

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO SUPERIOR DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

BRUNA SCHOENBERGER TEIXEIRA

**CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, TEORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS,
VITAMINA C E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DA LARANJINHA-DE-PACU
(*Pouteria glomerata* (Miq.) Radlk.)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

APUCARANA
2015

BRUNA SCHOENBERGER TEIXEIRA

**CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, TEORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS,
VITAMINA C E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DA LARANJINHA-DE-PACU
(*Pouteria glomerata (Miq.) Radlk.*)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso superior de Licenciatura em Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito parcial para aprovação no de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientadora: Prof^a Dra. Lilian Tatiani Dusman Tonin

APUCARANA
2015

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Prof^a. Dra. Lilian Tatiani Dusman Tonin
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Orientador

Prof^o. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Membro

Prof^a. Dra. Graciana Freitas Palioto
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Membro

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as graças recebidas, pela proteção e pela vida.

A minha mãe, mulher única, que com todo seu esforço me permitiu completar mais essa etapa. A você mami dedico tudo que aprendi, obrigada pelo apoio, carinho, conselhos, broncas e principalmente por todo amor que me oferece mesmo quando não mereço. De todos os ensinamentos, de todos os professores, você é a que mais me ensinou. Nada sou sem você!

Ao meu querido pai, o químico mais importante da minha vida, que se foi logo, mas que sempre esteve em meu coração e pensamento.

A minha família, em especial a minha tia Iza, que estiveram presentes ao longo de todo curso e que foram pacientes, principalmente com o meu conhecido mau humor rotineiro. Amo muito vocês.

A Manoela que cuidou de mim, foi paciente e me ofereceu todo apoio e carinho necessário para acreditar que seria possível chegar até aqui. Obrigada por estar sempre por perto.

A minha orientadora Lilian, eterna prof, amiga, conselheira e mãe. Sua doçura e sinceridade foram determinantes para que eu estivesse sempre por perto, fiel a todos os desafios propostos. Você me tornou química, professora e não me deixou esquecer que enquanto aluna, meu dever principal é estudar, mas sem deixar de viver. Nunca me esquecerei de todos os ensinamentos e oportunidades, espero te ter sempre por perto.

A todos os meus professores, em especial a professora Alessandra e ao professor Ivan, por todos os conselhos, ensinamentos e principalmente por todo carinho. A Bruna A., Angélica, Jéssica M., Jeniffer, Bruna F. e Jéssica que se mostraram companheiras, amigas e confidentes. Aos meus amigos Caio, Lucas, Bruno, Washington e Orivaldo que estiveram sempre por perto dando apoio e compartilhando as dificuldades do curso e da vida. E por fim, a todos os membros da universidade que direta ou indiretamente contribuíram com a minha formação.

Mesmo quando tudo pede
Um pouco mais de calma
Até quando o corpo pede
Um pouco mais de alma
A vida não para...

(Dudu Falcão e Lenine)

RESUMO

TEIXEIRA, Bruna Schoenberger. Características químicas, teores de compostos bioativos, vitamina C e capacidade antioxidante da laranjinha-de-pacu (*Pouteria glomerata* (Miq.) Radlk.). 2015. 53 p. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2015.

Existe uma diversidade muito grande de frutas encontradas no Brasil que ainda não foram estudadas. Sendo assim, tornam-se necessários estudos que determinem a qualidade nutricional de espécies pouco conhecidas. A laranjinha-de-pacu, espécie *Pouteria glomerata* (Miq.) Radlk., é um fruto comestível de odor adocicado, com sabor azedo acentuado e pouca percepção de açúcar, utilizado no preparo de sucos, doces, sorvetes e como alimento de peixe (isca). O presente trabalho teve como objetivo determinar as características químicas (acidez titulável e pH), compostos bioativos (antocianinas, vitamina C, carotenoides, flavonoides amarelos, flavonoides totais e fenólicos totais) e a capacidade antioxidante da polpa da laranjinha-de-pacu. Os frutos coletados no Município de Rosana – SP foram separados em casca e polpa e os estudos foram dirigidos com a polpa. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Diferentes extratos (aquoso, etanólico, metanólico e metanol-acetona) foram preparados para determinação dos compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante pelos métodos de sequestro dos radicais livres DPPH[·] e ABTS[·]. A acidez titulável e pH da fruta, indicaram seu potencial de consumo e industrialização quando comparada a outras frutas do bioma brasileiro. Os teores de compostos bioativos, encontrados por este estudo, demonstraram que a laranjinha de pacu pode ser considerada fonte de vitamina C e de compostos naturais que apresentam atividade antioxidante elevada, afirmando a qualidade nutricional da fruta. Para os compostos fenólicos e flavonoides totais, quando analisada a influência dos extratos, os melhores solventes extratores de compostos fenólicos foram metanol-acetona (49,58 mg EAG 100g⁻¹) e etanol (38,55 mg EAG 100g⁻¹), para flavonoides totais não observou-se diferença significativa entre os extratos. Quando analisada a influência dos extratos, para atividade antioxidante, os melhores solventes extratores para o método de sequestro do radical livre DPPH[·] foram etanol (98,65%) e metanol (94,62%), enquanto que para o método do radical ABTS[·], os melhores solventes extratores foram os metanol (97,61%) e água (97,63%).

Palavras-chave: *Pouteria glomerata* (Miq.) Radlk. Vitamina C. Compostos Fenólicos. DPPH. ABTS.

ABSTRACT

TEIXEIRA, Bruna Schoenberger. Chemical Characteristics, Bioactive Compounds Levels, Vitamin C and Antioxidante Capacity of Laranjinha-de-Pacu (*Pouteria glomerata* (Miq.) Radlk.). 2015. 53 p. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Apucarana, 2015.

There is a diversity very large fruit found in Brazil que still have not been studied. Therefore, studies are necessary in order to determine the nutritional quality of species little Known. The laranjinha-of-pacu, species *Pouteria glomerata* (Miq.) Radlk., is an edible fruit sweet odor, with sharp sour taste and little perception of sugar, used in the preparation of juices, sweets , ice cream and as fish food (bait). This study aimed to determine the chemical characteristics (acidity and pH), bioactive compounds (anthocyanins, vitamin C, carotenoids, flavonoids yellow, total flavonoids and phenolic) and the antioxidant capacity of the pulp laranjinha-of-pacu. The fruits collected in the municipality of Rosana - SP were separated into peel and pulp and studies were directed to the pulp. All analyzes were performed in triplicate. Different extracts (aqueous, ethanol, methanol and methanol-acetone) were prepared to determine the total phenolic compounds, total flavonoids and antioxidant activity by kidnapping methods of DPPH· free radicals and ABTS·. The titratable acidity and pH of the fruit, showed their potential consumption and industrialization when compared to other fruits of the biome. The levels of bioactive compounds found from this study demonstrated that laranjinha-of-pacu can be considered a source of vitamin C and natural compounds which have high antioxidant activity, stating the nutritional quality of the fruit. For total flavonoids and phenolic compounds when analyzed the influence of the extracts, the best phenolic compounds extractor solvents were methanol-acetone (49.58 mg EAG 100 g⁻¹) and ethanol (38.55 mg GAE 100 g⁻¹) to flavonoids total did not observe a significant difference between the extracts. When analyzed the influence of the extracts for antioxidant activity, the best extracting solvent for the kidnapping method of free radical DPPH· they were ethanol (98.65%) and methanol (94.62%), while for the method of ABTS· radical, best extractor solvents were methanol (97.61%) and water (97.63%).

Keywords: *Pouteria glomerata* (Miq.) Radlk. Vitamin C. Phenolic compounds. DPPH. ABTS.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 10 |
| 2 OBJETIVOS | 11 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL..... | 11 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 11 |
| 3 REFERENCIAL TEÓRICO | 12 |
| 3.1 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE FRUTOS | 12 |
| 3.2 ANTIOXIDANTES..... | 12 |
| 3.3. COMPOSTOS BIOATIVOS | 14 |
| 3.3.1 Compostos Fenólicos..... | 14 |
| 3.3.1.1 Flavonoides | 15 |
| 3.3.1.2 Antocianinas..... | 16 |
| 3.3.2 Carotenoides | 18 |
| 3.3.3 Ácido Ascórbico..... | 18 |
| 3.4 LARANJINHA-DE-PACU..... | 20 |
| 4 METODOLOGIA | 22 |
| 4.1FRUTOS..... | 22 |
| 4.2 PREPARO DOS EXTRATOS..... | 22 |
| 4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA | 23 |
| 4.3.1 Acidez Total Titulável | 23 |
| 4.3.2 pH..... | 24 |
| 4.4 COMPOSTOS BIOATIVOS..... | 24 |
| 4.4.1 Antocianinas e Flavonoides Amarelos..... | 24 |
| 4.4.2 Ácido Ascórbico..... | 25 |
| 4.4.3 Carotenoides | 26 |
| 4.4.4 Fenóis Totais..... | 27 |
| 4.4.5 Flavonoides Totais | 28 |
| 4.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE | 29 |
| 4.5.1 Método do Sequestro do Radical livre DPPH' | 29 |
| 4.5.2 Método do Sequestro do Radical ABTS' | 31 |

| | |
|--|-----------|
| 4.6 Análise Estatística | 32 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 33 |
| 5.1 Características Químicas | 33 |
| 5.2 Compostos Bioativos..... | 34 |
| 5.3 Atividade Antioxidante | 37 |
| 5.3.1 Método do Sequestro do Radical livre DPPH· | 37 |
| 5.3.2 Método do Sequestro do Radical ABTS· | 40 |
| 6 CONCLUSÃO | 43 |
| REFERÊNCIAS..... | 44 |

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a pesquisa em alimentos produziu diversos estudos que comprovam os benefícios para a saúde, decorrentes do consumo de frutas e vegetais. O conhecimento da composição de alimentos consumidos no Brasil, em diferentes regiões, é base para orientação nutricional em relação a uma alimentação diversificada e saudável (TACO, 2011).

No país existe uma diversidade muito grande de frutos tropicais que são inseridos no mercado a partir de seus derivados, em forma de sucos, doces, sorvetes e licores, por exemplo. Dentre esses frutos, muitos ainda não foram devidamente pesquisados em relação às suas propriedades e atividades benéficas à saúde (ALMEIDA, 1998; KONCZAK; ZHANG, 2004; KUSKOSKI, 2006).

