



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE FARMÁCIA
PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

EDIANE MARIA GOMES RIBEIRO

Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com e sem casca

Rio de Janeiro
2011

EDIANE MARIA GOMES RIBEIRO

Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com e sem casca

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

Orientadoras:

Prof^ª. Dr.^a Lucia Maria Jaeger de Carvalho

Prof^ª. Dr.^a. Mirian Ribeiro Leite Moura

Rio de Janeiro

2011

EDIANE MARIA GOMES RIBEIRO

**Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC)
com e sem casca**

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 18/05/2011

Orientadores

Presidente, Professora Dr^a. Lucia Maria Jaeger de Carvalho
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Professora Dr^a. Mirian Ribeiro Leite Moura
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Banca Examinadora

Professora Dr^a. Gisela Maria Dellamora Ortiz
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Professora Dr^a. Mônica Freiman de Souza Ramos
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Professora Dr^a. Suzana Caetano da Silva Lannes
Faculdade de Farmácia, Universidade de São Paulo (USP)

R484p Ribeiro, Ediane Maria Gomes.

Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com e sem casca/ Ediane Maria Gomes Ribeiro; orientadores Lucia Maria Jaeger de Carvalho e Mirian Ribeiro Leite Moura. — Rio de Janeiro : UFRJ, Faculdade de Farmácia, 2011.

77f. : il. ; 30cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, 2011.

Bibliografia: p. 67-77.

1. Cagaita. 2. *Eugenia dysenterica*. 3. Frutas - Análise. 4. Antioxidantes. 5. Compostos fenólicos. 6. Tecnologia de alimentos. I. Carvalho, Lucia Maria Jaeger de. II. Moura, Mirian Ribeiro Leite. III. Título.

CDD 613.286

Aos meus amados e queridos pais, Ailton e Miraita.
São meu TUDO! Minha família, minha força superior.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela sua infinita bondade, por estar sempre presente, guiando e iluminando meu caminho.

Aos meus pais, por todo apoio, confiança e incentivo ao estudo que sempre me proporcionaram, por me motivarem a lutar sempre por tudo que acredito, apesar das dificuldades. E acima de tudo, sempre com ética e respeito. São meu exemplo de vida. Essa conquista também é de vocês!

Aos meus irmãos, Ailton Filho e Alexandre, pelo carinho, apoio e amizade. Amo vocês!

À professora Lucia Maria Jaeger de Carvalho, não só pela oportunidade e contribuição neste trabalho, mas por sua amizade, carinho, confiança e pelos ensinamentos tanto profissionais quanto pessoais. Serei eternamente grata!

À professora Mirian Ribeiro Leite Moura, pela sua orientação e ajuda, sempre de muito boa vontade, muito obrigada!

À minha querida amiga Daniela Soares Viana, foi imprescindível nessa caminhada, tornando-a mais leve. Presente desde o início, como amiga, companheira, fiel e cúmplice, nunca perdendo o bom humor que lhe é característico. Terá sempre seu lugar bem guardado. Muito obrigada!

À minha amiga Patrícia Barros Gomes, chegou na metade da “viagem” mas não menos importante. Desde cedo conquistou a minha amizade, dividindo alegrias, conhecimentos, trabalhos, experiências e desabafos. Ainda iremos rir muito disso tudo!

Aos meus amigos que sempre acreditaram e estiveram ao meu lado durante todo o percurso, em especial à Chrys, Karina, Ceicinha, Kim, Leila, Samaíra, Vanessa e Alcides.

Às Professoras Mônica Freiman de Souza Ramos Ribeiro e Nancy dos Santos Barbi, pela parceria, correções, amizade e por todos os ensinamentos.

Ao José Luiz Viana de Carvalho, pela atenção dedicada desde o início, paciência e apoio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

À professora Maria de Lourdes Giada, pela sua enorme contribuição nos ensinamentos sobre atividade antioxidante, sendo sempre solícita, disponibilizando todo seu conhecimento e sua infinita paciência, para a finalização desta dissertação.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRJ pelos ensinamentos e gentilezas dedicados.

Ao professor Luís Maurício T. R. Lima, pela atenção e concessão de equipamentos para a realização de algumas análises.

Aos amigos e funcionários dos Laboratórios de Tecnologia e Análise Instrumental de Alimentos e de Controle Bromatológico: Elen, Aninha, Ângelo, Cláudia, Isaias, Rafaela, Lara, Larissa, Eduardo e Maria Cristina, pela ajuda nos experimentos e amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pelo financiamento deste projeto, imprescindíveis para a execução deste trabalho.

À todos que participaram direta ou indiretamente e que estiveram ao meu lado durante a realização deste trabalho.

“Minha vida é andar
Por este país
Prá ver se um dia
Descanso feliz
Guardando a recordação
Das terras onde passei
Andando pelos sertões
Dos amigos que lá deixei...”

(Luiz Gonzaga / Herve Cordovil)

RESUMO

Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com e sem casca

Frutas exóticas vêm alcançando mercado em todo o mundo, com boa aceitação e crescimento. Neste contexto, insere-se a cagaita (*Eugenia dysenterica* DC), frutífera nativa do Cerrado, pertencente à família Myrtaceae. Os frutos fornecem elevada variedade de antioxidantes na dieta, como as vitaminas C e E, carotenóides e outros compostos fenólicos que podem contribuir para os benefícios de saúde. Os métodos para avaliar os antioxidantes podem ser baseados no sequestro do radical peroxil (ORAC, TRAP), quelantes de íons metálicos (FRAP, CUPRAC), sequestro do radical hidroxila (ensaio desoxirribose), sequestro de radicais orgânicos (ABTS, DPPH), inibição da peroxidação lipídica (TBARS, oxidação das LDL's), entre outros. O objetivo do estudo foi determinar a capacidade antioxidante e compostos fenólicos totais do fruto de cagaita, com (CCC) e sem casca (CSC), e suas características físicas e químicas. Em relação ao pH e acidez titulável pode-se classificar o fruto como ácido, sendo o pH do lote CSC 2,90 e 2,69 para o lote CCC. Na determinação da composição centesimal verificou-se que o fruto não é calórico, apresentando baixos teores de proteínas, carboidratos e, principalmente, lipídeos. De acordo com a ANVISA, o fruto da cagaita é considerado um alimento rico em vitamina C, em razão de seu aporte ser superior a 30% da IDR. Os três métodos utilizados para avaliar a capacidade antioxidante forneceram resultados satisfatórios e promissores, tendo o fruto com casca apresentado maior atividade antioxidante em todos os ensaios e o método ORAC demonstrou ser o mais eficiente. Essa capacidade antioxidante elevada pode ser decorrente das substâncias bioativas presentes, como compostos fenólicos e ácido ascórbico.

ABSTRACT

Antioxidant activity and total polyphenol content in cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) with and without peels

Exotic fruit have gained market worldwide, with good acceptance and growth. Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC), a native fruit of Cerrado that belongs to the family Myrtaceae, is included in this context. The fruits provide a wide variety of dietary antioxidants, such as vitamins C and E, carotenoids and other phenolic compounds and these may contribute to the health benefits. Evaluation of antioxidant activity can be based on metal reducing power (FRAP, CUPRAC), hydroxyl radical scavenging (deoxyribose assay), quantification of products formed during lipid peroxidation (TBARS, LDLs oxidation), peroxy radical scavenging (ORAC, TRAP), organic radical scavenging (ABTS, DPPH), for example. The aim of this study was to determine the antioxidant capacity and phenolic compounds of cagaita fruit, with (CCC) and without (CSC) peels, and physical and chemical characteristics of the fruit. Regarding pH and acidity, the fruit can be classified as acid and the pH value for CSC was 2.90 and 2.69 for the lot of CCC. As to composition, the fruit is not caloric, showing low levels of protein, carbohydrates and especially fat. According to ANVISA, the fruit of cagaita is regarded as rich in vitamin C, due to a higher contribution than 30% of DRI's. The three methods used to evaluate antioxidant capacity provided satisfactory and promising results, whereas the fruit with peel showed the highest antioxidant activity in all tests and the ORAC method proved to be the most efficient. This high antioxidant capacity may be derived from the presence of bioactive substances such as phenolic compounds and ascorbic acid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Mapa representando os biomas do Brasil.....	20
Figura 02 – A - Ilustração da flor da cagaiteira (<i>Eugenia dysenterica</i> DC); B – Ramo em floração com folhas jovens de coloração cúprea.....	22
Figura 03 – Ilustração do fruto da cagaiteira (<i>Eugenia dysenterica</i> DC).....	23
Figura 04 – Representação esquemática da estrutura química de alguns antioxidantes naturais.....	25
Figura 05 – Representação esquemática da estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos.....	26
Figura 06 – Representação esquemática da estrutura química do radical ABTS ⁺	28
Figura 07 - Representação esquemática da estrutura química do radical DPPH'.....	29
Figura 08 – Fluxograma exemplificando os compostos fitoquímicos presentes em alimentos vegetais, com a classificação dos compostos fenólicos.....	36
Figura 09 – Ilustração da descoloração do radical DPPH utilizando o fruto da cagaita como antioxidante.....	55
Figura 10 – Ilustração da descoloração do radical ABTS ⁺ utilizando o fruto da cagaita como antioxidante.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Classe de compostos fenólicos encontrados em material vegetal	34
Tabela 02 - Resultados do pH, sólidos solúveis (°Brix) e acidez titulável das polpas de cagaita com casca e sem casca	48
Tabela 03 - Composição centesimal (base úmida) da polpa de cagaita (<i>Eugenia dysenterica</i> DC) sem casca (CSC) e com casca (CCC) em g/100g	49
Tabela 04 - Conteúdo de minerais presentes na polpa de cagaita (<i>Eugenia dysenterica</i> DC) com casca	52
Tabela 05 - Capacidade antioxidante das polpas de cagaita CCC (com casca) e CSC (sem casca), frente ao Trolox, no ensaio DPPH, em diferentes concentrações.....	55
Tabela 06 - Capacidade antioxidante nos lotes CCC e CSC, frente ao Trolox, no ensaio ABTS	59
Tabela 07 - Capacidade antioxidante das polpas de cagaita CCC e CSC, frente ao Trolox, no ensaio ORAC	61
Tabela 08 - Conteúdo de fenólicos totais das polpas de cagaita, com e sem casca, em mg/g de amostra (\pm desvio padrão)	63

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01 - Teores de glicose, frutose e sacarose da polpa integral de cagaita com casca.....	52
Gráfico 02 - Representação gráfica da curva cinética da capacidade antioxidante das polpas CCC e CSC, frente ao Trolox, no ensaio DPPH.....	57
Gráfico 03 - Estabilidade do radical ABTS ⁺ em função do tempo com o tempo de reação a 734 nm.....	57
Gráfico 04 - Representação gráfica da curva cinética da capacidade antioxidante das polpas CCC e CSC, frente ao Trolox, no ensaio ABTS.....	60
Gráfico 5 - Representação gráfica da curva cinética da capacidade antioxidante das polpas CCC e CSC, no ensaio ORAC.....	62
Gráfico 06 - Curva padrão de ácido gálico.....	64

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AAPH - 2,2'-azobis (2-amidinopropano)

Abs - absorbância

ABTS - ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

A.O.A.C. - Association of Official Analytical Chemists

BHA - butil-hidroxi-anisol

BHT - butil-hidroxi-tolueno

cv. – Cultivar

CCC – cagaita com casca

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CSC – cagaita sem casca

DP – desvio padrão

DPPH – radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil

EAG – Equivalentes de Ácido Gálico

EC₅₀ - quantidade de antioxidante requerida para um decréscimo de 50% na concentração inicial do radical DPPH.

ESR - Espectrometria de Ressonância de Spin de Elétrons

FRAP - Poder Antioxidante na Redução do Ferro

IDR - Ingestão Diária Recomendada

M – molar

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ml – mililitro

mg – miligrama

ORAC - Atividade de Absorção de Radicais de Oxigênio

PG - propil galato

ppm – partes por milhão

PVC - cloreto de polivinila

RMF - Resíduo mineral fixo

TBHQ - butil-hidroxiquinona terciária

TROLOX - ácido 2-carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano

USDA - Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

μl – microlitro

μg – micrograma

nm - nanômetro

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE GRÁFICOS

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1. INTRODUÇÃO	18
1.1- Cerrado brasileiro	18
1.2- Cagaita (<i>Eugenia dysenterica</i> DC)	21
1.3- Atividade antioxidante	23
1.3.1- Principais métodos <i>in vitro</i> para avaliação da atividade antioxidante	26
1.3.2- Método pela captura do radical livre ABTS ⁺	27
1.3.3- Método do sequestro do radical DPPH	29
1.3.4- Método ORAC (Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio)	30
1.4- Compostos fenólicos	32
2. OBJETIVOS	37
2.1- Objetivo geral	37
2.2- Objetivos específicos	37
3. MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1- Matéria prima	38
3.2- Delineamento Estatístico dos Experimentos	38
3.3- Obtenção das polpas e rendimento	38
3.4- Análises Físicas e Químicas	39
3.4.1- Composição Centesimal	39
3.4.2- Determinação de pH	40
3.4.3- Sólidos solúveis (°Brix)	40
3.4.4- Acidez Titulável	40
3.4.5- Açúcares (glicose, frutose e sacarose)	40
3.4.6- Minerais	41

3.4.7- Teor de vitamina C (ácido ascórbico)	41
3.5- Determinação da atividade antioxidante total	41
3.5.1- Método do sequestro do radical DPPH	42
3.5.2- Método do sequestro do radical ABTS	43
3.5.3- Ensaio da Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio (ORAC)	44
3.6- Determinação dos compostos fenólicos totais	45
3.7- Análise Estatística dos Resultados	46
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1- Rendimento	47
4.2- Características físicas e químicas do fruto	47
4.2.1- Composição centesimal	49
4.2.2- Açúcares (glicose, frutose e sacarose)	51
4.2.3- Minerais	52
4.2.4- Teor de vitamina C (ácido ascórbico)	53
4.3- Determinação da atividade antioxidante total	54
4.3.1- Método do sequestro do radical DPPH	54
4.3.2 - Método do sequestro do radical ABTS	57
4.3.3- Ensaio da Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio (ORAC)	60
4.4- Determinação dos compostos fenólicos totais	63
5- CONCLUSÕES	65
6- CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
7- PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS E TECNOLÓGICAS	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

1. INTRODUÇÃO

Frutas exóticas, cujo uso era restrito a populações que vivem em áreas geográficas limitadas, vêm alcançando mercado em todo o mundo, com boa aceitação e crescimento, especialmente, na Europa e Estados Unidos (BAUER, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2006). O crescente interesse pode estar relacionado à consciência dos consumidores em busca de uma dieta e estilo de vida saudáveis. Estas frutas, além de apresentarem sabor diferenciado, contêm compostos com importantes propriedades terapêuticas, como a presença de macro e micronutrientes essenciais, minerais, vitaminas e quantidade apreciáveis de metabólitos secundários, com conhecida atividade antioxidante (HARBORNE e WILLIAMS, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Estas frutas são consumidas, principalmente, na forma de suco e, também, podem ser adicionadas para a fortificação de outros sucos, com o objetivo, por exemplo, de melhorar o seu conteúdo de vitamina C. No Brasil, as frutas tropicais são consumidas frescas, regionalmente durante todo o ano, e comercializadas para outras áreas, como polpa congelada (CEVA-ANTUNES *et al.*, 2003).

