

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**COMPOSIÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DO
CAMBÚÍ-ROXO (*Eugenia candolleana* DC)**

KARLA LIRIO SOARES

VILA VELHA - ES
FEVEREIRO / 2019

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**COMPOSIÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DO
CAMBUI-ROXO (*Eugenia candolleana* DC)**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

KARLA LIRIO SOARES

VILA VELHA - ES
FEVEREIRO / 2019

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

S676c Soares, Karla Lirio.
Composição e atividade antioxidante de frutos do cambuí-roxo (*Eugenia candolleana* DC) / Karla Lirio Soares. – 2019.
44 f. : il.

Orientador: Rodrigo Scherer.
Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Vila Velha, 2019.
Inclui bibliografias.

1. Farmacologia e terapêutica. 2. Frutas - Consumo.
3. Antioxidante. I. Scherer, Rodrigo. II. Universidade Vila Velha.
III. Título.

CDD 615

KARLA LIRIO SOARES

**COMPOSIÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DO
CAMBUÍ-ROXO (*Eugenia candolleana* DC)**

Dissertação apresentada à Universidade
Vila Velha, como pré-requisito do
Programa de Pós-graduação em Ciências
Farmacêuticas, para a obtenção do grau
de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2019,

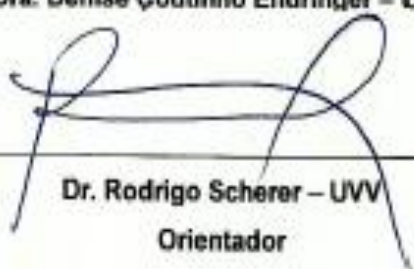
Barça Examinadora:



Dr. José Aires Ventura – INCAPER



Dra. Denise Coutinho Endringer – UVV



Dr. Rodrigo Scherer – UVV
Orientador

“Para que todos vejam, e saibam, e considerem,
e juntamente entendam que a mão do Senhor fez isto.”

Isaías 41:20

AGRADECIMENTOS

A Deus toda minha gratidão, sempre fiel e presente todos os dias.

A minha mãe Ednéa e irmã Kamila por todo amor, apoio, orações, colo e conselhos, sem vocês eu não estaria de pé.

Ao meu pai José Carlos e madrasta Conceição por todo amor, cuidado e preocupação, sem vocês não teria sido possível chegar até aqui.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rodrigo por toda paciência, orientação, ensino, incentivo e correções.

Aos meus amigos do Laboratório 30 e biopráticas, especialmente para Mayara, Nathacha, Leandra, Débora, Carol, Camile, Paty, Thiago, Mari Moreira, Mari Merigute e Ana Claudia, presentes que Deus me deu e que vou levar comigo pra sempre.

A minha madrinha Luciana, primeira mestre da família, quem me apresentou o mundo da pesquisa e ao trabalho em laboratório.

A minha vó Yolanda, mesmo de longe sempre intercedendo a Deus pela minha vida e pela minha vitória.

A toda minha família e amigos que de perto ou de longe torcem por mim e acreditam em mim.

A todo corpo docente e funcionários da UVV que contribuíram de alguma forma com a realização deste trabalho.

A CAPES pela bolsa de estudos e a FAPES pelo apoio financeiro.

Ao Prof. Dr. Stanislau da USP de São Carlos, a Waters Corporation e a Tommasi pelas contribuições nas análises.

Enfim, a todos que fizeram parte dessa caminhada, essa vitória é nossa!
Muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	VIII
RESUMO.....	IX
ABSTRACT.....	X
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS.....	13
2.1. Objetivo geral.....	13
2.2. Objetivos específicos.....	13
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
3.1. Reagentes e padrões.....	14
3.2. Amostras.....	14
3.2.1. Coleta das amostras.....	14
3.3. Aspectos físicos.....	15
3.4. Composição centesimal.....	15
3.5. Determinação de açúcares.....	15
3.6. Determinação de minerais.....	16
3.7. Determinação do pH e acidez total titulável.....	16
3.8. Determinação de ácidos orgânicos.....	17
3.9. Determinação de vitaminas do complexo B por LC-ESI-MS/MS.....	17
3.10. Perfil de ácidos graxos.....	19
3.11. Preparação dos extratos de cambuí-roxo.....	19
3.12. Determinação das substâncias fenólicas totais e taninos.....	20
3.13. Conteúdo total de antocianinas monoméricas.....	20
3.14. Atividade antioxidante.....	20
3.14.1. Sequestro do radical livre DPPH.....	20
3.14.2. Sequestro do radical livre ABTS.....	21
3.14.3. Ensaio do FRAP.....	21
3.14.4. Superóxido.....	22
3.15. Análise estatística.....	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23

4.1. Aspectos físicos.....	23
4.2. Composição centesimal.....	24
4.3. Composição mineral.....	26
4.4. Acidez, pH e composição de ácidos orgânicos.....	29
4.5. Composição de vitaminas do complexo B.....	29
4.6. Perfil de ácidos graxos.....	31
4.7. Composição fenólica e atividade antioxidante.....	32
5. CONCLUSÕES.....	36
REFERÊNCIAS.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS – 2,2-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

AOAC – *Association of Official Analytical Chemists*

DNA – *deoxyribonucleic acid*

DPPH – 2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl

DRI's – *Dietary Reference Intake*

EROs – espécies reativas de oxigênio

FF – fruta fresca

FRAP – *Ferric reducing antioxidant power*

GC-FID – *Gas chromatography – flame ionization detector* (cromatógrafo a gás acoplado a um detector de ionização em chama)

HPLC – *High performance liquid chromatography* (cromatógrafo líquido de alta eficiência)

ICP OES – *Inductively coupled plasma optical emission spectrometry* (espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado)

IR50 – índice de redução de 50% dos radicais livres

LC-ESI-MS/MS - *Liquid chromatography electrospray Ionization tandem mass spectrometric* (cromatografia líquida com ionização por electrospray e espectrometria de massa)

NADH – nicotinamida adenina dinucleotídeo

NBT – nitroblue tetrazolium

NED – dicloridrato de n-1-naftiletilenodiamina

NPS – nitroprussiato de sódio

OMS – Organização Mundial da Saúde

PMS – metassulfato de fenazina

RDI's – recomendação diária de ingestão

TPTZ – 2,4,6-tri (2-piridil)-1,3,5-triazina

WHO – *World Health Organization*

RESUMO

SOARES, KARLA LIRIO, M.Sc, Universidade Vila Velha – ES, fevereiro de 2019. **Composição e atividade antioxidante de frutos do cambuí-roxo (*Eugenia candolleana* DC).** Orientador: Rodrigo Scherer.

O consumo diário de frutas é amplamente recomendado nas diretrizes dietéticas em todo o mundo, pois além dos macronutrientes, as frutas possuem diversos compostos bioativos importantes ao funcionamento do organismo, capazes de prevenir várias doenças devido à sua atividade antioxidante. A *Eugenia candolleana*, também conhecida como cambuí-roxo, é uma espécie endêmica no Brasil, nativa da Mata Atlântica, com escassos estudos na literatura. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a composição e a atividade antioxidante dos frutos de cambuí-roxo. As amostras foram coletadas em dois diferentes estádios de maturação e separadas em polpas com cascas, e sementes. Foram feitas análises de composição centesimal de acordo com os métodos da AOAC, composição de minerais por ICP OES, ácidos orgânicos por HPLC, vitaminas do complexo B por LC-ESI-MS/MS, ácidos graxos por GC-FID, o teor de fenólicos totais e taninos por folin-ciocalteu, teor de antocianinas monoméricas pelo método de pH diferencial e a atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos de sequestro de radicais livres ABTS, FRAP, DPPH e ânion superóxido. Os resultados demonstraram que a fruta possui poucas calorias por porção (36,6 – 44,80 kcal/100 g de Fruta Fresca). A polpa 1, mais madura, obteve maior teor de açúcares livres (9,52 g/100 g FF). As polpas demonstraram serem boas fontes de fibras (4,20 – 5,5 g/100 g FF), e as sementes apresentaram altas quantidades de fibras (40,8 – 41,4 g/100 g FF) e proteínas (3,7 – 4,2 g/100 g FF). Em geral, as sementes podem ser consideradas fontes de minerais como ferro (1,36 – 1,56 mg/100 g FF), fósforo (68,45 – 72,28 mg/100 g FF), potássio (288,23 – 288,55 mg/100 g FF). O ácido orgânico majoritário foi o ácido cítrico (1,00 – 2,0 g/100 g FF), e os ácidos málico (0,6 – 0,8 g/100 g FF) e tartárico (0,6 g/100 g FF) foram encontrados somente nas sementes. A amostra de polpa mais madura pode ser considerada fonte de riboflavina (68,3 µg/100 g FF). Os frutos de cambuí-roxo apresentaram alta proporção de ácidos graxos insaturados (59,4-70,9%) em relação aos saturados (29,1-40,6%), sendo o ácido linoleico (C18:2 n-6) o predominante em todas as amostras (55,29 – 342,20 mg/100 g FF). As antocianinas foram encontradas somente nas polpas (13,23 – 19,74 mg/g). Na análise de teor de compostos fenólicos totais e taninos, as sementes (61,50 – 79,80 mg/g; 31,50 – 41,50 mg/g; respectivamente) apresentaram valores significativamente maiores que as polpas (14,20 – 22,00 mg/g; 3,40 – 6,60 mg/g). Da mesma forma, as sementes demonstraram maior capacidade antioxidante que as polpas em todos os métodos avaliados, indicando que os compostos presentes na fruta são, possivelmente, os responsáveis por sua atividade antioxidante. A partir desses resultados pode-se concluir que a fruta cambuí-roxo apresenta um bom perfil nutricional, podendo ser incluída na alimentação das pessoas. A viabilidade da produção de um suplemento com as sementes pode ser estudada posteriormente. Além disso, a fruta é promissora do ponto de vista farmacêutico, pois apresentou atividade biológica que pode ser melhor explorada em estudos futuros.

Palavras chaves: Myrtaceae; Atividade biológica; Mata Atlântica; Fruta nativa; Perfil nutricional; Minerais.

ABSTRACT

SOARES, KARLA LIRIO, M.Sc, University of Vila Velha – ES, february 2019. **Composition and antioxidant activity of cambuí-roxo fruits (*Eugenia candolleana* DC).** Advisor: Rodrigo Scherer.

