

**MARIA DO SOCORRO MOURA RUFINO**

**PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE FRUTAS  
TROPICAIS BRASILEIRAS NÃO TRADICIONAIS**

**MOSSORÓ-RN  
2008**

MARIA DO SOCORRO MOURA RUFINO

**PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE FRUTAS TROPICAIS  
BRASILEIRAS NÃO TRADICIONAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido como parte das exigências para obtenção do grau de Doutor em Agronomia: Fitotecnia, Área de Concentração: Agricultura Tropical, Linha de pesquisa: Bioquímica, Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita.

ORIENTADOR:  
Prof. Dr. RICARDO ELESBÃO ALVES

MOSSORÓ - RN  
2008

**Ficha catalográfica preparada pelo setor de classificação e catalogação da  
Biblioteca “Orlando Teixeira” da UFERSA**

R926p Rufino, Maria do Socorro Moura.

Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais. /  
Maria do Socorro Moura Rufino. -- Mossoró (RN): 2008.  
237f.: il.

Tese (Doutorado em Fitotecnia - Área de concentração: Agricultura  
Tropical - Linha de Pesquisa: Bioquímica, Fisiologia e Tecnologia Pós-  
Colheita) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-  
Graduação.

Orientador: Prof.º D.Sc. Ricardo Elesbão Alves

Orientador Estrangeiro: Prof.º D.Sc. Fulgencio Saura-Calixto

1.Frutas tropicais. 2.Caracterização. 3.Compostos bioativos. 4.Atividade  
antioxidante. 5.Fibra dietética antioxidante. Título.

CDD:634.6

Bibliotecária: Marilene Santos de Araújo  
CRB-5/1033

**“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”**

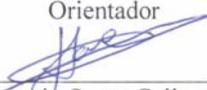
MARIA DO SOCORRO MOURA RUFINO

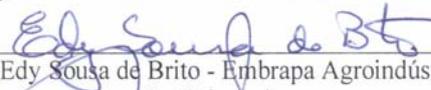
**PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE FRUTAS TROPICAIS  
BRASILEIRAS NÃO TRADICIONAIS**

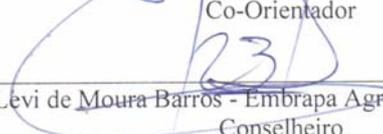
Tese apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido como parte das exigências para obtenção do grau de Doutor em Agronomia: Fitotecnia, Área de Concentração: Agricultura Tropical, Linha de pesquisa: Bioquímica, Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita.

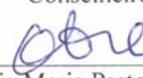
APROVADA EM: 30 / 12 / 2008

  
\_\_\_\_\_  
Pesq. D.Sc. Ricardo Elesbão Alves - Embrapa Agroindústria Tropical / UFERSA  
Orientador

  
\_\_\_\_\_  
Pesq. D.Sc. Fulgencio Saura-Calixto - ICTAN/CSIC  
Orientador Estrangeiro (Espanha)

  
\_\_\_\_\_  
Pesq. D.Sc. Edy Sousa de Brito - Embrapa Agroindústria Tropical  
Co-Orientador

  
\_\_\_\_\_  
Pesq. D.Sc. Lévi de Moura Barros - Embrapa Agroindústria Tropical / UFERSA  
Conselheiro

  
\_\_\_\_\_  
Prof. D.Sc. Gláucia Maria Pastore - FEA/UNICAMP  
Conselheira

“Todos nós recebemos de Deus dons, talentos, qualidades e virtudes. Ao longo da vida, conseguimos – com experiência e o estudo – aprimorar nossas habilidades. Ora, tudo isso não pode ser enterrado, mas precisa ser investido em favor da coletividade. Grande é a nossa responsabilidade; não podemos nos omitir, deixando que os bens permaneçam infrutíferos, privando a comunidade e a sociedade desses frutos.

Investir é sempre um risco, mas sem risco não há crescimento, não há avanço e não há melhoria de vida. Jesus exige criatividade, coragem, empreendimento não somente no serviço do reino de Deus, mas também no mundo do trabalho, da economia... Tudo deve ser movimentado com criatividade para que favoreça o maior número possível de pessoas. A lógica de não fazer nada para não errar não é válida. Quem faz está sujeito a errar às vezes, mas quem nada faz em favor de alguém erra sempre.

Não podemos passar pela vida desperdiçando saúde, estudo, qualidades, virtudes... Tudo deve ter uma finalidade, um objetivo: aplicar os dons para o crescimento próprio, da comunidade e da sociedade. Um dia seremos cobrados por aquilo que tivermos feito ou deixado de fazer. Jesus quer que sejamos bons administradores dos seus bens.