O Brasil possui uma extensa diversidade de frutos de sabor exótico pouco explorados e caracterizados, o que vislumbra um grande potencial econômico e social. Portanto, a determinação da sua composição quanto às características físicas, químicas e nutricionais bem como parâmetros relacionados à sua funcionalidade como alimento são de suma importância (ALVES e FRANCO, 2003).

1.1- Cerrado brasileiro

O Brasil é o país que possui a maior biodiversidade do planeta, possuindo, aproximadamente, 30% das espécies de plantas e de animais existentes no mundo,

distribuídas em seis grandes biomas: Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga, Pampa e Pantanal (SILVA *et al.*, 1994; IBGE, 2009a).

O uso do termo “Cerrado” utilizado para designar a vegetação ou paisagem natural do Brasil Central é relativamente recente. Segundo Ribeiro (2005), desde os primeiros relatos desse bioma, era observada a grande diversidade de seus ambientes (capões, matos, campos) e, portanto, não recebia uma denominação comum. Martius (1829), em sua *Flora Brasilienses*, foi, provavelmente, o primeiro a dar uma denominação comum a área hoje correspondente ao domínio do Cerrado – *Oreades* ou *Regio montano-campestris*.

Sabe-se que o Cerrado, embora sendo um bioma pouco estudado, é o segundo da América do Sul e, também, o segundo maior bioma do Brasil em extensão territorial ocupando, aproximadamente, 24% do território nacional, com área de 2.036.448 km² (IBGE, 2009a; ROESLER *et al.*, 2008).

Situa-se no Planalto Central, com pequena inclusão no Paraguai e na Bolívia, estendendo-se pelos estados de Goiás, Tocantins, Distrito Federal e parte dos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Piauí, Pará e Rondônia (BUSHBACHER, 2000) (Figura 01).

A vegetação presente nesta região abrange diversas fisionomias, englobando onze tipos principais: formações florestais (Mata Ciliar, Mata de Galeria, Mata Seca e Cerradão), savânicas (Cerrado no sentido restrito, Parque de Cerrado, Palmeiral e Vereda) e campestres (Campo Sujo, Campo Limpo e Campo Rupestre) (IBGE, 2009a).

Estudos apontam estimativas com mais de 6.000 espécies de árvores, utilizadas na produção de artesanato, uso medicinal e alimentício e 800 espécies de aves, além de grande variedade de peixes e outras formas de vida. O grau de endemismo da biota do Cerrado é significativo, calculando-se que 40% das plantas lenhosas e 50% das suas espécies de abelhas são endêmicas. No que concerne a invertebrados, estima-se que o Cerrado abranja 14.425

espécies, representando 47% da fauna estimada para o Brasil em três ordens de insetos: *Lepidoptera*, *Hymenoptera* e *Isoptera*. Dadas estas características, estima-se que o Cerrado seja responsável por 5% da biodiversidade mundial (PIRES e SANTOS, 2000; MAURY, 2002; SILVA, SANTOS JUNIOR e FERREIRA, 2008).



Figura 01. Mapa representando os biomas do Brasil (FONTE: IBGE, 2009b).

Levando-se em consideração os aspectos acima abordados, o bioma do Cerrado merece destaque pela riqueza da sua biodiversidade, correspondendo a savana mais biodiversa do planeta, sendo considerado um *hotspot*, ou seja, um dos biomas mais ricos e ameaçados do mundo, abrigando cerca de 137 espécies ameaçadas de extinção (MITTERMEIER *et al.*, 2004).

Esta biodiversidade pode ser visualizada na vasta extensão territorial, pela posição geográfica privilegiada, pela heterogeneidade vegetal e animal. Os frutos produzidos pelas espécies nativas proporcionam um elevado valor nutricional, além de atrativos sensoriais como cor, aroma e sabor peculiares e intensos, ainda pouco explorados comercialmente (PINTO, 2006).

1.2- Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC)

Grande número das espécies presentes no Cerrado apresenta elevado potencial econômico e ecológico, além da importância social, muitas vezes complementando a dieta e servindo como fonte de medicamentos, fibras, madeira para construções e energia para os habitantes locais. Podem constituir fontes potenciais de exploração econômica, desde que a pesquisa e o desenvolvimento de tecnologias viabilizem seu aproveitamento (MARTINOTTO *et al.*, 2008). O uso sustentável destas espécies pode ser uma excelente alternativa para agregar valor as matérias primas disponíveis na região, melhorar a saúde da população, contribuindo na renda das comunidades rurais e favorecendo a conservação das espécies nativas (PINTO, 2006).

Dentro deste grande número de espécies, insere-se a cagaita (*Eugenia dysenterica* DC), uma frutífera nativa do Cerrado, aproveitada pela população local como fonte de alimentação e uso medicinal (BEZERRA *et al.*, 2002). Pertence à família Myrtaceae, que é composta por 14 gêneros, representados por 211 espécies de ocorrência natural no bioma Cerrado, sendo uma das 10 famílias mais representadas no bioma que juntas contribuem com mais de 51% da sua riqueza florística, e é encontrada nos estados de Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Tocantins e Bahia (SILVA, CHAVES e NAVES, 2001). Ocorre em maior densidade no latossolo vermelho-amarelo, sendo observada em áreas com temperaturas médias anuais entre 21,1 °C e 25,5 °C e altitudes de 380 a 1100m (NAVES, 1999 *apud* SOUZA *et al.*, 2002).

Como árvore de porte médio, possui de 4 a 10 m de altura, tronco tortuoso e cilíndrico, com 20 a 40 cm de diâmetro e casca suberosa e fendada, bem característica. Sua copa é alongada e densa, com ramos quadrangulares e glabros, exceto os botões, pedicelos, folhas e ramos jovens que são pubérulos. É uma planta decídua, heliófita e seletiva xerófila. Apresenta folhas membráceas, opostas, ovadoblancas, simples, curto-pecioladas a subsésseis, aromáticas e caducas na floração (DONADIO, MÔRO e SERVIDONE, 2002).

Suas flores, sempre axilares, solitárias ou organizadas em arranjos de três, são hermafroditas e completas, tendo 1,5 a 2 cm de diâmetro, actinomorfas, diclamídeas, tretâmeras, dialipétalas e dialissépalas, dotadas de pétalas de coloração branca (Figura 02 - A) (LORENZI, 2000).

O florescimento ocorre em meados de julho ao início de agosto, no meio da estação seca, sendo simultâneo ao surgimento de folhas novas com coloração cúprea (Figura 02 - B) (BRITO *et al.*, 2003).



Figura 02. A - Ilustração da flor da cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC); B – Ramo em floração com folhas jovens de coloração cúprea (FONTE: PINA, 2008).

Segundo Zucchi, Brondani e Pinheiro (2003), o fruto da cagaiteira é uma baga globosa achatada, amarelo-pálida, de 2 a 3 cm de diâmetro, contendo de 1 a 3 sementes brancas, envoltas em uma polpa ácida (Figura 03). Contém um cálice seco aderido ao fruto, casca brilhante membranácea, mesocarpo e endocarpo succulentos.

Estudos da composição nutricional comprovaram que a cagaita possui elevado teor de água (95,01%) e é uma das frutas que apresenta maior porcentagem de ácidos graxos poliinsaturados como o linoléico (10,5%) e o ácido linolênico (11,86%), superando os óleos de milho, girassol, amendoim, soja, oliva e dendê. Os ácidos graxos possuem importante papel no organismo humano, atuando como precursores de substâncias de papel importante na

estrutura de membranas celulares, como componentes de estruturas cerebrais, da retina e do sistema reprodutor (ALMEIDA, 1998).



Figura 03. Ilustração do fruto da cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC) (FONTE: LIMA, 2009).

Além do consumo *in natura*, os frutos e cascas da cagaiteira são utilizados na elaboração de doces, geléias, licores, refrescos, sorvetes e sucos, tornando-se, portanto, necessária a investigação desta espécie tanto quanto a sua composição em macro e micronutrientes bem como quanto à sua atividade antioxidante e conteúdo de polifenóis (SILVA, CHAVES e NAVES, 2001; SOUZA *et al.*, 2002).

Adicionalmente, suas folhas apresentam propriedades medicinais, sendo utilizadas na medicina popular como antidiarréicas. Costa *et al.* (2000) verificaram alta atividade antifúngica no óleo essencial obtido a partir da hidrodestilação das folhas de cagaiteira no controle de *Cryptococcus neoformans*.

1.3- Atividade antioxidante

Antioxidantes são compostos que podem retardar ou inibir tanto a oxidação das biomoléculas pela prevenção da iniciação ou da propagação da cadeia de reações de oxidação (KAUR e KAPOOR, 2001), como a propagação das reações em cadeia geradas pelos radicais livres, que são produzidos através do metabolismo aeróbico (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004). Estes compostos bioativos estão associados com a redução do

risco de doenças crônicas, como diabetes, doenças cardiovasculares, cânceres, aterosclerose e doenças cerebrais degenerativas associadas ao envelhecimento (YILDRIM, MAVI e KARA, 2001; ZULUETA *et al.*, 2007).

Dentre os compostos que possuem atividade antioxidante insere-se a classe dos fenóis (ácidos fenólicos e seus derivados), carotenóides, flavonóides, tocoferóis, fosfolipídios, ácido fítico, ácido ascórbico, vitaminas A e E, zinco, selênio, pigmentos e esteróis (Figura 04) (ROESLER *et al.*, 2008).

Além de atuar como antioxidante e cofator para muitas enzimas, o ácido ascórbico é uma das vitaminas hidrossolúveis mais importantes na dieta humana, uma vez que está envolvido nos processos de síntese de colágeno, do desenvolvimento do tecido conjuntivo, dos ossos, dos dentes, das paredes dos vasos sanguíneos, absorção do ferro, entre outros (WILSON, 2005; OZYUREK *et al.*, 2007). Silva, Santos Junior e Ferreira (2008) avaliaram frutos de cagaita em seus diferentes estádios de maturação e verificam que a concentração de vitamina C do fruto maduro foi de 27,46 mg/100 g do fruto.

Os fatores que determinam uma boa atividade antioxidante são a presença de substituintes de doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical, em função do seu potencial de redução; a capacidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura; a capacidade de quelar metais de transição envolvidos no processo oxidativo e acesso ao local de ação, dependendo da sua hidrofilia ou lipofilia, bem como de seu coeficiente de partição (MANACH *et al.*, 2004).

As características químicas dos antioxidantes incluem sua solubilidade, habilidade regenerativa, relação estrutura/atividade e biodisponibilidade, que são fatores importantes quando se considera o papel destes compostos na saúde humana (KAUR e KAPOOR, 2001). Stahl e Sies (2003) sugeriram que interações entre compostos estruturalmente diferentes e que

possuem atividade antioxidante variável promovem proteção adicional contra o estresse oxidativo.

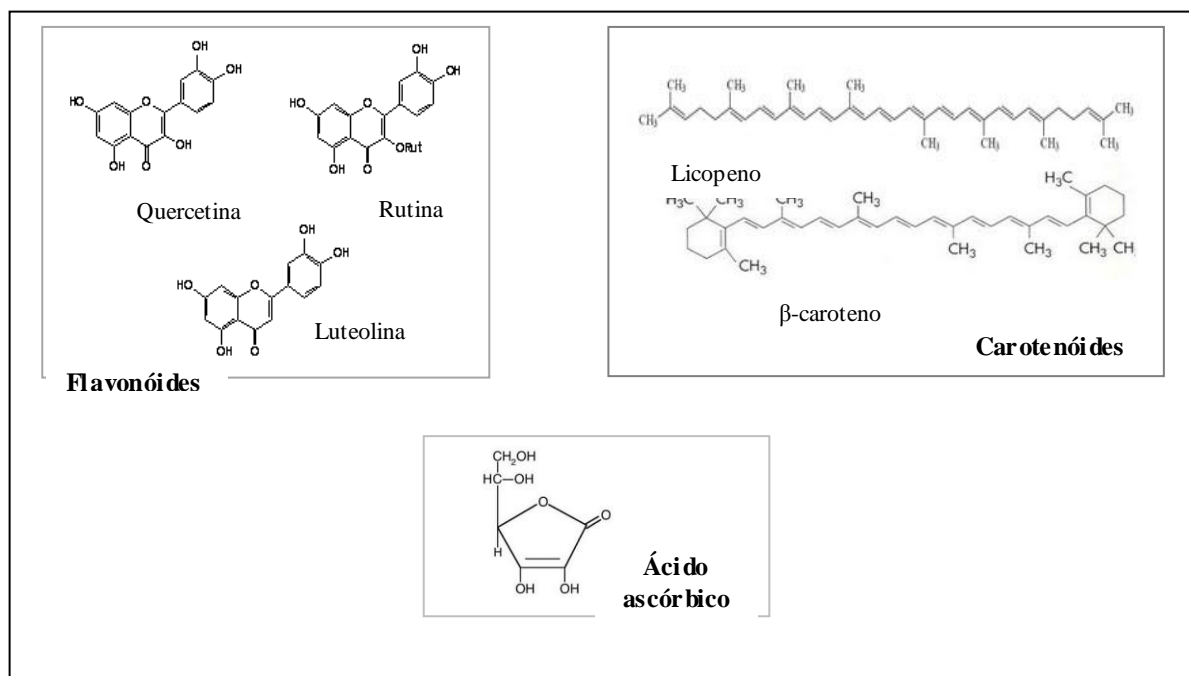


Figura 04. Representação esquemática da estrutura química de alguns antioxidantes naturais (FONTE: AMBROSIO, CAMPOS e FARO, 2006).

De acordo com sua origem, os antioxidantes podem ser classificados em naturais ou sintéticos (JARDINI, 2005). Os sintéticos são amplamente empregados na indústria, sendo os mais comumente utilizados: o butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT), butil-hidroxiquinona terciária (TBHQ) e propil galato (PG) (Figura 05). A sua escolha e concentração variam em função do alimento a ser empregado (FKI, ALLOUCHE e SAYADI, 2005; HAN e RHEE, 2005).

Entretanto, devido aos seus riscos potenciais à saúde humana, como efeitos carcinogênicos, tem aumentado o interesse pela investigação de antioxidantes naturais (CHEUNG, CHEUNG e OOI, 2003). Estes são formados por compostos presentes em matérias primas de origem vegetal, processadas ou não, como as frutas e hortaliças, incluindo-

se os tocoferóis, o ácido ascórbico, os carotenóides e os compostos fenólicos (JARDINI, 2005).

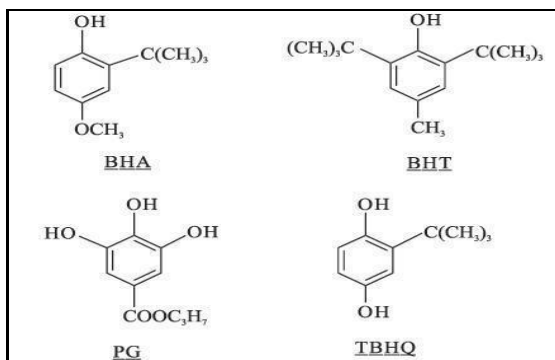


Figura 05. Representação esquemática da estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos.

