene/poly(dimethylsiloxane)) (Sigma-Aldrich®). A fibra de adsorção passou por um condicionamento de 1 hora á 270 °C.

4.9.2. Análise por CG

A análise com detector de ionização de chamas ocorreu em cromatógrafo de gás Agilent® 7890A e coluna HP (55 % Difetil / 95% Dimetilpolisiloxano). A análise com detector MS Agilent® 5973N ocorreu em Cromatógrafo de Gás Agilent® 6890S e mesma coluna. Foi realizada análise de Kovats em Cromatógrafo de Gás Agilent® 7890A com detector de ionização de chamas, mesma coluna e mesmas condições das demais análises para identificação dos voláteis pelo índice de retenção (IR). As condições cromatográficas são demonstradas na tabela 8.

Tabela 8: Condições cromatográficas da análise de voláteis

Condições Cromatográficas	
Coluna	5% difetil e 95% dimetilpolisiloxano (HP-5, Agilent Technologies)
Fluxo na Coluna (H2)	1,5 mL/min a 40 graus
Temperatura Inicial	40°C
Temperatura Final	240°C
Taxa de aquecimento	3°C/min.
Temperatura do Injetor	250°C
Tempo Inicial	3 min.
Tempo Final	10 min.
Taxa de divisão	splitless
Temperatura Detetor	280°C

A dessorção foi realizada a temperatura do injetor e a injeção em modo splitless durante 3 min. A fibra foi mantida no injetor por 30 min após a abertura da válvula split. Para análise por cromatografia gasosa com detector seletivo de massas (quadrupolo) foram mantidas as mesmas condições descritas acima sendo o gás de arraste Hélio. A ionização foi realizada a 70 eV.

Os voláteis foram identificados por comparação de seus espectros de massa e tempo de retenção (t_r) com aqueles apresentados pelos padrões analíticos e por comparação de seus espectros de massa com os espectros de massa da biblioteca NIST (National Institute of Standards and Technology). Para o cálculo do índice de retenção linear (IRL) foi realizada análise de uma série de n-alcenos (C_5 - C_{23}) utilizando o detector FID, mesma coluna e condições de análise da amostra

4.10. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A análise da atividade antioxidante será realizada segundo a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2007).

4.10.1. Extração dos antioxidantes

Em balança analítica de precisão, pesaram-se 0,5 g da amostra em um béquer de 100 mL, seguido da adição de 40 mL de metanol 50 %, homogeneização e repouso de 60 minutos à temperatura ambiente. Em seguida a amostra foi centrifugada a 15.000 rpm durante 15 min e então transferido o sobrenadante para um balão volumétrico de 100 mL. A partir do resíduo da primeira extração, adicionaram-se 40 mL de acetona 70%, seguido de homogeneização e repouso por 60 min à temperatura ambiente. Em seguida a amostra foi centrifugada novamente a 15.000 rpm durante 15 min, e transferido o sobrenadante para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante. O balão volumétrico foi avolumado com água destilada. A extração foi realizada em triplicata.

4.10.2. Determinação da atividade antioxidante

4.10.2.1. Método ABTS^{·+}

O radical ABTS^{·+} foi obtido pela reação da solução estoque de ABTS 7 mM com a solução persulfato de potássio 140 mM por 16 horas em ambiente escuro. O radical ABTS^{·+} foi diluído com etanol até se obter uma absorbância de $0,7 \text{ nm} \pm 0,05 \text{ nm}$ a 734 nm. Alíquotas de 30 μL dos extratos obtidos no item 4.10.1 reagiram com 3 ml do radical ABTS^{·+} por 6 min e então foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 734 nm. A curva padrão foi obtida a partir da reação de soluções de diferentes concentrações de padrão de Trolox (100, 500, 1000, 1500 e 2000 μM) com o radical ABTS^{·+}. Os resultados foram expressos em μM de trolox/g do pó. A análise foi realizada em triplicata.

4.10.2.2. Método DPPH

Uma solução de DPPH[·] 0,06 mM foi preparada com metanol. Alíquotas de 0,1 ml dos extratos obtidos no item 2.9.1 reagiram com 3,9 ml da solução de DPPH[·], então, se realizou a leitura em espectrofotômetro a 515 nm até a estabilização da absorbância (70 min para este extrato). A curva padrão foi obtida a partir da absorbância de diferentes concentrações da solução de DPPH[·] (10, 20, 30 40, 50 e 60 μM). A capacidade antioxidante foi calculada pela concentração de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial de radical DPPH[·] em 50% (EC_{50}). Os resultados foram expressos em g do pó/g de DPPH[·]. A análise foi realizada em triplicata.

4.11. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises foram realizadas em triplicata, resultados expressos em média \pm desvio padrão. Admitiram-se resultados com coeficiente de variação abaixo de 10%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E AÇÚCARES LIVRES

Os valores médios da composição centesimal do liofilizado de polpa e casca de camboim são demonstrados na tabela 9, assim como resultados da literatura acerca de outros frutos em nível de comparação. O liofilizado de polpa com casca de camboim apresentou uma umidade de 12,39%. A legislação encontrada para produtos liofilizados (Resolução CNNPA n° 12) estabelece que os produtos liofilizados obtenham máximo de 5% de umidade (BRASIL, 2015). Ou seja, as condições de liofilização não foram suficientes para que o produto se enquadrasse na legislação.

Os carboidratos totais, que incluem monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos (amido, celulose e fibras dietéticas), representaram 90,89% da porção de 100 g do liofilizado de polpa com casca de camboim. Na composição centesimal, as proteínas foram o segundo componente encontrado em maior quantidade (4,78 g.100 g⁻¹, base seca), no entanto este conteúdo mostrou-se inferior ao de outros frutos de mirtáceas comumente consumidos, como a goiaba, o jambo e a pitanga, como observado na tabela 9. O liofilizado de polpa com casca de camboim apresentou um baixo conteúdo de lipídeos (2,43 g.100 g⁻¹, base seca) quando comparado a estes mesmos frutos, que apresentam, respectivamente, 4,95, 4,29 e 4,36 g.100 g⁻¹, em base seca (USDA, 2013).

Tabela 9: Valores médios da composição centesimal, em porcentagem (g.100g⁻¹ de amostra), do liofilizado de polpa e casca de camboim comparados à composição centesimal de outros frutos (goiaba, jambo e pitanga).

Parâmetro	Camboim*	Goiaba	Jambo	Pitanga
Umidade	12,39 ± 0,16	80,8	93	90,81
Cinzas**	1,89 ± 0,07	7,24	5,71	5,44
Lipídios**	2,43 ± 0,10	4,95	4,29	4,35
Proteínas**	4,78 ± 0,38	13,28	8,57	8,71
Carboidratos**	90,89	74,58	81,43	81,50

Os valores são a média dos resultados da análise da amostra em triplicata, com os respectivos desvios padrão. *Liofilizado da polpa com casca de camboim. **Valores expressos em base seca. Fonte: USDA-National Nutrient Database for Standard Reference, 2013.

O cromatograma da análise de açúcares livres apresentou três picos. A identificação destes picos foi baseada na correspondência entre o t_r destes com o t_r de padrões injetados nas mesmas condições. Estes foram identificados como frutose (22,89 g.100 g⁻¹, base seca), glicose (22,12 g.100 g⁻¹, base seca) e sacarose (1,66 g.100 g⁻¹, base seca). A literatura dispõe de poucos estudos sobre a identificação de açúcares livres em frutos de mirtáceas. No entanto, estudos realizados por Kubola *et al.* (2011), identificaram a presença de 18,6 g.100 g⁻¹ (base seca) de frutose e 21 g.100 g⁻¹ (base seca) de glicose em frutos de jamelão (*Syzygium cumini* (L) Skeels), concentração similar a encontrada no liofilizado de polpa com casca de camboim. O conteúdo total de açúcares (46,67%, base seca) mostrou-se próximo ao comumente observado em frutas tropicais, entre 50 e 80%, em base seca (ROGEZ *et al.*, 2004). Os monossacarídeos e dissacarídeos podem ser considerados as principais substâncias em frutas, pois se encontram em maior concentração dentre os carboidratos. Sendo assim, o teor de açúcares livres do liofilizado de polpa com casca de camboim refletiu o resultado esperado a ser encontrado em frutos frescos desta mesma espécie, já que estes representam 51,23% (base seca) dos carboidratos totais.