### *O RISCO DA RESPONSABILIDADE*

*Pe. Nilo Luza, ssp*

AO MEU QUERIDO E BOM DEUS em que tudo pode e me fortalece... Tu és o amor que acredito... és a vida que tanto amo... és misericórdia e luz em meus momentos de escuridão... és tudo... portanto, OBRIGADA DEUS, por tudo e por todos! Obrigada por confiar em mim!

Aos meus pais Antônio e Maria da Paixão, a quem tenho muito orgulho, pelo grande incentivo, companheirismo e pelos momentos de muito afeto e palavras sábias e de conforto nas horas difíceis.

A Adnaid, Ana Patrícia e Rita de Kássia, irmãs maravilhosas e Sávio, querido cunhado, pela cumplicidade e grande apoio.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Fitotecnia - UFERSA, pela formação acadêmica e pela oportunidade de realização do Doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa através do Programa Demanda Social e Estágio de Doutorando (Exterior), sem as quais seria impossível a realização deste trabalho.

A Embrapa Agroindústria Tropical, pela permissão do uso de suas instalações como também o suporte financeiro através do CNPq (Edital 30/2004 - 506633/2004-7; Edital 19/2004 - 481259/2004-0 e Edital 15/2007 – 486.067/2007-6) e União Européia (INCO-CT-2005-015279) para a execução deste trabalho.

Ao pesquisador e orientador Dr. Ricardo Elesbão Alves, pela amizade incondicional, confiança e apoio em minha vida acadêmica, direcionando-me ao mundo da pesquisa desde o mestrado e que, em momentos especiais da minha vida, marcou sua presença como pessoa amiga e solidária. Obrigada por me ajudar a vencer mais uma etapa de minha vida profissional!

Ao pesquisador Dr. Edy Sousa de Brito, pela co-orientação com muito profissionalismo, sabedoria e competência, também pela confiança, ensinamento e incentivo sempre com palavras de apreço e respeito, valorizando as nossas idéias e quando necessárias equacionando-as.

Aos demais membros da banca examinadora, pesquisador Dr. Levi de Moura Barros e professora Dra. Gláucia Maria Pastore, pelas correções e valiosas contribuições para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos professores da Pós-graduação (UFERSA) pela atenção e amizade. Agradeço principalmente ao professor PhD. Francisco Bezerra Neto “meu eterno coordenador” pelo apoio sempre presente. Os meus sinceros gestos de carinho e gratidão.

Ao grupo de pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, Prof. Dr. Jorge Mancini Filho, Dra. Elma Regina Silva de Andrade-Wartha e a farmacêutica Rosângela Pavan por me receberem para treinamento no Laboratório de Lípedes.

Aos Institutos de pesquisa e fazendas particulares pelo fornecimento das frutas, fundamentais na realização deste trabalho.

Aos pesquisadores da Embrapa Agroindústria tropical e funcionários pela amizade e conhecimentos adquiridos.

Aos funcionários Paulo e Socorro Amorim, da secretaria de Pós-graduação da UFERSA, pela atenção, sempre eficiente e espontânea, no atendimento.

A estudante e amiga Caroline Sampaio pela dedicação exemplar ao trabalho de iniciação científica e pela participação importante na padronização dos métodos de Atividade Antioxidante.

Aos estudantes Ana Carolina Pereira, Augusta Tremocoldi, Cristiane Morgado, Eliardo Cavalcante, Fátima Gomes, Joze Fonteles e Maíra Uiliana pela participação no decorrer da pesquisa através dos seus trabalhos de iniciação científica e/ou conclusão de curso. Obrigada a todas vocês pela dedicação, compromisso e amizade!

Aos bolsistas Everaldo Farias e Paolo Araújo e pela contribuição ao desenvolvimento dos trabalhos no laboratório.

Às bolsistas Denise Josino e Kellina Souza pela postura sempre prestativa e auxílios prestados no decorrer do experimento.

À Márcia Régia, Analista do Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-colheita da Embrapa Agroindústria Tropical e a todos os bolsistas e estagiários, pelo grande apoio e préstimos, além dos momentos de amizade que se fizeram presentes.

À Rita de Kássia, minha irmã e Rita de Cássia, bibliotecária da Embrapa Agroindústria Tropical pela ajuda e correções nas referências da tese.

Ao biólogo Leonardo Normando pela valiosa contribuição como web designer nas ilustrações (frutas).