As plantas do gênero *Pouteria*, família Sapotaceae, que compreendem cerca de 435 espécies, têm sido muito utilizadas na alimentação e também na medicina popular. Apesar de seu potencial como fonte de fármacos ser pouco conhecido, algumas atividades biológicas como, antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica e antinociceptiva, foram reportadas. Espécies de *Pouteria* foram avaliadas também como fontes de enzimas para uso como reagente de síntese (ALVES et al., 2000; RAMALHO et al., 2004; SWENSON; ANDERBEG, 2005; SILVA; SIMEONI; SILVEIRA, 2009; NOGUEIRA, 2012).

Em relação à *Pouteria glomerata* (Miq.) rdlk (laranjinha-de-pacu), são mínimos os estudos em relação às suas características químicas e bioativas, no entanto, os poucos trabalhos relatados sobre a espécie, indicam o potencial do fruto em relação à atividade antioxidante, teores de acidez e compostos bioativos, como os compostos fenólicos e ácido ascórbico.

Visto todo esse potencial, faz-se necessário conhecer mais sobre a atividade antioxidante, características químicas e bioativas da laranjinha-de-pacu, objetivando gerar maior interesse de consumo, além de crescimento econômico através de sua comercialização em regiões onde o fruto é encontrado.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar características químicas, quantificar os componentes bioativos e determinar o potencial antioxidante da polpa do fruto laranjinha-de-pacu (*Pouteria glomerata* (Miq.) Radlk.) coletadas no Distrito de Primavera, cidade de Rosana, do estado de São Paulo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✚ Determinar a Acidez Total Titulável e pH da polpa do fruto laranjinha-de-pacu.
- ✚ Determinar o teor dos compostos bioativos da polpa da fruta: Antocianinas, Ácido Ascórbico, Carotenoides, Flavonoides Amarelos, Flavonoides Totais e Fenólicos Totais.
- ✚ Preparar extratos da polpa da fruta laranjinha-de-pacu com diferentes solventes.
- ✚ Determinar a capacidade antioxidante dos diferentes extratos preparados pelos métodos DPPH e ABTS.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

O recomendado para consumo de frutas, legumes e verduras pela FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) e OMS (Organização Mundial da Saúde) é um mínimo de 400 g/dia ou entre 6% a 7% das calorias totais de uma dieta de 2.300 Kcal diárias (WHO, 2003). De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), as características físico-químicas mais comuns para avaliação da qualidade nutricional dos frutos são pH, acidez total e compostos fenólicos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Essas características são influenciadas por diversos fatores, como as condições edafoclimáticas, tratos culturais, época e local de colheita, variedade e manuseio pós-colheita (LIMA et al., 2013).

3.1 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE FRUTOS

A medida do potencial Hidrogeniônico (pH) é importante para as determinações de deterioração do alimento com o crescimento de microrganismos, atividade das enzimas, retenção de sabor e odor de produtos, e escolha de embalagem. Os ácidos orgânicos presentes em alimentos influenciam o sabor, odor, cor, estabilidade e a manutenção de qualidade (CECCHI, 2003). De acordo com Souza et al. (2013), o percentual de acidez total titulável representa uma barreira de segurança contra o desenvolvimento de microrganismos, esta determinação é bastante utilizada antes da escolha do processamento ao qual o fruto irá sofrer e indica o estado de conservação de um produto.

3.2 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes naturais são um conjunto de substâncias formadas por vitaminas, minerais, pigmentos naturais, entre outros compostos encontrados em frutos vegetais, além de enzimas, que bloqueiam o efeito dos radicais livres. Definidos como qualquer substância que atrasa ou inibi a oxidação de seu substrato

oxidável, decorrente das reações metabólicas ou fatores exógenos, como radiações ionizantes, denominados radicais livres (Figura 1). Os antioxidantes podem ser classificados em primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos, divididos em antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000; GUARATINI; MEDEIROS; COLEPICOLO, 2007).



Figura 1 – Fontes de espécies reativas e mecanismos de defesa.
Fonte: Guaratini; Medeiros; Colepicolo(2007)

Os radicais livres, provenientes do desemparelhamento de elétrons, são encontrados centrados nas Espécies Reativas de Oxigênio (ERO's) e Espécies Reativas de Nitrogênio (ERN's), constituídas principalmente pelos radicais superóxido (O_2^-) e peróxido (H_2O_2). Podem ser produzidos naturalmente ou por disfunção biológica. Nos seres humanos, o estresse oxidativo surge de um desequilíbrio no estado antioxidante (ERO's ou ERN's versus defesa e mecanismos de reparação) (VISIOLI; KEANEY; HALLIWELL, 2000; FINKEL; HOLBROOK, 2000, WENZEL, 2013).

Entre as defesas endógenas, estão enzimas como a superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, a vitamina E, ácido úrico e albuminas. Além destas defesas, o consumo de antioxidantes dietéticos também é importante. O controle da produção dos radicais livres pode ser proveniente da dieta alimentar e outras fontes. Destas últimas destacam-se tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), polifenóis, e carotenoides (CAPECKA; MARECZEK; LEJA, 2005; SOUZA et al., 2007; CHOE; MIN, 2009).

A atividade antioxidante em compostos orgânicos deve ser mensurada por mais de um método, pois os métodos para sua determinação podem produzir resultados muito divergentes, devido a sua sensibilidade. Entre os métodos mais utilizados estão o método de sequestro de radicais livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)). Sua popularidade pode ser atribuída à simplicidade e velocidade de análise, mas isso é conseguido por um preço potencial e a relevância dos dados gerados com esses procedimentos deve ser cuidadosamente considerada (MÜLLER et al., 2011; ANTOLOVICH, 2002, SCHAICH; XIE, 2015).

3.3. COMPOSTOS BIOATIVOS

3.3.1 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos presentes nas plantas, enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente em sua estrutura.

Em compostos fenólicos a atividade antioxidante deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (HERNÁNDEZ; PRIETO GONZÁLES, 1999; SOUZA et al., 2007).

Esses compostos têm recebido atenção especial em estudos científicos, principalmente por inibirem a peroxidação lipídica e a lipooxigenase *in vitro*. A quantificação de compostos fenólicos é realizada por meio de uma variedade de

métodos, e o método que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu é o mais empregado nesses estudos. Seus efeitos biológicos já foram relacionadas à prevenção de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, câncer, entre outras devido a suas propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (HERNÁNDEZ; PRIETO GONZÁLES, 1999; SCALBERT; JOHNSON; SALTMARSH, 2005; ABE et al., 2007; SOUZA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009).

3.3.1.1 Flavonoides

Os flavonoides são uma classe de polifenóis de baixo peso molecular, derivados da benzo- γ -pirona, que podem ser encontrados em frutas, vegetais, sementes e flores, bem como cerveja, vinho, chá verde, chá preto e soja, que são consumidos na dieta humana em uma base regular. Também pode ser usado na forma nutricional, juntamente com certas vitaminas e suplementos minerais, e em diversos extratos de plantas. Além disso, os flavonoides são conhecidos por atuar como agentes colorantes em flores de plantas, assim como em alimentos. Por apresentarem importante atividade biológica e fisiológica, pesquisadores têm-se centrado nas propriedades desses compostos (DAVIES; STUMPF, 1981; MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002; KONCZAK; ZHANG, 2004; KUMAR; PANDEY, 2013).

Esses compostos são classificados em várias subclasses (Figura 2), incluindo flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavanas, antocianidinas e catequinas. Frequentemente hidroxilados nas posições 3, 5, 7, 3', 4' e/ou 5'. (DAVIES; STUMPF, 1981; MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002).

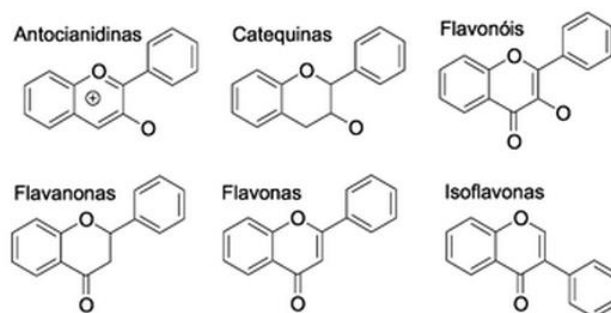


Figura 2 – Estrutura química dos principais tipos de flavonoides.
Fonte: Marçó; Poppi (2008)

Os flavonoides contêm em sua estrutura química um número variável de substituintes. Devido a esses substituintes, uma série de modificações em sua estrutura base, tais como, glicosilação, esterificação, amidação, hidroxilação, entre outras alterações são responsáveis por modular a polaridade, toxicidade e direcionamento intracelular destes compostos, influenciando diretamente em sua atividade biológica (HUBER; RODRIGUEZ, 2008).

Nas plantas, os flavonoides estão envolvidos nos mecanismos de resposta contra o estresse causado por elevada da radiação UV-B, infecção por microrganismos ou ataque de herbívoros. Podem exercer múltiplos efeitos biológicos, devido suas propriedades antioxidantes, como proteger lipoproteínas de baixa densidade da oxidação, modificar a biossíntese de eicosanóides (respostas anti-prostanóide e anti-inflamatório), promover o relaxamento do músculo liso cardiovascular (efeitos antiarrítmico, anti-hipertensivo), proteger contra doença arterial coronariana. Além disso, flavonoides também demonstraram ter atividade antiviral, citotóxica, anti-ulcerogênica e atividades antiaterosclerótica (FORMICA,1995; HERTOOG et al. 1995).

3.2.1.2 Antocianinas

Mais proeminentes entre os flavonoides são as antocianinas, derivadas das antocianidinas. As antocianinas são corantes naturais responsáveis pelos tons de

vermelhos, roxos e azuis evidentes em muitas frutas, legumes, grãos de cereais e flores, representadas por mais de 600 estruturas moleculares (Figura 3). As antocianinas são de grande interesse para indústria de corante alimentar, uma vez que apresentam capacidade de transmitir cores vibrantes aos produtos (KONCZAK; ZHANG, 2004, MARÇO et al., 2008; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

Apresentam ainda a propriedade de possuírem grande atividade antioxidante, desempenhando um papel importante na prevenção de doenças cardiovasculares, neuronais, câncer, diabetes, entre outras. Nas plantas são importantes para diversas funções como na dispersão de sementes, polinização e proteção contra danos de irradiação UV (HOLTON; CORNISH, 1995; KONCZAK; ZHANG, 2004, AGRAWAL, 2011).