O valor energético estimado de uma porção de 100 g do liofilizado de polpa com casca de camboim, considerando-se lipídeos (2,43 g.100 g⁻¹, base seca), proteínas (4,78 g.100 g⁻¹, base seca) e açúcares livres (46,67 g.100 g⁻¹, base seca), calculados aplicando-se os fatores de Atwater para lipídeos (9), proteínas (4) e carboidratos (4), foi de 227,67 Kcal.100 g⁻¹ (base seca). O baixo teor de lipídeos e proteínas contribui para a redução do valor energético do liofilizado de polpa com casca de camboim, enquanto o conteúdo de açúcares colabora com o aumento do mesmo. Estes valores indicam que o liofilizado de polpa com casca de camboim não poderia ser considerado uma boa fonte de lipídeos ou proteínas, além do mais o mesmo não poderia ser utilizado a fim de aumentar o valor energético de outros produtos, no entanto poderia ser utilizado como ingrediente em produtos de baixa caloria. O teor de açúcares livres contribui para o sabor adocicado do liofilizado de polpa com casca de camboim, e poderia ser útil no melhoramento da palatabilidade de outros produtos a que fosse adicionado.

5.2. ÁCIDO ASCÓRBICO

A *Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, espécie pertencente ao mesmo gênero que a *M. floribunda*, é popular por apresentar um teor de ácido ascórbico superior ao observado em frutos conhecidos (RUFINO *et al.*, 2010). Esperando-se encontrar teor similar nos frutos de *M. floribunda* foi realizada análise do liofilizado de polpa com casca de frutos de camboim e, posteriormente, do fruto fresco, utilizando-se da mesma metodologia.

O cromatograma gerado pela análise de ácido ascórbico em polpa e casca dos frutos frescos pode ser observado na figura 6. O ácido ascórbico foi identificado por correspondência com o tempo de retenção do padrão comercial e quantificado pela curva analítica, revelando um teor de vitamina C de $46.88 \pm 11.70 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ em polpa com casca de frutos frescos, teor este muito inferior ao encontrado em frutos de *Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh (1882 mg.100 g⁻¹ fruto fresco), o camu-camu (. Apesar de baixo, o teor de vitamina C encontrado em uma porção do fruto fresco de camboim aproxima-se do necessário para suprir a ingestão diária recomendada para um adulto (60 mg, segundo o FDA – Food and Drug Administration, 2013).

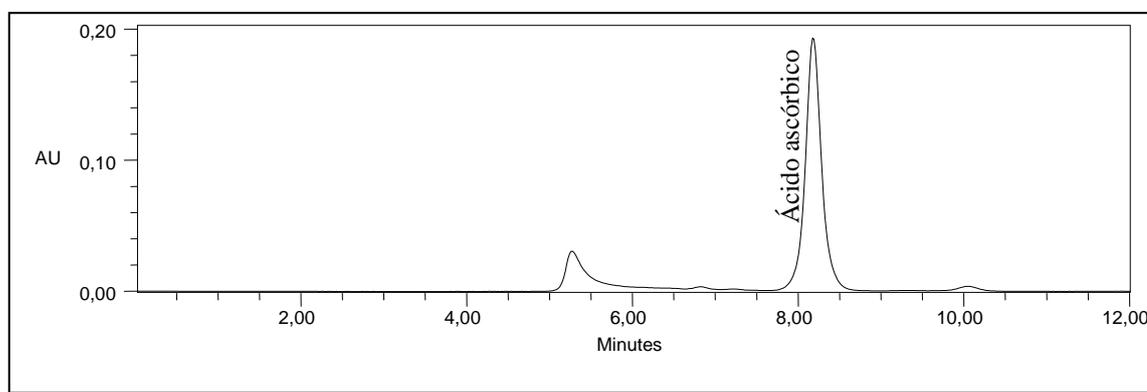


Figura 6: Cromatograma do extrato de ácido ascórbico de polpa com casca de camboim *in natura*, a 243,8 nm.

Não foi detectada Vitamina C no liofilizado de polpa com casca de camboim. Estudos realizados por Luanda *et al.*(2011) demonstraram uma variação entre 37-3 % de perda no teor de vitamina C pelo processo de liofilização de frutos tropicais, esta perda ainda é considerada baixa se comparada a perda gerada por outros processos de desidratação. As diferentes propriedades químicas e físicas das suas estruturas morfológicas, e os diferentes íons metálicos encontrados em cada fruta, podem favorecer a oxidação do ácido ascórbico durante

o processo de desidratação, o que poderia explicar o diferente comportamento das frutas liofilizadas em relação a perda de vitamina C (Lee & Kader, 2000).

A identificação da vitamina C no fruto fresco confirma a degradação desta durante o processo de liofilização, assim o liofilizado de polpa com casca de camboim não pode ser considerado uma fonte de vitamina C a partir deste fruto.

5.3. FLAVONÓIDES

A análise do extrato de flavonoides gerou o cromatograma apresentado na figura 7. Dos flavonoides observados foi identificada a rutina (78,56 mg.100 g-1) por comparação com t_r do padrão comercial e análise do espectro de absorção a 260 nm. A quantificação foi realizada utilizando a curva analítica (Equação da reta: $Y = 1,80 \times 10^4 X - 9,24 \times 10^4$. $R^2 = 0,9996$).

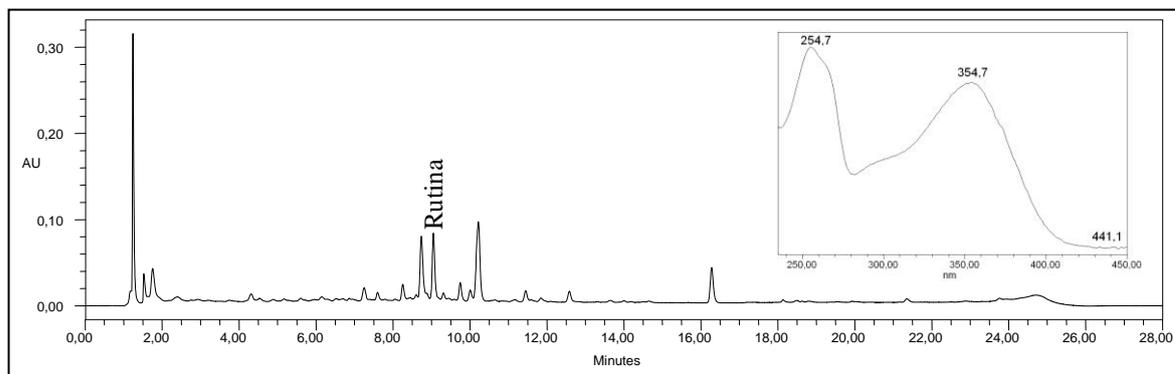


Figura 7: Cromatograma da análise do extrato de flavonoides e espectro de absorção da rutina a 260 nm.