Ao amigo poeta, cartunista e xilogravador Klévisson Viana pelo presente enriquecedor neste trabalho através do seu conto “O menino mofino e as frutas tropicais”.

A minha mãe Maria da Paixão e irmã Adnaid, pela valiosa contribuição nas correções gramaticais da tese.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## AGRADECIMIENTOS

*A mi director de Tesis en Madrid-ES, el Dr. Fulgencio Saura-Calixto, por haberme permitido realizar una estancia en su laboratorio y a la Dra. Jara Pérez-Jiménez por lo que me ha enseñado, en los que ha sido un estímulo e apoyo constantes, tanto en la etapa experimental como en la escritura. Muchas gracias por la confianza depositada en mí en numerosas ocasiones.*

*A Don Luis Llanas Esteban, gerente del Instituto del Frío, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas por el permiso para realizar la estancia de Doctorado, desde el 27 de noviembre de 2007 al 27 de junio de 2008.*

*A la Dra. María Tabernero, por haberme ayudado a introducirme en el mundo de la fibra indigestible.*

*A las técnicas del Departamento de Metabolismo y Nutrición Isabel Fernandez-Conde y María Rosa Redondo por su apoyo técnico durante todo el desarrollo de mi tesis.*

*A los compañeros del Instituto del Frío con los que he compartido muchos desayunos y cumpleaños, en especial Dra. M<sup>a</sup> Elena Díaz-Rubio y Sara Arranz por su cooperación y paciencia.*

*A todos mis amigos que conocí en Madrid de varias partes del mundo. ¡Muchas gracias por la agradable compañía y amistad!*

## RESUMO

RUFINO, Maria do Socorro Moura. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais**. 2008. 237p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2008.

Pesquisas apontam que vários compostos presentes nas frutas vêm contribuindo de maneira significativa para a atividade antioxidante. O Brasil é um país com grande diversidade em espécies de frutas tropicais, ainda pouco exploradas, mas com um enorme potencial agroindustrial e nutricional. O objetivo deste trabalho foi avaliar dezoito frutas tropicais (açai, acerola, bacuri, cajá, caju, camu-camu, carnaúba, gurguri, jaboticaba, jambolão, juçara, mangaba, murici, murta, puçá coroa de frade, puçá-preto, umbu e uvaia) não tradicionais brasileiras (nativas e exóticas) quanto à qualidade para consumo in natura e industrialização, conteúdo de compostos bioativos e atividade antioxidante total (AAT). Adicionalmente três destas frutas (açai, acerola e caju) foram avaliadas como fonte de fibra dietética antioxidante (FDA) e uma delas quanto à qualidade nutricional de seu óleo (açai). Amostras das frutas foram colhidas em coleções ou em áreas de ocorrência ou cultivo e avaliadas no para o Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, quanto a: sólidos solúveis totais, acidez total titulável, SST/ATT, pH, vitamina C, açúcares, amido, pectinas, antocianinas, flavonóides, clorofila, carotenóides, polifenóis e CAT da matéria fresca e seca pelos métodos: ABTS, DPPH, FRAP e sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico. Adicionalmente, foi realizado no Departamento de Metabolismo e Nutrição (ICTAN-CSIC), Madrid, Espanha, o estudo da FAD em açai BRS-Pará, acerola BRS 236 e caju CCP 76 e da qualidade e CAT do óleo do açai BRS-Pará. As análises foram realizadas em triplicatas para cada amostra e os resultados expressados em média  $\pm$  desvio padrão. A avaliação da qualidade das frutas revelou uma ampla variabilidade e conseqüentemente a possibilidade de uso destas tanto para o mercado in natura quanto para processamento. A maioria das frutas pode ser classificada como boa ou excelente fonte de compostos bioativos e elevada CAT, com destaque para acerola, camu-camu e puçá-preto. O teor de fibra alimentar (FA) das frutas estudadas foi 71, 26 e 20 %, respectivamente, para açai, acerola e caju. O açai, pela elevada CAT associada à FA, pode ser considerado como uma fonte de FDA. Além disso, seu óleo apresentou uma CAT superior ao azeite de oliva extra virgem e semelhante composição de ácidos graxos (ácidos oléico e linoléico). O conhecimento do potencial dessas espécies poderá permitir o acesso a novos mercados com produtos diferenciados do ponto de vista nutricional e funcional.

Palavras-chave: frutas tropicais, caracterização, compostos bioativos, atividade antioxidante, fibra dietética antioxidante.

## ABSTRACT

RUFINO, Maria do Socorro Moura. **Functional properties of non-traditional Brazilian fruits.** 2008. 237p. Thesis (Doctorate in plant science). Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN, Brazil, 2008.