The daily consumption of fruits is widely recommended in dietary guidelines worldwide, because in addition to the macronutrients, fruits have several bioactive compounds important to the functioning of the body, able to prevent diseases due to its antioxidant activity. *Eugenia candolleana*, also known as cambui-roxo, is an endemic species in Brazil, native to the Atlantic Forest, with few studies in the literature. Therefore, the objective of this work is to evaluate the composition and the antioxidant activity of fruits of cambui-roxo. Samples were collected at two different stages of maturation, and the samples were separated in pulp and seeds. The centesimal composition was performed according AOAC methods. Mineral composition by ICP OES, organic acids by HPLC, B-complex vitamins by LC-ESI-MS/MS, fatty acids by GC-FID, phenolic content total and tannin by folin-ciocalteu, content of monomeric anthocyanins by the differential pH method were performed. The antioxidant activity was evaluated by free radical scavenging methods ABTS, FRAP, DPPH and superoxide. The results showed that the fruit has low calorie (36.6 - 44.8 kcal/100 g of Fresh Fruit). The pulp 1 (P1 - ripe), presented higher free sugars content (9.5 g/100 g FF) than pulp 2 (P2 – unripe). The pulps were considered as good fiber source (4.20 - 5.5 g/100 g FF), and the seeds had high amounts of fiber (40.85 - 41.46 g/100 g FF) and proteins (3.7 - 4.2 g/100 g FF). In general, seeds can be considered a source of minerals such as iron (1.36 – 1.56 mg/100 g FF), phosphorus (68.45 – 72.28 mg/100 g FF), potassium (288.23 – 288.55 mg / 100 g FF). The major organic acid found was citric acid (1.00 - 2.0 g/100 g FF) and malic acid (0.6 - 0.8 mg/100 g) and tartaric acid (0.6 mg/100 g FF) were found only in the seeds. The pulp could be considered a source of riboflavin (68.3 µg/100g FF). The fruits of cambui-roxo presented a high proportion of unsaturated fatty acids (59.4-70.9%) in relation to the saturated ones (29.1-40.6%), with linoleic acid (C18: 2 n-6) the predominant in all samples (55.3 - 342.2 mg/100 g FF). Anthocyanins were found only in pulps (13.2 - 19.7 mg/g). In the analysis of total phenolic compounds and tannins, the seeds (S1: 61.5 - 79.8 mg/g, S2: 31.5 - 41.50 mg/g, respectively) presented values significantly higher than the pulps (P1: 14.2 – 22.0 mg/g, 3.40 - 6.60 mg/g). Similarly, the seeds demonstrated greater antioxidant capacity than pulps in all evaluated methods, indicating that the compounds present in the fruit are possibly responsible for and their antioxidant activity. From these results, it can be concluded that the Cambuí-Roxo fruit presents a good nutritional profile, being able to be included in the food of the people, The viability of producing a supplement with the seeds can be studied later. In addition, the fruit is promising from the pharmaceutical point of view, since it presented biological activity that can be better explored in future studies.

Keywords: Myrtaceae; Biological activity; Atlantic forest; Native fruit; Nutritional profile; Minerals.

1. INTRODUÇÃO

O consumo diário de frutas é amplamente recomendado nas diretrizes dietéticas em todo o mundo devido à sua riqueza em nutrientes. A Organização Mundial da Saúde (OMS) orienta como conduta nutricional para uma alimentação saudável, o consumo mínimo de 400 g por dia de frutas, verduras e legumes (excluindo batatas e outros tubérculos) para a prevenção de doenças crônicas como cardiopatias, câncer, diabetes tipo 2 e obesidade (WHO, 2019). O Guia Alimentar para a População Brasileira, de 2014, mesmo não especificando a quantidade de porções, recomenda a ingestão de frutas e alimentos *in natura*, ressaltando a importância desses alimentos para a saúde (Brasil, 2014).

Estudos mostram que além dos macronutrientes, como os carboidratos, proteínas e lipídios, as frutas possuem diversos compostos bioativos importantes ao funcionamento do organismo, capazes de prevenir várias doenças devido à sua atividade antioxidante (Ahmad, Zuo, Lu, Anwar, & Hameed, 2015; Lenquiste et al., 2015; Plaza et al., 2016). As vitaminas, por exemplo, podem ter capacidade antioxidante, além de desempenhar papéis bioquímicos no organismo, atuando como cofatores no metabolismo dos carboidratos, gorduras, proteínas e na síntese do DNA (Almeida et al., 2011). Estudo prévio relata que a Pitanga (*Eugenia uniflora*) é rica em compostos bioativos e possui altos níveis de vitaminas A e C, superiores a de outras frutas e vegetais comumente consumidos, como o mamão, tomate e brócolis, por exemplo (Schmidt et al., 2018).

O metabolismo humano leva à produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), além da exposição exógena a produtos químicos no meio ambiente e radiação ultra violeta. Sob circunstâncias normais essa produção é compensada por sistemas de defesa antioxidante. No entanto, quando uma quantidade excessiva de radicais livres é produzida ou os mecanismos de defesa são prejudicados um organismo pode estar sofrendo do chamado "estresse oxidativo", levando a possíveis danos, contribuindo para várias condições patológicas, incluindo doenças cardiovasculares, inflamatórias, doenças neurodegenerativas, câncer, envelhecimento e acidente vascular cerebral (Amin & Bano, 2018; Uddin & Ahmad, 1995).

Estudos têm sugerido que o consumo de alimentos fontes de antioxidantes naturais como frutas e vegetais frescos têm efeitos protetores contra

doenças relacionadas ao estresse oxidativo. Essa proteção tem sido atribuída, principalmente, à presença de vários componentes bioativos, como os polifenóis (flavonoides, antocianinas e outros compostos fenólicos) que possuem a capacidade de inibir ou neutralizar os radicais livres (Fikry, Gad, Eid, & Arab, 2019; Kfoury, Geagea, Ruellan, Greige-Gerges, & Fourmentin, 2019; Zaidun, Thent, & Latiff, 2018)

Espécies de frutas do gênero *Eugenia* têm um vasto potencial econômico e farmacológico, além de ampla exploração comercial de suas frutas comestíveis, madeira, óleos essenciais e uso como plantas ornamentais. No Brasil, existem cerca de 400 espécies pertencentes ao gênero *Eugenia* distribuídas em todo o país, incluindo espécies nativas da Mata Atlântica, como a grumixama (*Eugenia brasiliensis*), goiabão ou araçá-piranga (*Eugenia leitonii*), cereja-do-rio-grande (*Eugenia involucrata* DC.), cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) entre outras (Dametto et al., 2017; Franzon & Raseira, 2006; Gonçalves, Lajolo, & Genovese, 2010. Infante, Rosalen, Lazarini, Franchin, & De Alencar, 2016; Teixeira, Bertoldi, Lajolo, & Hassimotto, 2015). Alguns estudos prévios foram realizados com espécies do gênero *Eugenia*, como o suco da *Eugenia dysenterica* DC que demonstrou capacidade antioxidante e anti-inflamatória (Balisteiro, Araujo, Giacaglia, & Genovese, 2017; Donado-pestana et al., 2018). Teixeira et al., (2015) demonstraram que a *Eugenia brasiliensis* é uma fruta rica em antocianinas, apresentando assim um potencial como alimento funcional.

Uma fruta desse gênero ainda pouco explorada é a *Eugenia candolleana*, também conhecida como cambuí-roxo, cereja preta ou ameixa da Mata Atlântica, uma espécie endêmica no Brasil, nativa da Mata Atlântica, ocorrendo em estados do Nordeste, Sudeste e Sul (Sobral, Proença, Souza, Mazine, & Lucas, 2015). Não foram encontrados estudos prévios na literatura que avaliassem a composição e a atividade antioxidante de frutos da *E. candolleana*.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a composição e atividade antioxidante de frutos de cambuí-roxo (*Eugenia candolleana*).

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Analisar a composição centesimal dos frutos;
- ✓ Avaliar os minerais e vitaminas do complexo B presentes nos frutos;
- ✓ Avaliar os ácidos orgânicos e ácidos graxos dos frutos;
- ✓ Avaliar o conteúdo de substâncias fenólicas totais, taninos e antocianinas totais dos frutos;
- ✓ Avaliar a atividade antioxidante dos frutos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Reagentes e padrões

Glicose, frutose, sacarose, carbonato de sódio anidro, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,4,6-tri (2-piridil)-1,3,5-triazina (TPTZ), 2,2-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), persulfato de potássio, peroxidase, ácido cafeico, ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido tartárico, ácido nicotínico, piridoxina, ácido pantotênico, biotina, tiamina, riboflavina e cianocobalamina, nitroblue tetrazolium (NBT), metassulfato de fenazina (PMS), nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH), sulfanilamida e dicloridrato de n-1-naftiletilenodiamina (NED) foram obtidos da Sigma-Aldrich®. O ácido clorídrico, ácido acético, fosfato de potássio e de sódio monobásico e dibásico foram obtidos da Cromoline®. O reagente folin-ciocalteu foi obtido da Merck® e o etanol 99,5% e acetato de etila foram obtidos da Quimex®. Metanol, ácido fórmico e acetonitrila grau HPLC foram obtidos da J.T.Baker®. Cloreto férrico, ácido fosfórico e acetato de sódio foram obtidos da Dinâmica®. Peróxido de hidrogênio, hidróxido de sódio, nitroprussiato de sódio (NPS), ácido bórico, sulfato de cobre e éter de petróleo e cloreto de potássio foram adquiridos da Neon®. O clorofórmio, sulfato de sódio e o vermelho de fenol foi obtido da Synth®. Ácido málico foi obtido da Supelco®.

3.2. Amostras

3.2.1. Coleta da amostra

As amostras de cambuí-roxo (*E. candolleana* DC) foram coletadas numa propriedade particular, localizada em Domingos Martins, Espírito Santo, Brasil (-19.931572; -40.615278; 688 m). A coleta da fruta foi realizada em dois diferentes estádios de maturação. Foram coletados 7 kg de frutos, que foram transportadas imediatamente para o laboratório do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Vila Velha. A planta foi identificada pela botânica MSc. Solange Schneider, e um espécime foi depositado no herbário da UVV-ES (nº 2621). No laboratório as frutas foram lavadas com água deionizada, reunidas, selecionadas (visualmente) de acordo com o estágio de maturação. Após, foram separadas manualmente em polpa com casca (parte comestível) e semente, totalizando assim quatro amostras: polpa com casca madura (P1), semente madura (S1), polpa com casca semi-madura (P2), semente semi-madura (S2). Metade das amostras foi utilizada para as análises bromatológicas, e a outra parte foi liofilizada

por 2 ciclos de 48h, triturada em moinho de bola, e armazenada a -20°C para posteriores análises.

3.3. Aspectos físicos

Foram escolhidas aleatoriamente 80 unidades de frutas, 40 de cada estágio de maturação, as quais foram medidas largura e o comprimento utilizando um paquímetro. Para obter o peso médio, pesaram-se cada uma das 80 unidades em uma balança semi-analítica.

3.4. Composição centesimal

As amostras frescas foram trituradas em processador de alimentos no dia da coleta para determinação da umidade em estufa com circulação forçada de ar (75°C), até peso constante. Posteriormente, as amostras foram trituradas em moinho de bolas para realização da composição em base seca. O teor de cinzas foi determinado em mufla a 550°C durante 6 h; o teor de proteínas totais foi determinado pelo método de Kjeldahl; gorduras totais foi determinada pelo método de Goldfish; os açúcares totais (glicose + frutose + sacarose) foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (descrito abaixo); e o teor de fibras foi obtido por diferença (100 – (umidade + cinzas + proteínas + gorduras totais + açúcares totais) = fibras). O cálculo das calorias foi realizado utilizando a fórmula: (açúcares totais x 4) + (proteínas x 4) + (gorduras totais x 9) = calorias. Todas as análises foram realizadas em triplicata de acordo com a metodologia descrita pela (AOAC, 2016).