Os antioxidantes extraídos de fontes naturais e adicionados a alimentos processados apresentaram resultados satisfatórios descritos por Sallam, Ishioroshi e Samejima (2004), que compararam a adição de BHT e diferentes produtos do alho cru (fresco, óleo e desidratado) em carne de frango. As formas fresca e a desidratada do alho apresentaram atividades antioxidantes superiores ao BHT.

1.3.1- Principais métodos *in vitro* para avaliação da atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante dos alimentos, além de informar o potencial antioxidante dos mesmos antes de ser ingerido, é importante para avaliar a proteção contra a sua oxidação e deterioração, reações que podem levar à diminuição da sua qualidade e do seu valor nutricional (LIMA, 2008).

Diversos métodos *in vitro* foram e vêm sendo testados a fim de se avaliar a atividade antioxidante total de substâncias e alimentos, principalmente em matrizes complexas tais como vinhos, frutas e outros vegetais; uma vez que, atualmente, não existem métodos aprovados ou padronizados para a determinação da atividade antioxidante. Estes se mostram necessários, devido à dificuldade em medir cada composto separadamente e as interações

potenciais entre os diferentes antioxidantes no sistema bem como sua comparação (CAO e PRIOR, 1999; KULKARNI, ARADHYA e DIVAKAR, 2004; SCHERER e GODOY, 2009).

São ensaios que envolvem diferentes mecanismos do sistema de defesa antioxidante, desde a decomposição de peróxidos, avaliação do sequestro de radicais ou quelação de íons metálicos (PULIDO, BRAVO e SAURA-CALIXTO, 2000) até a medida da prevenção do dano oxidativo a biomoléculas, tais como proteínas ou DNA (MOURE *et al.*, 2001).

Alguns ensaios avaliam o sequestro de espécies radicalares estáveis pelos antioxidantes ou a eficácia dos antioxidantes em remover radicais oxigênio gerados por sistema enzimático, a habilidade dos compostos antioxidantes para sequestrar radicais livres gerados no meio de reação, ou, ainda, a inibição da peroxidação lipídica, quantificando produtos tais como peróxidos lipídicos ou hidroperóxidos, dienos conjugados, produtos da decomposição de peróxidos lipídicos (PULIDO, BRAVO e SAURA-CALIXTO, 2000).

Os métodos mais citados na literatura são o Poder Antioxidante na Redução do Ferro (FRAP), DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrihidrazil), Atividade de Absorção de Radicais de Oxigênio (ORAC), ABTS [ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico] e Espectrometria de Ressonância de Spin de Elétrons (ESR) (KULKARNI, ARADHYA e DIVAKAR, 2004; LIMA, 2008).

1.3.2- Método pela captura do radical livre ABTS^{•+}

O método do radical ABTS consiste na produção deste radical a partir de seu precursor, o ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico (Figura 06). É um composto cromóforo, quimicamente estável e com alta solubilidade em água (MILLER *et al.*, 1993).

Pode ser usado para soluções com diferentes valores de pH, bem como para o estudo da influência do pH nos mecanismos antioxidantes. É solúvel em solventes aquosos e orgânicos e não é afetado por força iônica, podendo ser utilizado na determinação da

capacidade antioxidante de extratos e fluidos corpóreos, hidrofílicos e lipofílicos, o que lhe confere vantagem em relação a outros métodos, e tem sido aplicado em alimentos, vinhos e cervejas, além de amostras biológicas (SCALFI *et al.*, 2000; MAZZA *et al.*, 2002; AWIKA *et al.*, 2003).

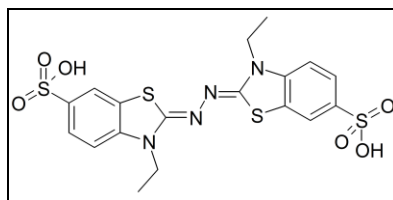


Figura 06. Representação esquemática da estrutura química do radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$.

O radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$ pode ser gerado quimicamente, utilizando dióxido de magnésio ou persulfato de potássio; enzimaticamente, a partir de mioglobina e peroxidase de couve; ou ainda, eletronicamente (MILLER *et al.*, 1993).

O sistema ABTS/mioglobina/ H_2O_2 , também conhecido como método TAA (*Total Activity Method*) ou método de Rice-Evans, é o método de avaliação de atividade antioxidante mais conhecido (MILLER *et al.*, 1993). Contudo, o método original apresentou alguns inconvenientes, como a necessidade de purificação da enzima metamioglobina e controle da temperatura (37°C) da reação, além da interferência de alimentos que contenham atividade de peroxidase (HENRIQUES, ALIAGA e LISI, 2002).

Diante disso, foram desenvolvidos novos métodos de geração do radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$, como a partir da oxidação do sal por persulfato de potássio, cuja reação ocorre na ausência de luz, durante 12 a 16 horas. Neste caso, a energia de ativação requerida é muito baixa e a reação começa imediatamente, mas não alcança um máximo de absorvância até o período de 6 horas. O ABTS reage, estequiometricamente, com o persulfato de potássio na relação 1:0,5 (HENRIQUES, ALIAGA e LISI, 2002).

Após ter sido gerado, o radical deve ser diluído em etanol até atingir leitura de 0,70 (\pm 0,02) (RE *et al.*, 1999). A amostra a ser analisada deve ser adicionada ao radical e mede-se a absorvância a 734 nm. Este método tem sido muito aplicado a amostras biológicas (plasma), carotenóides e compostos fenólicos (PANNALA *et al.*, 2001).

1.3.3- Método do sequestro do radical DPPH

O método do radical DPPH \cdot consiste em determinar a capacidade de captura do radical livre 2,2-difenil-1-picrihidrazil (Figura 07) pelos compostos antioxidantes. Na presença de compostos com atividade antioxidante, ocorre uma diminuição da absorvância, proporcional a concentração e a atividade antioxidante da amostra (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSSET, 1995).

Para essa análise utiliza-se uma solução metanólica de DPPH, que absorve no comprimento de onda próximo de 517nm e, a medida que seu elétron deixa de ser desemparelhado, a absorção decresce ocorrendo a mudança de coloração frente às moléculas antioxidantes testadas (DI MAMBRO, MARQUELE e FONSECA, 2005).

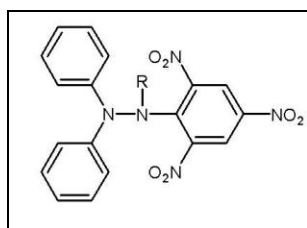


Figura 07. Representação esquemática da estrutura química do radical DPPH \cdot .

Dentre as vantagens do método, destaca-se o fato do radical livre ser estável e estar disponível comercialmente, o que evita sua geração por distintas formas (como ocorre com o método ABTS), facilitando o seu uso (LIMA, 2008).

Entretanto, este método é considerado limitado por algumas razões, como o pH do meio reacional, que é em torno de 5,5, sendo diferente do pH fisiológico, dificultando assim a

sua utilização em avaliações *in vivo*. Além disso, o radical DPPH \cdot pode interagir com outros radicais, como o alquil, e a curva resposta/tempo para atingir o platô (estado constante) não é linear com diferentes proporções de antioxidante/DPPH (FRANKEL e MEYER, 2000; DIMAMBRO, MARQUELE e FONSECA, 2005).

As concentrações iniciais de DPPH \cdot utilizadas têm sido muito variáveis: 0,025 g/l e 0,415 g/l. Também tem variado o tempo de reação: tempo fixo de 30 minutos ou o tempo que leva para alcançar o estado de equilíbrio. Além disso, na literatura consultada, observou-se características comuns como o emprego de solventes (metanol e etanol) e o monitoramento da cinética da reação (BONDET, BRAND-WILLIAMS e BERSET, 1997).

Entre as diferentes maneiras de expressão dos resultados, alguns autores mencionam que o parâmetro mais adequado para tal é o EC₅₀, definido como a quantidade de antioxidante requerida para um decréscimo de 50% na concentração inicial do radical DPPH \cdot . Mesmo que o cálculo seja mais elaborado, este parâmetro independe da concentração da amostra e é amplamente utilizado para comparar amostras com diferentes propriedades antioxidantes (LOCATELLI *et al.*, 2009).

Segundo Sawai *et al.* (2005) o método DPPH \cdot tem sido muito empregado na análise de mecanismos de reação dos compostos fenólicos com radicais livres. Alguns compostos reagem rapidamente com o DPPH \cdot , reduzindo um número de moléculas igual ao número de grupos OH disponíveis, formando as orto quinonas correspondentes (BONDET, BRAND-WILLIAMS e BERSET, 1997).

1.3.4- Método ORAC (Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio)

Cao e Prior (1999) desenvolveram o método da Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio, baseando-se em estudos prévios realizados por de Ghiselli *et al.* (1995) e Glazer (1990). Este método consiste no decaimento da fluorescência das proteínas utilizadas, ficobiliproteínas β -ficoeritrinas ou R – ficoeritrina, como consequência a perda da

conformação ao sofrer dano oxidativo. Estas são altamente fluorescentes e contêm um pigmento vermelho fotorreceptor (34 grupos prostéticos tetrapirrólicos unidos covalentemente), e derivam de espécies de algas roxas e cianobactérias (PRIOR e CAO, 1999).

Neste caso, utiliza-se a peroxila como radical livre, espécie reativa de oxigênio biologicamente mais importante, por sua abundância e por ser responsável pelo dano oxidativo (ANTOLOVICH *et al.*, 2002). Como fonte desses radicais, utiliza-se o AAPH [2,2-azobis(2-amidinopropano) diidrocloreto], que os gera após sofrer decomposição espontânea acima de determinada temperatura.

Contudo, esta metodologia foi modificada após alguns anos. Ou *et al.* (2001) substituíram a ficoeritrina pela fluoresceína, um marcador fluorescente mais estável, que é fotoestável e termoestável.

Os radicais peroxila presentes no meio diminuem a fluorescência da ficoeritrina e/ou fluoresceína. O antioxidante adicionado reage rapidamente com os radicais, doando átomos de hidrogênio e inibindo a perda da intensidade da fluorescência. Essa inibição é proporcional à atividade antioxidante (WU *et al.*, 2004). Este decaimento não segue uma cinética de ordem zero (linear com o tempo), mas sim exponencial com o tempo, e para a quantificação se utiliza a técnica da área sob a curva de decaimento (AUC) (CAO e PRIOR, 1999).

O antioxidante padrão utilizado é o trolox e os resultados expressos em equivalente de trolox (número de μ moles de trolox que produz a mesma atividade correspondente a 1 mg de amostra).

Este método tem sido empregado para medir a capacidade antioxidante de compostos puros, como a melatonina e flavonóides; em fluidos biológicos, como o soro, a urina e o plasma (CAO e PRIOR, 1999); em produtos naturais, como frutas e demais vegetais; e em produtos industrializados, como vinhos e chás (PRIOR e CAO, 1999; WU *et al.*, 2004).

1.4- Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são uma classe extensa de antioxidantes, sendo caracterizada pela presença de, pelo menos, um anel aromático e de grupos substituintes (como hidroxilas e carbonilas) presos à estrutura do anel (SROKA e CISOWSKI, 2003).

Estão presentes nos vegetais nas formas livre ou conjugada. São produtos do metabolismo secundário dos vegetais, e sabe-se que além de desempenharem funções de proteção, em decorrência da propriedade antioxidante, contribuem para conferir qualidades sensoriais de vegetais como cor e adstringência (BORGUINI, 2006).

Zulueta *et al.* (2007) também afirmaram que é importante determinar o conteúdo total de fenólicos, a fim de se avaliar o possível efeito sinérgico ou antagônico sobre a sua contribuição na capacidade antioxidante total.

Historicamente, foram classificados como antinutrientes, como por exemplo, os taninos, que demonstraram efeitos adversos no metabolismo humano. Porém, o reconhecimento das propriedades destes fenólicos tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas que visem identificar os seus benefícios potenciais à saúde (KAUR e KAPOOR, 2001).

De maneira geral, os compostos fenólicos são multifuncionais como antioxidantes, pois sua bioatividade atua de diversas formas: combatendo os radicais livres, pela doação de um átomo de hidrogênio de um grupo hidroxila (OH) da sua estrutura aromática; quelando metais de transição, como o Fe^{2+} e o Cu^+ ; interrompendo a reação de propagação dos radicais livres na oxidação lipídica; modificando o potencial redox do meio e reparando a lesão em moléculas atacadas por radicais livres (PODSEDEK, 2007; KYUNGMI e EBELER, 2008). Também bloqueiam a ação de enzimas específicas que causam inflamação, modificam as

rotas metabólicas das prostaglandinas, inibem a agregação plaquetária e inibem a ativação de carcinógenos (LIU, 2005; VALKO *et al.*, 2007).

Vale ressaltar que uma substância polifenólica pode ser definida como antioxidante se preencher a duas condições, (1) quando encontra-se presente em baixa concentração relativa ao substrato a ser oxidado e este possa retardar ou prevenir a oxidação e (2) quando os radicais formados após a reação sejam estáveis (KAUR e KAPOOR, 2001).

A diversidade estrutural dos compostos fenólicos se deve a grande variedade de combinações que acontece na natureza e os compostos resultantes são denominados de polifenóis. Estas combinações fenólicas podem ser categorizadas em várias classes como mostradas na Tabela 1 (HARBORNE, 1989; HARBORNE, BAXTER e MOSS, 1999). Dentre elas, destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis como os mais comuns antioxidantes fenólicos de fonte natural.

Vale ressaltar que muitas pesquisas sobre a ação antioxidante dos alimentos têm como foco estes compostos (SOARES, 2002). No entanto, sua classificação varia entre alguns autores. Karakaya (2004), por exemplo, separa os compostos fenólicos em dois grandes grupos, os flavonóides e ácidos fenólicos (Figura 08).

Para a análise desses compostos, os métodos podem ser empregados na determinação de compostos fenólicos totais e na quantificação individual e/ou de um grupo ou classe de compostos fenólicos, sendo influenciados pela natureza do composto, método de extração empregado, tamanho da amostra, tempo e condições de estocagem, padrão utilizado e a presença de interferentes tais como ceras, gorduras, terpenos e clorofilas (MOURE *et al.*, 2001). Contudo, ainda não se desenvolveu um método eficiente para a extração de todos ou de uma classe específica presente nos alimentos.

Tabela 1. Classes de compostos fenólicos encontrados em material vegetal.

CLASSE
Fenólicos simples, benzoquinonas
Ácidos hidroxibenzóicos
Acetofenol, ácidos fenilacéticos
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides
Naftoquinonas
Xantonas
Estilbenos, antoquinonas
Flavonóides, isoflavonóides
Lignananas, neolignananas
Biflavonóides
Ligninas
Taninos condensados

(FONTE: KARAKAYA, 2004)

Por outro lado, a solubilidade dos fenólicos varia de acordo com a polaridade do solvente utilizado, seu grau de polimerização e suas interações com outros constituintes dos alimentos. Os solventes mais utilizados para a extração destes compostos são metanol, etanol, acetona, água, acetato de etila, propanol, dimetilformaldeído e suas combinações (NACZK e SHAHIDI, 2004).