Fruits are generally an important source of antioxidant compounds. Brazil boasts a considerable diversity of tropical fruit species, of which the agroindustrial potential and nutritional value have not yet been established. The objective of the present study was to evaluate 18 non-traditional tropical fruits occurring in Brazil (acerola, assai, bacuri, camu-camu, carnaúba, cashew apple, gurguri, jaboticaba, java plum, jussara, mangaba, nance, murta, puçá-coroa-de-frade, puçá-preto, umbu, uvaia and yellow mombim) with regard to their potential for industrialization and consumption in natura, content of bioactive compounds and total antioxidant capacity (TAC). In addition, a subset of these fruits was evaluated for antioxidant dietary fiber (ADF) (assai, acerola and cashew apple) and oil quality (assai). Samples obtained from collections, crops or areas of occurrence were evaluated at the Laboratory of Physiology and Post-Harvest Technology (Embrapa Tropical Agroindustry, Fortaleza, CE, Brazil) for total soluble solids (TSS), total titratable acidity (TTA), TSS/TTA, pH, vitamin C, sugars, starch, pectins, anthocyanins, flavonoids, chlorophyll, carotenoids, polyphenols and TAC (fresh and dried matter) using four different methods (ABTS, DPPH, FRAP and  $\beta$ -carotene bleaching). Additionally, at the Department of Metabolism and Nutrition (ICTAN-CSIC, Madrid, Spain) ADF was determined for samples of assai (BRS-Pará), acerola (BRS 236) and cashew apple (CCP 76), and TAC and oil quality were determined for assai (BRS-Pará). Each sample was tested with three repetitions and results were expressed as average values  $\pm$  standard deviation. The functional properties of the 18 fruits evaluated varied significantly: most of the species may be considered good or excellent sources of bioactive compounds with high levels of TAC, especially acerola, camu-camu and puçá-preto, whereas assai, acerola and cashew apple contained 71%, 26% and 20% antioxidant fibers (AF), respectively. The association of high levels of TAC and AF makes assai an important source of ADF. Compared to extra-virgin olive oil, assai oil had higher TAC values and a similar composition of fatty acids (oleic and linoleic acids). The findings of this study may be helpful in identifying potential international markets for a range of relatively unexploited non-traditional tropical fruits.

**Keywords:** tropical fruits; description; bioactive compounds; antioxidant capacity; antioxidant dietary fiber.

## LISTA DE QUADROS

Quadro 01 -	Evolução do conceito de fibra .....	94
Quadro 02 -	Conteúdo de fibra (% matéria seca) em produtos de frutas e cereais .....	101

## LISTA DE FIGURAS

### CAPITULO 1

Figura 01 - Frutos do açazeiro ( <i>Euterpe oleracea</i> ) .....	9
Figura 02 - Fruto da aceroleira ( <i>Malpighia emarginata</i> ) .....	11
Figura 03 - Fruto do bacurizeiro ( <i>Platonia insignis</i> ) .....	15
Figura 04 - Frutos da cajazeira ( <i>Spondias mombin</i> ) .....	18
Figura 05 - Caju – castanha + pedúnculo ( <i>Anacardium occidentale</i> ) .....	21
Figura 06 - Fruto do camu-camuzeiro ( <i>Myrciaria dubia</i> ) .....	24
Figura 07 - Frutos da carnaubeira ( <i>Copernicia prunifera</i> ) .....	27
Figura 08 - Fruto do gurgurizeiro ( <i>Mouriri guianensis</i> ) .....	28
Figura 09 - Fruto da jaboticabeira ( <i>Myrciaria cauliflora</i> ) .....	30
Figura 10 - Frutos do jamboleiro ( <i>Syzygium cumini</i> ) .....	32
Figura 11 - Frutos da juçara ( <i>Euterpe edulis</i> ) .....	33
Figura 12 - Frutos da mangabeira ( <i>Hancornia speciosa</i> ) .....	36
Figura 13 - Frutos do muricizeiro ( <i>Byrsonima dealbata</i> ) .....	38
Figura 14 - Fruto da murteira ( <i>Blepharocalyx salicifolius</i> ) .....	41
Figura 15 - Frutos do puçazeiro-coroa-de-frade ( <i>Mouriri elliptica</i> ) .....	43
Figura 16 - Fruto do puçazeiro-preto ( <i>Mouriri pusa</i> ) .....	45
Figura 17 - Fruto do umbuzeiro ( <i>Spondias tuberosa</i> ) .....	47
Figura 18 - Fruto da uvaieira ( <i>Eugenia pyriformis</i> ) .....	50