3.5. Determinação de açúcares

A extração foi realizada pesando aproximadamente 1 g de amostra liofilizada em um béquer, adicionando 20 mL de água pura a 80°C, levado ao ultrassom por 10 min, e filtrado em papel filtro. Esse processo foi realizado duas vezes e o volume foi completado com água pura em um balão volumétrico de 50 mL. O extrato de cada amostra foi filtrado em membrana 0,45 µm.

A determinação de frutose, glicose e sacarose foi realizada em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Breeze, Waters) acoplado a um detector de índice de refração (Waters 2414). Os açúcares foram separados em coluna Waters Carbohydrate Analysis (3,9 x 300 mm; 10 µm) em modo de eluição isocrática, de acordo com as instruções do fabricante da coluna. A fase móvel utilizada foi uma solução acetonitrila:água (75:25) na vazão de 1,0 mL/min. A identificação foi feita

por meio dos tempos de retenção e co-cromatografia quando necessário. A quantificação foi realizada por curva de padronização externa com 5 pontos em triplicata (nas concentrações de 1,5; 1,0; 0,75; 0,50; e 0,25 mg/mL) para cada açúcar. As curvas de calibração também foram utilizadas na avaliação da faixa de linearidade. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram calculados pela relação sinal/ruído, onde o LD foi definido como a concentração do analito que produz sinal de três vezes a amplitude do ruído, e seis vezes para o LQ.

3.6. Determinação de minerais

Para digestão das amostras foi utilizado forno micro-ondas Berghoff Speedwave Four (Berghoff Instruments, Eningen, Alemanha) com rotor de 12 tubos e capacidade de 60 mL, potência máxima de 2000 W, limite de pressão e temperatura de 100 bar e 230°C, respectivamente. Foram pesadas 0,5 g das amostras nas barcas dos tubos do micro-ondas. As barcas foram colocadas nos tubos com adição de 2 mL de HNO₃ 70% (v/v) e 0,5 mL de H₂O₂ 30% (v/v). Os tubos permaneceram abertos por 20 minutos para evitar a interrupção do processo devido à pressão. Em seguida, os frascos foram devidamente fechados e encaixados nas posições do rotor. A mistura foi submetida à digestão assistida por radiação micro-ondas. Após arrefecimento, a solução resultante foi transferida quantitativamente para um tubo de polipropileno e o volume aferido com água ultrapura até o volume de 10 mL e, posteriormente, analisado por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). O espectrômetro óptico utilizado neste trabalho foi o iCAP 6000 (Thermo Fisher Scientific, Cambridge, England) com visão radial e axial. O sistema de introdução de amostra foi composto de nebulizador concêntrico acoplado a uma câmara de nebulização ciclônica e bomba peristáltica. As condições de operação do ICP OES para análise foram: Potência de RF de 1200 W, vazão de gás de plasma de 12 L/min, vazão de gás auxiliar de 0,5 L/min, vazão de gás nebulizador de 0,65 L/min, vazão de amostra de 0,6 mL/min com nebulizador concêntrico e câmara de nebulização ciclônica. Todas as amostras foram analisadas em triplicatas. A quantificação foi realizada por curva de padronização externa com 5 pontos em triplicata para cada metal utilizando solução padrão individual (Material de Referencia Certificada).

3.7. Determinação do pH e acidez total titulável

Foram pesadas 5,0 g de frutas frescas homogeneizadas em erlenmeyer de 250 mL e adicionados 100 mL de água ultrapura e homogeneizadas novamente

em ultraturrax (5000 rpm) por um minuto. A leitura do pH foi realizada diretamente em pHmetro. Para a determinação da acidez titulável, a mesma amostra foi titulada com solução de hidróxido de sódio 0,1 M sob agitação constante até pH = 8,2-8,4, usando pHmetro como indicador. A acidez foi calculada pela seguinte equação expressa em g de ácido cítrico: $Acidez\ total\ (g/100\ g) = (V \times f \times M \times 192) / (10 \times P \times n)$, onde V = volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação em mL; f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio; M = molaridade da solução de hidróxido de sódio; 192 = peso molecular do ácido cítrico; P = massa da amostra em g; n = número de hidrogênios ionizáveis do ácido cítrico (IAL, 2008). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.8. *Determinação de ácidos orgânicos*

A extração foi realizada pesando-se aproximadamente 1 g de amostra liofilizada em balão volumétrico de 50 mL avolumado com fase móvel, mantidas por 15 minutos em banho de ultrassom (ELMA®, Elmasonic P 60 H, f: 50/60 Hz) e posteriormente filtradas em papel filtro, e em membrana 0,45 µm. A determinação dos ácidos tartárico, málico, ascórbico e cítrico foi realizada em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Breeze, Waters) acoplado a um detector UV (Waters 2489). Os ácidos foram separados em coluna Agilent Eclipse C18 (150 x 4.6 mm; 5 µm) em modo de eluição isocrática. A fase móvel utilizada foi uma solução aquosa de KH₂PO₄ 0,01 M, com pH ajustado para 2,6 com ácido fosfórico na vazão de 0,5 mL/min. A identificação foi feita por meio dos tempos de retenção e co-cromatografia quando necessário. O volume de injeção foi de 20 µL e a detecção em detector UV ajustado a 250 nm para ácido ascórbico e a 210 nm para os demais ácidos. A quantificação foi realizada por curva de padronização externa com 5 pontos para cada ácido orgânico. As maiores concentrações dos padrões para elaboração das curvas foram 0,25; 0,5; 0,05 e 0,5 mg/mL para os ácidos tartárico, málico, ascórbico e cítrico, respectivamente, os outros pontos foram obtidos pela diluição em série com fase móvel. As curvas de calibração também foram utilizadas na avaliação da faixa de linearidade. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram calculados pela relação sinal/ruído, onde o LD foi definido como a concentração do analito que produz sinal de três vezes a amplitude do ruído, e seis vezes para o LQ (Scherer, Rybka, & Godoy, 2008).

3.9. *Determinação de vitaminas do Complexo B por LC-ESI-MS/MS*

500 mg de amostra liofilizada foram extraídos com 10mL de solução etanol/água 1:1 (v:v) com 0,2 mM HCl em um banho de ultrassom (50/60 Hz) por 10 minutos. Depois, as amostras foram centrifugadas por 1 minuto em 12,000 rpm, e 1 mL da solução foi diluído com 1 mL de água e transferido para um vial de 2 mL para a análise em LC/MS/MS. As análises foram realizadas segundo Riches, (2009) em um cromatógrafo líquido Acquity UPLC I-Class (Waters Corporation, Milford, MA, EUA) acoplado a um detector de massas tandem Xevo TQ-S micro (Waters Corporation, Milford, MA, EUA) com ionização por electrospray (LC-ESI-MS/MS) no modo positivo $[M + H]^+$. Foi utilizada coluna Acquity UPLC BEH C18 (100 mm x 2.1 mm; 1.7 μ m; Waters Corporation, Milford, MA, US) a 45°C. A fase móvel consistiu de uma solução aquosa de ácido fórmico (0,1%) (A) e acetonitrila (B) usando uma eluição gradiente a 0,4 mL / min, começando com 1% B de 0 a 2 min, 1-55% B em 2-3 min, 55-99% B em 3.0-3.1min, 99% B em 3.1-4.0 min, 99-1% B em 4.0-4.1 e 1% B de 4.0 a 5.0 min para condicionamento de coluna para a próxima injeção. Os parâmetros da fonte de íons ESI foram tensão capilar de 3,0 kV, tensão de cubeta como otimizada para cada composto, temperatura de fonte 130°C, temperatura de dessolvatação e vazão de 650°C e 1200 L/h, respectivamente. As amostras foram diluídas com etanol HPLC (0,01 mg/mL) e filtradas (0,45 μ m). A detecção foi realizada em modo SRM (Monitoring Reaction Seleccionado) com transições monitoradas conforme Tabela 1. A quantificação foi realizada pela curva de calibração externa com 7 pontos.

Tabela 1. Parâmetros de otimização das vitaminas para quantificação e confirmação.

Vitaminas	CAS nº	MW	Q1	Q3	Energia de colisão (eV)
Ácido Nicotínico (B3)	59-67-6	123.1	124.0	80.0	18
Piridoxina (B6)	65-23-6	169.2	170.1	152.1	11
Ácido Pantatênico	137-08-6	219.2	220.1	90.1	12
Biotina (B7)	58-85-5	244.3	245.1	227.1	12
Tiamina (B1)	70-16-6	265.3	265.1	122.1	17
Riboflavina (B2)	83-88-5	376.3	377.2	243.2	22
Cianocobalamina (B12)	68-19-9	1355.3	678.5	147.2	34

3.10. Perfil de ácidos graxos

A extração dos lipídeos das sementes e das polpas com casca de cambuí-roxo foi realizada segundo a metodologia descrita por Bligh & Dyer, (1959). Para isso, foram pesadas alíquotas de 2,5 g das amostras de sementes liofilizadas e trituradas, e alíquotas de 5,0 g para as polpas com casca liofilizadas e trituradas. As amostras foram acondicionadas em balões de vidro de fundo chato (250 mL) e sobre cada amostra foram adicionados 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água milli-Q (razão 1:2:0,8). A mistura foi mantida sob agitação por 30 minutos a 900 rpm e, em seguida, adicionou-se mais 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução aquosa 1,5% de Na₂SO₄ seguido de agitação por mais 2 minutos a 900 rpm. A mistura foi então filtrada em papel de filtro para um funil de separação de 250 mL. A fase orgânica contendo os lipídeos foi recolhida e o solvente foi removido sob vácuo em um evaporador rotativo. O teor de lipídeos das amostras foi determinado por gravimetria. Para se conhecer o perfil de ácidos graxos dos lipídeos extraídos, foi empregado o método descrito por Joseph & Ackman, (1992), que se baseia na derivatização dos ácidos graxos das amostras em ésteres metílicos de ácidos graxos pelo uso de trifluoreto de boro (12%) em metanol. Os ésteres metílicos dos ácidos graxos obtidos foram analisados em um cromatógrafo a gás, (Shimadzu modelo GC-2014, Kyoto, Japão) acoplado a um detector de ionização em chama (FID), dotado de uma coluna capilar HP-INNOWAX (50 m x 0,20 mm d.i. x 0,20 µm) (Agilent, Santa Clara, USA) sob as seguintes condições cromatográficas: injetor a 250 °C, operando em modo split 1:10 por 1,0 min; gás de arraste nitrogênio a 1,25 mL/min; temperatura do detector: 260 °C; rampa de temperatura do forno: iniciando a 150 °C, com incremento de 10 °C/min até 260 °C mantendo essa temperatura por 9 min. Uma solução de ésteres metílicos de ácidos graxos (GLC-85, Nu-Check-Prep, Elysian, USA) foi injetada no GC-FID sob as mesmas condições da amostra, com a finalidade de identificar os compostos presentes na amostra. A quantificação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos foi realizada pelo método do padrão interno utilizando-se tricosanoato de metila (C23:0Me, Nu-Check-Prep, Elysian, USA) conforme descreve (Visentainer, 2012). As análises foram realizadas em triplicata.