A rutina (quecercina-3-O-ramnosídeo) é um flavonóide amplamente consumido e distribuído entre as frutas, hortaliças, chás e vinhos. Seus efeitos farmacológicos, tais como antialérgico (PARK *et al.*, 2008), antiinflamatório e vasoativo, antitumoral (AKIHISA *et al.*, 2007), antimicrobiana e ativiral (TADIC *et al.*, 2008), acarretam na sua utilização para o tratamento de diversas patologias. Outra atividade apresentada pela rutina, comum aos flavonoides, é a atividade antioxidante. Em estudos recentes a rutina apresentou alta capacidade antioxidante em variados sistemas *in vitro* (YANG, GUO & YUAM, 2008). Em um estudo realizado por Reynertson *et al.* (2008) a *Eugenia aggregata* (Vell.) Kiaersk. apresentou-se como a mirtácea de maior teor de rutina, com 0,048% (base seca), quase a

metade do teor apresentado no liofilizado de polpa com casca de camboim, de 0,089% (base seca). O teor de rutina apresentado mostrou-se ainda superior ao encontrado em grãos de trigo sarraceno (0,018%, base seca), conhecido como a maior fonte alimentar de rutina (JIANG *et al.*, 2007). Sendo assim, a elaboração de um liofilizado de polpa com casca de camboim, mostrou-se benéfica para obtenção de um produto com alta concentração de rutina. O alto teor desta substância no liofilizado de polpa com casca de camboim proporciona a este produto a possibilidade de vir a ser utilizado como uma fonte para extração desta substância ou mesmo a utilização deste como aditivo em preparações.

5.4. ÁCIDOS FENÓLICOS

A análise de ácidos fenólicos gerou três cromatogramas (Figura 8) como resultado da análise cromatográfica (CLAE-DAD) das três frações obtidas da extração dos ácidos fenólicos do liofilizado de polpa com casca de camboim. A fração 1 apresenta os ácidos fenólicos livres encontrados na matriz, fração 2 os ácidos fenólicos liberados pela hidrólise básica, e a fração 3 os liberados pela hidrólise ácida. Não se identificou nenhum dos ácidos fenólicos livres encontrados na fração 1. Os ácidos gálico e elágico foram identificados após as hidrólises, estes apresentaram mesmo t_r e espectro da absorção na região ultravioleta (Figura 9) que seus respectivos padrões.

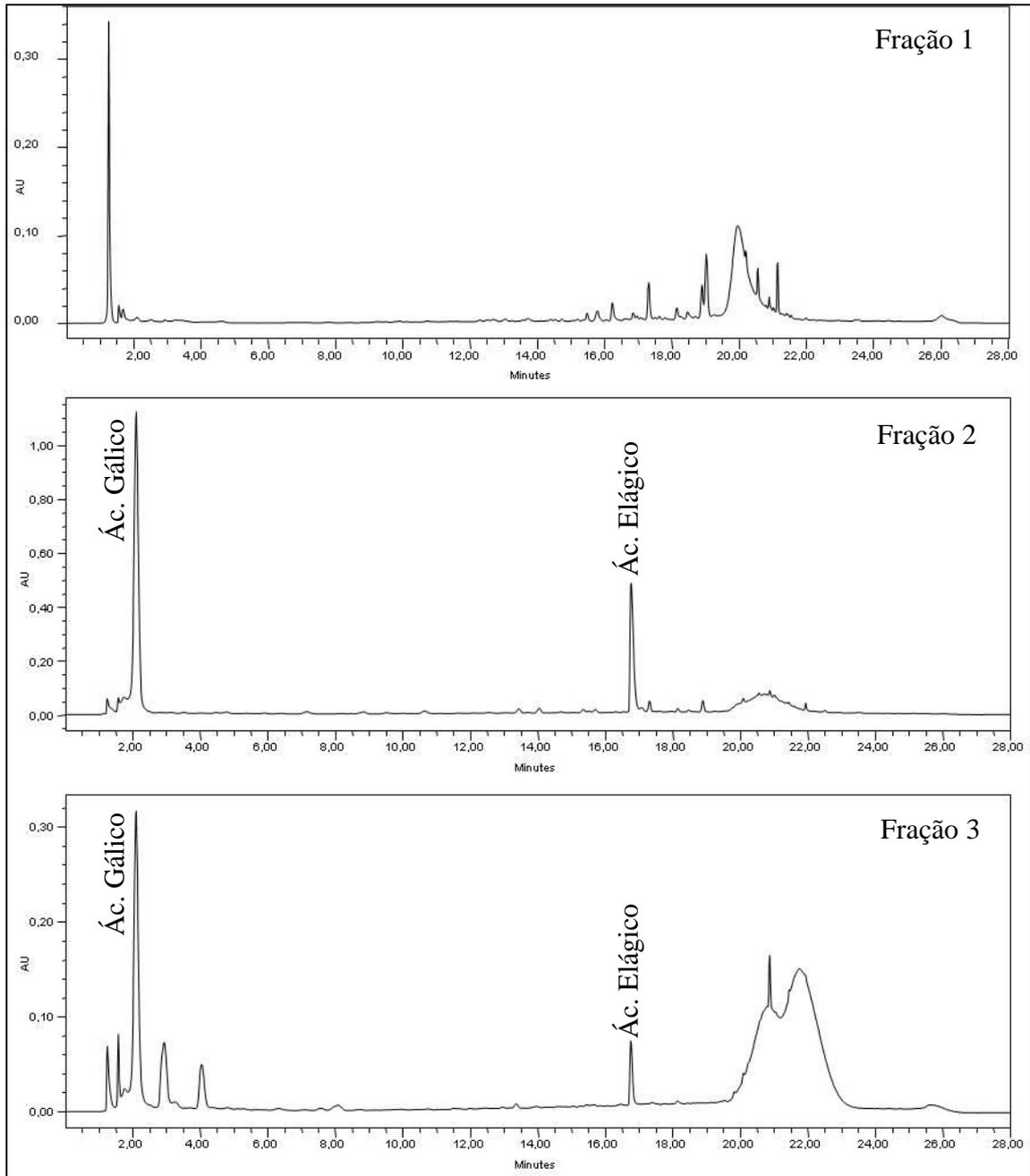


Figura 8: Cromatogramas das frações 1, 2 e 3 da análise de ácidos fenólicos a 270 nm.

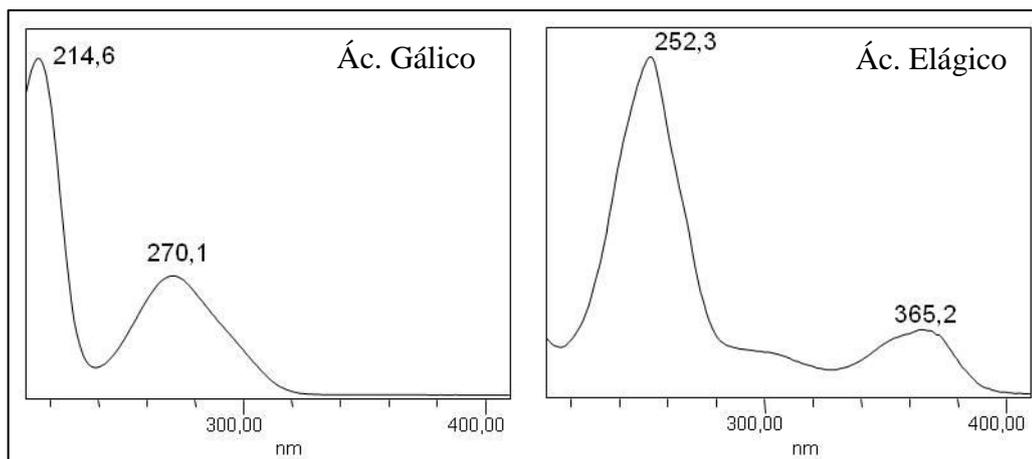


Figura 9: Espectros de absorção dos ácidos gálico e elágico a 270 nm.