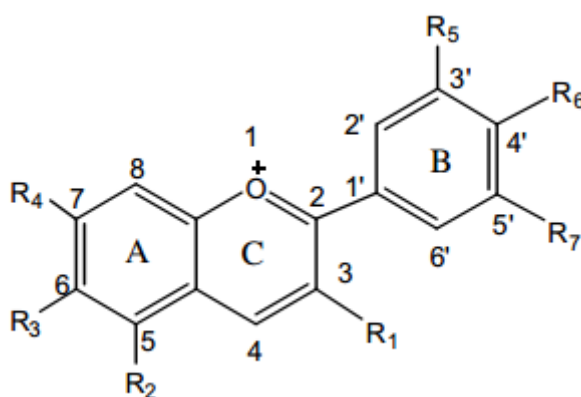


Figura 3 – Estrutura geral das antocianinas.
Fonte: Castañeda-Ovando et al. (2009)

As antocianinas quando isoladas, são altamente instáveis e muito suscetíveis à degradação, sua estabilidade é afetada por vários fatores tais como pH, temperatura de armazenamento, estrutura química, concentração, luz, oxigênio, solventes, a presença de enzimas, flavonoides, proteínas e íons metálicos. (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

3.3.2 Carotenoides

Os carotenoides, pigmentos lipossolúveis, amarelos, laranjas e vermelhos, são outra classe de compostos que apresentam capacidade antioxidante no organismo humano. Os efeitos protetores de carotenoides contra doenças se dão a partir da atividade antioxidante de extinção de oxigênio atômico, eliminação de radicais peróxil e por interagirem sinergicamente com outros antioxidantes. A atividade antioxidante aumenta com o aumento do número de duplas ligações conjugadas, grupos cetona e presença de anéis ciclopentano em sua estrutura. Além disso, outra propriedade importante dos carotenoides é sua conversão em vitamina A, no entanto, o organismo humano não é capaz de sintetizá-los, dessa forma as fontes de carotenoides são as frutas e hortaliças em sua maioria. Na alimentação os principais carotenoides consumidos são α -carotenos, β -carotenos, β -criptoxantina, luteína, zeaxantina e licopeno (KRINSKI, 1993; ALALUF et al., 2002; AOKI et al., 2002; LORENZO et al., 2019; SINGH et al., 2015).

Em plantas superiores, os carotenoides estão localizados em organelas subcelulares (cloroplastos e cromoplastos). Nos cloroplastos encontram-se associados principalmente às proteínas e são, normalmente, mascarados pela presença de outros pigmentos clorofílicos dominantes. Atuam como pigmentos fotoprotetores na fotossíntese e como estabilizadores de membranas. Nos cromoplastos, eles são depositados na forma cristalina (ex. tomates e cenouras) ou como gotículas de óleo (ex. manga e páprica) (KURZ; CARLE; SCHIEBER, 2008).

3.3.3 cido Ascórbico

O cido ascórbico, também chamado de vitamina C (Figura 4), é um grande agente redutor em reações bioquímicas, indicando ser um bom regulador contra o estresse oxidativo, ocorre normalmente em sua forma reduzida (cido ascórbico) ou oxidada (cido dehidroascórbico). Pode ser rapidamente destruído pela ação da luz,

calor, alcalinidade, catalisadores metálicos, danos físicos e baixa umidade relativa (MOESLINGER et al., 1995; LEE; KADER, 2000).

Alguns ensaios são comumente aplicados na quantificação de ácido ascórbico em alimentos vegetais, como por exemplo, os métodos espectrofotométricos que incluem a oxidação do ácido ascórbico com 2,6-dicloroindolifenol, redução do ácido dehidroascórbico com 2,4-dinitrofenilidrazina ou redução de íons metálicos. (MOESLINGER et al, 1995; CHAMBERS et al., 1996).

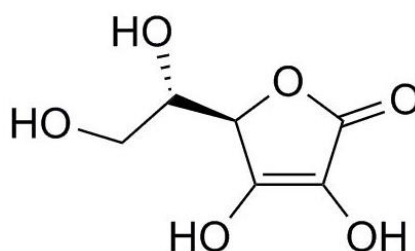


Figura 4- Estrutura do Ácido Ascórbico.
Fonte: Autoria própria

A ação redutora do ácido ascórbico é atribuída ao grupo enediol (COH=COH-), assim como o caráter ácido da molécula. Sua ação enquanto agente antioxidante depende do pH, sendo máxima em meio ácido (CHAMBERS et al., 1996).

Presente em quase todos os legumes frescos e frutas, além de sua característica antioxidante agem como cofatores enzimáticos desempenhando um papel crucial, não só nos diversos processos biológicos das plantas, mas também na manutenção da saúde humana, tais como a redução do risco de doenças crônicas, promoção da formação de colágeno e desenvolvimento ósseo normal, além de auxiliar no tratamento do câncer. Os seres humanos não podem sintetizar sua própria vitamina C devido à falta de L-gulonolactona oxidase. Assim, têm de ingerir regularmente em sua dieta (OLMOS et al., 2006; SARKAR; SRIVASTAVA; DUBEY, 2009).

Nos frutos cítricos são observados teores variados de ácido ascórbico, os quais podem ser adequados de acordo com a necessidade de ingestão diária. As fontes de ácido ascórbico nos frutos são classificadas em diferentes níveis, indo de

fontes de 100 a 300 mg 100g⁻¹ de polpa até fontes muito baixas, inferiores a 25 mg 100g⁻¹ de polpa. Os teores tendem a aumentar com o amadurecimento das frutas e sofrem variações quando armazenados sob congelamento (SILVA, 2009).

3.4 LARANJINHA-DE-PACU

A laranjinha-de-pacu, espécie *Pouteria glomerata* (Miquel) Radlkofer, representada na Figura 5, pertence a família Sapotaceae, classe Magnoliopsidas, ordem Ericales, reino Plantae. Ocorre em florestas neotropicais, principalmente na mata ciliar, mata alagável, solos argilosos ou siltosos, distribuindo-se no Chaco Oriental e na mata ribeirinha, sendo predominantemente do cerrado (POTT; POTT, 1994). Podendo chegar até 8 metros de altura, é um arbusto ou árvore ramificada até o solo, que floresce entre setembro a dezembro e frutifica entre janeiro a agosto, possui látex branco, leitoso, não abundante. As flores são brancas em inflorescências axilares e os frutos são do tipo baga, carnosos com casca verde quando imaturos e amarelados quando maduros, geralmente com quatro sementes por fruto. Suas folhas são vermelhas quando velhas (POTT; POTT, 1994; MELO, 2013).



Figura 5– Frutos da laranjinha-de-pacu (*P. glomerata*).
Fonte: Arquivo pessoal

Conhecido popularmente como laranjinha-de-pacu, laranjinha, moranguinha ou parada, é um fruto comestível de odor adocicado, com sabor azedo acentuado e pouca percepção de açúcar. Possui polpa rica em vitamina C e é considerado um bom formador de gel, por apresentar bom teor de acidez, devido à presença de ácido tartárico, málico e de pectina em sua polpa. O fruto é utilizado no preparo de sucos, doces, sorvetes e como alimento de peixe (isca). A árvore da laranjinha-de-pacu ainda apresenta a característica de ser madeirável (POTT; POTT, 1994; POTT; POTT, 2000; PENNINGTON, 1990; ALMEIDA, 1998; FERREIRA, 2015).

4 METODOLOGIA

4.1 FRUTOS

Os frutos laranjinhas de pacu foram coletados na região ribeirinha do Distrito de Primavera, às margens do rio Paraná, em abril de 2015. O distrito pertence ao Município de Rosana (Figura 6), localizado no extremo-ocidental do estado de São Paulo, na divisa entre os estados do Paraná e Mato Grosso do Sul. Sua vegetação encontra-se na faixa de transição entre os domínios Tropical Atlântico e dos Cerrados (EMUBRA, 2015).



Figura 6 – Município de Rosana
Fonte: Skyscrapercity (2015)

4.2 PREPARO DOS EXTRATOS

As laranjinhas-de-pacu coletadas para este estudo, foram lavadas com água potável, em seguida, polpa e casca foram separadas, desintegradas manualmente para homogeneização da amostra e congeladas em freezer doméstico, protegida da luz para análises posteriores.

Nossos estudos foram realizados com a polpa da laranjinha-de-pacu (Figura 7). Os extratos da polpa foram preparados com água, etanol 95% (EtOH), metanol

80% (MeOH), utilizando-se 50mL do solvente extrator com 10,0 g de polpa em agitação magnética ao abrigo da luz. Após duas horas de agitação, os extratos foram filtrados com papel filtro (PALIOTO et al., 2015). O extrato metanol 50%/acetona 70% (MeOH/Ace) foi preparado segundo metodologia descrita por Rufino et al., (2007). Os extratos foram preparados em duplicata, e armazenados sobre refrigeração em frasco âmbar, para posterior análise, até no máximo por 7 dias. As análises com cada extrato foram realizadas em triplicata (n=6). As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-vis.



**Figura 7–Polpa da laranjinha-de-pacu.
Fonte: arquivo pessoal**

4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

4.3.1 Acidez Total Titulável

A acidez total titulável da laranjinha-de-pacu foi determinada segundo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985), na qual 10 g da polpa do fruto foi homogeneizada com 100 mL de água destilada e 2 a 4 gotas de solução de fenolftaleína foram adicionadas. Em seguida a amostra foi titulada com solução de

NaOH 0,1 M, até coloração rósea. O NaOH 0,1 M foi padronizado com ácido oxálico 0,1 M. Os resultados foram expressos em gramas de ácido cítrico por 100 gramas de polpa. Os cálculos foram realizados de acordo com a Equação 1, onde (V) representa o volume de NaOH gasto, (f) é o fator de correção da solução de NaOH 0,1M, (PM) é o peso molecular do ácido cítrico em gramas, (P) é a massa da amostra, (c) é a correção para solução de NaOH 1 M, utiliza-se correção 10 para solução NaOH 0,1 M e (n) é o número de hidrogênios ionizáveis.

$$\% \text{ ácido cítrico} = \frac{V \times f \times M \times PM}{c \times P \times n} \quad (1)$$

4.3.2 pH

O potencial Hidrogeniônico (pH) do extrato aquoso da polpa da laranjinha-de-pacu foi determinado utilizando-se de pHmetro digital da Bel Engineering, modelo W3B, segundo as normas do Instituto Adolfo Lutz (1985). No qual, 10 g de laranjinha-de-pacu foram agitados até a completa suspensão das partículas em 100 mL de água destilada, em seguida o pHmetro foi calibrado com soluções-tampão de pH 4 e pH 7 e o pH determinado.