3.11. Preparação dos extratos de cambuí-Roxo

A extração foi realizada utilizando 20 g de material liofilizado para 200 mL de etanol absoluto pelo método de maceração assistida por ultrassom a 80 Hz (Elma; Elmasonic P 60H). Após 2 ciclos de 30 minutos, os extratos foram filtrados

em papel filtro. Esse processo foi repetido duas vezes. As frações orgânicas foram reunidas e evaporadas através de rota evaporador (Fisatom® 802 – 1200W) até remoção do etanol (Guss et al., 2017).

3.12. *Determinação das substâncias fenólicas totais e taninos*

O procedimento foi realizado de acordo com metodologia descrita por Krepsky et al., (2012), com adaptações. Para as análises foram pesados 60 mg dos extratos e solubilizados com 2 mL de água + 3 mL de etanol. Adicionou-se 150 mL de água isenta de gás carbônico e a solução foi mantida em banho-maria a 60°C com refluxo por 30 minutos. Após resfriamento, essa solução foi transferida para balão volumétrico de 250 mL, o volume foi completado com água isenta de gás carbônico, e todo o conteúdo do balão foi filtrado, sendo denominada solução A (polifenóis totais). Para determinação de taninos, 20 mL da solução A foi transferida para erlenmeyer, protegido da luz, com 200 mg de Polivinilpirrolidona e agitado por 60 minutos. Após esse tempo a solução foi filtrada e denominada de solução B (polifenóis não-adsorvidos). Para as quantificações, 25 µL da solução amostra, A ou B, foram transferidos para microplaca de 96 poços, juntamente com 10 µL de reagente de folin-ciocalteu (10%) e 215 µL de carbonato de sódio (10,6% p/v). Decorridos três minutos a leitura foi realizada em leitor de microplaca no comprimento de onda de 715 nm, também utilizando como branco a água. Como padrão foi utilizado curva analítica com ácido gálico (0,625 - 15 µg/mL), sendo cada ponto analisado em triplicata e em três dias diferentes.

3.13. *Conteúdo total de antocianinas monoméricas*

O total de antocianinas foi determinado usando o método de pH diferencial, conforme descrito por Giusti & Wrolstad, (2001). Foram preparadas soluções de 5 mg/mL das amostras em dois tampões diferentes (cloreto de potássio e acetato de sódio). A absorbância dos extratos preparados foi monitorada de acordo com a equação 1: $A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH1.0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH4.5}$. A concentração (mg/g de extrato) de antocianinas foi expressa em cianidina-3-glicosídeo e calculada usando a equação 2: $(A \times MW \times DF \times 1000) / (\epsilon \times L)$; onde A é obtido na equação 1, MW é o peso molecular para cianidina-3glicosídeo, DF é o fator de diluição, ϵ é absortividade molar (26,900), e L é o caminho ótico (1 cm).

3.14. *Atividade antioxidante*

3.14.1. *Sequestro do radical livre DPPH*

A atividade antioxidante das amostras foi determinada pelo método DPPH, segundo Scherer & Godoy, (2009). Em microplacas de 96 poços foram adicionados 270 µl de DPPH e 30 µL de cada concentração dos compostos. O branco foi 30 µl de etanol 50%. A leitura foi realizada a 517 nm utilizando um leitor de microplacas (SpectraMax 190 Microplate Reader, Molecular Devices, Califórnia, EUA). A atividade sequestrante de radicais foi calculada como se segue: $I (\%) = [(Abs0 - Abs1) / AbsO] \times 100$, em que Abs0 era a absorbância do branco e Abs1 era a absorbância na presença do composto de teste a diferentes concentrações. Os resultados foram expressos como IR50 (concentração da amostra capaz de reduzir de 50% de radicais livres), calculada pela equação linear obtida a partir da curva de calibração (concentração final µg / mL vs I%). A atividade antioxidante dos extratos foi comparada ao ácido cafeico.

3.14.2. Sequestro do radical livre ABTS

A atividade antioxidante foi determinada de acordo com Re et al., (1999) com modificações. O cátion radical ABTS (ABTS^{•+}) foi formado por reação de 7,0 mM de ABTS (em água deionizada) com persulfato de potássio a 2,45 mM (em água deionizada). Este reagente foi armazenado sob refrigeração por pelo menos 24 h. Antes da utilização, o reagente foi diluído com etanol 50% até à absorbância de 1,1 ($\pm 0,02$) a 734 nm. Em microplacas de 96 poços foram adicionados 270 µl ABTS^{•+} e 30 µL de cada concentração dos compostos. O branco foi 30 µl de etanol 50%. A leitura foi realizada a 734 nm utilizando um leitor de microplacas (SpectraMax 190 Microplate Reader, Molecular Devices, Califórnia, EUA). A atividade sequestrante de radicais foi calculada como se segue: $I (\%) = [(Abs0 - Abs1) / AbsO] \times 100$, em que Abs0 era a absorbância do branco e Abs1 é a absorbância na presença do composto de teste a diferentes concentrações. Os resultados foram expressos como IR50 (concentração da amostra capaz de reduzir de 50% de radicais livres), calculada pela equação linear obtida a partir da curva de calibração (concentração final µg / mL vs I%). A atividade antioxidante dos extratos foi comparada ao ácido cafeico.

3.14.3. Ensaio do FRAP

A atividade antioxidante foi realizada utilizando o método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) de acordo com Benzie, Iris F. F., Strain, (1996), modificado. O reagente FRAP foi preparado misturando 25 mL de acetato de sódio tri-hidratado (0,3 M, pH 3,6), 2,5 mL de solução TPTZ (10 mM / L) em HCl 40 mM e

2,5 mL de cloreto férrico aquoso (20 mM), que foi usado imediatamente após a preparação. Uma alíquota de 30 µL de solução de teste foi adicionada em microplaca de 96 poços juntamente com 270 de reagente FRAP. No branco foi adicionado 30 µL de etanol. Após 10 minutos de reação, a leitura foi realizada a 595 nm utilizando um leitor de microplacas (SpectraMax 190 Microplate Reader, Molecular Devices, Califórnia, EUA). A atividade antioxidante foi calculada da seguinte forma: $I (\%) = (ABS1 - Abs0) \times 100$. Onde Abs0 é o branco e ABS1 é a absorbância do extrato testado. Os resultados foram expressos como IR50 (concentração da amostra capaz de reduzir de 50% de radicais livres), calculada pela equação linear obtida a partir da curva de calibração (concentração final µg / mL vs I%). A atividade antioxidante dos extratos foi comparada ao ácido cafeico.

3.14.4. Superóxido

O método do sequestro do radical superóxido também foi empregado para avaliar a atividade antioxidante das amostras utilizando a concentração de 1000 µg/mL (Suzumura, Yasuhara, & Narita, 1999). A preparação da microplaca de 96 poços consistiu na adição de 40 µL do extrato, 40 µL de nitroblue tetrazolium (NBT), 10 µL de metassulfato de fenazina (PMS), solução tampão pH 7,4 e por fim, para a formação do radical superóxido, foi adicionado 10 µL de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH). A reação foi mantida por 10 minutos no escuro e a leitura realizada a 560 nm. O controle da reação ocorreu na ausência da amostra e todo o experimento foi conduzido em triplicata. O índice de redução percentual (%) do radical superóxido foi calculado através da equação: $IR(\%) = [(AbsC - AbsT)/AbsC] \times 100$, onde, AbsC é a absorbância média do controle e AbsT é a absorbância do teste. A atividade antioxidante dos extratos foi comparada com o ácido cafeico.

3.15. Análise estatística

Os resultados foram analisados pela análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey para determinar diferença significativa entre as médias ($P < 0.05$), para isso foi utilizado o programa Biostat 5.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Aspectos físicos

Os frutos maduros (n=40) apresentaram dimensões de $2,47 \pm 0,36$ cm de diâmetro, $3,29 \pm 0,58$ cm de comprimento, e peso médio (incluindo semente) de $9,88 \pm 1,53$ g. Os frutos apresentam uma casca fina de coloração preta facilmente retirada da fruta, a polpa é bem espessa, macia, adstringente, doce e de coloração roxa, e possui uma semente verde facilmente retirada do fruto. Já os frutos semi-maduros (n=40) tiveram $2,27 \pm 0,32$ cm de diâmetro, $3,17 \pm 0,59$ cm de comprimento, e peso médio de $7,75 \pm 1,28$ g. A casca fina e de coloração preta estava mais aderida a fruta, e possui um aspecto rugoso. A polpa apresentava-se mais firme, adstringente, levemente ácida, de coloração amarelada, possui uma semente verde facilmente retirada do fruto (Figura 1). Sendo assim, pode-se considerar que uma porção de 100 g de fruta é composta por 10 unidades da madura e 13 unidades da semi-madura.

Com o despulpamento das frutas a madura apresentou um rendimento de 90,5% de polpa com casca e 9,5% de semente, já na fruta semi-madura o observado foi 87,7% de polpa com casca e 12,3% de semente.



Figura 1 – Fruto de cambuí-roxo. Fonte: acervo pessoal.

4.2. Composição centesimal

Devido a vasta biodiversidade brasileira, ainda existem muitas frutas que são desconhecidas, ou apresentam poucos estudos científicos, principalmente das partes tradicionalmente não comestíveis, como as sementes. Informações sobre a composição nutricional dessas frutas contribuem para evitar o desperdício de nutrientes, incentivar a inclusão dessas partes não tradicionais da fruta para consumo humano através de um suplemento, por exemplo, contribuindo para melhorar o estado nutricional da população e diminuir o acúmulo de resíduos orgânicos (Gondim, Moura, Dantas, Medeiros, & Santos, 2005).

Os resultados da composição centesimal dos frutos de cambuí-roxo (*Eugenia candolleana*) estão apresentados na Tabela 2. No geral, a fruta apresentou baixa caloria (de 36,65 a 44,80 kcal/100g de fruta fresca), representando aproximadamente 2% da recomendação diária de calorias para uma pessoa adulta saudável (2000 kcal). Semelhante à pitanga (*Eugenia uniflora*) que tem 67,6 kcal em 100 g, o que corresponde a 3,4% (Bagetti et al., 2011).