Os ácidos gálico e elágico foram quantificados pela curva analítica (Ác. Gálico – Equação da reta: $Y = 2,38 \times 10^4 X$; $R^2 = 0,9926$. Ác, Elágico – Equação da reta: $Y = 7,98 \times 10^4 X - 5,09 \times 10^4$; $R^2 = 0,9827$), apresentando respectivamente 4,03 mg.g-1 e 1,71 mg.g-1 na fração 2 e, 1,31 mg.g-1 e 0,29 mg.g-1 na fração 3. Ambos os ácidos identificados são frequentemente encontrados em outras espécies da família Myrtaceae. Devido suas reconhecidas capacidades antioxidante e antimicrobiana (REYNERTSON *et al.*, 2008), a presença destes ácidos fenólicos no liofilizado de polpa com casca de camboim poderia permitir a este a possibilidade de atuar como conservador e antioxidante em preparações a que fosse adicionado.

5.5. CAROTENOIDES

A análise cromatográfica do extrato de carotenoides do liofilizado de polpa com casca de camboim revelou a presença de 8 carotenoides (Figura 10), sendo dois carotenoides majoritários, a β -criptoxantina e o β -caroteno, e outros 5 carotenoides em concentração inferior a 5%, luteína, zeaxantina, 13-*cis*- β -caroteno, α -caroteno e o 9-*cis*- β -caroteno. Estes carotenoides foram identificados pela correlação entre seus t_r e espectros de absorção na região do visível com a de seus padrões comerciais. O espectro de absorção a 450 nm dos dois carotenoides majoritários estão demonstrado na figura 11.

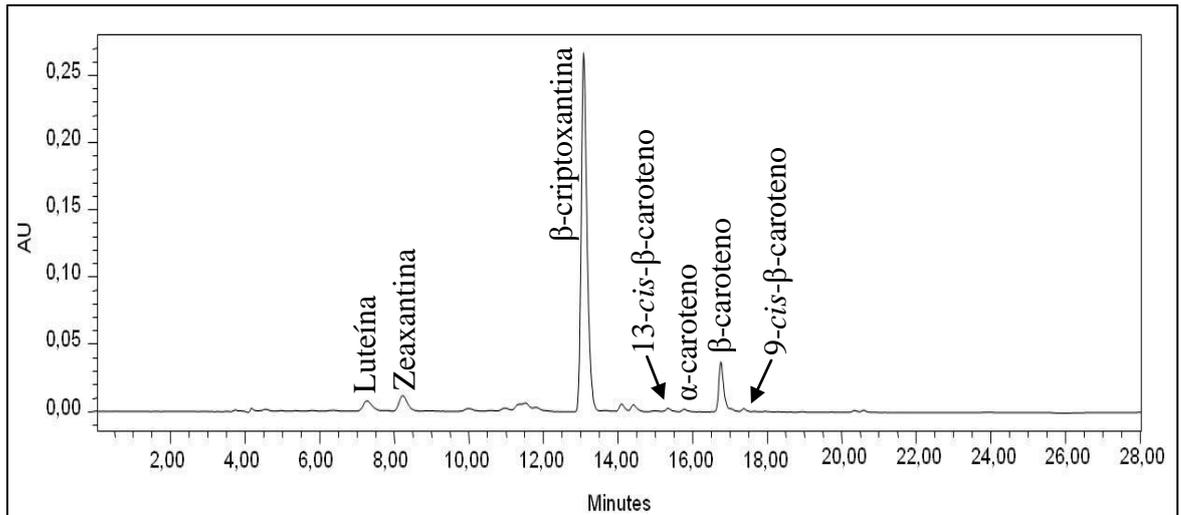


Figura 10: Cromatograma do extrato de carotenoides a 243,8 nm.

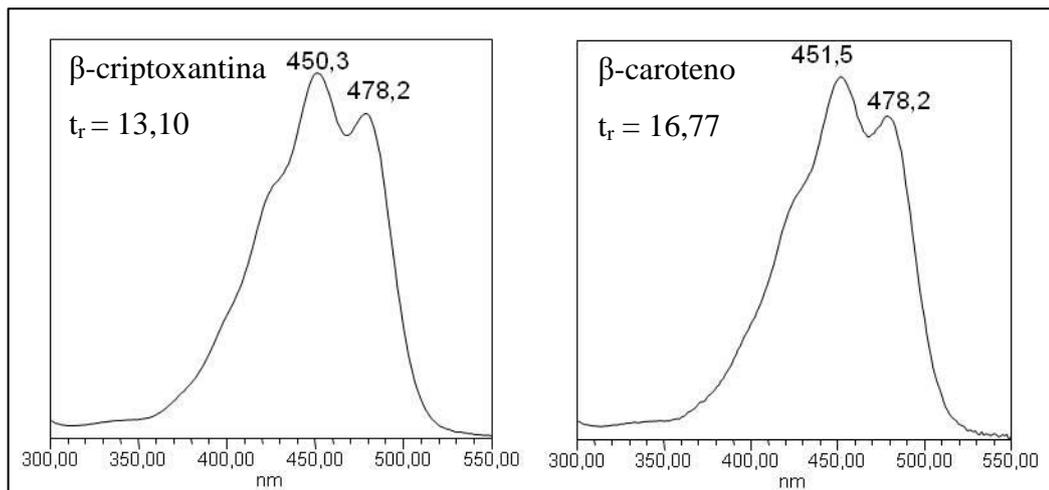


Figura 11: Espectros de absorção da β-criptoxantina e β-caroteno a 243,8 nm.

A β-criptoxantina apresentou um teor de (44,76 mg.100 g⁻¹, base seca) superior ao encontrado em frutos de cajá (10,46 mg.100 g⁻¹, base seca), *Spondias mombin* L., uma reconhecida fonte deste carotenoide (TIBURSKI *et al.*, 2011). Dos carotenoides identificados, β-criptoxantina, 13-cis-β-caroteno, α-caroteno, 9-cis-β-caroteno e o β-caroteno são carotenoides pró-vitaminicos A. O potencial pró-vitaminico A calculado resultou em um fornecimento de 2,06 mg RE.100 g⁻¹ do liofilizado de polpa com casca de camboim, representando 37% a mais da ingestão diária recomendada pelo FDA (2013) para um adulto.

5.6. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante tem sido amplamente estudada em diversos frutos. Os antioxidantes presentes em frutas e hortaliças podem produzir sinergismo ou inibição entre si. Por isso, além de avaliar o potencial antioxidante de substâncias isoladamente, torna-se interessante, estudar o potencial no contexto mais complexo, ou seja, em extratos totais obtidos de frutas. Dentre as metodologias utilizadas para avaliação da atividade antioxidante de frutos estão incluídos o método de captura do radical DPPH[·] e o método de captura do radical ABTS^{·+}.

O potencial antioxidante do liofilizado de polpa com casca de camboim foi avaliado a partir de uma mistura dos extratos cetônico e metanólico deste, garantindo assim que o potencial antioxidante avaliado incluísse tanto as substâncias mais polares quanto as menos polares. A avaliação pelo método de captura do radical DPPH[·] demonstrou um EC₅₀ de 85,68 g.g⁻¹ DPPH[·], e uma capacidade de 550,14 μmol Trolox.g⁻¹ pelo método de captura do radical ABTS^{·+}. Em ambas as metodologias o extrato demonstrou uma capacidade antioxidante superior a de outros frutos liofilizados de myrtaceas analisados por Rufino *et al.* (2010), como jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg.), Jamelão (*Syzygium cumini* (L) Skeels), murta (*Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O.Berg.) e uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess.), e inferior ao camu-camu (Tabela 10).

Tabela 10: Valores médios da atividade antioxidante do liofilizado de polpa com casca de camboim pelos métodos ABTS^{·+} e DPPH[·] em comparação a resultados de outros frutos retirados da literatura.