Diversos métodos espectrofotométricos têm sido desenvolvidos para a quantificação de compostos fenólicos em alimentos. O mais utilizado pela comunidade científica é o método de *Folin-Ciocalteu*, que envolve a oxidação de fenóis por um reagente amarelo heteropoliácido de fosfomolibdato e fosfotungstênio (reagente de *Folin-Ciocalteu*) e a medida colorimétrica de um complexo azul Mo-W que se forma na reação em meio alcalino (SINGLETON, ORTHOFER e LAMUELA-RAVENTOS, 1999).

Diante do exposto, pode-se verificar que o fruto da cagaiteira é amplamente consumido na região do cerrado brasileiro tendo sido, ainda, pouco explorado comercialmente e reportado na literatura científica. Desta maneira, a sua caracterização e a avaliação da atividade antioxidante do fruto com e sem casca fazem-se necessárias bem como a presença de polifenóis envolvidos na sua composição, tendo em vista a viabilidade de introdução no mercado com conseqüente agregação de valor à matéria-prima regional.

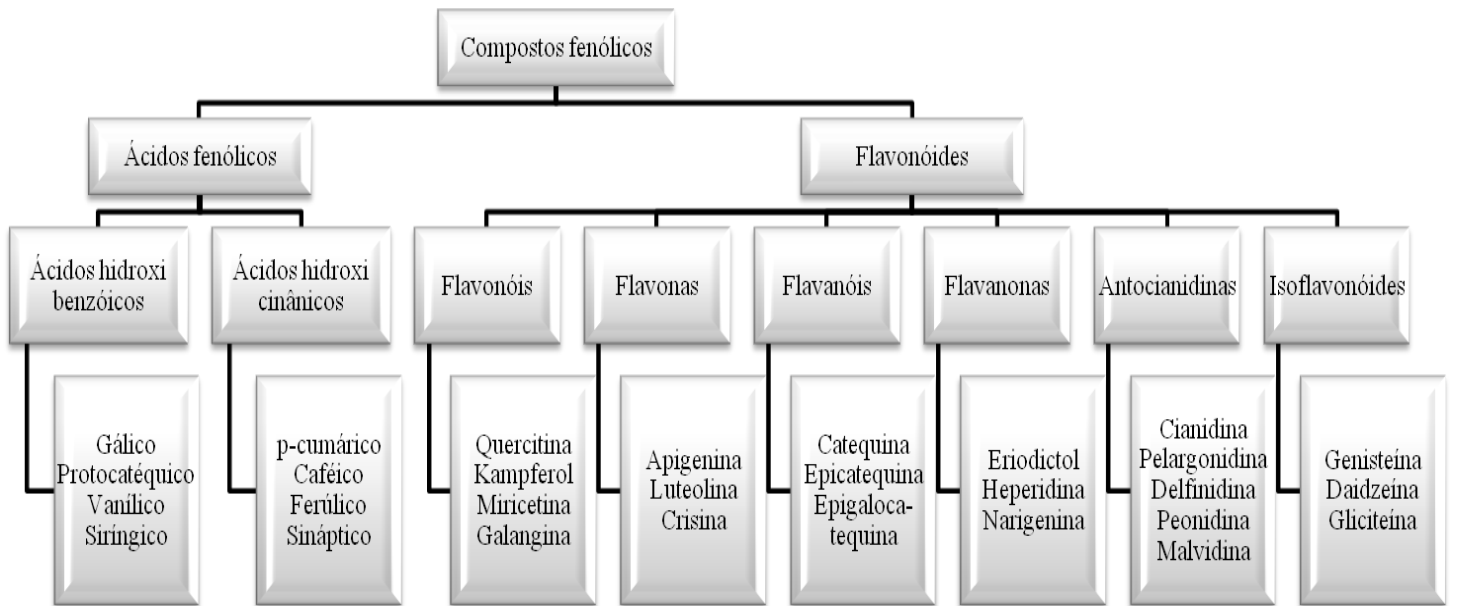


Figura 08. Fluxograma exemplificando os compostos fitoquímicos presentes em alimentos vegetais, com a classificação dos compostos polifenólicos (Karakaya, 2004).

2. OBJETIVOS

2.1- Geral:

Caracterizar a polpa do fruto da cagaita (*Eugenia dysenterica* DC), com e sem casca, quanto à sua composição química e física, atividade antioxidante e polifenóis totais.

2.2- Específicos:

- Obter polpas de cagaita com casca e sem casca;
- Determinar a composição química e física da polpa, com e sem casca, da cagaita, quanto ao pH, sólidos solúveis, ácido ascórbico, minerais, acidez titulável e composição centesimal das polpas obtidas;
- Determinar a atividade antioxidante da polpa, com e sem cascas, utilizando diferentes métodos;
- Determinar os polifenóis totais da polpa com e sem cascas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Matéria prima: foram utilizados frutos da cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) madura, produzidos por cultivo convencional. Os frutos foram colhidos, manualmente, nas safras dos anos de 2008/2009 na região Centro-Oeste do Brasil, em Damianópolis, estado de Goiás, armazenados em freezer a -15°C e remetidos ao município do Rio de Janeiro, estado do Rio de Janeiro.

3.2- Delineamento Estatístico dos Experimentos: os frutos foram divididos em 6 lotes contendo 60 unidades experimentais cada, sendo 3 lotes para o processamento da cagaita com casca (CCC) e os outros 3 processados sem a casca (CSC). De cada lote foram obtidas as polpas para a execução das análises, em triplicata.

3.3- Obtenção das polpas e rendimento: após descongelamento, os frutos foram processados nas vinte e quatro horas seguintes ao seu recebimento, no Laboratório de Tecnologia de Alimentos do Instituto de Nutrição da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Foram pesados, higienizados por imersão em água clorada a 100 ppm por 10 minutos e lavados em água corrente para a remoção de resíduos.

Após a retirada dos caroços, os frutos foram subdivididos em dois lotes: lotes do fruto de cagaita com casca (CCC), pesando 8,94 kg, triturados para obtenção da polpa, em multiprocessador (Konik, modelo Class 700, São Paulo, Brasil); e lotes do fruto de cagaita sem casca (CSC), pesando 9,01 kg, triturados e peneirados para a separação da polpa e cascas.

Para o cálculo do rendimento, foi realizada a pesagem dos dois lotes antes do processamento, retirada das sementes e casca, e após processamento. Os cálculos

foram feitos por regra de três, a partir do peso bruto de cada lote equivalente a 100% de rendimento.

As polpas provenientes dos dois lotes e diferentes tratamentos foram acondicionadas em recipientes de PVC, com capacidade para 150 ml, para as análises físicas e químicas, e armazenadas em freezer a -15°C , até a execução das análises e, em tubos do tipo Falcon, com capacidade para 50 ml, congeladas, imersas em balão de nitrogênio (temperatura -70°C) e liofilizadas (Labconco Lyophilizer, modelo 75223, Kansas City, Missouri, USA), para as análises da atividade antioxidante e polifenóis totais.

3.4- Análises Físicas e Químicas: as metodologias analíticas utilizadas foram aquelas preconizadas pela *Association of Official Analytical Chemists - A.O.A.C* (2005) e pelo Instituto Adolfo Lutz (2004), conforme descritas abaixo:

3.4.1- Composição Centesimal

A determinação da composição centesimal dos lotes CCC e CSC foram realizadas quanto a:

- Umidade: realizada gravimetricamente, até peso constante, da dessecação em estufa a 105°C . Pesou-se 5,0 g de amostra em cápsula contendo camada de areia. O resíduo obtido foi reservado para a extração de lipídeos (AOAC, 2005);
- Teor de proteínas totais: determinado pelo método de Kjeldahl e o teor de nitrogênio presente na amostra foi convertido em proteína multiplicando-se pelo fator de conversão 5,75 (AOAC, 2005);
- Teor de lipídios totais: determinado gravimetricamente, após extração com éter etílico, em aparelho de Soxhlet (AOAC, 2005);

- Resíduo mineral fixo (RMF): determinado pelo método gravimétrico, com base na perda de peso, por incineração em mufla a 550°C (AOAC, 2005);
- Glicídeos totais ou *nifext*: este teor foi obtido por diferença entre 100 e o somatório das determinações de umidade, proteínas, lipídeos e RMF. Considera-se glicídeos totais os componentes glicídeos da amostra mais fibras.

3.4.2- Determinação de pH: utilizou-se potenciômetro da marca METROHM 632, após calibração com tampões pH 4 e 7. Os resultados foram expressos em unidades de pH (AOAC, 2005).

3.4.3- Sólidos solúveis (°Brix): adicionou-se cerca de duas gotas de cada amostra em refratômetro de ABBÉ (marca Biobrix, modelo 2WAJ) com leitura direta a 20°C (Instituto Adolfo Lutz, 2004).

3.4.4- Acidez Titulável: pipetou-se 5 ml da amostra em frasco erlenmeyer e adicionou-se três gotas do indicador fenolftaleína. Em seguida, titulou-se com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N até aparecimento de coloração rósea persistente por, aproximadamente, 30 segundos (Instituto Adolfo Lutz, 2004).

3.4.5- Açúcares (glicose, frutose e sacarose): foram determinados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), em cromatógrafo Alliance, coluna WAT 044355 de fase reversa, grupamento amino, fase móvel 25:75 água Milli Q/acetoneitrila, na vazão de 1,0 ml/minuto, e detector de índice de refração W410.

Para o preparo das amostras foi pesado 1,0 g de polpa e, após a adição de 5 ml de água Milli Q, a alíquota foi colocada em banho com ultrassom por 20 minutos, adicionou-se 5 ml de acetoneitrila em balão volumétrico de 25 ml, este avolumado com água Milli Q. A seguir, a amostra foi filtrada em papel de filtro, acondicionada em frascos de vidro e mantidas em freezer a -18°C até injeção.

3.4.6- Minerais: realizada por digestão prévia das amostras por hidrólise ácida, por via úmida, com a adição de solução nitroperclórica (ácido nítrico:ácido perclórico), por aproximadamente 16 horas, em temperatura ambiente. Após a oxidação, as amostras foram aquecidas em bloco digestor, em capela de exaustão até fervura branda 100°C (\pm 2°C), durante 1 hora e, em seguida, mantidas por mais 2 horas a 170°C (\pm 2°C). Os tubos foram retirados do bloco digestor, em temperatura ambiente, e as amostras digeridas foram transferidas para balão volumétrico (25 ml) e seu volume completado com água Mili Q. Em seguida, realizou-se a determinação dos minerais por Espectrometria de Emissão Óptica (Spectro Analytical Instrument - Spectroflame P). A concentração dos micronutrientes foi calculada a partir de curvas de calibração com soluções-padrão contendo 0,25; 0,5; 1,0 e 1,5 ppm, respectivamente (AOAC, 2005).

3.4.7- Teor de vitamina C (ácido ascórbico): determinado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, em cromatógrafo Alliance, coluna Bio rad HPX87H – fase reversa, detector UV/visível, fase móvel ácido sulfúrico 0,1N, com vazão de 0,7ml/min.

O preparo da amostra foi realizado a partir de 2,5 g de polpa, diluída em ácido sulfúrico 0,1 N e levada ao ultrassom por 10 minutos. O volume foi completado com ácido sulfúrico 0,1 N, em balão volumétrico de 25 ml, e a solução filtrada em papel de filtro. A quantificação da vitamina C foi realizada a partir da injeção de uma solução padrão de ácido ascórbico na concentração de 20 μ g/ml.

3.5- Determinação da atividade antioxidante total:

Como mencionado anteriormente, para as determinações da atividade antioxidante e o conteúdo de compostos fenólicos totais, as amostras foram previamente liofilizadas. Estas foram armazenadas em dessecador, quando a análise foi realizada no dia subsequente, ou em freezer, a -15°C, sempre mantidas envolvidas em papel filme de PVC, até o momento das análises.

3.5.1- Método do sequestro do radical DPPH:

A medida da atividade sequestrante do radical DPPH[•] foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Wilams, Cuvelier e Berset (1995), com modificações. Tem por base a redução do radical estável 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH[•]), que ao fixar o H[•] (removido do antioxidante em estudo) leva a uma diminuição da absorbância.

Procedimento do ensaio:

Inicialmente, preparou-se solução na concentração de 1,0 mg/ml contendo amostra liofilizada (lotes CCC e CSC) diluída em metanol. A seguir, foram realizadas novas diluições obtendo-se soluções com concentrações finais de 25, 50 e 500 µg/ml. De cada diluição foi retirada uma alíquota de 2,5 ml, a qual foi transferida para cubeta de quartzo, e adicionou-se 1,0 ml da solução de DPPH 0,1M.

Nos ensaios em branco, ao invés do DPPH, adicionou-se apenas 1,0 ml de metanol às diluições nas mesmas concentrações das amostras e o controle negativo foi preparado apenas com 1,0 ml do radical DPPH e 2,5 ml de metanol.

A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro Thermo Scientific Evolution 60 (Madison, Wisconsin, USA) a 518 nm, no primeiro minuto e, de 5 em 5 minutos, durante um período de monitoramento de 30 minutos. O Trolox, análogo hidrossolúvel da vitamina E, foi utilizado como controle positivo, em razão da sua comprovada elevada capacidade antioxidante.

Todas as análises foram realizadas, em triplicata, e acompanhadas de um controle (sem antioxidante). A capacidade de sequestrar radicais livres foi calculada com base no decréscimo da absorbância observada e expressa como percentual de inibição de oxidação do radical, conforme fórmula.

$$AA \% = \frac{100 - [(Abs_{.AM} - Abs_{.BR}) \times 100]}{Abs_{.CN}}$$

Onde: [Abs._{AM}] = absorvância da solução da amostra;

[Abs._{BR}] = absorvância do ensaio em branco;

[Abs._{CN}] = absorvância do controle negativo.

O cálculo para o CE₅₀, que representa a concentração necessária para se obter 50% do efeito antioxidante máximo estimado em 100%, foi realizado por regressão linear (MENSOR *et al.*, 2001).

3.5.2- Método do sequestro do radical ABTS:

Foi utilizado o método descrito por Cano *et al.* (1998) e Re *et al.* (1999), modificado e atualizado por Villano *et al.* (2004), que consiste na produção do radical ABTS^{•+} a partir do ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico.

Procedimento do ensaio:

Inicialmente, preparou-se o radical ABTS^{•+} a partir da reação de 5,0 ml da solução estoque de ABTS com 88 µl da solução de persulfato de potássio. A mistura foi mantida no escuro, em temperatura ambiente, por 16 horas, aproximadamente. Em seguida, diluiu-se 1,0 ml desta mistura em álcool etílico até obter-se leitura de absorvância de 0,70 (± 0,05) a 734 nm.

A análise da atividade antioxidante foi realizada transferindo-se uma alíquota de 30 µl das diferentes diluições das amostras CCC e CSC (100, 500 e 1000 µg/ml) para cubeta de quartzo e em seguida adicionou-se 3,0 ml do radical ABTS^{•+}.

A leitura da absorvância foi realizada em espectrofotômetro Thermo Scientific Evolution 60 (Madison, Wisconsin, USA) a 734 nm, aos 15 segundos e, de 30 em 30 segundos, durante um período total de monitoramento de 6 minutos.