A P1 apresentou quantidade significativamente maior de açúcares totais (9,52g/100g) que a P2 (7,44g/100g), o que era esperado, pois a P1 é a fruta no seu estágio mais maduro, onde há o acúmulo de açúcares livres (Ferrer-Gallego, García-Marino, Miguel Hernández-Hierro, Rivas-Gonzalo, & Teresa Escribano-Bailón, 2010), sendo confirmado pela presença significativamente maior de frutose e glicose e a ausência de sacarose. Teixeira et al., (2015) também encontraram na grumixama (*Eugenia brasilienses*) a presença de açúcares livres e ausência de sacarose. A pitanga (*E. uniflora*) apresentou teor de açúcares totais maior que o cambuí-roxo (14,8g/100g) (Bagetti, 2011). Fan et al., (2017) concluíram que açúcares como a frutose são os principais contribuintes para doçura, e ainda para a qualidade sensorial e satisfação do consumidor.

Com relação à quantidade de fibras, as polpas da fruta demonstraram ser boas fontes, pois apresentaram 5,49 e 4,20 g/100g, P1 e P2 respectivamente, o que corresponde a aproximadamente 17% da recomendação diária (30 g). A Grumixama (*E. brasilienses*) também é uma fruta fonte de fibras com 4,65g/100g (15%). O papel da fibra na saúde se estende muito além da melhora do funcionamento intestinal, inclui também redução dos fatores de risco para doenças cardiovasculares, controle de peso e função imunológica (Slavin, 2013).

Tabela 2 – Composição centesimal dos frutos de cambuí-roxo (*Eugenia candolleana*).

Componente	P1	P2	S1	S2	Pitanga*	Grumixama**
	(g/100 g FF)	(g/100 g FF)	(g/100 g FF)	(g/100 g FF)	(g/100 g FF)	(g/100 g FF)
Kcal (kcal/100 g)	44,80 ± 1,32a	38,62 ± 4,03a	42,59 ± 1,80a	36,65 ± 2,28b	67,60	16,9
Açúcares Totais	9,52 ± 0,27a	7,44 ± 0,96b	1,82 ± 0,13c	1,74 ± 0,45c	14,8 ± 0,40	2,98 ± 0,10
Frutose	4,82 ± 0,17a	3,33 ± 0,44b	0,26 ± 0,01c	0,17 ± 0,02c	-	2,85 ± 0,10
Glicose	4,69 ± 0,10a	3,34 ± 0,44b	0,33 ± 0,02c	0,30 ± 0,03c	-	0,13 ± 0,00
Sacarose	ND	0,77 ± 0,09b	1,23 ± 0,13a	1,26 ± 0,43a	-	ND
Proteínas	0,94 ± 0,07c	1,01 ± 0,08c	4,25 ± 0,32a	3,74 ± 0,14b	1,2 ± 0,50	0,66 ± 0,01
Lipídios	0,33 ± 0,01d	0,54 ± 0,01c	2,03 ± 0,04a	1,64 ± 0,09b	0,4 ± 0,00	0,26 ± 0,01
Fibras Totais	5,49 ± 0,34b	4,20 ± 1,02b	40,85 ± 0,73a	41,46 ± 0,68a	-	4,65 ± 0,24
Σ Cinzas	0,46 ± 0,01b	0,46 ± 0,02b	0,83 ± 0,07a	0,86 ± 0,10a	2,4 ± 0,10	0,56 ± 0,01
Umidade	83,26 ± 0,1b	86,36 ± 0,03a	50,22 ± 0,34c	50,56 ± 0,25c	81,2 ± 0,00	84,80 ± 0,18

Letras minúsculas diferentes na mesma linha representam diferenças significativas entre as amostras (p <0,05).

FF – Fruta Fresca.

ND – Não detectado.

*Resultados da polpa com casca da pitanga (*Eugenia uniflora*) (Bagetti et al., 2011)

** Resultados da polpa com casca da grumixama (*Eugenia brasiliensis*) (Teixeira et al., 2015)

As sementes também apresentaram altas quantidades de fibras, superior até mesmo a recomendação diária (30 g) (Tabela 2), podendo ser explorada em um estudo futuro sobre os tipos de fibras presente. Além disso, foram encontrados teores de açúcares e lipídios abaixo de 3g/100g nas sementes.

Em relação às proteínas e aos lipídios, as polpas apresentaram quantidades abaixo de 5g/100g. Já as sementes apresentaram quantidade de proteínas (S1: 4,25g/100g; S2: 3,74g/100g) correspondente a 7% da recomendação diária, um estudo posterior avaliando a biodisponibilidade dessa proteína, poderia direcionar essa semente a produção de um suplemento alimentar, por exemplo.

Na análise de cinzas as sementes apresentaram valores significativamente maiores que as polpas, já a maturação não influenciou nos teores encontrados em ambas as partes da fruta (Tabela 2). Bagetti (2011) encontrou um teor de cinzas maior na pitanga, 2,4 g/100g.

Em relação à umidade, os maiores teores foram encontrados nas polpas, sendo a P2 com o teor significativamente maior, considerando que na maioria das análises centesimais as polpas não apresentaram diferenças significativas entre si, esses valores de umidade possivelmente estão relacionados com o maior teor de açúcares que a P1 apresentou. Esses teores são semelhantes aos da pitanga (*Eugenia uniflora*) com 81,20 g/100g e da grumixama (*Eugenia brasilienses*) com 84,80 g/100g (Infante et al., 2016; Teixeira et al., 2015).

4.3. Composição mineral

O consumo adequado minerais é essencial para o funcionamento correto do corpo humano, sendo assim, existem valores de referência para sua ingestão (Padovani, Amaya-Farfán, Colugnati, & Domene, 2006). As *Dietary Reference Intake* (DRI's), ou em português recomendação diária de ingestão (RDI's) são parâmetros utilizados para estipular os níveis de nutrientes que atendem às necessidades humanas da maioria dos indivíduos saudáveis (Padovani et al., 2006).

Para uma melhor análise da composição da fruta, foi adotado uma classificação de alimento-fonte (que contém mais de 5% do valor da DRI em uma porção), alimento boa-fonte (que contém entre 10% e 20% do valor da DRI em uma porção) e alimento excelente-fonte (que contém mais de 20% do valor da DRI em uma porção) (Philippi, 2008).

A Tabela 3 mostra o conteúdo mineral das amostras de fruto de cambuí-roxo, que em geral, a semente pode ser considerada fonte de minerais. O cálcio foi

encontrado somente na fruta semi-madura, polpa e semente, porém em quantidades que não podem os classificar como fontes (< 5% da RDI). Entretanto, se considerarmos o valor de cálcio na farinha de semente, esse valor duplica em função do teor de água, e dessa forma se tornando uma fonte de cálcio (74,42mg/100g de matéria seca – 7,4% da DRI). Estudos futuros podem avaliar a viabilidade da produção de uma farinha como suplemento alimentar, lembrando que ainda se faz necessário verificar sua biodisponibilidade. O cálcio é depositado principalmente nos ossos e dentes, onde fornece estrutura e resistência mecânica. Assim como também é essencial para a funcionalidade adequada dos sistemas circulatório e neuromuscular, atuando como cofator de vários hormônios e enzimas e influencia o sistema imunológico (Walters, 2003).

Tabela 3 – Composição mineral dos frutos de cambuí-roxo (*Eugenia candolleana*)

Minerais	RDI (mg/dia)*	P1	P2	S1	S2
Cálcio total	1000,0	< 0,5	8,66	< 0,5	37,63
Cobre total	0,90	0,04	0,04	0,30	0,36
Ferro total	8,00 – 11,0	0,12	0,17	1,56	1,36
Fósforo total	700,0	9,63	12,66	68,45	72,28
Magnésio total	320,0 – 420,0	3,98	6,89	12,34	20,27
Manganês total	1,80 – 2,30	0,04	0,07	0,13	0,22
Molibdênio total	0,045	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Potássio total	4700,0	79,01	107,75	288,55	288,23
Selênio total	0,055	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Sódio total	1500,0	< 0,5	< 0,5	< 0,5	4,15
Zinco total	8,00 – 11,0	0,09	0,13	0,59	0,72

Resultados expressos em mg/100 g de fruta fresca.

*Recomendações diárias para homens e mulheres saudáveis adultos de 19 a 70 anos (Padovani et al., 2006).

As amostras de semente podem ser consideradas excelentes fontes de cobre, sendo que a S1 contribui com 32,9% da recomendação diária de ingestão e a S2 com 40,4%. O cobre é um micronutriente essencial necessário para processos biológicos fundamentais em todos os organismos. Tem a capacidade de doar e aceitar elétrons para alternar entre os estados reduzido e oxidado. Esta propriedade permite que desempenhe um papel importante em reações de oxi-redução, atuando como um cofator catalítico para a função de inúmeras enzimas (Arredondo & Núñez, 2005).

Em relação ao ferro, mais uma vez as sementes apresentaram teores que as classificam como boa-fonte (12,4 a 19,5% da RDI) desse mineral (Tabela 3). O ferro desempenha funções celulares importantes, como o transporte de oxigênio, síntese de DNA, produção de energia e proliferação de células. É mediador da transferência de elétrons atuando como um doador de elétrons no estado ferroso e um acceptor no estado férrico (Camaschella, 2015). Mesmo que o ferro presente nos vegetais não seja igualmente biodisponível como o ferro de alimentos de origem animal (Gibson, 2007), a semente da fruta pode ser incluída na alimentação da população como uma estratégia de suplementação economicamente mais viável, em forma de farinha, por exemplo, que dobraria esses teores de ferro (S1 - 3,11 mg/100g de matéria seca – 38,9%; S2 – 2,70 mg/100g de matéria seca – 33,7%).

O fósforo é um elemento abundante no corpo humano que desempenha importantes funções em vários processos fisiológicos. Sinalização celular, síntese de ácidos nucleicos, atividades neurológicas, transporte de eletrólitos, mineralização óssea, geração normal de glóbulos brancos e vermelhos, são alguns exemplos (Shaman & Kowalski, 2016). As sementes podem ser consideradas fontes de fósforo.

As sementes apresentaram teores de manganês que classificam essas amostras como fonte desse mineral essencial para funções imunológicas adequadas, crescimento ósseo, coagulação sanguínea e defesa contra espécies reativas de oxigênio (Aschner & Keith, 2017). Não foram encontrados teores significativos de molibdênio, selênio e sódio em nenhuma das amostras. Dessa forma, o cambuí-roxo não precisa ser excluído da alimentação de pessoas que necessitam de restrição dietética de Na, podendo contribuir para a melhora da qualidade nutricional da dieta dessas pessoas.

4.4. Acidez titulável, pH e composição de ácidos orgânicos

Os ácidos tartárico e málico foram encontrados somente nas amostras de sementes (Tabela 4), variando de 620 a 780 mg/100g de FF, enquanto o ácido ascórbico (vitamina C) foi encontrado somente nas amostras de polpas, porém em quantidades que não causam impactos na recomendação diária de ingestão. Já o ácido cítrico foi encontrado em todas as amostras, com teores que variaram entre 1000 a 2030 mg/100g de FF.