4.4 COMPOSTOS BIOATIVOS

4.4.1 Antocianinas e Flavonoides Amarelos

A determinação das antocianinas totais e flavonoides amarelos foi realizada segundo a metodologia de Francis (1982). Pesou-se 1,00 g da polpa do fruto em um béquer de 50 mL com 30 mL de solução extratora de etanol 95% e HCl 1,5 M

(85:15), seguido de agitação magnética. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL e envolvida em papel alumínio, sendo o volume completado com solução extratora e deixado por uma noite em repouso.

O extrato foi filtrado para um balão de 100 mL, também envolto em papel alumínio. A leitura foi realizada imediatamente após a filtração em espectrofotômetro Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-vis a 535 nm para antocianinas e 374 para flavonoides amarelos. Os resultados foram expressos em mg por 100g de polpa. Os cálculos foram realizados segundo as equações 2 e 3 a seguir.

$$\text{Antocianinas totais} = \frac{\text{Fator de diluição} \times \text{absorbância}}{98,2} \quad (2)$$

$$\text{Flavonoides amarelos} = \frac{\text{Fator de diluição} \times \text{absorbância}}{76,6} \quad (3)$$

4.4.2 Ácido Ascórbico

O teor de ácido ascórbico foi determinado através da metodologia descrita por Horwitz (2000) e modificado por Benassi e Antunes (1998), na qual 2,5 g da polpa de laranjinha-de-pacu foram transferidas para um balão volumétrico e o volume completado com ácido oxálico 2%. Após 15 minutos sob agitação magnética, uma alíquota de 2,0 mL do extrato foi transferida para um Erlenmeyer contendo 50 mL de ácido oxálico 2% e a solução titulada com 2,6-diclorofenolindofenol 0,01% até obter-se uma coloração rosa-clara. A padronização foi realizada com ácido ascórbico, transferindo-se 0,0015 g do padrão para um balão volumétrico de 50 mL e completando-se o volume com solução de ácido oxálico 2%.

Uma alíquota de 10 mL dessa solução foi transferida para um Erlenmeyer contendo 50,0 mL de ácido oxálico 2% e titulada com solução de 2,6-diclorofenolindofenol 0,01% até obter-se uma coloração rósea clara. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100g de amostra. Os cálculos foram realizados de acordo com a Equação 4, onde (n') indica o volume de 2,6-diclorofenolindofenol em mL gastos na titulação da amostra, (n) o volume de 2,6-

diclorofenolindofenol em mL gastos na padronização e (P) a massa da amostra em grama ou volume de amostra usado na titulação.

$$\text{Ácido Ascórbico} = \frac{100 \times n'}{\frac{n}{5} \times p} \quad (4)$$

4.4.3 Carotenoides

A determinação de carotenoides totais foi realizada de acordo com a metodologia de Higby (1962), na qual 10,0 g da polpa da laranjinha-de-pacu foi extraída com 40 mL dos solventes álcool isopropílico e hexano numa proporção 3:1. A mistura foi homogeneizada e em seguida adicionou-se 85 mL de água destilada e transferiu-se para o funil de separação. Após 30 minutos em repouso, as fases foram separadas e mais duas lavagens com água foram feitas. Em seguida, recolheu-se o filtrado em balão volumétrico de 50 mL contendo 5 mL de acetona, aferindo-se o volume com hexano. O branco foi preparado em balão volumétrico de 50 mL, contendo 5 mL de acetona, aferido com hexano. A absorbância foi lida a 450 nm e os resultados expressos em mg por 100g de polpa. Os cálculos foram realizados através da Equação 5, onde (A) absorbância da amostra, (E) largura da cubeta em cm, (W) o quociente entre a massa da amostra original em g e o volume final da diluição em mL.

$$\text{Carotenoides totais} = \frac{(A_{450} \times 100)}{(250 \times E \times W)} \quad (5)$$

4.4.4 Fenóis Totais

Os compostos fenólicos totais da laranjinha-de-pacu foram determinados utilizando o reagente Folin-Ciocalteu de acordo com a metodologia descrita por Minussi et al. (2003), adaptada de Singleton et al. (1965). Foram adicionados a um tubo de ensaio, 0,5 mL de extrato, 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu diluído em água destilada 1:10. Esses reagente ficaram em repouso por 8 minutos e a eles foram adicionados 2mL de carbonato de sódio a 4% (m/v). Após 2 horas em repouso ao abrigo da luz a leitura da absorbância foi feita a 740 nm em espectrofotômetro Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-vis. Foi conduzido um branco nas mesmas condições, substituindo a amostra por 0,5 mL de água.

Uma curva padrão de ácido gálico (Figura 8 8) nas concentrações de 100, 80, 60, 40, 20, 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foi construída e os resultados foram expressos em mg GAE 100 g^{-1} de polpa da fruta, onde GAE representa o equivalente em ácido gálico.

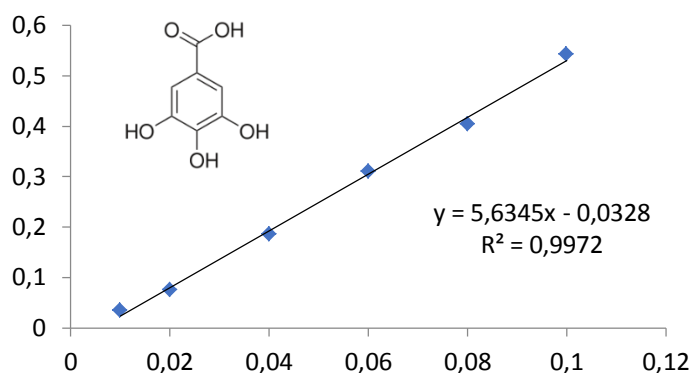


Figura 8- Curva padrão de ácido gálico para determinação de compostos fenólicos.

Fonte: Autoria própria

Na reação entre o padrão ácido gálico e o reagente Folin-Ciocalteu ocorre inicialmente a desprotonação do ácido gálico (composto fenólico) em meio básico, gerando os ânions fenolatos. A partir daí, ocorre uma reação de oxirredução entre o ânion fenolato e o reagente de Folin, na qual, o molibdênio, componente do reagente

de Folin, sofre redução e o meio reacional muda de coloração amarela para azul (Figura 9) (OLIVEIRA et al, 2009).

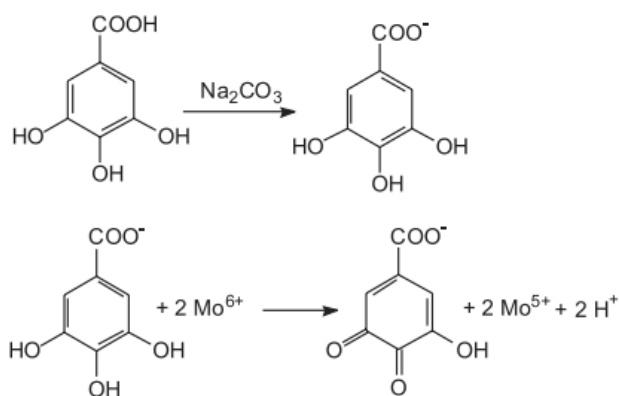


Figura 9- Reação do ácido gálico com molibdênio VI, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.

Fonte: Oliveira et al, (2007)

4.4.5 Flavonoides Totais

Os flavonoides totais foram determinados segundo a adaptação da metodologia descrita por Funari e Ferro (2006). Soluções dos extratos com concentração $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ foram preparadas. Em um balão volumétrico de 10 mL, foram adicionados 1,0 mL da solução do extrato, 1,0 mL de reagente etanol-cloreto de alumínio a 2%, e o volume completado com etanol. As leituras foram realizadas após 30 minutos, a 425 nm em espectrofotômetro Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-vis. Uma curva padrão (Figura 10) nas concentrações de 50, 40, 30, 20, 10, 5, $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ foi preparada com solução metanólica de rutina. Os resultados foram expressos em mg de rutina por 100 gramas de polpa.

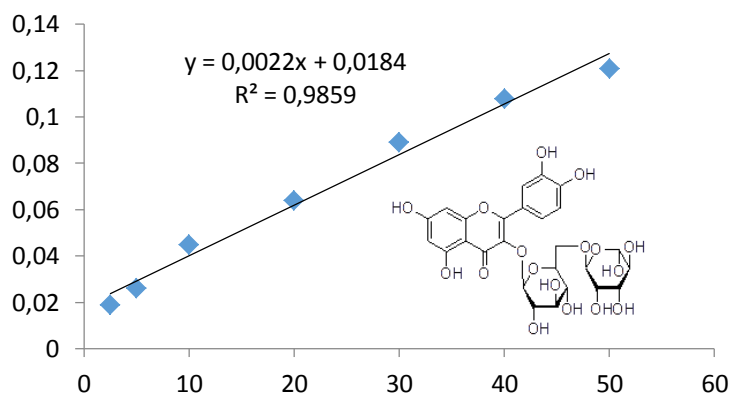


Figura 10 - Curva padrão de rutina para determinação de flavonoides totais.
Fonte: autoria própria

4.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.5.1 Método do Sequestro do Radical livre DPPH[·]

Empregado no sequestro de radicais livres para a determinação da atividade antioxidante de compostos orgânicos, o método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) representado na Figura 11, é um dos métodos colorimétricos mais utilizados, por ser rápido e estável (ROGINSKI; LISSI, 2005).

O radical de nitrogênio do DPPH confere a molécula a coloração violeta-escura característica, com absorção na faixa de 515-520 nm. A redução do nitrogênio é indicada por um decréscimo na faixa de absorbância no espectro de luz, que altera a coloração para amarelo. Isso ocorre quando o elétron desemparelhado do átomo de nitrogênio no DPPH[·] é estabilizado à DPPH-H pelo recebimento de um átomo de hidrogênio proveniente de antioxidantes presentes amostra (ROGINSKI; LISSI, 2005; RUFINO, 2007).