Fruto liofilizado	ABTS ^{·+} (μmol Trolox/g)	DPPH [·] EC ₅₀ (g/g DPPH [·])
Camboim	550,14 ± 3,27	85,68 ± 1,10
Jaboticaba*	317 ± 2,7	138 ± 3,1
Jamelão*	125 ± 10,8	938 ± 46,9
Murta*	166 ± 4	363 ± 27,4
Uvaia*	182 ± 14,2	276 ± 22,2
Camu-camu*	1237 ± 33,8	42,6 ± 1,4

Os valores são a média dos resultados da análise da amostra em triplicata, com os respectivos desvios padrão. *Fonte: Rufino *et al.*, 2010.

5.7. COMPOSTOS VOLÁTEIS

O camboim apresenta um intenso aroma cítrico, levemente adocicado. Após o processo de liofilização este aroma se manteve, assim como sua intensidade. A tabela 11 apresenta os voláteis identificados no liofilizado de polpa com casca de camboim. Dos 32 compostos identificados 34,4% são monoterpenos hidrocarbonetos, 25% monoterpenos oxigenados e 40,6% sesquiterpenos hidrocarbonetos. O composto majoritário foi identificado como β -*cis*-Ocimeno, representando 50,8% da área relativa na análise cromatográfica utilizando o detector FID. Thiebolt *et al.* (2012) identificou os voláteis presentes no óleo essencial das folhas, flores e caule de *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) *O.Berg.*, no qual os monoterpenos mostraram-se o grupo majoritário no óleo essencial da folhas e flores e sesquiterpenos no caule. Os voláteis identificados podem justificar o aroma apresentado pelo liofilizado de polpa com casca de camboim, uma vez que compostos como limoneno, 1,8-cineol, β -*cis*-Ocimeno, γ -terpineno e α -terpineol foram anteriormente associados, respectivamente, aos aromas cítrico, camforáceo, floral/herbáceo, herbáceo-cítrico, e floral/doce pela técnica sniffing CG (PINO, MARBOT & VÁZQUEZ, 2001). Este aroma intenso do liofilizado de polpa com casca de camboim poderia mascarar outros aromas não agradáveis ou mesmo conferir aroma de fruta a outros produtos a que fosse adicionado.

Tabela 11: Identificação de voláteis presentes no liofilizado de polpa com casca de camboim, determinada por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas e detector de chamas com coluna HP-5.

Identificação	IR _{Exp.}	IR _{Lit.}	% Área relativa (Detector de ionização de chama)	MI
α -pireno	841	939	0,114	MS
β -pineno	937	979	0,985	IR, MS
α -terpineno	958	1017	0,690	IR, MS
Limoneno	975	1029	0,797	MS
1,8-cineol	980	1031	3,143	MS
β - <i>cis</i> -Ocimeno	1009	1037	50,882	IR, MS
γ -terpineno	1017	1060	2,515	IR, MS
Oxido de linalool <- <i>cis</i> -> (furanoid)	1030	1087	tr	IR, MS
Isoterpinoleno	1049	1088	0,068	IR, MS
Terpinoleno	1051	1089	0,392	IR, MS
β -linalool	1066	1097	0,248	IR, MS
Mentatrieno <1,3,8- <i>para</i> >	1090	1110	tr	IR, MS
Ocimeno <allo>	1098	1132	0,483	IR, MS

Continuação...

Identificação	IR _{Exp.}	IR _{Lit.}	% Área relativa (Detector de ionização de chama)	MI
Ocimeno<neo-allo>	1113	1144	0,181	IR, MS
4-terpinenol	1155	1177	tr	IR, MS
α -terpineol	1172	1189	0,150	IR, MS
Geraniol	1192	1253	tr	IR, MS
Terpinen-7-al<apha>	1209	1285	tr	IR, MS
Longiciclono	1377	1374	tr	IR, MS
α -ylangeno	1384	1375	0,057	IR, MS
α -copaeno	1390	1377	tr	IR, MS
Geranil acetato	1404	1381	tr	IR, MS
Sativeno	1414	1392	tr	IR, MS
Isocaryophylleno	1425	1409	tr	IR, MS
α -cedreno	1429	1412	tr	IR, MS
β -caryophylleno	1442	1419	1,157	IR, MS
α -guaieno	1465	1440	0,394	IR, MS
α -caryophylleno (α -humuleno)	1482	1455	0,199	IR, MS
α -amorpheno	1514	1485	0,102	IR, MS
β -selineno	1521	1490	0,716	IR, MS
β -cadineno	1528	1529	0,363	IR, MS
Selina-3,7(11)-dieno	1586	1547	0,436	IR, MS

IR_{Exp.}: Índice de retenção calculado utilizando uma série de n-alcanos (C5-C23). IR_{Lit.}: Índice de retenção reportado pela literatura. MI: método de identificação; MS: compostos identificados por espectrometria de massa; IR: componentes identificados por comparação do índice de retenção com a literatura. Referências: Adams (2001) and NIST 08 library. tr: traços.

6. CONCLUSÃO

O liofilizado de polpa com casca de camboim é fonte de compostos bioativos, como os carotenoides, flavonoides e ácidos fenólicos.

- O liofilizado de polpa com casca de camboim apresenta um baixo conteúdo de lipídeos e proteínas, em sua composição predominam os açúcares.
- Foram identificados e quantificados os açúcares glicose, frutose e sacarose.
- Não foi detectado ácidoascórbico no liofilizado de polpa com casca de camboim, contudo esta foi encontrada e identificada no fruto *in natura*, para preservação deste composto devem ser avaliados outros métodos de secagem e armazenamento do fruto.
- Foram identificados e quantificados os carotenoides β -criptoxantina, β -caroteno, luteína, zeaxantina, 13-cis- β -caroteno, α -caroteno e 9-cis- β -caroteno. A β -criptoxantina, o carotenoide majoritário, foi encontrada em concentrações superiores a de outros alimentos tidos como fonte deste carotenoide. Assim sendo o liofilizado de polpa e casca de camboim pode ser considerado uma fonte de carotenoides pró-vitâmicos A.
- Foram identificados e quantificados os ácidos fenólicos gálico e elágico. No entanto, estes somente podem ser encontrados no liofilizado de polpa com casca de camboim após hidrólise química.
- O flavonoide rutina foi identificado e quantificado, apresentando-se em altas concentrações. O liofilizado de polpa com casca de camboim pode ser considerado fonte para obtenção deste flavonoide.
- O liofilizado de polpa com casca de camboim apresentou atividade antioxidante superior a de outros frutos usualmente consumidos, frescos ou liofilizados.
- Dos 32 compostos voláteis identificados 50% correspondem ao β -cis-Ocimeno.

A obtenção de um liofilizado de polpa com casca de camboim mostrou-se benéfica para concentração de carotenoides, flavonoides e ácidos fenólicos, no entanto foi ineficaz para concentração de ácido ascórbico. Os resultados deste estudo contribuem para uma maior conhecimento sobre o valor nutricional, fitoquímicos e atividade antioxidante desta espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIHISIA, T., MATSUMOTO, K., TOKUDA, H., YASUKAWA, K., SEINO, K., NAKAMOTO, K., KUNINAGA, H., SUZUKI, T., KIMURA, Y. Anti-inflammatory and Potential Cancer Chemopreventive Constituents of the Fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 5, p. 754-757, 2007.

AMARAL, R. R.; FERNANDES, C. P.; CAMEL, O. P.; TIETBOHL, L. A. C.; SANTOS, M. G.; CARVALHO, J. C. T.; ROCHA, L. Essential Oils from Fruits with Different Colors and Leaves of *Neomitranthes obscura* (DC.) N. Silveira: An Endemic Species from Brazilian Atlantic Forest. **BioMed Research International**, v.2013, p.1-7, 2013.