Na análise de pH, os frutos de cambuí-roxo apresentaram valores de $3,70 \pm 0,17$ e $3,25 \pm 0,02$, para P1 e P2 respectivamente, e a acidez total titulável de $1,21 \pm 0,16$ e $2,07 \pm 0,03$ g/100 g de fruta fresca (Tabela 4), expressos em ácido cítrico, em razão de ser o ácido predominante na fruta. Esses valores foram semelhantes aos da pitanga roxa (*E. uniflora*): pH 3,38 e acidez $1,87 \pm 0,1$ g/100 g (Bagetti et al., 2011).

O conteúdo e tipos de ácidos orgânicos e açúcares solúveis estão correlacionados com a qualidade e sabor da fruta, que inclui doçura e acidez, características sensoriais que determinam a preferência dos consumidores (Mikulic-petkovsek, Ivancic, Schmitzer, Veberic, & Stampar, 2016). Além disso, os ácidos orgânicos podem ser utilizados na indústria alimentícia na fabricação de bebidas à base de frutas, sendo os principais ácidos utilizados para realçar sabores da bebida os ácidos cítrico e tartárico. O ácido cítrico também é utilizado como acidulante em sucos de fruta, para aumentar a estabilidade microbiana a longo prazo e por consequência, aumentar o tempo de prateleira (Shui & Leong, 2002). Considerando os resultados obtidos, o uso da fruta cambuí-roxo pela indústria pode ser avaliado.

4.5. Composição de vitaminas do complexo B

As vitaminas do complexo B são essenciais para o desempenho e atividade metabólica do corpo humano, porém o organismo humano é incapaz de sintetizar a maioria dessas vitaminas que, conseqüentemente, têm que ser obtidas através da alimentação (Thakur, Tomar, Singh, Mandal, & Arora, 2017).

Tabela 4 – Ácidos orgânicos e vitaminas do complexo B dos frutos de cambuí-roxo (*Eugenia candolleana*).

Vitaminas / Ácidos Orgânicos *	P1	RDI (%)	P2	RDI (%)	S1	RDI (%)	S2	RDI (%)
Acidez titulável	1,21 ± 0,16	-	2,07 ± 0,03	-	-	-	-	-
pH	3,70 ± 0,17	-	3,25 ± 0,02	-	-	-	-	-
Ácido tartárico	ND	-	ND	-	660 ± 0,07	-	660 ± 0,13	-
Ácido málico	ND	-	ND	-	620 ± 0,02	-	780 ± 0,12	-
Ácido ascórbico (Vit. C)	3,0 ± 0,001	< 0,5	3,0 ± 0,001	< 0,5	ND	-	ND	-
Ácido cítrico	1000 ± 0,19	-	1140 ± 0,02	-	2030 ± 0,13	-	1960 ± 0,28	-
Tiamina (B1)	6,54 ± 0,58	0,5	5,43 ± 0,33	0,5	33,04 ± 4,03	2,8	28,79 ± 4,87	2,4
Riboflavina (B2)	68,27 ± 5,05	5,3	28,89 ± 0,96	2,2	23,80 ± 2,01	1,8	14,68 ± 0,41	1,1
Nicotinic acid (B3)	ND	-	ND	-	ND	-	ND	-
Ácido Pantotênico (B5)	1,16 ± 0,05	0	1,05 ± 0,03	0	53,39 ± 0,19	1,1	43,31 ± 0,03	0,9
Piridoxina (B6)	0,21 ± 0,03	0	0,12 ± 0,03	0	2,22 ± 0,20	0,2	2,36 ± 0,13	0,2
Biotina (B7)	0,07 ± 0,00	0,1	0,04 ± 0,00	0,1	0,25 ± 0,01	0,8	0,20 ± 0,01	0,7
Cianocobalamina (B12)	ND	-	0,02 ± 0,01	0,9	ND	-	0,06 ± 0,00	2,6

*Resultados expressos em:

Acidez titulável: g de ácido cítrico/100g de FF (Fruta Fresca)

Ácidos Orgânicos: mg/100g de FF (Fruta Fresca)

Vitaminas: µg/100g de FF (Fruta Fresca)

ND – Não Detectado

A P1 pode ser considerada fonte de riboflavina (5,3% DRI) (Tabela 4), valor superior aos encontrados na cereja do rio-grande (*E. involucrata* - 15,07 µg/100g de fruta fresca), na Pitanga (*E. uniflora* - 24,74 µg/100g de fruta fresca) e na Uvaia (*Eugenia pyriformis Cambess* - 2,9 µg/100g de fruta fresca) (Schmidt et al., 2018). A riboflavina tem sido relacionada à prevenção do estresse oxidativo, além de várias doenças como enxaqueca, anemia, câncer, hipertensão, diabetes mellitus, por mecanismos diretos ou indiretos (Thakur et al., 2017). As outras amostras não apresentaram teores que influenciasssem significativamente nas RDI's de vitaminas B (Tabela 4).

4.6. Composição de ácidos graxos

Os ácidos graxos predominantes em todas as amostras de cambuí-roxo foram o linoleico (C18:2 n-6), seguido dos ácidos palmítico (C16:0) nas polpas e oleico (C18:1 n-9) nas sementes (Tabela 5), similar ao reportado em amostras de pitanga (*E. uniflora*), onde o ácido palmítico (C16:0), seguidos dos ácidos oléico (C18:1 n-9) e linoléico (C18:2 n-6), foram os predominantes (Bagetti et al., 2011).

Os frutos de cambuí-roxo apresentaram alta proporção de ácidos graxos insaturados (59,4-70,9%) em relação aos saturados (29,1-40,6%). Enquanto os frutos de pitanga (*E. uniflora*) apresentaram de 49 a 56% de ácidos graxos insaturados e de 44 a 51% de saturados (Bagetti et al., 2011). O ácido linolênico (C18:3 n-3) foi encontrado em maior proporção nas sementes, assim como o esteárico (C18:0). Enquanto os ácidos gadoleico (C20:1 n-9) e docosanoico (C22:0) foram encontrados em proporções menores em todas as amostras.

Os ácidos linoleico e linolênico são essenciais para os seres humanos. O ômega 6 aumenta a produção de citocinas com ação vasoconstritora e que promovem agregação plaquetária, ou seja, possui ação pró-inflamatória, que está relacionado a ocorrência de doenças cardiovasculares, auto imunes e inflamatórias como a artrite, asma, psoríase, lúpus e colite ulcerativa. Já o ômega 3 possui ação antagônica, anti-inflamatória, promovendo vasodilatação e inibição de agregação plaquetária, estando relacionado à prevenção de hipertensão, aterosclerose, hipercolesterolemia, artrites e outras doenças auto-imunes e inflamatórias, bem como os mais diversos câncer. Sendo assim recomenda-se uma alimentação com a uma relação ômega 6/ômega 3 entre 5:1 e 8:1 (Martin et al., 2006; Simopoulos, 2002). Considerando que as polpas e sementes de cambuí-roxo apresentaram uma relação ácidos graxos ômega 6/ômega 3 de 6:1, 5:1, 2:1 e 2:1 para P1, P2, S1 e S2

respectivamente, pode indicar que os frutos de *E. candolleana* proporcionam uma melhor escolha do ponto de vista nutricional.

Tabela 5 – Composição de ácidos graxos dos frutos de cambuí-roxo (*Eugenia candolleana*).

Ácido Graxo		P1	P2	S1	S2
Ácido palmítico	C16:0	45,96 ± 1,14	32,54 ± 0,28	189,08 ± 4,08	227,12 ± 5,19
Ácido esteárico	C18:0	19,48 ± 0,82	16,15 ± 0,33	60,75 ± 2,55	68,04 ± 3,80
Ácido oléico	C18:1 n-9	21,80 ± 0,52	15,54 ± 0,87	239,83 ± 5,21	296,72 ± 2,59
Ácido Linoléico	C18:2 n-6	85,03 ± 3,29	55,29 ± 0,87	270,35 ± 2,86	342,20 ± 4,93
Ácido linolênico	C18:3 n-3	12,72 ± 0,68	9,23 ± 0,26	106,69 ± 3,98	137,73 ± 1,47
Ácido araquídico	C20:0	5,74 ± 0,48	4,79 ± 0,07	26,75 ± 0,41	27,15 ± 1,12
Ácido gadoléico	C20:1 n-9	1,43 ± 0,06	1,10 ± 0,03	24,91 ± 1,33	36,74 ± 6,48
Ácido docosanóico	C22:0	2,93 ± 0,18	1,88 ± 4,39	10,92 ± 0,51	11,93 ± 0,61
Total	mg/100g	195,09	136,52	929,29	1147,64
Total Saturados	mg/100g	74,11	55,36	287,51	334,25
	%	38,0	40,6	30,9	29,1
Total Insaturados	mg/100g	120,98	81,16	641,78	813,39
	%	62,0	59,4	69,1	70,9

Resultados expressos em mg/100 g de fruta fresca.

4.7. Composição fenólica e atividade antioxidante

Na análise de fenólicos totais as sementes apresentaram teores significativamente maiores que as polpas (Tabela 6). Valores similares foram reportados em estudo prévio que analisou diferentes espécies do gênero *Eugenia*. Em polpas de *E. leitonii*, *E. involucrata*, *E. brasiliensis*, e *E. myrcianthes*, valores entre 15,18 e 26,69 mg/g foram encontrados (Infante et al., 2016). Teixeira et al., (2015) também encontraram um teor de fenólicos maior nas sementes do que na polpa de *E. brasilienses* (Semente: 2,51 g/100 g de fruta fresca; Polpa: 0,18 g/100 g de fruta fresca). Os compostos fenólicos influenciam na qualidade dos frutos, contribuindo para suas propriedades sensoriais, assim como tem sido associada a

efeitos farmacológicos relevantes, como capacidade antimicrobiana e antioxidante (Ribeiro et al., 2015; Scalzo, Politi, Pellegrini, Mezzetti, & Battino, 2005). Seus efeitos antioxidantes têm sido atribuídos, principalmente, às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante no processo oxidativo, pois atuam na neutralização de espécies reativas de oxigênio ou sequestro de radicais livres e ainda na quelatação de metais de transição (Zaidun et al., 2018).

Resultados similares foram observados para os taninos, as sementes (S1: 31,50 mg/g; S2: 41,50 mg/g) apresentaram quantidades significativamente maiores que as polpas (P1: 3,40 mg/g; P2: 6,60 mg/g). Taninos são estruturas fenólicas altamente complexas encontradas em uma variedade de plantas (Mueller-Harvey, 2001; Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, 2001). Estes polifenóis funcionam como um protetor natural contra luz (raios UV) e defesa no caso de diferentes ameaças biológicas (bactérias, fungos, parasitas) (Comandini, Lerma-García, Simó-Alfonso, & Toschi, 2014; Tondi et al., 2013). Estudos demonstraram que esses compostos possuem atividade antioxidante (Beninger & Hosfield, 2003; Missio et al., 2017). Além disso, possui uma característica de se ligarem às proteínas o que gera a sensação de adstringência no paladar (García-Estévez, Ramos-Pineda, & Escribano-Bailón, 2018; Ma et al., 2014).