A partir das absorbâncias obtidas das diluições das amostras CCC e CSC determinou-se a equação da reta. Para calcular a atividade antioxidante total, substituiu-se na equação da reta a absorbância equivalente a 1000 μM do padrão Trolox. O valor obtido para o termo “x” corresponde à diluição da amostra (mg/l) equivalente a 1000 μM de Trolox, representado pelo cálculo a seguir:

$$Y = ax + b$$

Onde: y = absorbância correspondente a 1000 μM de Trolox;

x= diluição da amostra (mg/l) equivalente a 1000 μM de Trolox.

A partir do resultado encontrado (x) na equação acima foram realizados cálculos para a obtenção do resultado expresso em μM Trolox/g de amostra.

3.5.3- Ensaio da Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio (ORAC):

Utilizou-se o método descrito por Cao e Prior (1999), com modificações, que consiste na perda da fluorescência da fluoresceína após o emprego do AAPH como sistema gerador de radical livre.

Procedimento do ensaio:

Para a realização do ensaio, adicionou-se 150 μl de cada amostra (CCC e CSC), 150 μl de fluoresceína e 75 μl AAPH em uma cubeta de quartzo. As leituras foram realizadas, imediatamente, em espectrofluorímetro Hitachi modelo F-2500 (Pleasanton, California, USA) termostaticado. As fluorescências das amostras ($\zeta_{\text{excitação}}$: 490 nm e $\zeta_{\text{emissão}}$: 515 nm) foram determinadas a cada minuto, durante 30 minutos, até que a última leitura declinasse para menos de 5% em relação a primeira. Como padrão

utilizou-se o Trolox e, como branco, solução tampão (pH= 7,4), nas mesmas condições descritas para as amostras.

Todas as determinações foram realizadas em triplicata e as perdas de fluorescência das amostras e do Trolox foram correlacionadas ao controle e estabelecida a AUC para ambas as amostras e o Trolox. Os resultados foram expressos em valor ORAC relativo (equivalentes de Trolox), conforme indicado pelas equações (1) e (2) a seguir.

$$(1) AUC = 1 + f_1/f_0 + \dots + f_i/f_0 + f_{30}/f_0$$

Onde: f_0 é representado pela fluorescência obtida no tempo 0 e f_i a fluorescência obtida nos tempos intermediários entre 0 e 30 minutos

$$(2) \text{Valor ORAC relativo} = [(AUC_{\text{amostra}} - AUC_{\text{branco}}) / (AUC_{\text{TROLOX}} - AUC_{\text{branco}})] \times (\text{molaridade TROLOX} / \text{molaridade amostra})$$

3.6- Determinação dos compostos fenólicos totais:

Para a determinação de polifenóis totais empregou-se o método espectrofotométrico, utilizando o reagente de *Folin-Ciocalteu*, descrito por Swain e Hillis (1959), com modificações.

Foram preparadas soluções aquosas, a partir dos lotes CCC e CSC, nas concentrações de 250, 500 e 1000 µg/ml. Destas soluções, foram extraídas alíquotas e transferidas para tubos de ensaio. A seguir, foi adicionado aos tubos, o reagente de *Folin-Ciocalteu*, água destilada e solução de carbonato de cálcio (Na₂CO₃) a 10%, seguindo-se a homogeneização.

A absorbância foi medida a 740 nm, em espectrofotômetro Thermo Scientific Evolution 60. Os resultados do teor dos compostos fenólicos totais foram expressos em equivalentes de ácido gálico (mg EAG/100g).

3.7- Análise Estatística dos Resultados: a Análise de Variância ANOVA, em delineamento inteiramente casualizado, foi realizada para avaliar a presença de efeito significativo ($p < 0,05$) e foi aplicado o Teste de Duncan e o Mann-Whitney para determinar as diferenças entre as médias obtidas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1- Rendimento:

Durante o processamento dos lotes CCC e CSC foram realizadas as pesagens do fruto integral, casca, sementes e polpa para determinação do rendimento. Como esperado, o rendimento do lote CCC foi superior ao CSC, em virtude do cálculo ser feito sobre o peso do fruto integral (com casca), sendo de 85,17% e 56,11%, respectivamente.

Ambos foram superiores ao valor encontrado por Carvalho (2007), aproximadamente 55%, pesquisando frutos do Cerrado, entre eles a polpa de cagaita com casca.

Vallilo *et al.* (2005) analisaram diferentes frutos que pertencem a mesma família da cagaita (Myrtaceae), obtiveram resultados próximos, para o cambuci (88%), a pêra do campo (88,3%), a goiaba (86,07%) e a pitanga (90,47%).

4.2- Características físicas e químicas do fruto:

Os resultados encontrados para a determinação do pH, sólidos solúveis (°Brix) e acidez titulável podem ser observados na Tabela 02, tendo sido comparados aos padrões de identidade e qualidade para as polpas de fruta, estabelecidos na Instrução Normativa N° 1/2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2000).

Tabela 02. Resultados do pH, sólidos solúveis (°Brix) e acidez titulável das polpas de cagaita com casca (CCC) e sem casca (CSC).

Parâmetros	CSC	CCC
pH*	2,90 (DP ± 0,02) ^a	2,69 (DP ±0,05) ^b
Sólidos solúveis (°Brix)*	8,20° (DP ± 0,00) ^a	8,70° (DP ± 0,00) ^a
Acidez titulável (g/100ml)*	13,78 (DP ± 0,17) ^a	14,63 (DP ± 0,08) ^a

*Cada valor corresponde à média e ao ± desvio padrão, em triplicata (n = 3) / ^{a,b} Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (p < 0,05).

De acordo com os valores encontrados de pH nos lotes CSC e CCC, 2,90 e 2,69 respectivamente, foi possível classificar o fruto como ácido (BRASIL, 2000). Porém, houve diferença estatística entre as amostras, ao nível de 5% de significância, sendo o lote CCC mais ácido que o CSC, evidenciando que a casca apresenta compostos que lhe conferem maior acidez que a polpa.

Bagetti (2009) analisou diferentes cultivares de pitanga (*Eugenia uniflora* L.), que pertence à mesma família (Myrtaceae), tendo encontrado valores de pH próximos aos do presente estudo, variando de 2,88 a 3,38. Roesler *et al.* (2008) avaliaram o fruto da cagaita integral (polpa + casca) e encontraram resultado semelhante para esta variável, de 2,8. Por outro lado, Martins (2006) obteve resultado superior, de 3,58, no fruto de cagaita sem casca. Estes dois últimos resultados corroboram aqueles obtidos no presente estudo em que o fruto com casca é mais ácido que o fruto sem casca.

Vale salientar que o pH e a acidez titulável dependem do grau de maturação do fruto, bem como de seu estado de conservação pré análise (podem ocorrer processos fermentativos que irão reduzi-lo) podendo ocorrer variações nos resultados. Além disso, são fatores de reconhecida importância quando se analisa o nível de aceitação de um produto. Os ácidos orgânicos nas frutas encontram-se dissolvidos nos vacúolos das células, tanto na forma livre, como combinada, formando sais, ésteres e glicosídeos,

não só contribuindo para a acidez como também para o sabor e aroma característicos (CHITARRA e CHITARA, 1990).

O lote CCC apresentou 8,7 °Brix e o CSC 8,2 °Brix, evidenciando que este fruto não é muito doce, quando comparado à pitanga (*Eugenia uniflora* L.), cujos resultados na análise de polpas, em diferentes estádios de maturação, variaram de 12,96 a 14,97 °Brix (PIO *et al.*, 2005). Silva, Santos Júnior e Ferreira (2008) avaliaram o fruto da cagaita em diferentes estádios de maturação e, para o fruto maduro, o conteúdo de sólidos solúveis foi de 8,0 °Brix.

4.2.1- Composição centesimal:

Os resultados obtidos na determinação da composição centesimal de ambos os lotes estudados encontram-se na Tabela 03.

Tabela 03. Composição centesimal (base úmida) da polpa de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) sem casca (CSC) e com casca (CCC) em g/100g.

Parâmetros	Polpa da cagaita (CSC)	Polpa da cagaita (CCC)
Umidade *	90,08 (± 1,04) ^a	88,55 (± 0,98) ^a
Resíduo Mineral Fixo *	0,25 (± 0,04) ^a	0,33 (± 0,10) ^a
Proteínas *	1,85 (± 0,98) ^a	2,03 (± 0,10) ^a
Lipídeos *	0,20 (± 0,05) ^a	0,36 (± 0,05) ^b
Carboidratos **	7,62 ^a	8,73 ^a

* Cada valor corresponde à média e ao ± desvio padrão, em triplicata (n = 3) /
^{a,b} Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (p<0,05).

**Carboidratos por diferença - NIFEXT

Os resultados obtidos permitem afirmar que os frutos da cagaita, com e sem casca, são basicamente constituídos de carboidratos e água. Sendo o teor de umidade no lote CSC maior que o CCC, como esperado, em virtude deste último conter casca e

polpa e o outro ser essencialmente a polpa, que possui um maior conteúdo de água. O valor para o lote CSC foi de 90,08 g/100g do fruto e para o lote CCC foi de 88,55 g/100g, não ocorrendo diferença estatística ($p < 0,05$). A remoção da casca conduz a uma redução no teor de carboidratos tendo em vista que alguns nela permanecem após a extração do suco.

Valores semelhantes foram encontrados por diferentes autores que pesquisaram o fruto. Roesler *et al.*, (2008) avaliaram apenas a polpa, obtendo 89,71%; Silva, Santos Júnior e Ferreira (2008) pesquisaram o fruto em diferentes estádios de maturação contudo, os resultados para a umidade não diferiram estatisticamente, variando de 92,77 a 93,21 g/100g.

No estudo realizado por Martins (2006), o teor de carboidratos foi de 5,4 g/100g, inferior ao verificado neste estudo em ambos os lotes (CSC= 7,62 e CCC= 8,73 g/100g). Tal resultado pode ser em função da localização geográfica dos frutos analisados, temperatura, exposição ao sol, estágio de maturação, por exemplo, entre outros fatores.

Em relação ao teor de lipídeos, a cagaita apresentou baixos teores, podendo ser recomendada para uma dieta de baixa caloria. Os valores foram de 0,20 g/100g para o lote CSC e 0,36 g/100g para CCC, próximos aos verificados por Martins (2006) e Roesler *et al.* (2008), sendo 0,20% e 0,32%, respectivamente. Vale ressaltar que este parâmetro foi o único em que houve diferença estatística, em nível de 5% de significância, evidenciando um maior conteúdo de lipídeos na casca do fruto.

Vallilo *et al.* (2005), analisando outros frutos da família Myrtaceae, encontraram valores similares e inferiores em lipídeos, sendo de 0,23% na pitanga (*Eugenia uniflora L.*), 1,53% no cambuci (*Campomanesia phaea Berg.*), 0,80% na pêra do campo (*Eugenia klotzchiana O. Berg*) e de 0,54% na goiaba (*Psidium guajava*).

Os teores de proteínas foram baixos e, como esperado, mais elevados no fruto com a casca (2,03 g/100g) do que no fruto sem casca (1,85 g/100g). Alguns estudos realizados com o mesmo fruto encontraram valores semelhantes, sendo 2,09% no fruto integral (ROESLER *et al.*, 2008) e de 0,99% na polpa da cagaita (MARTINS, 2006).

Em um levantamento bibliográfico sobre a goiaba, Gutiérrez, Mitchell e Solis (2008 apud MEDINA e PAGANO, 2003) mencionaram valor inferior, em relação ao conteúdo de proteínas, ao do presente estudo, de 0,88%.

Diante dos resultados obtidos na determinação da composição centesimal, pode-se verificar que o fruto em estudo não é calórico, apresentando baixos teores de proteínas, carboidratos e, principalmente, lipídeos.

4.2.2- Açúcares (glicose, frutose e sacarose):

No Gráfico 01, encontram-se os teores de glicose, frutose e sacarose na polpa integral de cagaita com casca. Observou-se maior concentração em frutose (2,54 g/100 g \pm 0,05) e glicose (1,75 g/100g \pm 0,04) e valor bem reduzido em sacarose (0,59 g/100g \pm 0,05), provavelmente devido a amostra em estudo estar em estágio ótimo de maturação.

Os baixos valores de glicose, frutose e sacarose encontrados na cagaita demonstram que este fruto contém menos açúcares que a goiaba, por exemplo, sendo menos doce. Tal comparação pode ser comprovada pelo estudo realizado por Lee *et al.* (2010) que encontraram, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), valores superiores na polpa madura de goiaba, sendo 11,52 g/100 g de sacarose, 11,37 g/100 g de frutose e 5,12 g/100 g de glicose em relação à média da área dos picos.

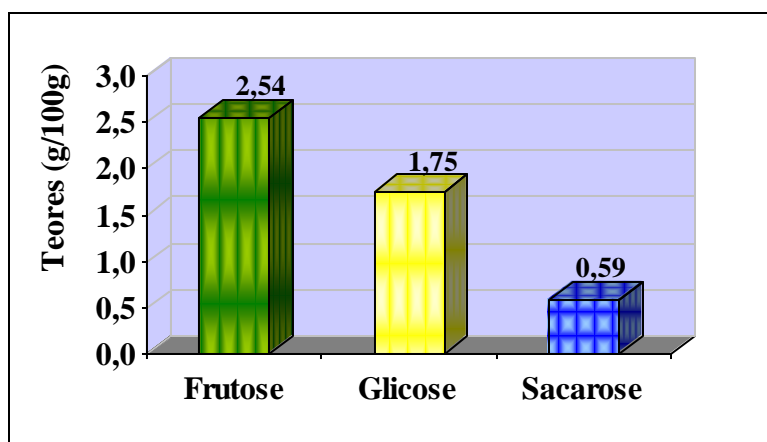


Gráfico 01. Teores de glicose, frutose e sacarose da polpa integral de cagaita com casca.

4.2.3- Minerais

Os resultados para o conteúdo de minerais presentes na polpa da cagaita podem ser visualizados na Tabela 04. Dentre os minerais, o mais abundante foi o potássio, com teor de 75,83 mg/100 g.

Tabela 04. Conteúdo de minerais presentes na polpa de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com casca.

Mineral	Teor em mg/100g	Mineral	Teor em mg/100g
Potássio	75,83 (\pm 0,43)	Alumínio	0,23 (\pm 0,06)
Fósforo	6,68 (\pm 0,14)	Zinco	0,23 (\pm 0,01)
Sódio	6,80 (\pm 0,13)	Manganês	0,13 (\pm 0,01)
Magnésio	5,92 (\pm 0,08)	Ferro	0,06 (\pm 0,01)
Cálcio	0,65 (\pm 0,08)	Cobre	0,01 (\pm 0,01)

Cada valor corresponde à média e ao \pm desvio padrão, em triplicata (n = 3)

Valores mais elevados de cálcio ($0,8 \text{ mg}/100\text{g} \pm 0,00$) e semelhantes aos de ferro ($0,04 \text{ mg}/100\text{g} \pm 0,01$) foram encontrados por Silva, Santos Junior e Ferreira (2008) na polpa de cagaita, porém não foi encontrado zinco.

Ao comparar os resultados encontrados para a cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com estudo realizado por Dembitsky *et al.* (2011), analisando diferentes frutos, pode-se verificar que a acerola (*Malpighia puniceifolia* Linn) contém quantidades inferiores de potássio (41 mg/100g), zinco (0,09 mg/100g) e manganês (0,7 mg/100g) e bem superiores de cálcio (41 mg/100g), ferro (37mg/100g) e magnésio (22 mg/100g).