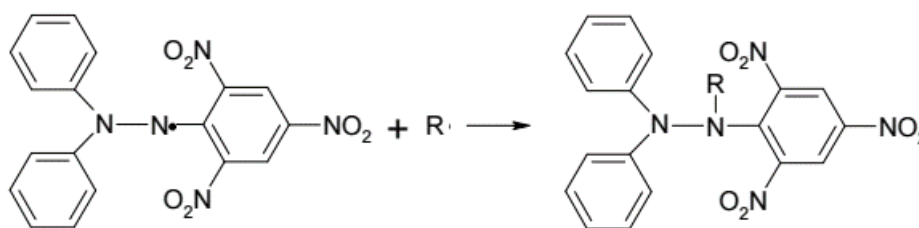


Figura 11 – Estabilização do radical livre DPPH.
 Fonte: Rufino et al. (2007)

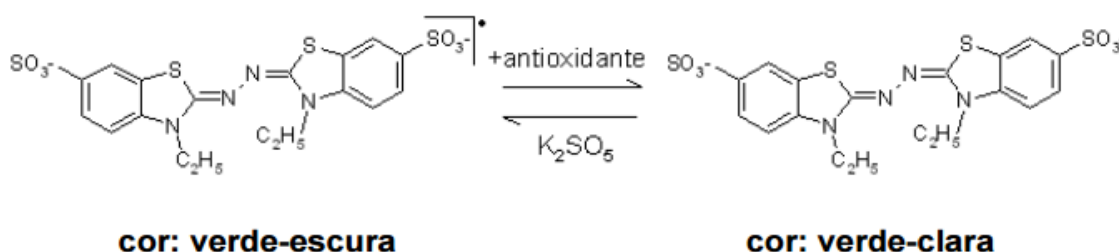
Para determinação da atividade antioxidante dos extratos aquoso, etanólico, metanólico e do extrato MeOH/Ace da laranjinha-de-pacu, adicionou-se em uma cubeta 0,5 mL de amostra, 3 mL de etanol absoluto e 0,3 mL da solução do radical DPPH 0,3 mM em etanol (EtOH). Após 100 minutos de incubação a absorvância foi determinada em espectrofotômetro Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-visa 517nm (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). A atividade foi expressa de acordo com o branco específico da amostra, portanto, o mesmo foi determinado usando-se 3,3 mL de etanol e 0,5 mL da amostra em cada concentração e as absorvâncias lidas a 517 nm após 100 min de reação. Como controle negativo foi utilizado 3 mL de etanol absoluto, 0,5 mL de etanol 70% e 0,3 mL de DPPH 0,5 mM.

A atividade antioxidante foi expressa como porcentagem de inibição em relação ao controle, de acordo com a Equação 6, onde (Aa) representa a absorvância da amostra, (Ab) representa a absorvância do branco e (Ac) representa a absorvância do controle negativo. Foi utilizado como padrão o BHT (butil-hidroxi-tolueno) e ácido ascórbico a uma concentração de 100 µg mL⁻¹.

$$AA\% = 100 - \frac{(Aa - Ab) \times 100}{Ac} \quad (6)$$

4.5.2 Método do Sequestro do Radical ABTS^{•+}

A captura do radical livre ABTS^{•+} 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) está entre os métodos mais utilizados para determinação da atividade antioxidante em frutos, podendo ser realizado em espécies lipofílicas e hidrofílicas. Essa captura pode ser gerada através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática, indicada pela descoloração verde-escura do radical ABTS^{•+}, como indica a Figura 12 (KUSKOSKI et al., 2005; ANTOLOVICH, 2002).



**Figura 12 - Estabilização do radical ABTS^{•+} por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.
Fonte: Rufino et al. (2007)**

A atividade antioxidante dos extratos aquoso, etanólico, metanólico e do extrato MeOH/Ace da laranjinha-de-pacu foi determinada segundo a metodologia de Rufino et al. (2007), adaptada de Larrauri et al. (1997). O radical ABTS^{•+} foi preparado a partir da reação de 5 mL da solução estoque de ABTS (192 mg de ABTS em 50 mL de etanol) com 88 µL da solução de persulfato de potássio (378,4 mg em 10 mL de etanol). A mistura foi mantida no escuro, à temperatura ambiente, por 16 horas. Em seguida, foi diluído 1 mL desta mistura em álcool etílico até obter uma absorbância de 0,70 nm ± 0,05 nm a 734 nm, preparada no dia da análise. Os extratos foram preparados nas concentrações de 200.000 µg mL⁻¹ e 20.000 µg mL⁻¹ e uma alíquota de 30 µL de cada concentração foi adicionada a 3,0 mL do radical ABTS^{•+}. Após 6 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 734 nm. A atividade antioxidante foi expressa como porcentagem de inibição em relação ao controle, de acordo com a Equação 7, onde (Ac) representa a absorbância do

controle positivo e (Aa) representa a absorvância da amostra. Foi utilizado como padrão o BHT (butil-hidroxi-tolueno) e ácido ascórbico a uma concentração de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

$$AA\% = \frac{A_c - A_a}{A_c} \times 100 \quad (7)$$

4.6 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software Statistica® 8.0 (StatSoft, Inc., 1984-2007). Os resultados apresentados, obtidos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), correspondem a média de seis repetições \pm desvio padrão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Características Químicas

A Tabela 1 indica os valores obtidos para a acidez titulável e pH da polpa da laranjinha-de-pacu, do município de Rosana – São Paulo.

Tabela 1. Acidez titulável e pH da polpa dos frutos de laranjinha-de-pacu.

| Acidez Titulável (g 100 g ⁻¹) | pH |
|---|-----------|
| 3,58±0,03 | 3,99±0,01 |

Os resultados são médias de três repetições seguidas dos seus respectivos desvios padrão.

O pH determinado neste estudo de 3,99 indicou o caráter ácido da polpa da laranjinha-de-pacu, esse valor foi superior ao obtido por Batista (2013) de 3,48 e por Ferreira (2015) de 2,9, quando analisadas frutas coletadas no Mato Grosso do Sul. Estudos anteriores sobre a laranjinha-de-pacu indicaram boa qualidade nutricional para o fruto, conferindo a ele potencial de consumo e produção industrial.

De acordo com o Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta, a laranjinha-de-pacu indicou pH próximo ao pH mínimo recomendado para polpa de acerola (pH 4,0), graviola (pH 3,5), goiaba (pH 3,5) manga (pH 3,3), o que indica seu potencial no preparo de bebidas e produtos alimentícios (BRASIL, 2000).

Ainda de acordo com o Regulamento Técnico, a acidez titulável da polpa de laranjinha-de-pacu de 3,58 gramas de ácido cítrico por 100 gramas de polpa, se mostrou elevada se comparada com a polpa de frutas como manga (0,32 g 100g⁻¹), graviola (0,60 g 100g⁻¹), acerola (0,80 g 100g⁻¹), cajá (0,90 g 100g⁻¹) e cupuaçu (1,50 g 100g⁻¹) e foi inferior ao suco de limão (5,00 g 100g⁻¹) (BRASIL, 2000). A polpa indicou ainda, acidez maior que a determinada por Ferreira (2015) (0,84 g 100g⁻¹) e inferior a determinada por Batista (2013) (4,27 g 100g⁻¹) para polpa da mesma fruta.

A acidez é um importante parâmetro na apreciação do estado de conservação de um produto alimentício. Geralmente um processo de decomposição do alimento, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração

dos íons de hidrogênio. A acidez é resultante dos ácidos orgânicos, os quais influenciam na cor, sabor, odor e na qualidade das frutas (LIMA et al., 2013).

5.2 Compostos Bioativos

A Tabela 2 indica os teores de flavonoides amarelos, antocianinas, carotenoides e vitamina C (ácido ascórbico) em mg 100 g⁻¹ para a polpa da laranjinha-de-pacu.

TABELA 2. Valores de compostos bioativos em mg100 g⁻¹ para polpa da laranjinha-de-pacu.

| Flavonoides Amarelos | Antocianinas | Carotenoides | Vitamina C |
|-----------------------------|---------------------|---------------------|-------------------|
| 9,63±0,22 | 0,65±0,14 | 0,93±0,08 | 34,87±0,59 |

Os resultados são médias de três repetições seguidas dos seus respectivos desvios padrão.

Os flavonoides amarelos presentes em polpas de fruta são responsáveis por diversos efeitos biológicos, principalmente devido as suas propriedades antioxidantes. O valor encontrado neste estudo 9,63 mg 100 g⁻¹, se mostrou superior ao encontrado por Silva et al. (2012) para polpa de diferentes genótipos de cajá (1,37-5,25 mg 100 g⁻¹) e por Lima et al. (2013) para genótipos de pitaia (1,89-6,03 mg.100 g⁻¹) e valor inferior ao encontrado por Palioto et al. (2015) para polpa de noni (13,01 mg 100 g⁻¹).

O teor de antocianinas determinado por este estudo (0,65 mg 100g⁻¹) foram inferiores as polpas de goiaba (2,7 mg 100g⁻¹), acerola (16,0 mg 100g⁻¹), morango (23,7 mg 100g⁻¹) e açaí (22,8 mg 100g⁻¹) determinadas por Kuskosk et al. (2006), quando analisadas pelo mesmo método. O fruto da laranjinha-de-pacu possui cor amarelo vibrante, com pouca ocorrência de coloração avermelhada, o que pode explicar o baixo teor de antocianinas encontrados neste estudo, se comparada a polpa de frutas com coloração avermelhada predominante.

Na presença de ácidos fenólicos e flavonoides não antociânicos as antocianinas tem sua estabilidade aumentada em relação ao descoramento, preservando a cor característica do alimento que se dá de acordo com a

concentração de antocianinas encontradas. Esse aumento na estabilidade é atribuído à copigmentação, ou seja, associação entre antocianina e flavonol (copigmento) por ligações de hidrogênio, de modo que o flavonol venha a formar uma estrutura protetora envolvendo a antocianina (MARÇO; POPPI, 2008).

No entanto, condições de cultivo, tempo de plantio, exposição à luz UV e método de colheita podem levar a degradação das mesmas. Desse modo, resultados distintos podem ser encontrados para uma mesma fruta, assim como variações são observadas no teor de antocianinas para frutas em condições iguais de cultivo, crescimento e fertilização (SIRIWOHARN, 2004).

O teor de carotenoides encontrado neste estudo foi de $0,93 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, inferior ao encontrado por Visotto et al. (2012), para polpa de frutas como o butiá ($5,5 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) e araçá vermelho ($1,28 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) e superior ao encontrado por Almeida et al. (2013), para polpa de acerola ($0,615 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) e por Palioto et al. (2015) para polpa de noni ($0,45 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$).