ANDRADE JUNIOR, D. R.; SOUZA, R. B.; SANTOS, S. A.; ANDRADE, D. R. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.31, n.1, p.60-68, 2005.

AOCS. (2009). Official Method Am 5-04, Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society (6th ed.). Champaign, IL: American Oil Chemists' Society Press.

APEL, M. A.; LIMA, M. E. L.; SOUZA, A.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M. C. M.; SOBRAL, M. E. G.; SUFFREDINI, I. B.; MORENO, P. R. Screening of the biological activity from essential Oils of native species from the atlantic rain forest (São Paulo – Brazil). **Pharmacologyonline**, v.3, p.376-383, 2006.

ARANHA, F. Q.; BARROS, Z. F.; MOURA, L. S. A.; GONÇALVES, M. C. R.; BARROS, J. C.; METRI, J. C.; SOUZA, M. S. O papel da vitamina c sobre as alterações orgânicas no idoso. **Revista de Nutrição**, v.13, n.2, p.89-97, 2000.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta free radicals and the main dietary antioxidants. **Revista de Nutrição**, v.12, n.2, p.123-130, 1999.

BRAGA, A. C. C.; SILVA, A. E.; PELAIS, A. C. A.; BICHARA, C. M. G.; POMPEU, D. R. Atividade antioxidante e quantificação de compostos bioativos dos frutos de abricó (*Mammea americana*). **Alimentos e Nutrição**, v.21, n.1, p.31-36, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – CNNPA n.12, de 24/07/1978 – **Dispõe sobre normas técnicas especiais**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 02/2015.

CABRAL, I. S. R.; OLDONI, T. L. C.; PRADO, A.; BEZERRA, R. M. N.; ALENCAR, S. M.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P. L. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v.32, n.6, p.1523-1527, 2009.

CARDOSO, P. C.; TOMAZINI, A. P. B.; SRTINGHETA, P. C.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Vitamin C and carotenoids in organic and conventional fruits grown in Brazil. **Food Chemistry**, v.126, n.2, p.411–416, 2011.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v.30, n.2, p.441-449, 2007.

CORDEIRO, M. W. S. Caracterização física e química de frutos de pequi (caryocar brasiliense camb.) de diferentes regiões do estado de Mato Grosso. 2012. 51p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ciência dos Alimentos). Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2012.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.1, p.15-19, 2010.

CRUZ, A. V. M.; KAPLAN, M. A. C. Uso medicinal de espécies das famílias myrtaceae e melastomataceae no Brasil. **Floresta e Ambiente**, v.11, n.1, p.47-52, 2004.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia: um breve ensaio. **Atualidades em Química**, n.7, p.21-25, mai.1998

DIAS, M. G.; CAMÕES, M. F.; OLIVEIRA, L. Uncertainty estimation and in-house method validation of HPLC analysis of carotenoids for food composition data production. **Food Chemistry**, v.109, n.4, p.815–824, 2008.

- EINBOND, S. L.; REYNERTSON, K. A.; LUO, X.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v.84, n.1, p.23–28, 2004.
- EL-AGAMEY, A.; LOWE, G. M.; GARVEY, D. V. M.; MORTENSEN, A.; PHILLIP, D. M.; TRUSCOTT, G.; YOUNG, A. J. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.430, n.1, p.37–48, 2004.
- FDA - U.S. Food and Drug Administration. (2013). Guidance for Industry: A Food Labeling Guide (14. Appendix F: Calculate the Percent Daily Value for the Appropriate.
- FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; CARVAJAL-LÉRIDA, I.; JARÉN-GALÁN, M.; GARRIDO-FERNÁNDEZ, J.; PÉREZ-GALVEZ, A.; HOMERO-MÉNDEZ, D. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. **Food Research International**, v.46, n.2, p.438–450, 2012.
- FERREIRA, I. C. F. R.; ABREU, R. M. V. Stress Oxidativo, Antioxidantes e **Fitoquímicos Bioanálise**, v.IV, n.2, p.32-39, 2007.
- FRANCO, M. R. B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.; LANÇAS, F. M. Compostos voláteis de três cultivares de manga (*Mangifera indica* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 165-169, 2004.
- FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Progress in Lipid Research**, v.43, n.3, p. 228–265, 2004.
- GOUVÊA , A. C. M. S. Quantificação das antocianinas majoritárias do açaí por cromatografia líquida de alta eficiência. 2010. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência e tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2010.
- GOVAERTS, R.; SOBRAL, N.; ASHTON, P.; BARRIE, F.; HOLST, B. K.; LANDRUM, L. L.; MATSUMOTO, K.; MAZINE, F.; LUGHADHA, N. E.; PROENÇA, C. (2008). World Checklist of Myrtaceae: 1-455. Kew Publishing, Royal Botanic Gardens, Kew.
- GUTIÉRREZ, J. R. V. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. **Revista Cubana de Medicina Militar**, v.31, n.2, p.126-33, 2002.

HEAD, K. A. Ascorbic Acid in the Prevention and Treatment of Cancer. **Alternative Medicine Review**, v.3, n.3, p.174-186, 1998.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**/coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo:Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p.

JIANG, P., BURCZYNSKI, F., CAMPBELL, C., PIERCE, G., AUSTRIA, J. A., BRIGGS, C. J. Rutin and Xavonoid contents in three buckwheat species *Fagopyrum esculentum*, *F. tataricum*, and *F. homotropicum* and their protective eVects against lipid peroxidation. **Food Research International**, v. 40, n. 3, p. 356-364, 2007..

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**, v.78, n.3, p.389–398, 2008.

KLOPOTEK, Y.; OTTO, K.; BÖHM, V. Processing Strawberries to Different Products Alters Contents of Vitamin C, Total Phenolics, Total Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.53, n.14, p.5640–5646, 2005.

KLUMP, S. P. *et al.* Determination of isoflavones in soy and selected foods containing soy by extraction, saponification, and liquid chromatography: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 84, n. 6, p. 1865-1883, 2001.

KUBOLA, J., SIRIAMORNPUN, S., MEESO, N. Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 972–981, 2011.

KUBOTA, T. Contribuição à química dos compostos voláteis dos Frutos do nordeste: *Hancornia speciosa* Gomes. 2007.12f. Dissertação (Mestrado em química). Sergipe: Universidade Federal do Sergipe. 2007.

KURTZ, B. C.; ARAÚJO, D. S. D. de. Composição florística e estrutura do componente arbóreo de um trecho de Mata Atlântica na Estação Ecológica Estadual do Paraíso, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v.51, p.69-112. 2000

LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, n. 3, p. 207-220, 2000.

LÓPEZ, A.; BICERRA, E.; DÍAZ, E. Perfil ecológico de cuatro rodales de camu camu árbol *Myrciaria floribunda* (H. West. ex Willd) O. Berg. en Ucayali. **Ecología Aplicada**, v.5, n.1,2, p.45-52, 2006.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, M. **Brazilian fruits & cultivated exotics: for consumer in natura**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.

LOURENÇO, A. R. L.; BARBOSA, M. R. V. Myrtaceae em restingas no limite norte de distribuição da Mata Atlântica, Brasil. **Rodriguésia**, v.63, n.2, p.373-393, 2012.

LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, T.; CROZIER, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.83, n.5, p.496–502, 2003.

MACRAE, R. **Food Science and Technology – A series of monographs: HPLC in food analysis**. Editora Academic Press, 2ª ed. 1998. P.77.

MALDANER, L.; JARDIM, I.C.S.F.O. A arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. **Revista Química Nova**, Vol. 32, No. 1, 214-222, 2009.

MANELA-AZULAY, M.; LACERDA, C. A. M.; PEREZ, M. A.; FILGUEIRA, A. L.; CUZZI, T. Vitamina C. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.78, n.3, p.265-274, 2003.