Leternme *et al.* (2006), ao analisarem frutos de araçá-boi (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh), pertencente à mesma família e gênero da cagaita, encontraram valores próximos, sendo 78 mg/100g de potássio, 7 mg/100g de fósforo, 2 mg/100g de sódio e 9 mg/100g de magnésio.

Tais variações podem ser decorrentes das condições climáticas, tipo de solo e adição de adubos, por exemplo.

4.2.4- Teor de vitamina C (ácido ascórbico):

A média dos valores encontrados para vitamina C nas polpas integrais de cagaita foi de 56,66 mg/100g de polpa (DP \pm 3,53). Andrade *et al.* (2002) mencionam que as fontes desta vitamina são classificadas em diferentes níveis: fontes com altos teores contêm de 100 a 300 mg/100g, por exemplo: morango, goiaba e abacaxi; fontes médias contêm de 50 a 100 mg/100g, como laranja, limão e papaia, e fontes baixas contêm de 25 a 50mg/100g, como lima, pêra e manga. Portanto, a cagaita pode ser classificada como fonte média de vitamina C.

A ANVISA (1998) preconiza que para um alimento ser considerado “fonte” de determinada vitamina deve conter no mínimo de 15% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) de referência por 100g e “rico” no mínimo de 30% da IDR. Em virtude disso, pode-se considerar a cagaita como um alimento rico em vitamina C, em razão de seu aporte ser superior a 30% da IDR (US NATIONAL..., 2000).

Valente *et al.* (2011) avaliaram o conteúdo de ácido ascórbico em vinte e seis diferentes tipos de frutos exóticos, de espécies e famílias diferentes. Os resultados variaram de 1,42 a 117 mg/100g do fruto, sendo que aqueles que apresentaram valores similares aos da cagaita foram a goiaba (*Psidium guajava*) com 65,8 mg/100g, o kiwi (*Actinidia chinensis* Planch), cv. Hayward com 55,2 mg/100g, o mamão (*Carica papaya*), cv. Formosa com 64,2 mg/100g e a manga (*Mangifera indica* L.), cv. Palmer, com 40,9 mg/100g, entre outros.

4.3- Determinação da atividade antioxidante total:

4.3.1- Método do sequestro do radical DPPH:

Na avaliação da atividade antioxidante por este método, o radical livre DPPH[•] reage com o antioxidante, convertendo-se à sua forma reduzida. Nessa reação, a solução de DPPH, inicialmente de coloração violeta, tornou-se amarela; e o grau desta descoloração, monitorado através do decaimento da absorbância lida no espectrofotômetro, indicou a habilidade do antioxidante em sequestrar radical livre (Figura 09).

Neste estudo, avaliou-se a capacidade do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC), com e sem casca, em sequestrar os radicais DPPH[•] em distintas concentrações, de forma a obter uma curva entre o tempo e a descoloração do radical. O período de leitura das absorbâncias foi realizado em intervalos de tempo de 5 minutos até que a reação atingisse um platô (valor constante) após 30 minutos.



Figura 9. Ilustração da descoloração do radical DPPH utilizando o fruto da cagaita como antioxidante.

Pode-se verificar, na Tabela 05 e no Gráfico 02, que os percentuais de descoloração do DPPH das polpas de cagaita nas concentrações de 25 e 50 $\mu\text{g/ml}$ são menores que a obtida com o padrão Trolox, nas mesmas concentrações. Contudo, na concentração de 500 $\mu\text{g/ml}$, a capacidade antioxidante das amostras foi semelhante, demonstrando uma boa atividade antioxidante do fruto em relação ao padrão. Vale salientar que não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre as amostras CCC e CSC, ao nível de 5% de significância.

Tabela 05. Capacidade antioxidante das polpas de cagaita, CCC (com casca) e CSC (sem casca), frente ao Trolox, no ensaio DPPH, em diferentes concentrações.

Concentração ($\mu\text{g/ml}$)	CCC (%) (\pm DP)	CSC (%) (\pm DP)	Trolox (%) (\pm DP)
25	24,20 (0,03) ^a	25,73 (0,06) ^a	92,16 (0,02) ^b
50	40,96 (0,02) ^a	33,95 (0,01) ^a	94,42 (0,04) ^b
500	98,33 (0,05) ^a	96,26 (0,03) ^a	99,98 (0,01) ^a
EC50	85,25	86,83	3,07

Cada valor corresponde a média e DP (desvio padrão), em triplicata ($n = 3$). ^a letras diferentes na mesma linha correspondem a diferença significativa ($p < 0,05$).

Avaliando a atividade antioxidante de nêsperas (*Eriobotrya japonica* Lindl.), casca e polpa, em diferentes concentrações, Ferreres *et al.* (2009) encontraram percentuais inferiores na concentração de 500 µg/ml, sendo, aproximadamente, 40% na casca e 15% na polpa, sendo o fruto considerado com boa capacidade antioxidante.

Kubola, Siriamornpun e Meeso (2011) determinaram, *in vitro*, a atividade antioxidante em 19 frutos silvestres. Deste grupo, 13 apresentaram uma percentagem de descoloração superior a 80%, como o jambolão (*Syzygium cumini* L.) e goiaba (*Psidium guajava* Linn.) pertencentes à família Myrtaceae.

Alothman, Bhat e Karim (2009) determinaram a capacidade antioxidante de frutas tropicais (goiaba, abacaxi e banana) utilizando diferentes solventes. Pode-se afirmar que os valores obtidos para os lotes CSC e CCC foram similares aos deste estudo, uma vez que os resultados variaram entre 12,7% e 94,6%. Contudo, independentemente do solvente utilizado, a maioria dos resultados (90%) encontraram-se dentro da faixa de 52,3 – 94,6%.

A utilização de parâmetros cinéticos pode fornecer uma compreensão mais aprofundada do comportamento dos antioxidantes, além de diferenciar o potencial antioxidante de diferentes constituintes.

De acordo com o Gráfico 02, pode-se verificar uma queda pronunciada nos primeiros cinco minutos, em razão da elevada quantidade de compostos antioxidantes disponíveis no meio. Após este tempo, a queda não foi tão acentuada, tendendo a linearidade. Os resultados mostram que o tempo de 30 minutos para a análise, gerou uma curva cinética estável da reação. Além disso, também demonstrou que o fruto em questão apresenta bom controle no sequestro de radicais livres, evitando uma queda progressiva ao longo do tempo.

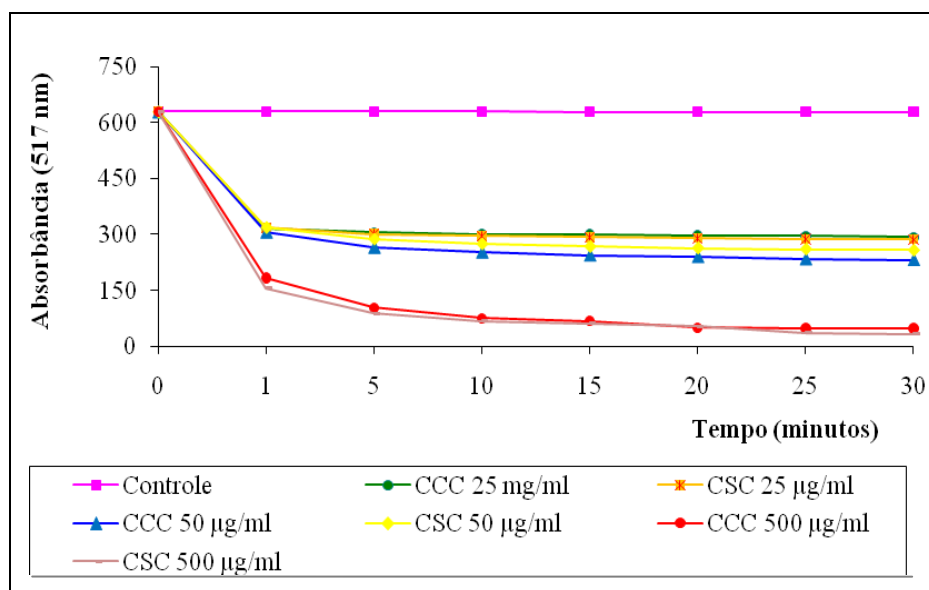


Gráfico 02. Representação gráfica da curva cinética da capacidade antioxidante das polpas CCC e CSC, frente ao Trolox, no ensaio DPPH.

4.3.2 - Método do sequestro do radical ABTS:

Neste método, a estabilidade do radical $ABTS^{+}$ depende da reação através da qual é gerado e do solvente no qual é dissolvido. Portanto, realizou-se o controle do radical gerado e utilizado neste ensaio. Observou-se que durante o tempo de 30 minutos, o radical manteve-se estável (Gráfico 03).

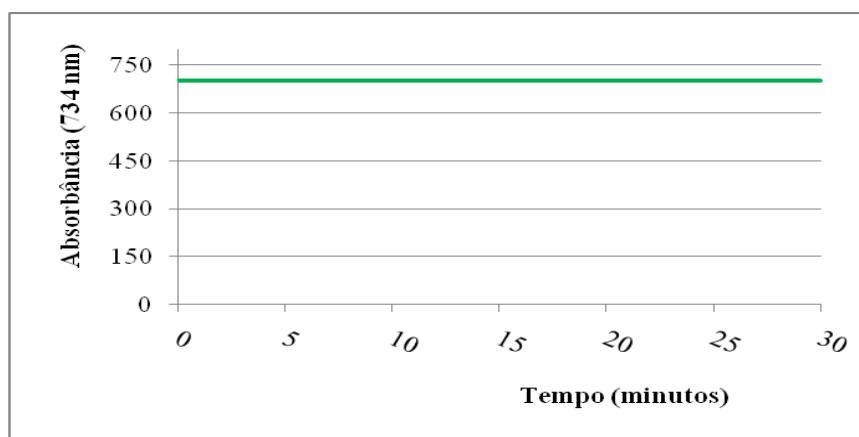


Gráfico 03. Estabilidade do radical $ABTS^{+}$ em função do tempo com o tempo de reação a 734 nm.

O tempo total de 30 minutos foi utilizado no presente trabalho como período de observação tendo em vista que inúmeros trabalhos reportam divergência quanto ao tempo de medida da reação, geralmente variando de 2 a 30 minutos. A maioria justifica que quanto mais rápido o antioxidante reagir com o radical, melhor será sua atividade antioxidante, visto que os radicais livres, no organismo, possuem meia vida muito curta (10^{-6} segundos) (MILLER *et al.*, 1993; RE *et al.*, 1999; OZGEN *et al.*, 2006; HERNÁNDEZ-GARCÍA *et al.*, 2010). No presente estudo, o período de leitura das absorbâncias foi em intervalos de seis minutos, até que a reação atingisse um platô.

A coloração do radical $ABTS^{+}$ é azul esverdeada e a sua descoloração pode ser visualizada na Figura 10.



Figura 10. Ilustração da descoloração do radical $ABTS^{+}$ utilizando o fruto da cagaita como antioxidante.

Na Tabela 06, são apresentados os valores médios das atividades antioxidantes obtidas pelo método do ABTS em função da curva obtida a partir de diferentes concentrações do padrão de Trolox.

Tabela 06. Capacidade antioxidante nos lotes CCC e CSC, frente ao Trolox, no ensaio ABTS.

Amostra	Atividade antioxidante total (μM Trolox/g de amostra)
CCC*	149,08 (\pm 0,06) ^a
CSC*	105,42 (\pm 0,08) ^b

*Cada valor corresponde a média e \pm ao desvio padrão, em triplicata (n = 3).

Resultados semelhantes aos dos percentuais encontrados na polpa da cagaita com e sem casca foram reportados por Vasco, Ruales e Kamal-Eldin (2008), nos frutos de maracujá, da espécie *Passiflora mollissima* L com, aproximadamente, 110 μM Trolox/g de amostra. Este mesmo estudo analisou outros frutos, como ameixa, morango, manga e goiaba, com aproximadamente 35, 20, 5 e 40 μM Trolox/g de amostra, respectivamente, porém estes últimos apresentaram valores inferiores na atividade antioxidante total, pelo método do ABTS.

No Gráfico 04, pode ser observada a curva cinética do potencial antioxidante da polpa de cagaita, com e sem casca, frente ao Trolox, no ensaio ABTS, observando-se um decaimento mais acentuado nos primeiros 30 segundos. Concomitantemente, pode-se observar a eficiência no sequestro do radical livre e comportamento semelhante, da descoloração do radical ABTS^+ , em ambos os lotes nas concentrações de 50 e 150 $\mu\text{g/l}$.

A consideração de parâmetros cinéticos por este método fornece uma compreensão mais aprofundada do comportamento dos antioxidantes. As diferenças no comportamento cinético dos radicais devem ser consideradas quando se comparam resultados de diferentes amostras e/ou métodos de sequestro do radical livre para determinar a capacidade antioxidante.

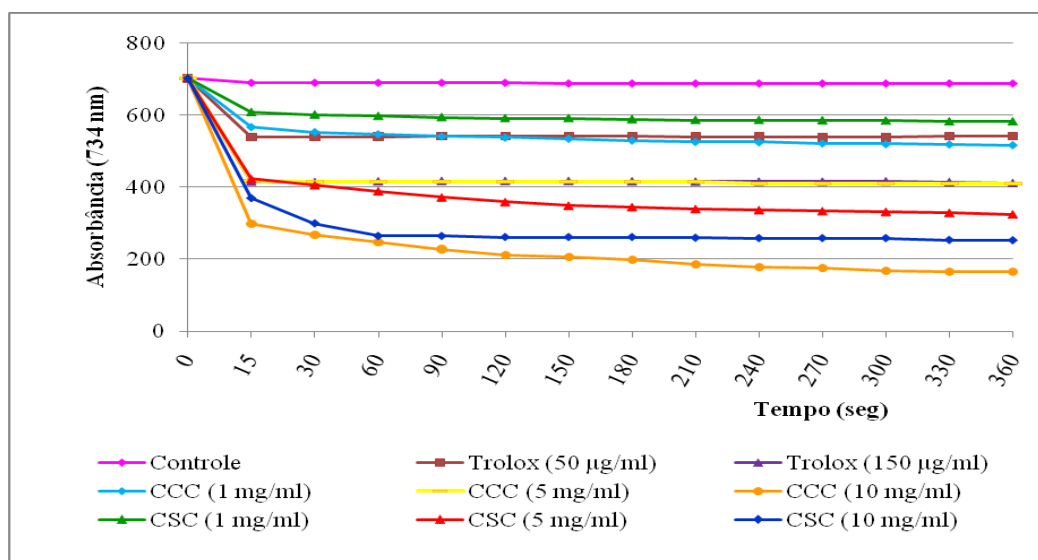


Gráfico 04. Representação gráfica da curva cinética da capacidade antioxidante das polpas CCC e CSC, frente ao Trolox, no ensaio ABTS.