A vitamina C é uma das substâncias com maior significado para a nutrição humana e em frutos cítricos apresentam teores muito variados, pois sofre degradação pela ação da luz, calor e baixa umidade relativa (MOESLINGER et al., 1995; LEE; KADER, 2000). O valor encontrado de $34,87 \pm 0,59 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ neste estudo indica baixa concentração de ácido ascórbico na polpa da laranjinha-de-pacu em relação à classificação de Silva (2009): entre 100 a $300 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ são consideradas fontes altas; 50 a $100 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ fontes médias, 25 a $50 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ fontes baixas e fontes muito baixas quando menores que $25 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$.

Quando comparada com outras frutas através da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), a laranjinha-de-pacu apresentou teor de vitamina C superior a frutas como uva Itália ($3,3 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), graviola ($19,1 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), banana prata ($21,6 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) e cupuaçu ($24,5 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), teor aproximado de frutas como limão galego ($34,5 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), abacaxi ($34,6 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), laranja da terra ($34,7 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), limão tahiti ($38,2 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) e teor inferior ao de frutas como laranja lima ($41,3 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), tangerina tipo poncã ($48,8 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), morango ($63,6 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), mexerica ($112,0 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) e acerola ($941,4 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) (TACO, 2011).

De acordo com Ferreira (2015), na produção de sorvetes a polpa do fruto apresentou bons resultados, indicando boa conservação das propriedades nutricionais pós processamento, principalmente em relação aos bons teores de vitamina C, o que indica uma alternativa de aproveitamento da laranjinha-de-pacu.

A Tabela 3 indica os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais dos diferentes extratos a uma concentração de 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O conteúdo de fenóis totais dos extratos foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu e expresso como miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 gramas de polpa (mg EAG 100g^{-1}) e o conteúdo de flavonoides totais foi calculado como miligramas de equivalentes de rutina por 100 gramas de polpa (mg ERT 100g^{-1}).

TABELA 3. Resultados dos compostos fenólicos totais e flavonoides totais de diferentes extratos da polpa da laranjinha-de-pacu.

| Extratos (10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) | Fenólicos Totais (mg EAG 100g^{-1}) | Flavonoides Totais (mg ERT 100g^{-1}) |
|---|--|--|
| MeOH | 32,25 \pm 2,82 ^b | 12,23 \pm 1,53 ^a |
| EtOH | 38,55 \pm 0,90 ^{a,b} | 14,04 \pm 1,30 ^a |
| Aquoso | 30,00 \pm 4,45 ^b | 15,40 \pm 1,34 ^a |
| MeOH/Ace | 48,61 \pm 1,37 ^a | 14,95 \pm 1,82 ^a |

Resultados expressos como média \pm desvio padrão (n=6). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. EAG = equivalentes de ácido gálico; ERT = equivalentes de rutina

Para os compostos fenólicos, a maior concentração de fenóis totais foi observada nos extratos MeOH/Ace (49,58 mg EAG 100g^{-1}) e etanólico (38,55 mg EAG 100g^{-1}), que não indicaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey. Os extratos etanólico (38,55 mg EAG 100g^{-1}), metanólico (32,25 mg EAG 100g^{-1}) e aquoso (30,00 mg EAG 100g^{-1}) não indicaram diferença significativa ($p > 0,05$) pelo mesmo teste.

Em estudos anteriores sobre a fruta, o teor de compostos fenólicos verificado na polpa e casca, quando determinados segundo a metodologia de SWAIN e HILLS (1959), se mostrou maior para os extratos aquoso (164,57 e 230,00) e etanólico (162,71 e 250,00) em mg EAG 100g^{-1} (BATISTA, 2013; FERREIRA, 2015). Se comparada a frutos do cerrado, onde a laranjinha-de-pacu é encontrada, esta indicou valores inferiores ao tarumã para os extratos aquoso (1681,00) e etanólico

(1259,00) em mg EAG g⁻¹ de extrato seco e ao caraguatá para os mesmos extratos, (2768,00) e (2736,00) mg EAG g⁻¹ respectivamente.

Extratos metanólicos de frutas como pituaia (23,15 mg GAE 100 g⁻¹) e mamão (15,3 mg GAE 100 g⁻¹) indicaram teores de compostos fenólicos inferiores ao encontrado para laranjinha-de-pacu, já o abacaxi (85,1 mg GAE 100 g⁻¹), a banana (215,7 mg GAE 100 g⁻¹), a laranja (114,6 mg GAE 100 g⁻¹) e a manga (110,5 mg GAE 100 g⁻¹) apresentaram teores de compostos fenólicos mais elevados em relação a fruta estudada (FALLER; FIALHO, 2009; LIMA, 2013).

O teor de flavonoides totais para a polpa da laranjinha de pacu neste estudo não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey para os diferentes extratos analisados. Dados de teor de flavonoides totais para a polpa da laranjinha-de-pacu em outros estudos não foram encontrados na literatura.

Flavonoides apresentam normalmente grupos hidroxila e excelentes propriedades de quelação de ferro e outros metais de transição, o que lhes confere uma grande capacidade antioxidante. Por isso desempenham papel essencial na proteção frente os fenômenos de dano oxidativo e possuem efeitos terapêuticos em um número elevado de patologias, incluindo a cardiopatia isquêmica, a aterosclerose e o câncer (MARTÍNEZ-FLÓREZ, 2008).

5.3 Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos da polpa da laranjinha-de-pacu (aquoso, metanólico, etanólico e metanol/acetona) foi determinada pelos métodos de sequestro dos radicais livres DPPH[·] e ABTS[·] nas concentrações de 200.000 µg mL⁻¹ e 20.000 µg mL⁻¹ e analisados estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

5.3.1 Método do Sequestro do Radical livre DPPH[·]

A Tabela 4 apresenta os resultados de atividade antioxidante para a polpa da laranjinha-de-pacu determinada pelo método do sequestro do radical livre DPPH. Para os diferentes extratos.

TABELA 4. Resultado da Atividade Antioxidante (%AA) de diferentes extratos da polpa da laranjinha-de-pacu pelos métodos de sequestro de radical livre DPPH.

| Extrato | Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | %AA DPPH |
|------------------------|--|---------------------------------|
| Aquoso | 200.000 | 93,42 \pm 0,38 ^b |
| Aquoso | 20.000 | 25,60 \pm 1,35 ^d |
| EtOH | 200.000 | 98,65 \pm 0,34 ^{a,b} |
| EtOH | 20.000 | 32,49 \pm 1,40 ^c |
| MeOH | 200.000 | 94,52 \pm 1,67 ^{a,b} |
| MeOH | 20.000 | 33,20 \pm 1,55 ^c |
| MeOH/Ace | 200.000 | 93,37 \pm 2,22 ^b |
| MeOH/Ace | 20.000 | 32,16 \pm 0,99 ^c |
| BHT | 100 | 99,45 \pm 0,04 ^a |
| Ácido Ascórbico | 100 | 99,68 \pm 0,06 ^a |

Resultados expressos como média \pm desvio padrão (n=6). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. BHT = butil-hidroxi-tolueno; DPPH = 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

De acordo com a Tabela, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey para os extratos etanólico e metanólico em relação aos padrões ácido ascórbico e BHT a uma concentração 200.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os demais extratos, aquoso e metanol-acetona, na mesma concentração indicaram diferença significativa em relação aos padrões quando analisadas pelo mesmo teste. Os extratos não indicaram diferença significativa entre si.

Quando analisados a uma concentração de 20.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ os extratos metanólico, etanólico e metanol-acetona não diferiram entre si ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey, diferindo apenas do extrato aquoso. Para essa concentração, todos os extratos indicaram diferença significativa em relação aos padrões utilizados.

A polpa da laranjinha-de-pacu, nos diferentes extratos analisados, indicou seu bom potencial frente ao combate ao estresse oxidativo causado por espécies reativas. A atividade antioxidante da fruta pode ser explicada em relação aos teores

de compostos fenólicos determinados por este estudo, incluindo flavonoides e antocianinas, assim como outras classes de compostos como carotenoides, e vitamina C, uma vez que estes atuam como antioxidantes naturais hidrofílicos e lipofílicos, principalmente devido a suas estruturas químicas. Dessa forma, a posição e o número de hidroxilas presentes na molécula desses compostos é um fator relevante para sua atividade (HERNÁNDEZ; PRIETO GONZÁLES, 1999; SOUZA et al., 2007; BERGAMACHI, 2010).

Estudos a respeito dos mecanismos de reação, propostos para avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos pelo método do DPPH[·], envolvem, de forma isolada ou combinada, a dimerização entre dois radicais fenoxil, seguida da regeneração de dois grupos hidroxila pela transferência do hidrogênio, que pode novamente reagir com DPPH[·] ou uma molécula de DPPH[·] pode complexar-se com um radical aril, conforme demonstrado na Figura 13 (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; BONDET et al., 1997; RAO; AGARWAL, 1999).

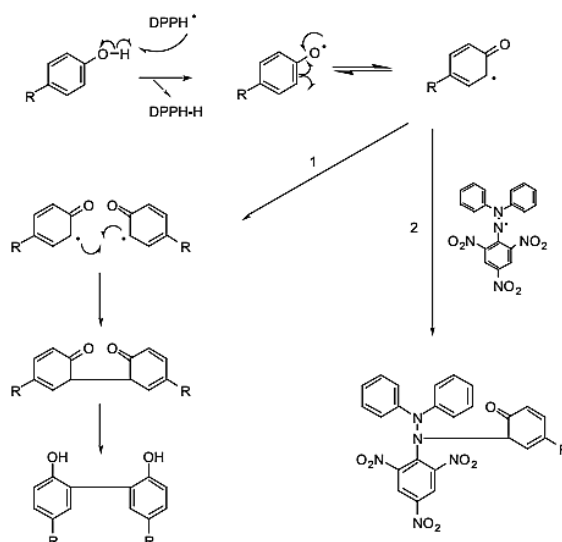


Figura 13– Proposta de mecanismos de reação para substâncias fenólicas com DPPH.