Na polpa 2 (19,74 mg/g) foi encontrado um teor significativamente maior de antocianinas que na polpa 1 (13,23 mg/g). A pitanga obteve teor de antocianinas de 1,36 mg/g (Bagetti et al., 2011), um valor inferior ao encontrado no cambuí-roxo pelo presente estudo. As antocianinas são flavonoides característicos de frutos de coloração roxa (Reynertson, Yang, Jiang, Basile, & Kennelly, 2008). Estudos relacionaram a presença desses compostos em frutos com suas atividades biológicas, como capacidade antioxidante (Bagetti et al., 2011; Cazarin et al., 2013; Jordão & Correia, 2012), anti-inflamatória (Infante et al., 2016) e quimiopreventiva de câncer (Dametto et al., 2017).

Nas análises de atividade antioxidante, os resultados demonstraram que as sementes, que obtiveram maiores teores de compostos fenólicos e taninos, também apresentaram atividade antioxidante significativamente superior às amostras de polpas, em todos os métodos avaliados (Tabela 6). Sendo assim, supõe-se que os compostos fenólicos, foram os principais responsáveis pela atividade antioxidante das amostras.

Tabela 6 – Composição fenólica e atividade antioxidante dos extratos dos frutos de cambuí-roxo (*Eugenia candolleana*).

Compostos fenólicos e Atividade antioxidante*	P1	P2	S1	S2	Ácido Cafeico
Fenólicos Totais	14,20 ± 4,30c	22,00 ± 2,20c	61,50 ± 5,20b	79,80 ± 3,30a	-
Taninos	3,40 ± 0,70c	6,60 ± 0,5c	31,50 ± 5,70b	41,50 ± 3,50a	-
Antocianinas Totais	13,23 ± 0,97b	19,74 ± 0,22a	-	-	-
ABTS (IR50)	458,56 ± 6,68d	310,18 ± 6,52c	59,52 ± 1,02b	48,38 ± 1,70b	0,38 ± 0,01a
FRAP (IR50)	263,40 ± 3,15d	171,64 ± 4,91c	37,21 ± 0,53b	39,29 ± 1,01b	2,02 ± 0,07a
DPPH (IR50)	527,75 ± 13,84d	363,89 ± 8,58c	48,66 ± 2,64b	49,76 ± 3,61b	4,48 ± 0,03a
O ₂ (I%-500µg/mL)	< 10%	< 10%	58,69 ± 4,59a	53,36 ± 5,59a	63,46 ± 5,59a

Letras minúsculas diferentes na mesma linha representam diferenças significativas entre as amostras (p <0,05).

*Resultados expressos como:

Fenólicos Totais: mg de equivalentes de ácido gálico/g de extrato

Taninos: mg de equivalentes de ácido gálico/g de extrato

Antocianinas Totais: mg de cianidina-3-glicosídeo/g de extrato

ABTS, FRAP, DPPH: IR50 – concentração da amostra em µg/mL capaz de inibir 50% dos radicais livres.

O₂: I% - porcentagem de inibição do extrato/ácido cafeico em uma concentração de 500 µg/mL.

Avaliando a atividade antioxidante pelo método do DPPH, as amostras de frutos de *E. candolleana* apresentaram melhores resultados que as espécies analisadas por Infante et al., (2016), que apresentou valores de IR50 para sementes de outras espécies de *Eugenia* que variaram entre 69,55 a 734,51 µg/mL, enquanto as sementes de cambuí-roxo apresentaram IR50 de 48,66 µg/mL e 49,76 µg/mL, para S1 e S2 respectivamente. Já as polpas obtiveram IR50 de 363,89 e 527,75 µg/mL, para P1 e P2 respectivamente, enquanto Infante et al., (2016) encontraram valores que variaram entre 472,37 a 988,52 µg/mL.

O ácido cafeico, um ácido fenólico amplamente distribuído nos vegetais (Magnani, Isaac, Correa, & Salgado, 2014), com comprovada capacidade antioxidante (Khan, Maalik, & Murtaza, 2016; Murray et al., 2008; Yamada, Yasui, & Sakurai, 2006), foi utilizado no presente trabalho para comparar com os resultados de atividade antioxidante dos frutos de cambuí-roxo. Nos métodos ABTS, FRAP e DPPH todas as amostras obtiveram atividade inferior, porém no método do superóxido as sementes apresentaram capacidade antioxidante que não se diferenciou estatisticamente do ácido cafeico ($p > 0,05$). Derivados potencialmente reativos de oxigênio, designados como O₂⁻, por exemplo, são gerados continuamente dentro do corpo humano como uma consequência do próprio metabolismo, como também sob a exposição a agentes exógenos (Amin & Bano, 2018). Sendo assim, o resultado sugere que as amostras de semente possuem capacidade de inibir ou neutralizar espécies reativas de oxigênio comumente encontradas no organismo humano.

5. CONCLUSÕES

A parte comestível da fruta (polpa com casca) possui baixa caloria por porção. As polpas demonstraram serem boas fontes de fibras e a P1, mais madura, obteve maior teor de açúcares livres. Em relação às sementes, foram encontradas altas quantidades de fibras e proteínas, podendo ser futuramente estudado a possibilidade de produção de um suplemento.

Em geral, as sementes podem ser consideradas fonte de minerais como ferro, cálcio, fósforo e manganês.

O ácido orgânico majoritário foi o ácido cítrico, e os ácidos málico e tartárico foram encontrados somente nas sementes, importantes ácidos na fabricação de bebidas a base de frutas.

Em relação à análise de vitaminas do complexo B, a P1 pode ser considerada fonte de riboflavina. Já as outras amostras não tiveram teores que significativos de vitaminas B.

Os frutos de cambuí-roxo apresentaram alta proporção de ácidos graxos insaturados em relação aos saturados, sendo o ácido linoleico (C18:2 n-6) o predominante em todas as amostras. Além disso, apresentou uma baixa relação de omêga 6 / omêga 3, demonstrando ser uma boa opção alimentar.

Na análise de teor de compostos fenólicos totais e taninos as sementes apresentaram valores significativamente maiores que as polpas, assim como demonstraram maior capacidade antioxidante em todos os métodos avaliados, indicando uma correlação entre os compostos presentes na fruta e sua atividade antioxidante. As antocianinas foram encontradas somente nas polpas.

A partir desses resultados pode-se concluir que a fruta cambuí-roxo apresenta um bom perfil nutricional, podendo ser incluída na alimentação das pessoas como uma estratégia de melhora na diversidade de oferta de alimentos e valorização de frutas nativas brasileiras. As sementes podem fazer parte de um estudo futuro avaliando a viabilidade da produção de uma farinha para enriquecer ou suplementar a alimentação de crianças e adultos. Além disso, a fruta é promissora do ponto de vista farmacêutico, pois apresentou atividade biológica que pode ser melhor explorada em estudos futuros.

REFERÊNCIAS

- Ahmad, N., Zuo, Y., Lu, X., Anwar, F., & Hameed, S. (2015). Characterization of free and conjugated phenolic compounds in fruits of selected wild plants Department of Pharmaceutical Chemistry , College of Pharmacy , Prince Sattam bin. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.077>
- Almeida, M. M. B., Sousa, P. H. M. De, Arriaga, Â. M. C., Prado, G. M., Magalhães, C. E. D. C., Maia, G. A., & Lemos, T. L. G. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, *44*, 2155–2159. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.051>
- Amin, F., & Bano, B. (2018). Damage of cystatin due to ROS-generation and radical-scavenging activity of antioxidants and associated compounds. *International Journal of Biological Macromolecules*, *119*, 369–379. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.100>
- AOAC, I. (2016). *AOAC: Official Methods of Analysis* (Vol. 1).
- Arredondo, M., & Núñez, M. T. (2005). Iron and copper metabolism. *Molecular Aspects of Medicine*, *26*(4-5 SPEC. ISS.), 313–327. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.010>
- Aschner, M., & Keith, E. (2017). Manganese. *Advances in Nutrition*, (7), 520–521. <https://doi.org/10.3945/an.117.015305.transported>
- Bagetti, M., Facco, E. M. P., Piccolo, J., Hirsch, G. E., Rodriguez-Amaya, D., Kobori, C. N., ... Emanuelli, T. (2011). Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, *31*(1), 147–154. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000100021>
- Balisteiro, D. M., Araujo, R. L. de, Giacaglia, L. R., & Genovese, M. I. (2017). Effect of clarified Brazilian native fruit juices on postprandial glycemia in healthy subjects. *Food Research International*, *100*, 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.044>
- Beninger, C. W., & Hosfield, G. L. (2003). Antioxidant Activity of Extracts, Condensed Tannin Fractions, and Pure Flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. Seed Coat Color Genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*, 7879–7883.

- Benzie, Iris F. F., Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37.
- Brasil. (2014). *Guia Alimentar para a População Brasileira Guia Alimentar para a População Brasileira*. Ministério da Saúde (Vol. 2).
- Camaschella, C. (2015). Iron Deficiency Anemia. *The New England Journal of Medicine*, 319–332. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2016.09.004>
- Cazarin, C. B. B., Correa, L. C., Silva, J. K. da, Batista, A. G., Furlan, C. P. B., Biasoto, A. C. T., ... Junior, M. R. M. (2013). Tropical Isabella Grape Juices: Bioactive Compounds and Antioxidant Power Depends on Harvest Season. *Journal of Food Science and Engineering*, 3, 64–70.
- Comandini, P., Lerma-García, M. J., Simó-Alfonso, E. F., & Toschi, T. G. (2014). Tannin analysis of chestnut bark samples (*Castanea sativa* Mill.) by HPLC-DAD-MS. *Food Chemistry*, 157, 290–295. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.003>
- Dametto, A. C., Agustoni, D., Moreira, T. F., Plaza, C. V., Prieto, A. M., Silva, T. G. A., ... Soares, C. P. (2017). Chemical composition and in vitro chemoprevention assessment of *Eugenia jambolana* Lam. (Myrtaceae) fruits and leaves. *Journal of Functional Foods*, 36, 490–502. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.07.013>
- Donado-pestana, C. M., Moura, M. H. C., Araujo, R. L. De, Santiago, G. D. L., Barros, H. R. D. M., & Genovese, M. I. (2018). Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications. *Food Chemistry and Biochemistry*, 19, 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.001>
- Fan, X., Zhao, H., Wang, X., Cao, J., & Jiang, W. (2017). Sugar and organic acid composition of apricot and their contribution to sensory quality and consumer satisfaction. *Scientia Horticulturae*, 225, 553–560. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.07.016>