4.3.3- Método Ensaio da Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio (ORAC):

Os resultados obtidos na determinação da capacidade antioxidante *in vitro* dos lotes CCC e CSC e do Trolox, avaliados no ensaio ORAC, encontram-se na Tabela 07. Pode-se verificar que houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os lotes CCC e CSC e o padrão Trolox. Esta diferença pode ser decorrente do maior conteúdo lipídico presente na casca do fruto (Tabela 03), como mostrado na análise da composição centesimal, e também porque o ensaio ORAC é capaz de avaliar o sequestro de compostos hidrofílicos e lipofílicos de maneira mais eficiente que os métodos anteriores.

Tabela 07. Capacidade antioxidante das polpas de cagaita CCC e CSC, frente ao Trolox, no ensaio ORAC.

Amostra	Valor ORAC (μM de Trolox/g)
Trolox	21,87 \pm 0,86 ^a
CCC	13,10 \pm 0,48 ^b
CSC	9,72 \pm 0,77 ^c

^{a, b, c} Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2007) publicou, como parte do Programa Nacional de Análise de Alimentos e Nutrientes, um estudo contendo dados sobre a capacidade antioxidante de uma seleção de 277 alimentos, utilizando o método ORAC. Dentre os alimentos avaliados, encontravam-se o *grapefruit* (15,48 μM de Trolox/g), goiaba vermelha (19,90 μM de Trolox/g), kiwi (12,10 μM de Trolox/g), uvas (11,18 μM de Trolox/g) e abacaxi (8,84 μM de Trolox/g), os quais apresentaram valores próximos aos encontrados nas polpas de cagaita, com e sem casca, avaliadas presente estudo.

Mais recentemente, Isabelle *et al.* (2010) avaliaram a capacidade antioxidante de 38 frutas, utilizando o ensaio ORAC, e encontraram valores semelhantes aos lotes CCC e CSC para os frutos: banana (*Musa paradisiaca* L.) – 9,77; kiwi (*Actinidia deliciosa*) – 8,97; manga (*Mangifera indica* L.) – 8,48 e toranja (*Citrus grandis* L. Osbeck) 10,76 μM de Trolox/g, respectivamente.

No Gráfico 05, podem ser observadas as curvas da cinética da reação da capacidade antioxidante da polpa cagaita no ensaio ORAC.

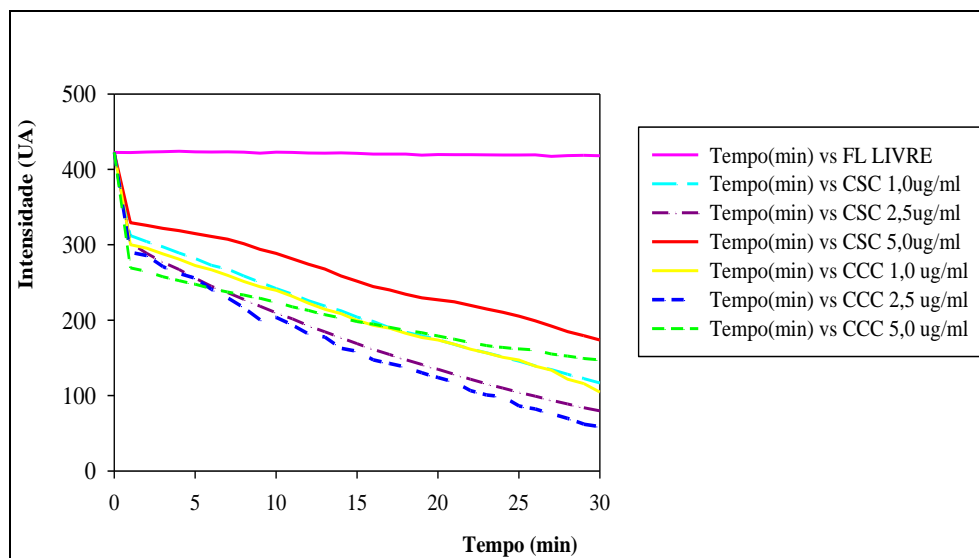


Gráfico 05. Representação gráfica da curva cinética da capacidade antioxidante das polpas CCC e CSC, no ensaio ORAC.

Em relação ao decaimento, ele é decorrente do ataque do radical livre na fluoresceína que deixa de emitir fluorescência no decorrer do tempo. Os antioxidantes presentes nas amostras tem função de proteger a fluoresceína contra esse ataque. Logo, quanto maior a área abaixo da curva de fluorescência (AUC), maior será o potencial antioxidante da fruta.

Pode-se verificar um maior decaimento nos 10 primeiros minutos, principalmente nos lotes CCC nas três concentrações utilizadas, evidenciando maior capacidade antioxidante que os lotes CSC.

Diante dos resultados obtidos, é possível conjecturar que há uma grande dificuldade tanto em comparar os resultados oriundos de diferentes métodos para se avaliar a capacidade antioxidante de um alimento, como corroborar com dados reportados na literatura científica. Essas dificuldades ocorrem em razão de diversos fatores, como a complexidade e diversidade dos compostos antioxidantes presentes no alimento, que diferem quanto a sua polaridade, solubilidade e composição, por exemplo; e as metodologias empregadas que diferem quanto ao solvente, radical

utilizado, mecanismo de reação, diferentes condições de análise e forma de expressão dos resultados.

4.4- Determinação dos compostos fenólicos totais:

Os conteúdos dos compostos fenólicos totais encontrados nas polpas de cagaita, com e sem casca, encontram-se na Tabela 08 e foram expressos como EAG (mg ácido gálico/g amostra).

Pode-se observa a curva de calibração do padrão ácido gálico no Gráfico 06, cuja equação da reta ($y = 0,0213x - 0,0928$) foi utilizada para o cálculo dos compostos fenólicos totais como equivalentes de ácido gálico (EAG) (mg AG/g de amostra) nas diferentes amostras. O coeficiente de determinação (R^2) entre X e Y no valor de 0,9967 comprovou a correlação positiva.

Tabela 08. Conteúdo de fenólicos totais das polpas de cagaita, com e sem casca, em mg/g de amostra (\pm desvio padrão).

Amostras	Polifenóis Totais (mg ácido gálico/g amostra)
CSC	9,01 (\pm 0,05)
CCC	10,51 (\pm 0,07)

*Cada valor corresponde a média e \pm ao desvio padrão, em triplicata (n = 3).

A Tabela 08 mostra que o teor de compostos fenólicos totais é elevado em ambas as amostras, sendo 9,01 mg/g amostra no lote de cagaita sem casca e 10,51 mg/g amostra para a cagaita com casca, não ocorrendo diferença estatística, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

A classificação do fruto da cagaita foi de acordo com Vasco, Ruales e Kamal-Eldin (2008), que avaliaram diferentes frutos e os dividiram em três grupos de acordo com o teor de compostos fenólicos (baixo, médio e alto). No grupo dos frutos com alto teor, encontra-se a *Passiflora mollissima* L, conhecido popularmente como maracujá, com 10,10 mg EAG/g de amostra. Com teores médios, destacaram-se a goiaba (*Psidium guajava* Linn.) com 4,62 mg EAG/g, a ameixa (*Prunus salicina* Lindl) com 4,40 mg EAG/g e cereja (*Prunus serotina* var. Capulí) com 3,31 mg EAG/g.

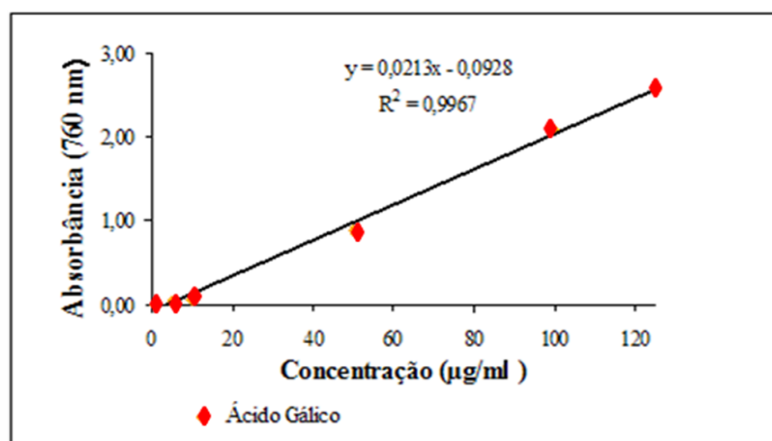


Gráfico 06 - Curva padrão de ácido gálico.

Kubola, Siriamornpun e Meeso (2011) avaliaram frutos silvestres de origem tailandesa e encontraram valores semelhantes no conteúdo de compostos fenólicos totais para a goiaba (*Psidium guajava* Linn.) (10,81 mg EAG /g de amostra) e inferiores para o jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) (4,97 mg EAG /g de amostra).

Ao comparar os resultados encontrados neste estudo com os citados acima, pode-se mencionar que o fruto da cagaita apresenta altos teores de compostos fenólicos.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, nas condições de execução das análises realizadas na presente dissertação, permitem concluir que:

- ✓ o fruto da cagaita, com e sem casca, apresentou bom rendimento, sendo superior o fruto com casca;
- ✓ de acordo com o pH e acidez titulável, o fruto pode ser considerado como ácido;
- ✓ quanto ao teor de sólidos solúveis, ficou evidenciado que o fruto da cagaita não é muito doce;
- ✓ os minerais predominantes foram o potássio, o fósforo e o magnésio;
- ✓ quanto ao teor de ácido ascórbico, o fruto da cagaita, com e sem casca, é rico, em função do seu aporte ser superior a 30% da IDR;
- ✓ em relação à composição centesimal, o fruto da cagaita, com e sem casca, é composto praticamente de água e carboidratos, além de apresentar baixo valor calórico;
- ✓ os três métodos utilizados para avaliar *in vitro* a capacidade antioxidante do fruto de cagaita com e sem casca forneceram resultados satisfatórios e promissores,

tendo o fruto com casca apresentado maior atividade antioxidante em todos os ensaios e o método ORAC demonstrou ser o mais eficiente;

- ✓ a capacidade antioxidante elevada do fruto é decorrente das substâncias bioativas presentes em altas quantidades, como compostos fenólicos e ácido ascórbico;
- ✓ o fruto apresentou ainda quantidades expressivas de compostos fenólicos, sendo mais elevadas nos frutos com casca.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como etapas do projeto de pesquisa não contempladas na presente dissertação, algumas ainda serão realizadas:

- ✓ Identificar e quantificar, por cromatografia líquida de alta eficiência, os compostos bioativos presentes no fruto além do ácido ascórbico;
- ✓ Estabelecer a correlação dos compostos bioativos com os ensaios que contribuem para a capacidade antioxidante;
- ✓ Identificar e quantificar, por cromatografia gasosa, os ácidos graxos presentes no fruto.

7. PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS E TECNOLÓGICAS

- ✓ O desenvolvimento desta pesquisa poderá contribuir agregando valor comercial à matéria prima, introduzindo-se novos produtos no mercado. E o beneficiamento desta fruta constitui-se numa atividade econômica bastante promissora, permitindo o desenvolvimento agroindustrial da região, elevando a qualidade de vida da população;
- ✓ A caracterização química deste fruto se torna importante para subsidiar outros estudos, principalmente o desenvolvimento de novos produtos com características físicas e químicas e sensoriais peculiares, com elevada capacidade antioxidante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, S. P. de. Frutas nativas do Cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa-CPAC, p. 247-285. 1998.
- ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A.A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. **Food Chemistry**, v. 115, p. 785–788. 2009.
- ALVES, G.L.; FRANCO, M.R.B. Headspace gas chromatography-mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich). **Journal of Chromatography A**, v. 985, p. 297-301, 2003.
- AMBROSIO, C. L. B.; CAMPOS, F. A. C. S.; FARO, Z. P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Rev. Nutr.** , v.19, n.2, p. 233-243, 2006.
- ANDRADE, R. S. G.; DINIZ, M. C. T.; NEVES, E. A.; NÓBREGA, J. A. Determinação e distribuição de ácido ascórbico em três frutos tropicais. **Eclética Química** (Araraquara), v. 27, p. 393-401, 2002.
- ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.D.; PATSALIDES, E.; McDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. **Analyst**, Letchworth, v.127, p.183-198, 2002.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria SVS/MS nº 27, de 13 de Janeiro de 1998. **Regulamento técnico referente à informação nutricional complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes)**. Diário Oficial da União, Brasília, Distrito Federal, 1998.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC International**. 18.ed. Washington, D.C., USA: AOAC International, 2005.
- AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W.; WU, X.; PRIOR, R. L.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 6657-6662, 2003.
- BAGETTI, M. Caracterização físico-química e capacidade antioxidante de pitanga (*Eugenia uniflora* L). Dissertação de Mestrado – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. 2009. 85p.
- BAUER, K. Tropical Fruit Flavors: A Flavorist’s Perspective. **Cereal Foods World**, v. 45, p. 204-207, 2000.
- BEZERRA, J. C. B.; SILVA, I.A.; FERREIRA, H.D; FERRI, P.H.; SANTOS, S.C. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Fitoterapia**, n. 73, p. 428-430, 2002.

- BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. **Lebensm-Wiss Technology**, v. 30, n. 6, p. 609-615, 1997.
- BORGUINI, R. G. **Avaliação do potencial antioxidante e de algumas características físico-químicas do tomate (*Lycopersicon esculentum*) orgânico em comparação ao convencional**. Tese de Doutorado - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, 2006. 178p.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technology**, v.28, n.1, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 01, de 07 de janeiro de 2000. **Aprova o Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta**. (revoga a Instrução Normativa n.12 de 10 de setembro de 1999). Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, Seção 1, p. 54. 2000.
- BRITO, M. A.; PEREIRA, E. B. C.; PEREIRA, A. V.; RIBEIRO, J. F. **Cagaita: biologia e manejo**. Planaltina. DF: Embrapa Cerrados. 80p, 2003.
- BUSCHBACHER, R. **Expansão agrícola e perda da biodiversidade no Cerrado: origens históricas e o papel do comércio internacional**. Brasília, DF: WWF Brasil, 2000. 104 p. (Série técnica 7).
- CAO, G.; PRIOR, R.L. Measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples. **Methods Enzymol.**, San Deigo, v.299, p.50-62, 1999.
- CANO, A.; HERNÁNDEZ-RUÍZ, J.; GARCIA-CÁNOVAS, F.; ACOSTA, M.; ARNAO, M. B. An End-point Method for Estimation of the Total Antioxidant Activity in Plant Material. **Phytochemical Analysis**, v. 9, p. 196–202, 1998.
- CARVALHO, I. S. H. **Potenciais e limitações do uso sustentável da biodiversidade do Cerrado: um estudo de caso da Cooperativa Grande Sertão no Norte de Minas**. Dissertação de Mestrado – Centro de Desenvolvimento Sustentável, Universidade de Brasília, 2007. 184p.
- CEVA-ANTUNES, P. M. N.; BIZZO, H. R.; ALVES, S. M.; ANTUNES, O. A. C. Analysis of Volatile Compounds of Tapereba (*Spondias mombin* L.) and Caja (*Spondias mombin* L.) by Simultaneous Distillation and Extraction (SDE) and Solid Phase Microextraction (SPME). **J. Agric. Food Chem**. Brasil, v. 51, p. 1387-1392, 2003.
- CHEUNG, L.M.; CHEUNG, P. C. K., OOI, V. E. C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**, v. 81, p. 249–255, 2003.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: Fundação de apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão, 1990.