Fonte: Arbos (2009)

As propriedades coloidais dos substratos, condições e etapas de oxidação e estabilidade dos radicais podem influenciar a atividade dos antioxidantes presentes em frutas, assim como a presença de compostos não antioxidantes. O tipo de solvente, a polaridade e o pH da reação também podem afetar a atividade dos compostos sub ou superestimando o resultado final da análise (ROCKENBACK et al., 2008; BERGAMACHI, 2010).

De acordo com Yamaguchi et al. (1998), reações com o radical DPPH não são afetadas pela lipofilicidade e hidrofiliabilidade dos antioxidantes, o que foi observado através da similaridade entre as atividades de sequestro de radicais livres do Trolox e α -tocoferol. No entanto, existe uma cinética diferenciada de reação com o radical DPPH para diferentes compostos antioxidantes como, por exemplo, compostos como o BHT e BHA que reagem lentamente, compostos de cinética rápida, que levam poucos segundos para reagirem, como o ácido ascórbico, e compostos de cinética intermediária, com reações entre 5 e 30 min, como o α -tocoferol (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

Segundo Brand-Williams et al. (1995), a interação de um potencial antioxidante com o DPPH depende da sua conformação estrutural. Entretanto, o mecanismo se mostra complexo para a maioria dos compostos testados, o que indica a necessidade de estudos mais aprofundados a respeito desses mecanismos.

Os melhores solventes extratores analisados por este método foram os extratos hidroalcolicos etanol 95% e metanol 80%, indicando maior atividade antioxidante da polpa da laranjinha-de-pacu frente ao sequestro de radicais DPPH.

5.3.2 Método do Sequestro do Radical ABTS

A Tabela 5 apresenta os resultados de atividade antioxidante para a polpa da laranjinha-de-pacu determinada pelo método do sequestro do radical livre ABTS frente a diferentes extratos.

Tabela 5 - Resultado da Atividade Antioxidante (%AA) de diferentes extratos da polpa da laranjinha-de-pacu pelos métodos de sequestro de radical livre ABTS.

| Extrato | Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | %AA ABTS |
|-----------------|---|-------------------------------|
| Aquoso | 200.000 | 97,63 \pm 0,16 ^a |
| Aquoso | 20.000 | 19,19 \pm 0,61 ^e |
| EtOH | 200.000 | 88,80 \pm 0,93 ^c |
| EtOH | 20.000 | 13,44 \pm 0,37 ^f |
| MeOH | 200.000 | 97,61 \pm 0,85 ^a |
| MeOH | 20.000 | 24,35 \pm 0,48 ^d |
| MeOH/Ace | 200.000 | 93,97 \pm 0,60 ^b |
| MeOH/Ace | 20.000 | 22,09 \pm 0,52 ^d |
| BHT | 100 | 98,24 \pm 0,04 ^a |
| Ácido Ascórbico | 100 | 97,73 \pm 0,10 ^a |

Resultados expressos como média \pm desvio padrão (n=6). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

ABTS = 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico); BHT = butil-hidroxi-tolueno

Para este método não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para os extratos aquoso e metanólico a uma concentração de 200.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ pelo teste de Tukey, em relação aos padrões ácido ascórbico e BHT. Os extratos metanol-acetona e etanol foram os menos ativos, indicando diferença significativa ($p > 0,05$) com os padrões e entre si.

Quando analisados a uma concentração de 20.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ os extratos metanólico e metanol-acetona foram os mais ativos e não diferiram entre si ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey. Os extratos aquoso e etanólico indicaram diferença significativa ($p > 0,05$) e diferiram entre si para o mesmo teste. Para essa concentração, todos os extratos indicaram diferença significativa ($p > 0,05$) em relação aos padrões utilizados.

Os efeitos defensivos de antioxidantes naturais hidrofílicos e lipofílicos presentes em frutas são comumente avaliados pelo método do sequestro do radical livre ABTS, que pode ocorrer via reação química, eletroquímica ou enzimática (HALLIWELL, 2000; KUSKOSKI et al, 2005).

Para este método os melhores solventes extratores foram os estratos hidroalcolico (MeOH 80%) e aquoso, indicando maior atividade dos compostos

bioativos da polpa da laranjinha-de-pacu, quando extraído com solventes com alta polaridade.

Estudos indicam que a atividade antioxidante é afetada por diversos fatores e que a polaridade não consiste no único parâmetro que influencia a ação dos antioxidantes. A localização dos grupos hidrofílicos é mais importante que a polaridade dos extratos e exerce forte influência no percentual de inibição da oxidação observado, dependendo do meio onde são adicionados (PRADO et al., 2009).

6 CONCLUSÃO

Neste estudo foram determinadas a acidez titulável e o pH da polpa da laranjinha-de-pacu do Município de Rosana – SP, assim como os teores dos compostos bioativos (antocianinas, vitamina C, carotenoides, flavonoides amarelos, flavonoides totais e fenólicos totais) e a atividade antioxidante, de diferentes extratos da polpa da fruta, pelos métodos DPPH e ABTS.

A acidez titulável e o pH demonstraram bom potencial de consumo e industrialização da fruta, quando comparada a outras frutas do bioma brasileiro.

Os teores de compostos bioativos revelaram a qualidade nutricional da fruta, podendo a mesma ser considerada fonte de vitamina C e de compostos fenólicos, conhecidos principalmente por suas propriedades antioxidantes.

Quando analisados por diferentes extratos, os compostos bioativos presentes na polpa da laranjinha-de-pacu, indicaram boa atividade pelos dois métodos de sequestro de radical livre (DPPH \cdot e ABTS \cdot), no entanto, resultados diferentes foram observados em relação as soluções extratoras e as concentrações de 200.000 e 20.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ testadas.

Para o método DPPH os extratos que apresentaram maior atividade antioxidante frente ao sequestro do radical livre, foram os extratos etanólico (95%) e metanólico (80%). Para o método ABTS os melhores extratos foram os extratos metanólico (80%) e aquoso.

Os diferentes resultados de atividade antioxidante para os métodos analisados indicam que um estudo mais aprofundado, visando o isolamento dos constituintes químicos da fruta e a respeito dos mecanismos dos compostos bioativos presentes na polpa da laranjinha-de-pacu, frente aos radicais livres, deve ser realizado.

REFERÊNCIAS

ABE, L. T.; DA MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. **Compostos fenólicos e a capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinífera* L.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.

AGRAWAL, A. D. Pharmacological activities of flavonoids: a review. **Journal of Pharmaceutical Science Nanotechnology**, v. 4, n. 2, p. 1394-1398, 2011.

ALALUF, S.; HEINRICH, U.; STAHL, W.; TRONNIER, H.; WISEMAN, S. Dietary carotenoids contribute to normal human skin color and UV photosensitivity. **Journal of Nutrition**, v. 132, p.399-403, 2002.

ALMEIDA, I. V.; DÜSMAN, E, HECK, M. C.; PAMPILI, J. A.; LOPES, N. B.; TONIN, L. T. D.; VICENTINI, V. E. P. Cytotoxic and mutagenic effect of iodine-131 and radioprotection of acerola (*Malpighia glabra* L.) and beta-carotene, in vitro. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, p. 6402-6413, 2013.

ALMEIDA, S.P. **Cerrado: aproveitamento alimentar**. Planaltina: Embrapa - CPAC, 1998, 188 p.

ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E. F.; SMÂNIA, J. R. A.; ZANI, C.L. Biological screening of Brazilian Medicinal plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 367-373, 2000.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.D.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. **Analyst**, v. 127, p. 183-198, 2002.

AOKI, H.; KIEU, N.T.M.; KUZE, N.; TOMISAKA, K.; CHUYEN, N.V. Carotenoid pigments in Gacfruit (*Momordica cochinchinensis* Spreng). **Journal of Biotechnology**, v. 66, n. 11, p. 2479–2484,2002.

ARBOS, K. A. **Qualidade Sanitária e Nutricional de Hortícolas Orgânicas**. 2009. 161 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

BATISTA, L. C. L. **Qualidade Nutricional e Atividade Antioxidante de Laranjinha-de-pacu (*Pouteria Glomerata* (miq.) Radlk) do Cerrado e do Pantanal**. 2013. 69 f.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste). Universidade Federal do Mato Grosso Sul, Campo Grande, 2013.

BENASSI, M.T.; ANTUNES, A. J. A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 31, n. 4, p. 507-513, 1998.

BERGAMACHI, K. B. **Capacidade antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento**. 2010. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH• Free Radical Method. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 30, p. 609–615, 1997.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v.22, p.25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº1, de 7 de janeiro de 2000. Aprova o regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2000. Seção 1, p. 54.

BRASIL. Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública nº 80, de 13 de dezembro de 2004. Dispõe "sobre o regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais". **Diário Oficial da União**. p.1-4, 2004.

CAPECKA, E.; MARECZEK, A.; LEJA, M. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. **Food Chemistry**, v. 93, p. 223-226, 2005.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, p. 859–871, 2009.

CHAMBERS, S. J.; LAMBERT, N.; PLUMB, G. W.; WILLIAMSON, G. Evaluation of the antioxidant properties of a methanolic extract from juice plus fruit and juice plus vegetable (dietary supplements). **Food Chemistry**, v. 57, p. 271-274, 1996.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análises de alimentos**. 2. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2003, 205 p.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 8, p. 345–358, 2009.

DAVIES, D. D.; STUMPF, P. K. *Secondary Plant Products: A Comprehensive Treatise*; **Conn E. E.**: New York, 1981.

EMUBRA. Disponível em:

<http://camarapprudente.sp.gov.br/historia/hist_oeste/cidades/rosana/turismo.html>. Acessoem: 20 mai. 2015.

FALLER, A. L. K.; FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 43, n.2, p.211-218, 2009.

FERREIRA, J. A. **Caracterização Química Da Laranjinha-De-Pacu (*Pouteria Glomerata (Miq.) Radlk.*) e Elaboração de Sorvete**. 2015. 75 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste). Universidade Federal do Mato Grosso Sul, Campo Grande, 2015.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, v.408, p.239-247, 2000.

FORMICA, J.V.; REGELSON, W. Review of the Biology of Quercetin and Related Bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology*, v. 33, p. 1061-1080, 1995.

FRANCIS, F. J. Analysis of Anthocyanins. In: **Anthocyanins as Food Colors**. New York: Academic Press, 1982, p. 181-207.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, p. 171–178, 2006.

GUARATINI, T.; MEDEIROS, M. H. G.; COLEPICOLO, P. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. **Química Nova**, v. 30, n.1, p. 206-213, 2007.

HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 3 ed.. Oxford: Clarendon, 2000. 936 p.

HERNÁNDEZ, A. M.; PRIETO GONZÁLES, E. A. Plantas que contienen polifenoles. **Revista Cubana de Investigaciones Biomedica**, Ciudad de La Habana, v.18, n. 1, p. 12-14, 1999.

HERTOG, M. G. L.; KROMHOUT, D.; ARAVANIS, C.; BLACKBURN, H.; BUZINA, R.; FIDANZA, F.; GIAMPAOLI, S.; JANSEN, A.; MENOTTI, A.; NEDELJKOVIC, S.; PEKKARINEN, M.; SIMIC, B. S.; TOSHIMA, H.; FESKENS, E.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. **Archives of Internal Medicine**, v. 155, p. 381–386, 1995.

HIGBY, W. K. A simplified method for determination of some the carotenoid distribution in natura and carotene–fortified orange juice. **Journal Food Science**, v. 27, p. 42-49, 1962.

HOLTON, T. A.; CORNISH, E. C.; Genetics and Biochemistry of Anthocyanin Biosynthesis. **The Plant Cell**, v. 7, p. 1071-1083, 1995.

HORWITZ, W. (Ed.) **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17^o ed. v. 2. Gaithersburg: AOAC, 2000.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ–AMAYA, D. B. **Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos**. Alimentos e Nutrição. Araraquara, v. 19, n. 1, p. 97-108, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3 ed. v. 1. São Paulo: IMESP, 1985. 533p.

KONCZAK, I.; ZHANG, W. Anthocyanins - More Than Nature's Colours. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 5, p. 239–240, 2004.

KRINSKY, N. I. Actions of carotenoids in biological systems. **Annual Review of Nutrition**, v. 13, p. 561-87, 1993.

KURZ, C.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. HPLC-DAD-MSn characterization of carotenoids from apricots and pumpkins for the evaluation of fruit product authenticity. **Food Chemistry**, v. 110, p. 522-530, 2008.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. **The Scientific World Journal**, v.3, p. 1-16, 2013.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidante activity of red grape poma cepeels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 1390-1393, 1997.

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

LIMA, G. A.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; KOHEN, K. O.; GUIMARÃES, T. G. Características Físico-Químicas, Polifenóis e Flavonoides Amarelos em Frutos de Espécies de Pitaias Comerciais e Nativas do Cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 565-570, 2013.

LIMA, V.L.A.G.; MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; PRAZERES, F.G.; MUSSER, R.S.; LIMA, D.E.S. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, v. 90, p. 565-568, 2005.

LORENZO, Y.; AZQUETA, A.; LUNA, L.; BONILLA, F.; DOMÍNGUEZ, G.; COLLINS, A. R. The carotenoid betacytotoxanthin stimulates the repair of DNA oxidation damage in addition to acting as an antioxidant in human cells. **Carcinogenesis**, v. 30, n. 2, p. 308-314, 2009.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008.

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

MELO, R. B. **Caracterização das reservas das sementes e avaliação da germinação e formação de plântulas de nove espécies arbóreas de florestas alagáveis da Amazônia**. 2013. 82 F. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN BEEK, T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, v. 85, p. 231-237, 2004.

MINUSSI, R. C.; ROSSI, M.; BOLOGNA, L.; CORDI, L.; ROTILIO, D.; PASTORE, G. M.; DURÁN, N. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. **Food Chemistry**, Oxon, v. 82, n. 3, p. 409-416, 2003.

MOESLINGER, T.; BRUNNER, M.; VOLF, V.; SPIECKERMANN, P. G. Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid and Dehydroascorbic Acid. **General Clinical Chemistry**, v. 41, n. 8, p. 1177-1181, 1995.

MÜLLER, L.; FRÖHLICH, K.; BÖHM, V. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (aTEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. **Food Chemistry**, v.129, p.139-148. 2011.

NOGUEIRA, L. G. **Avaliação do potencial antimicrobiano de *Pouteria spp.* e de triterpenos quinonametídeos com enfoque no *Helicobacter pylori***. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2012.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F. Fontes Vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLMOS, E.; KIDDLE, G.; PELLNY, T. K.; KUMAR, S.; FOYER, C. H. Modulation of plant morphology, root architecture, and cell structure by low vitamin C in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 8, p. 1645–1655, 2006.

PALIOTO, G. F.; SILVA, C. F. G. 1, MENDES, M. P.; ALMEIRA, V. V.; ROCHA, C. L. M. S. C.; TONIN, L. T. D. Composição centesimal, compostos bioativos e atividade

antioxidante de frutos de *Morinda citrifolia* Linn (noni) cultivados no Paraná. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n.1, p. 59-66, 2015.

PENNINGTON, T. D. *Sapotaceae*. Flora Neotropica, Monography. v. 52. **The New York Garden**, 1990, 770 p.

POTT, A. POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal, 1994, 285p.

_____. **Plantas aquáticas do Pantanal**. Corumbá: EMBRAPA, 2000.

PRADO, A. C. P.; ARAGÃO, A. M.; FETT, R. **Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]**. Brazilian Journal of Food Technology, v. 12, n. 4, p. 323-332, 2009.

RAMALHO, L. S.; PERFEITO, J. P.; LOPES, K.E.; PAULA, J. E.; FERNANDEZ, I. M.; SOUZA, R. S.; ELIZABETH, N. F.; SANTOS, M. L.; SILVEIRA, D. **Avaliação da atividade citotóxica e microbiana de extratos de *Pouteria ssp* (*Sapotaceae*)**. Congresso Iberoamericano de Plantas Mediciniais. III Jornada de Fitoterapia do Rio de Janeiro. Livro de Resumos, Angra dos Reis, 2004.

RAO, A.V.; AGARWAL, S.V., P. 305 - 323, 1999. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. **Nutrition Research**, v.19, p. 305-323, 1999.

ROGINSKY, V.; LISSI, E.A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, p. 235-254, 2005.

RUFINO M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PEREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Embrapa: Comunicado Técnico online 127, p.1-4, 2007.

_____. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS-+**. Embrapa: Comunicado Técnico online 128, p.1-4, 2007.

SARKAR, N.; SRIVASTAVA, P. K.; DUBEY, V. K. Understanding the language of vitamin C. **Current Nutrition & Food Science**, v. 5, p. 53–55, 2009.

SCALBERT, A.; JOHNSON, I. T.; SALTMARSH, M. Polyphenols: antioxidants and beyond. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 215S-7S, 2005.

SCHAICH, K. M.; XIE, T. J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 111–125, 2015.

SINGH, S.; SWAIN, S.; NISHA, M.; BANU, V. S.; SINGH, D. R.; ROY, S. D. Changes in lycopene, total carotenoid and anti-radical activity in teasel gourd [*Momordica subangulata* ssp. *renigera* (G. Don) de Wilde] fruit fractions at different stages of maturity. **Industrial Crops and Products**, v. 73, p. 154–163, 2015.

SINGLETON, V. L.; JOSEPH, A.; ROSSI, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, p. 144-149, 1965.

SILVA, A. M. L.; MARTINS, B. A.; DE DEUS, T. N. **Avaliação do Teor de Ácido Ascórbico em Frutos do Cerrado Durante o Amadurecimento e Congelamento**. Estudos, v. 36, n. 11/12, p. 1159-1169, 2009.

SILVA, C. A. M.; SIMEONI, L. A.; SILVEIRA, D. Genus *Pouteria*: Chemistry and Biological Activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2, p. 501-509, 2009.

SILVA, G. M. **Potencial Antioxidante de Frutos do Cerrado e do Pantanal, no Estado de Mato Grosso do Sul**. 2010. 77 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste). Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2010.

SIRIWOHARN, T; WROLSTAD, R. E.; FINN, C. E.; PEREIRA, C. B. Influence of Cultivar, Maturity, and Sampling on Blackberry (*Rubus* L. Hybrids) Anthocyanins, Polyphenolics, and Antioxidant Properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.26, p.8021, 2004.

SKYSCRAPERCYTY. **Rosana/SP - Na "pontinha" do Estado de São Paulo - A cidade mais distante da capital**. Disponível em <<http://www.skyscrapercity.com/showthread.php?t=1503308>>. Acesso em 26 mai. 2015.

SOUZA, C. M. M.; ROCHA e SILVA, H.; VIEIRA Jr, G. M.; AYRES, M. C. C.; DA COSTA, L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, F.C.; SILVA, L.M.M.; CASTRO, D.S.; NUNES, J.S.; SOUSA, E.P. Propriedades Físicas e Físico-químicas de polpa de Juazeiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 2, p. 68-71, 2013.

StatSoft. Inc. **SOFTWARE STATISTICA®**. Versão 8. 2007.

SWENSON, U.; ANDERBERG, A.A. Phylogeny, character evolution and classification of Sapotaceae (Ericales). **Cladistics**, v. 21, n. 2, p.101–130, 2005.

TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4 ed., 161 p., NEPA-UNICAMP: Campinas, 2011.

TAVARES, M. S. S.; RAMOS, M. I. **Atividade Antioxidante de Frutos do Cerrado e do Pantanal, do Estado de Mato Grosso do Sul: Padronização de Metodologias**. (Relatório de Pesquisa). Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2008.

VISIOLI, F.; KEANEY JR., J. F.; HALLIWELL, B.; Antioxidants and cardiovascular disease; panaceas or tonics for tired sheep? **Cardiovascular Research**, v. 47, p. 409, 2000.

VISOTTO, M. BIALVES, T. S.; ARAÚJO, V. F.; NACHTIGAL, J. C. **Polpas de Frutas: fontes de compostos antioxidantes**. 4º Simpósio de Segurança Alimentar, 29 a 31 de maio de 2012, Gramado – Rio Grande do Sul, 2012.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 801–1812, 1999.

WENZEL, G. E. **Radicais livres, antioxidantes nutraceuticos fenolicos e polifenolicos vegetais**. 1 ed. São Leopoldo: Ed. UNISINOS, 2013.

WHO. **World Health Organization**. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO expert consultation. FAO expert consultation. Geneva: WHO, 2003.

YAMAGUCHI, T.; TAKAMURA, H.; MATOBA, T.; TERAOKA, J. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 62, n. 6, p. 1201-1204, 1998.

YANG, Z.; ZHAI, W. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zeamays L.*) **Innovative Food Science & Emerging Technology**, v.11, p. 169-176, 2010.