- Ferrer-Gallego, R., García-Marino, M., Miguel Hernández-Hierro, J., Rivas-Gonzalo, J. C., & Teresa Escribano-Bailón, M. (2010). Statistical correlation between flavanolic composition, colour and sensorial parameters in grape seed during ripening. *Analytica Chimica Acta*, 660(1–2), 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.09.039>
- Fikry, E. M., Gad, A. M., Eid, A. H., & Arab, H. H. (2019). Caffeic acid and ellagic acid ameliorate adjuvant-induced arthritis in rats via targeting inflammatory signals, chitinase-3-like protein-1 and angiogenesis. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 110(December 2018), 878–886. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.041>
- Franzon, R. C., & Raseira, M. D. C. B. (2006). Germinação in vitro e armazenamento do pólen de *Eugenia involucrata* DC (Myrtaceae). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28(1), 18–20. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452006000100008>
- García-Estévez, I., Ramos-Pineda, A. M., & Escribano-Bailón, M. T. (2018). Interactions between wine phenolic compounds and human saliva in astringency perception. *Food and Function*, 9(3), 1294–1309. <https://doi.org/10.1039/c7fo02030a>
- Gibson, R. S. (2007). The role of diet- and host-related factors in nutrient bioavailability and thus in nutrient-based dietary requirement estimates. *Food and Nutrition Bulletin*, 28, 77–100. <https://doi.org/10.1177/15648265070281S108>
- Giusti, M., & Wrolstad, R. E. (2001). Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1–13. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Gonçalves, A. E. D. S. S., Lajolo, F. M., & Genovese, M. I. (2010). Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of brazilian native fruits and commercial frozen pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(8), 4666–4674. <https://doi.org/10.1021/jf903875u>
- Gondim, J. A. M., Moura, M. D. F. V, Dantas, A. S., Medeiros, R. L. S., & Santos, K. M. (2005). Composição centesimal e de minerais EM cascas de frutas, 25(4), 825–827.
- Guss, K. L., Pavanni, S., Prati, B., Dazzi, L., de Oliveira, J. P., Nogueira, B. V., ... Scherer, R. (2017). Ultrasound-assisted extraction of *Achyrocline satureioides*

- prevents contrast-induced nephropathy in mice. *Ultrasonics Sonochemistry*, *37*, 368–374. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.01.035>
- IAL - Instituto Adolfo Lutz. (2008). Método 312/IV Frutas e produtos de frutas – Determinação da acidez titulável em ácido orgânico. In *Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos* (pp. 4ª Edição, 1ª Edição Digital. São Paulo: IMESP).
- Infante, J., Rosalen, P. L., Lazarini, J. G., Franchin, M., & De Alencar, S. M. (2016). Antioxidant and anti-inflammatory activities of unexplored Brazilian native fruits. *PLoS ONE*, *11*(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152974>
- Jordão, A. M., & Correia, A. C. (2012). Relationship between antioxidant capacity, proanthocyanidin and anthocyanin content during grape maturation of Touriga Nacional and Tinta Roriz grape varieties. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *33*(2), 214–224. <https://doi.org/10.21548/33-2-1121>
- Joseph, J. D., & Ackman, R. . (1992). Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, *75*, 488–506.
- Kfoury, M., Geagea, C., Ruellan, S., Greige-Gerges, H., & Fourmentin, S. (2019). Effect of cyclodextrin and cosolvent on the solubility and antioxidant activity of caffeic acid. *Food Chemistry*, *278*, 163–169. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.055>
- Khan, F. A., Maalik, A., & Murtaza, G. (2016). Inhibitory mechanism against oxidative stress of caffeic acid. *Journal of Food and Drug Analysis*, *24*, 695–702. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.05.003>
- Krepesky, P. B., Isidório, R. G., Souza Filho, J. D., Côrtes, S. F., & Braga, F. C. (2012). Phytomedicine Chemical composition and vasodilatation induced by *Cuphea carthagenensis* preparations. *Phytomedicine*, *19*, 953–957. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.05.011>
- Lenquiste, S. A., Marineli, R. da S., Moraes, É. A., Dionísio, A. P., Brito, E. S. De, & Maróstica Junior, M. R. (2015). Jaboticaba peel and jaboticaba peel aqueous extract shows in vitro and in vivo antioxidant properties in obesity model. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.023>

- Ma, W., Guo, A., Zhang, Y., Wang, H., Liu, Y., & Li, H. (2014). A review on astringency and bitterness perception of tannins in wine. *Trends in Food Science and Technology*, 40(1), 6–19. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.08.001>
- Magnani, C., Isaac, V. L. B., Correa, M. A., & Salgado, H. R. N. (2014). Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. *Analytical Methods*, 6, 3203–3210. <https://doi.org/10.1039/c3ay41807c>
- Martin, C. A., De Almeida, V. V., Ruiz, M. R., Visentainer, J. E. L., Matshushita, M., De Souza, N. E., & Visentainer, J. V. (2006). Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: Importância e ocorrência em alimentos. *Revista de Nutricao*, 19(6), 761–770. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000600011>
- Mikulic-petkovsek, M., Ivancic, A., Schmitzer, V., Veberic, R., & Stampar, F. (2016). Comparison of major taste compounds and antioxidative properties of fruits and flowers of different Sambucus species and interspecific hybrids. *Food Chemistry*, 200, 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.044>
- Missio, A. L., Tischer, B., dos Santos, P. S. B., Codevilla, C., de Menezes, C. R., Barin, J. S., ... Tondi, G. (2017). Analytical characterization of purified mimosa (*Acacia mearnsii*) industrial tannin extract: Single and sequential fractionation. *Separation and Purification Technology*, 186, 218–225. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.06.010>
- Mueller-Harvey, I. (2001). Analysis of hydrolysable tannins Irene. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 3–20. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00227-9](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00227-9)
- Murray, J. C., Burch, J. A., Streilein, R. D., Iannacchione, M. A., Hall, R. P., & Pinnell, S. R. (2008). A topical antioxidant solution containing vitamins C and E stabilized by ferulic acid provides protection for human skin against damage caused by ultraviolet irradiation. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 59(3), 418–425. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2008.05.004>
- Padovani, R. M., Amaya-Farfán, J., Colugnati, F. A. B., & Domene, S. M. Á. (2006). Dietary reference intakes : aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. *Revista de Nutrição*, 19, 741–760.
- Philippi, S. T. (2008). *Pirâmide dos Alimentos: fundamentos básicos da nutrição*.

- Plaza, M., Batista, Â. G., Cazarin, C. B. B., Sandahl, M., Turner, C., Östman, E., & Maróstica Junior, M. R. (2016). Characterization of antioxidant polyphenols from *Myrciaria jacobinica* peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: A pilot clinical study. *Food Chemistry*, 211, 185–197. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.142>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Reynertson, K. A., Yang, H., Jiang, B., Basile, M. J., & Kennelly, E. J. (2008). Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry*, 109(4), 883–890. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.021>. Quantitative
- Ribeiro, L. ., Ribani, R. H., Francisco, T. M. . ., Soares, A. ., Pontarolo, R., & Haminiuk, C. W. . (2015). Profile of bioactive compounds from grape pomace (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) by spectrophotometric, chromatographic and spectral analyses. *Journal of Chromatography B*, 1007, 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2015.11.005>
- Riches, E. (2009). *The rapid, simultaneous analysis of 12 water-soluble vitamin compounds - Waters application note 720003052EN.*
- Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B., & Battino, M. (2005). Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 21(2), 207–213. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.03.025>
- Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654–658. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>
- Scherer, R., Rybka, A. C. P., & Godoy, H. T. (2008). Determinação simultânea dos ácidos orgânicos tartárico, málico, ascórbico e cítrico em polpas de acerola, açaí e caju e avaliação da estabilidade em sucos de caju. *Química Nova*, 31(5), 1137–1140. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000500039>
- Schmidt, H. D. O., Rockett, F. C., Pagno, C. H., Assis, R. Q., Oliveira, V. R. de, Silva,

- V. L. da, ... Rios, A. de O. (2018). Vitamines, bioactive compounds diversity of seven fruit species from south Brazil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9544>
- Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, A. N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1), 21-40. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 21–40. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00228-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00228-0)
- Shaman, A. M., & Kowalski, S. R. (2016). Hyperphosphatemia Management in Patients with Chronic Kidney Disease. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(4), 494–505. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2015.01.009>
- Shui, G., & Leong, L. P. (2002). Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 977, 89–96. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01345-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01345-6)
- Simopoulos, A. P. (2002). Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *Journal of the American College of Nutrition*, 21(6), 495–505. <https://doi.org/10.1080/07315724.2002.10719248>
- Slavin, J. (2013). Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits, 1417–1435. <https://doi.org/10.3390/nu5041417>
- Sobral, M., Proença, C., Souza, M., Mazine, F., & Lucas, E. (2015). Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. *Jardim Botânico Do Rio de Janeiro*, Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/j>>
- Suzumura, K., Yasuhara, M., & Narita, H. (1999). Superoxide anion scavenging properties of fluvastatin and its metabolites. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 47(3), 1477–1480. <https://doi.org/10.1061/ASCE1090-02412003129:112>
- Teixeira, L. D. L., Bertoldi, F. C., Lajolo, F. M., & Hassimotto, N. M. A. (2015). Identification of Ellagitannins and Flavonoids from *Eugenia brasiliensis* Lam. (Grumixama) by HPLC-ESI-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(22), 5417–5427. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01195>

- Thakur, K., Tomar, S. K., Singh, A. K., Mandal, S., & Arora, S. (2017). Riboflavin and health: A review of recent human research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(17), 3650–3660. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1145104>
- Tondi, G., Thevenon, M. F., Mies, B., Standfest, G., Petutschnigg, A., & Wieland, S. (2013). Impregnation of Scots pine and beech with tannin solutions: Effect of viscosity and wood anatomy in wood infiltration. *Wood Science and Technology*, 47(3), 615–626. <https://doi.org/10.1007/s00226-012-0524-5>
- Uddin, S., & Ahmad, S. (1995). Dietary antioxidants protection against oxidative stress. *Biochemical Education*, 23(1), 2–7. [https://doi.org/10.1016/0307-4412\(94\)00097-9](https://doi.org/10.1016/0307-4412(94)00097-9)
- Visentainer, J. V. (2012). Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. *Química Nova*, 35, 274–279. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000200008>
- Walters, J. R. F. (2003). The role of the intestine in bone homeostasis. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 15, 845–849. <https://doi.org/10.1097/01.meg.0000059184.46867.c7>
- WHO - World Health Organization. (2019). <https://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/en/> - Acesso em: 11 de fevereiro de 2019.
- Yamada, Y., Yasui, H., & Sakurai, H. (2006). Suppressive Effect of Caffeic Acid and its Derivatives on the Generation of UVA-induced Reactive Oxygen Species in the Skin of Hairless Mice and Pharmacokinetic Analysis on Organ Distribution of Caffeic Acid in ddY Mice. *Photochemistry and Photobiology*, 82, 1668–1676. <https://doi.org/10.1562/2006-03-24-RA-857>
- Zaidun, N. H., Thent, Z. C., & Latiff, A. A. (2018). Combating oxidative stress disorders with citrus flavonoid: Naringenin. *Life Sciences*, 208(June), 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.07.017>