- COSTA, T. R.; FERNANDES, O. F.L.; SANTOS, S. C.; OLIVEIRA, C. M. A.; LIÃO, L. M.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R.; FERREIRA, H. D.; SALES, B. H. N.; SILVA, M. R. R. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.7, p. 111-117, 2000.
- DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.
- DEMBITSKY, V. M.; POOVARODOM, S.; LEONTOWICZ, H.; LEONTOWICZ, M.; VEARASILP, S.; TRAKHTENBERG, S.; GORINSTEIN, S. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: biological activity and active metabolites. **Food Research International**. doi: 10.1016/j.foodres.2011.03.003.
- DI MAMBRO, V. M.; MARQUELE, F. D.; FONSECA, M. J. V. Avaliação *in vitro* da ação antioxidante em formulações antienvhecimento. **Cosmetics & Toiletries**, v. 17, n. 4, p. 74-78, 2005.
- DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: Novos Talentos, 2002.
- FERRERES, F.; GOMES, D.; VALENTÃO, P.; GONÇALVES, R.; PIO, R.; CHAGAS, E. A.; SEABRA, R. M.; ANDRADE, P. B. Improved loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars: Variation of phenolics and antioxidative potential. **Food Chemistry**, v. 114, p. 1019–1027, 2009.
- FKI, I.; ALLOUCHE, N.; SAYADI, S. The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 93, p. 197-204, 2005.
- FRANKEL, E.N.; MEYER, A.S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **J. Sci. Food Agric.**, v.80, p.1925-1941, 2000.
- GHISELLI, A.; SERAFINI, M.; MAIANI, G.; AZZINI, E.; FERRO-LUZZI, A. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. **Free Radical Biol. Med.**, v. 18, p.29-36, 1995.
- GLAZER, A. N. Phycoerythrin Fluorescence-Based Assay for Reactive Oxygen Species. **Methods Enzymol.** v.186, 161-168. 1990.
- GUTIÉRREZ, R. M. P.; MITCHELL, S.; SOLIS, R. V. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 117, p.1–27, 2008.
- HAN, J.; RHEE, K. S. Antioxidant properties of selected Oriental non-culinary/nutraceutical herb extracts as evaluated in raw and cooked meat. **Meat Science**, v. 70, p. 25–33, 2005.

- HARBORNE, J. B. General procedures and measurement of total phenolics. In: HARBORNE, J. B., editor. **Methods in plant biochemistry: volume 1. Plant phenolics**. London: Academic Press, p. 1-28. 1989.
- HARBORNE, J. B.; BAXTER, H.; MOSS, G. P. **Phytochemical dictionary: handbook of bioactive compounds from plants**. 2nd ed. London: Taylor & Francis; 1999.
- HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 52, p. 481-504, 2000.
- HENRIQUES, C.; ALIAGA, C.; LAJOLO, F. M. Formation and decay of the ABTS derived radical cation: a comparison of different preparations procedure. **International Journal of Chemical Kinetics**, v. 34, n. 12, p. 659-665, 2002.
- HERNÁNDEZ-GARCÍA, D.; WOOD, C. D.; CASTRO-OBREGÓN, S. e COVARRUBIAS, L. Reactive oxygen species: A radical role in development? **Free Radical Biology & Medicine**, v. 49, p. 130–143. 2010.
- IBGEa. **Mapa de Biomas e de Vegetação**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=169. Acesso em 19 de Agosto de 2009.
- IBGEb. **Mapa de Biomas**. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Cartas_e_Mapas/Mapas_Murais. Acesso em 19 de Agosto de 2009.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4 ed., São Paulo, IAL, 2004.
- ISABELLE, M.; LEE, B. L.; LIM, M. T.; KOH, W.-P.; HUANG, D.; ONG, C. N. Antioxidant activity and profiles of common fruits in Singapore. **Food Chemistry**, v. 123, n 1, p. 77-84, 2010.
- JARDINI, F. A. **Avaliação da atividade antioxidante da romã (*Punica granatum*, L) – participação das frações de ácidos fenólicos no processo de inibição da oxidação**. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2005. 129p.
- KARAKAYA, S. Bioavailability of Phenolic Compounds. **Critical reviews in food Science and Nutrition**, v.44, p.453-64, 2004.
- KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium’s health. **Int. J. Food Chem.**, n. 36, p. 703-725, 2001.
- KUBOLA, J.; SIRIAMORNPNUN, S.; MEESO, N. Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. **Food Chemistry**, v. 126, p. 972–981, 2011.

- KULKARNI, A. P.; ARADHYA, S. M. e DIVAKAR, S. Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit. **Food Chemistry**, n. 87, p. 551–557. 2004
- KYUNGMI, M.; EBELER, S. E. Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 96-104, 2008.
- LEE, S.; CHOI, H.-K.; CHO, S. K.; KIM, Y.-S. Metabolic analysis of guava (*Psidium guajava* L.) fruits at different ripening stages using different data-processing approaches. **Journal of Chromatography B**, v. 878, p. 2983–2988, 2010.
- LETERME, P.; BULDGEN, A.; ESTRADA, F.; LONDOÑO, A. M. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. **Food Chemistry**, v. 95, p. 644–652. 2006.
- LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense Cambi*)**. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2008. 219p.
- LIMA, C. F. **Cagaita**. Disponível em: <http://br.olhares.com/cagaita_foto3192794.html>. Acesso em: 10 de dez. 2009.
- LIU, F. Antioxidant activity of garlic acid from rose flowers in senescence accelerated mice. **Life Sciences**, v.77, p. 230-240, 2005.
- LOCATELLI, M.; GINDRO, R.; TRAVAGLIA, F.; COÏSSON, J-D.; RINALDI, M.; ARLORIO, M. Study of the DPPH⁻-scavenging activity: Development of a free software for the correct interpretation of data. **Food Chemistry**, v. 114, p.889–897, 2009.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. v. 2, 3. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2000.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMENEZ; L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.
- MARTINOTTO, C.; PAIVA, R.; SOARES, F. P.; SANTOS, B. R.; NOGUEIRA, R. C. Cagaiteira (*Eugenia dysenterica*, DC.). Lavras: MG. **Boletim Técnico**, n. 78, p. 1-21. 2008.
- MARTINS, B. A. **Avaliação Físico-Química de Frutos do Cerrado *in natura* e processados para a elaboração de multimisturas**. Dissertação de Mestrado - Programa de Mestrado em Ecologia e Produção Sustentável em Ecologia e Produção Sustentável, Universidade Católica de Goiás, 2006. 85p.
- MARTIUS, K. F. P. **Flora Brasiliensis, seu enumeratio plantarum in Brasilia tam sua sponte quam accedente cultura provenientium quas in itinere auspiciis**

Mazimiliani Josephi I. Bavariae Regis, annis 1817-1820. Stuttgartiae et Tubingae: Sumptibus J.G. Cottae, 1829.

- MAURY, C. M. **Biodiversidade brasileira: avaliação e identificação de áreas ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros.** MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE – MMA, DF. 2002. 404p.
- MAZZA, G.; KAY, C. D.; COTTRELL T.; HOLUB, B. J. Absorption of Anthocyanins from Blueberries and Serum Antioxidant Status in Human Subjects. **J. Agric. Food Chem.** v. 50, p. 7731-7737, 2002.
- MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytochemical Analysis**, v. 15, p. 127-130, 2001.
- MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science.** v. 84, p. 407-412. 1993.
- MITTERMEIER, R. A.; GIL, P. R.; HOFFMANN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, T.; MITTERMEIER, C. G.; LAMOUREX, J; FONSECA, G. A. B. **Hotspots revisited.** Conservation International. Cidade do Mexico: CEMEX, 2004.
- MOURE, A. CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NUNEZ, M. J.; PARAJO, J. C. Natural antioxidants from residual sources. [Food Chemistry](#), v.72, p. 145-171, 2001.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95-111, 2004.
- OLIVEIRA, A.; LOPES, R. B.; CABRAL, F. A.; EBERLIN, M. N. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, Brasil, v. 99, p. 1-5. 2006.
- OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p.4619-4626, 2001.
- OZGEN, M.; REESE, R. N.; TULLIO JR., A.; SCHEERENS, J. C.; MILLER, A. R. Modified 2,2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid (ABTS) Method to Measure Antioxidant Capacity of Selected Small Fruits and Comparison to Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Methods. **J. Agric. Food Chem.** v. 54, n. 1151-1157, 2006.
- OZYUREK, M.; GÜÇLÜ, K.; BEKTASOGLU, B.; APAK, R. Spectrophotometric determination of ascorbic acid by the modified CUPRAC method with extractive

separation of flavonoids–La(III) complexes. **Analytica Chimica Acta**, 588, p. 88–95, 2007.

- PANNALA, A.S.; CHAN, S.T.; O'BRIEN, J.P.; RICE-EVANS, A.C. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 282, n. 5, p.1161-1168, 2001.

- PINA, G. O. **Efeito alelopático do extrato aquoso foliar de *Eugenia dysenterica* DC, (Myrtaceae – cagaita) na germinação, crescimento e morfo-anatomia de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae – gergelim) e *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae – rabanete)**. Dissertação de Mestrado – Instituto de Ciências Biológicas. Universidade de Brasília. 2008.199p.

- PIO, R.; GONTIJO, T. C. A.; RAMOS, J. D.; CHALFUN, N. N. J. Características físico-químicas de frutos de pitangueira em função da altura de inserção na planta. **Rev. Bras. Agrociência**, v.11, n. 1, p. 105-107, jan-mar, 2005.

- PINTO, P. C. R. **Consumo alimentar de frutos do Cerrado, fontes de vitamina A, por moradoras de comunidades das cidades satélites do Distrito Federal**. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade de Brasília. 2006.108p.

- PIRES, M. O.; SANTOS, I.M. **Construindo o Cerrado Sustentável: Experiências e Contribuições das ONG's** – Brasília: Gráfica Nacional, 2000.147p.

- PODSEDEK, A. Natural antioxidants capacity of brassica vegetables: a review. **LWT: Journal of Food Composition and Analysis**, v. 40, p. 1-11, 2007.

- PRIOR, R.L.; CAO, G. *In vivo* total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radical Biol. Med.**, Orlando, v.27, n.11/12, p.1173-1181, 1999.

- PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.48, p.3396-3402, 2000.

- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.

- RIBEIRO, R. F. **Florestas anãs do sertão: o Cerrado na história de Minas Gerais**. Belo Horizonte: Autêntica. 480p., 2005.

- ROESLER, R.; CATHARINO, R. R.; MALTA, L. G.; EBERLIN, M. N.; PASTORE, G. Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 110, p. 711–717, 2008.

- SALLAM, K. I.; ISHIOBOROSHI, M.; SAMEJIMA, K. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v. 37, p. 849–855, 2004.
- SAWAI, Y.; MOON, J. H.; SAKATA, K.; WATANABE, N. Effects of Structure on Radical-Scavenging Abilities and Antioxidative Activities of Tea Polyphenols: NMR Analytical Approach Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radicals, **J. Agric. Food Chem.** v. 53, p. 3598-3604, 2005.
- SCALFI, L.; FOGLIANO, V.; PENTANGELO, A.; GRAZIANI, G.; GIORDANO, I. RITIENI, A. Antioxidant activity and general fruit characteristics in different ecotypes of *Corbarini* small tomatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1363–1366, 2000.
- SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, 112, p. 654–65, 2009.
- SILVA, J.A.; SILVA, D.B.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M. **Frutas nativas dos Cerrados**. Embrapa, Brasília. 1994.166 p.
- SILVA, M. R.; SANTOS JÚNIOR, R. T. O.; FERREIRA, C. C. C. Estabilidade da vitamina C em cagaita *in natura* e durante a estocagem da polpa e refresco. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, n. 1, p. 53-58, mar., 2008.
- SILVA, R. S. M.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V. Caracterização de frutos e árvores de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) no sudeste do estado de Goiás, Brasil. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal-SP; v.23, n.2, p. 330-334, 2001.
- SINGLETON V. L. ; ORTHOFER R. ; LAMUELA-RAVENTOS R. M. Analysis of Total Phenols and other Oxidation Substrates and Antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in enzymology**. San Diego, v. 299, p. 152-178, 1999.
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, jan./abr., 2002.
- SOUZA, E.R.B.; NAVES, R.V.; CARNEIRO, I.F; LEANDRO, W. M.; BORGES, J. D. Crescimento e sobrevivência de mudas de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC) nas condições do Cerrado; **Rev. Bras. Frutic.**, n. 24, v. 2, p. 491-495, 2002.
- SROKA, Z., CISOWSKI, W. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. **Food Chem.Toxicol.** Amsterdam, v. 41, p. 753-758, 2003.
- STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Molecular Aspects of Medicine**. v. 24, n. 6, p. 345-351, 2003.
- SWAIN, T.; HILLIS, W. T. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.10, p.135-144, 1959.

- US NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (USA). **Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids**. Washington DC: National Academy Press, 2000, 506p. (A report on the antioxidants and related compounds. Subcommittees on Upper Reference Intake Levels of Nutrients and Interpretation of Uses of Dietary Reference Intakes and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Food and Nutrition Board).
- USDA. United States Department of Agriculture. **Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) of Selected Foods – 2007**. Disponível em: <http://www.ars.usda.gov/sp2userfiles/place/12354500/data/orac/orac07.pdf>. Acesso em: 07 de Fevereiro de 2011.
- VALENTE, A.; ALBUQUERQUE, T. G.; SANCHES-SILVA, A.; COSTA, H. S. Ascorbic acid content in exotic fruits: A contribution to produce quality data for food composition databases. **Food Research International**, doi:10.1016/j.foodres.2011.02.012, 2011.
- VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p.44-84, 2007.
- VALLILO, M. I.; GARBELOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E.; LAMARDO, L. C. A. Características Físico-Químicas dos Frutos do Cambucieiro (*Camponesia phaea*). **Rev. Bras. Frutic.**, v. 27, n. 2, p. 241-4, 2005.
- VASCO, C.; RUALES, J. e KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816–823, 2008.
- VILLANO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S.; TRONCOSO, A. M.; GARCÍA-PARRILLA, M. C. The antioxidant activity of wines determined by the ABTS method: influence of sample dilution and time. **Atlanta**, v. 64, p. 501-509, 2004
- WILSON, J. X. Regulation of vitamin C transport. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 25, n. 1, p. 105-125, 2005.
- WU, X.; Beecher, G. R.; HOLDEN, J. M.; HAYTOWITZ, D. B.; GEBHARDT, S. E. E PRIOR, R. L. Lipophilic and Hydrophilic Antioxidant Capacities of Common Foods in the United States. **J. Agric. Food Chem.**, 52, 4026-4037, 2004.
- YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A.A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. **J. Agric. Food Chemistry**. Chicago: v. 49, p. 4083-4089, 2001.
- ZUCCHI, M.I.; BRONDANI, R.P.V. e PINHEIRO, J.B. Genetic structure and gene flow in *Eugenia dysenterica* DC in the Brazilian Cerrado utilizing SSR markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 4, p. 449-457, 2003.

- ZULUETA, A.; ESTEVE, M. J.; FRASQUET, I.; FRÍGOLA, A. Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain. **Food Chemistry**, v. 103, p. 1365–1374. 2007.