MARQUES, L. G. ; PRADO, M. M. ; FREIRE, J . Vitamin C Content of Freeze-Dried Tropical Fruits. In: 11th International Congress on Engineering and Food, 2011, Atenas. **11th International Congress on Engineering and Food**, 2011.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J.M.; TUÑÓN, M.J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutricion Hospitalaria**, v.17, n.6, p.271-278, 2002.

MATTILA, P.; KUMPULAINEN, J. Determination of Free and Total Phenolic Acids in Plant-Derived Foods by HPLC with Diode-Array Detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3660-3667, 2002.

MELÉNDEZ, A. J.; BEJINES, E.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Vitamin c in orange juices determined by hplc: influence of the wavelength of detection. **Italian Journal of Food Science**, n.1, v.16, p.79, 2004.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; BRITTON, G.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments. **Food Chemistry**, v.101, n.3, p.1145–1150, 2007.

MOREIRA FILHO, M.; FERREIRA, S. A. N. Clonagem do camu-camu arbustivo em porta-enxertos de camu-camu arbustivo e arbóreo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n.4, p.1202-1205, 2009.

OLIVEIRA, V. B.; YAMADA, L. T.; FAGG, C. W.; BRANDÃO, M. G. L. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v.48, p.170–179, 2012.

PACHECO S., Peixoto F., Borguini R.G., Nascimento L.S.M., Bobeda C.R. R., Santiago M.C.P.A., Godoy R.L.O., Microscale extraction method for HPLC carotenoid analysis in vegetable matrices. **Scientia Agric.** (USP. Impresso), v. 71, n.5, p. 416-419, 2014.

PARK H. H., LEE S., SON H. Y., PARK S. B., KIM M. S., CHOI, E. J., SINGH, T. S. K., HA, J., LEE, M., KIM, J., HYUM, M. C., KWON, T. K., KIM, Y. H., KIM, S. Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. **Archives of Pharmacal Research**, v. 31, n. 10, p. 1303–1311, 2008.

PEIXOTO, G. L.; MARTINS, S. V.; SILVA, A. F.; SILVA, E. Composição florística do componente arbóreo de um trecho de Floresta Atlântica na Área de Proteção Ambiental da Serra da Capoeira Grande, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v.18, n.1, p.151-160, 2004.

PENNINGTON, J. A. T. Food Composition Databases for Bioactive Components. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.15, p.419-434, 2002.

PEREIRA, M. C. A.; ARAUJO, D. S. D.; PEREIRA, O. J. Estrutura de uma comunidade arbustiva da restinga de Barra de Maricá – RJ. **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, n.3, p.273-281, 2001.

PEREIRA, M. C.; STEFFENS, R. S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P. F.; RIOS, A. O.; VIZZOTTO, M.; FLÔRES, S. H. Characterization and Antioxidant Potential of Brazilian Fruits from the Myrtaceae Family. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.60, p.3061-3067, 2012.

- PINNELL, S. R. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.48, n.1, p.1-19, 2003.
- PINO, J. A., MARBOT, R., VÁZQUEZ, C. Volatiles in Strawberry Guava Fruits. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 49, n. 12, p. 5882-5887, 2001.
- POPPI, R. J.; MARÇO, P. H.; SACARMINIO I. S. Procedimentos Analíticos para identificação de antocianinas em produtos naturais. **Revista Química Nova**, v.31, n.5, p.1218-1223, 2008.
- RAMOS, M. F. S.; MONTEIRO, S. S.; SILVA, V. P.; NAKAMURA, M. J.; SIANI, A. C. Essential oils from Myrtaceae species of the Brazilian Southeastern Maritime Forest (Restinga). **Journal of Essential Oil Research**, v.22, n.2, p.109-113, 2010.
- REYNERTSON, K. A., YANG, H., JIANG, B., BASILE, M. J., KENNELLY, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883–890, 2008.
- RIZZINI, C. M.; PEREIRA, C.; OCCHIONI, E. M. L.; AGAREZ, F. V. Considerações sobre a ocorrência de cactaceae na APA de Maricá, Rio De Janeiro, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v.4, n.2, p.171-182, 1990.
- ROBBINS, R. J. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.10, p.2866-2887, 2003.
- RODRÍGUEZ-AMAYA, D. B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**, 2001. 64p.
- ROGEZ, H., BUXANT, R., MIGNOLET, E., SOUZA, J. N. S., SILVA, E. M., LARONDELLE, Y. Chemical composition of the pulp of three typical Amazonian fruits: araçá-boi (*Eugenia stipitata*), bacuri (*Platonia insignis*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 4, p. 308-384, 2004.
- ROMBALDI, C. V.; TIBOLA, C. S.; ZAICOVSKI, C. B.; SILVA, J. A.; FACHINELLO, J. C.; ZAMBIAZI, R. C. Potencial de conservação e qualidade de frutas: aspectos biotecnológicos de pré e pós-colheita. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 19, 2006, Cabo Frio. Palestras e resumos... Cabo Frio-RJ: SBF/UENF/UFRuralRJ. 2006. p. 105-132.

ROSA, J. S.; GODOY, R. L. O.; OIANO NETO, J.; CAMPOS, R. S.; MATTA, V. M.; FREIRE, C. A.; SILVA, A. S.; SOUZA, R. S. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.4, p.837-846, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, SAMPAIO, C. G.; S. M.; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS•+. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007 (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico).

RUTZ, Josiane Kuhn. Avanços na cromatografia líquida. 2009. 41f. Trabalho acadêmico (Seminário em Alimentos) - Bacharelado em Química de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SHEN, Y.; JIN, L.; XIAO, P.; LU, Y.; BAO, J. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. **Journal of Cereal Science**, v.49, n.1, p.106–111, 2009

SILVA, A. L. C.; ABREU, M. L. L.; SILVESTRE, C. P. Dunas costeiras na barreira arenosa holocênica da APA de Maricá no Estado do Rio De Janeiro, Brasil. *Revista Geonorte, Edição Especial*, v.2, n.4, p.367 – 376, 2012.

SOARES, D. G.; ANDREAZZA, A. C.; SALVADOR, M. Avaliação de compostos com atividade antioxidante em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.1, p.95-100, 2005

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. (2013). *Myrtaceae*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB171>>. Acesso em: 08/2013.

SOUZA, M. C.; MORIM, M. P. Subtribos Eugeniinae O. Berg e Myrtinae O. Berg (Myrtaceae) na Restinga da Marambaia, RJ, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v.22, n.3, p.652-683. 2008.

SOUZA, M. C.; MORIM, M. P.; CONDE, M. M. S.; MENEZES, L. F. T. Subtribo Myrciinae O. Berg (Myrtaceae) na Restinga da Marambaia, RJ, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v.21, n.1, p.49-63, 2007.

STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Molecular Aspects of Medicine**, v.24, n.6, p.345–351, 2003.

STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v.1740, n.2, p.101–107, 2005.

STONE, I. Fifty years of research on ascorbate and the genetics of scurvy. **Orthomolecular Psychiatry**, v.13, n.4, p.280, 1984.

TADIC, V. M., DOBRIC, S., MARCKOVIC, G. M., DORDEVIC, S. M., ARSIC, I. A., MENKOVIC, N. R., STEVIC, T. Anti-inflammatory, Gastroprotective, Free-Radical-Scavenging, and Antimicrobial Activities of Hawthorn Berries Ethanol Extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 17, p. 7700-7709, 2008.

TIBURSKI, J. H., ROSENTHAL, A. R., DELISA, R., GODOY R. L. O, PACHECO, S. Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2326-2331, 2011.

TIETBOHL, L. A. C., LIMA, B. G., FERNANDES, C. P., SANTOS, M. G., SILVA, F. E. B., DENARDIN, E. L. G., BACHINSKI, R., ALVES, G. G., SILVA-FILHO, M. V., ROCHA, L. Comparative Study and Anticholinesterasic Evaluation of Essential Oils from Leaves, Stems and Flowers of *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd.) O. Berg. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.31, n.4, p.637-641, 2012.

TRUEBA, L.G.P. Los flavonoides: oxidantes e prooxidantes. **Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas**, v.22, n.1, p.48-57, 2003.

UENOJO, M.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, v.30, n.3, p.616-622, 2007.

USDA-ARS (US Department of Agriculture, Agricultural Research Service). USDA nutrient database for standard reference. Disponível em: <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>> Acesso em: 07/2014.

VÁLDES, F. Vitamina C. **Actas Dermo-Sifiliográficas**, v.97, n.9, p.557-568, 2006.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonoides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v.23, n.2, p.141-149, 2008.

YANG, J., GUO, J., YUAM, J. In vitro antioxidant properties of rutin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 6, p. 1060-1066, 2008.

ZAMORRA, J. D. S. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 34, n.1, p.17-26, 2007.

ANEXO I: Myrtaceas encontradas no Rio de Janeiro

Espécie	Nome Comum	Localidade	Fontes
<i>Blepharocalyx salicifolius</i> (Kunth) O. Berg	cambuí	Marambaia e Jacarepaguá	5
<i>Calycorectes pohlianus</i> (O. Berg) Kiaersk.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Calycorectes sellowianus</i> O. Berg	araçá	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Calyptranthes brasiliensis</i> Spreng.	guamirim-branco, batinga-mirim	Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Macaé e São João da Barra	4
<i>Calyptranthes lucida</i> Mart. ex DC.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Calyptranthes</i> sp.1	goiabeira	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Calyptranthes</i> sp.2		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Campomanesia eugenoides</i> (Cambess.) D. Legrand	guabiroba	Pedra de Guaratiba (Floresta Atlântica)	3
<i>Campomanesia laurifolia</i> Gardner	glabiroba	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia bahiensis</i> DC.		Reserva da Praia do Sul, Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Macaé e São João da Barra	5
<i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.	grumixama	Reserva da Praia do Sul, Marambaia e Jacarepaguá	5
<i>Eugenia chlorophylla</i> O. Berg		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia copacabanensis</i> Kiaersk. *		Reserva da Praia do Sul, Marambaia, Jacarepaguá, Maricá e Cabo Frio	5
<i>Eugenia cuprea</i> (O. Berg) Nied.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia excelsa</i> O. Berg		Reserva da Praia do Sul, Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Macaé e Cachoeiras de Macacu	1, 5
<i>Eugenia expansa</i> Spring ex Mart.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia glazioviana</i> f. <i>parvifolia</i> Kiaersk.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia mandioccensis</i> O. Berg		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia maroviana</i> O. Berg		Pedra de Guaratiba (Floresta Atlântica)	3

Espécie	Nome Comum	Localidade	Fontes
<i>Eugenia microcarpa</i> O. Berg		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia neonitida</i> Sobral	pitangão, pitangatuba	Marambaia, Grumari, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Barra de São João e Macaé	5
<i>Eugenia neosilvestris</i> Sobral	grumixana-miúda	Marambaia e Cabo Frio	5
<i>Eugenia oxyoentophylla</i> Kiaersk. *		Marambaia, Grumari e Maricá	5
<i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) DC.		Reserva da Praia do Sul, Marambaia, Grumari, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Barra de São João, Macaé e São João da Barra	5
<i>Eugenia rostrata</i> O. Berg		Marambaia, Jacarepaguá e Cabo Frio	5
<i>Eugenia rotundifolia</i> Casar.	araponga	Marambaia, Grumari, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Macaé e São João da Barra	5
<i>Eugenia sp.</i>	araçá	Restinga da Marambaia e Cachoeira de Macacu	1, 5
<i>Eugenia subavenia</i> O. Berg		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia sulcata</i> Spring ex Mart.	pitanga-preta, murta-preta	Reserva da Praia do Sul, Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Barra de São João e Macaé	5
<i>Eugenia tinguayensis</i> Cambess.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia umbrosa</i> O. Berg	maria-doce	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia uniflora</i> L.	pitanga	Marambaia, Grumari, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio e São João da Barra	5
<i>Gomidesia fenzliana</i> O. Berg	guamirim, papaguela	Reserva da Praia do Sul, Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Barra de São João e Macaé	4
<i>Gomidesia martiana</i> O. Berg		Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Barra de São João e Macaé.	4
<i>Gomidesia spectabilis</i> (DC.) O. Berg		Cachoeiras de Macacu	1

Espécie	Nome Comum	Localidade	Fontes
<i>Marlierea racemosa</i> (Vell.) Kiaersk.	araçá	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Marlierea silvatica</i> (Gardner) Kiaersk.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Marlierea tomentosa</i> Cambess.	guapurana, guapurunga, araçá	Reserva da Praia do Sul, Restinga da Marambaia, São João da Barra e Cachoeiras de Macacu	1, 4
<i>Myrceugenia pilotantha</i> var. <i>pilotantha</i> (Kiaersk.) Landrum		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Myrcia acuminatissima</i> O. Berg		Reserva da Praia do Sul, Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Cabo Frio e Macaé	4
<i>Myrcia fallax</i> (Rich.) DC.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Myrcia hispida</i> O. Berg	araçá	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Myrcia lundiana</i> Kiaersk. *		Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Marica, Cabo Frio e Macaé	4
<i>Myrcia multiflora</i> (Lam.) DC.		Cachoeiras de Macacu, Reserva da Praia do Sul, Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Cabo Frio e Macaé	1, 4
<i>Myrcia recurvata</i> O. Berg		Reserva da Praia do Sul, Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Cabo Frio e Macaé	4
<i>Myrcia richardiana</i> (O. Berg) Kiaersk.		Restinga da Marambaia	4
<i>Myrcia</i> sp.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Myrcia tenuivenosa</i> Kiaersk.	goiabeira	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Myrciaria floribunda</i> (H. West ex Willd.) O. Berg	camboim, camu-camu arbustivo	Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio e Macaé	2, 5
<i>Myrciaria tenella</i> (DC.) O. Berg	camboim, murta	Marambaia, Jacarepaguá e Cabo Frio	5
<i>Myrrhinium atropurpureum</i> Schott *	pau-ferro, carrapatinho	Marambaia, Grumari, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio e Barra de São João	5
<i>Myrtaceae</i> sp. 1		Pedra de Guaratiba (Floresta Atlântica)	3
<i>Myrtaceae</i> sp. 2		Pedra de Guaratiba (Floresta Atlântica)	3

Espécie	Nome Comum	Localidade	Fontes
<i>Neomitranthes obscura</i> (DC.) N. Silveira	camboim-de-cachorro, pitanga-de cachorro	Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Macaé e São João da Barra	5
<i>Plinia ilhensis</i> G.M. Barroso *		Restinga da Marambaia	5
<i>Psidium cattleianum</i> Sabine	araçá, araçá-da-praia, araçá vermelho	Marambaia, Jacarepaguá e Maricá	5
<i>Psidium guajava</i> L.	goiabera	Pedra de Guaratiba (Floresta Atlântica)	3
<i>Psidium guineense</i> Sw.	araçá, araçá-azedo	Marambaia, Maricá e Barra de São João	5
<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels	jamelão	Pedra de Guaratiba (Floresta Atlântica)	3

Fonte: (1) Kutz & Araújo, 2000; (2) Moreira Filho & Ferreira, 2009; (3) Peixoto, Martins, Silva & Silva, 2004; (4) Souza; Morin; Conde & Menezes, 2007; (5) Souza & Morim, 2008. Legenda: * Registros apenas no Rio de Janeiro.