Figura 19 -	Estrutura geral de um flavonóide .....	66
Figura 20 -	Estruturas químicas de alguns carotenóides .....	70
Figura 21 -	Estrutura química do ácido ascórbico .....	73
Figura 22 -	Estabilização do radical ABTS <sup>•+</sup> por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio .....	80
Figura 23 -	Estabilização do radical livre DPPH .....	81
Figura 24 -	Redução do complexo TPTZ com Fe <sup>3+</sup> .....	84
Figura 25 -	Exemplo de um processo de oxidação da fluoresceína na presença de AAPH .....	85
Figura 26 -	Esquema de uma célula vegetal e a estrutura da parede celular .....	89
Figura 27 -	Diferenças metodológicas entre a fração indigerível (A) e a fibra AOAC (B) .....	97
Figura 28 -	Trânsito intestinal dos alimentos .....	98

## **CAPÍTULO 2**

Figura 1 -	Arecaceae, Melastomataceae and Anacardiaceae fruits .....	148
Figura 2 -	Apocynaceae, Malpigiaceae, Myrtaceae and Clusiaceae fruits .....	149

## **CAPÍTULO 3**

Figure 1 -	Flow chart showing determination of antioxidant capacity of aqueous-organic extracts .....	175
------------	--	-----

## **CAPÍTULO 4**

Figure 1 -	Scheme of the determination of dietary fiber and associated antioxidants in Açai BRS-Pará .....	205
Figure 2 -	Scheme of the determination of antioxidant capacity of the defatted matter and of oil in Açai BRS-Pará .....	206

## **CAPÍTULO 5**

- Figure 1 - Scheme of the determination of dietary fiber and associated antioxidants in Acerola BRS 236 and Cashew Apple CCP 76 ..... 231
- Figure 2 - Scheme of the determination of antioxidant capacity of the dry matter in Acerola BRS 236 and Cashew Apple CCP 76 pulps ..... 232

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2

Table 1 -	List of the 18 Brazilian tropical, non-traditional fruits included in the study.....	150
Table 2 -	Características de qualidade de 18 frutas tropicais não-tradicionais brasileiras .....	151

### CAPÍTULO 3

Table 1 -	List of the 18 non-traditional Brazilian tropical fruits .....	176
Table 2 -	Bioactive compounds and humidity in 18 non-traditional Brazilian tropical fruits .....	177
Table 3 -	Polyphenols and antioxidant capacity in extracts aqueous-organic of 18 non-traditional Brazilian tropical fruits - fresh matter .....	178
Table 4 -	Polyphenols and antioxidant capacity in aqueous-organic extracts of 18 non-traditional Brazilian tropical fruits - dry matter .....	179
Table 5 -	Pearson's correlation coefficients (r) between bioactive compounds and antioxidant capacity - fresh matter .....	180

### CAPÍTULO 4

Table 1 -	Proximate composition of Açaí 'BRS-Pará' .....	207
Table 2 -	Composition of dietary fiber of Açaí 'BRS-Pará' .....	207
Table 3 -	Fatty acid composition of Açaí 'BRS-Pará' and contained oil .....	208
Table 4 -	Polyphenols and antioxidant capacity of defatted Açaí 'BRS-Pará' in aqueous-organic extracts and its residues .....	208
Table 5 -	Antioxidant capacity of Açaí 'BRS-Pará' and Extra virgin olive oil (DPPH method) .....	209

Table 6 - Polyphenols and antioxidant capacity associated to dietary fiber of Açaí 'BRS-Pará' .....	209
---	-----

## **CAPÍTULO 5**

Table 1 - Content and composition of dietary fiber (% dry matter) of Acerola fruits and Cashew apples .....	233
Table 2 - Polyphenols and antioxidant capacity of acerola fruits and Cashew apples in aqueous-organic extracts and its residues .....	234
Table 3 - Polyphenols and antioxidant capacity associated to dietary fiber of acerola fruits and Cashew apples .....	235

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A.O.A.C. ....	Analysis of the Association of Oficial Analitical Chemist
AACC .....	American Association of Cereal Chemist
AAPH .....	2,2'-Azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride
ABTS .....	Ácido 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
AODF .....	Antioxidant Dietary Fiber
BHT .....	Butil Hidroxi Tolueno
CCl <sub>3</sub> · .....	Triclorometil
Cl .....	Cloro
DNA .....	Ácido desoxirribonucleico
DPPH .....	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
FA .....	Fibra Alimentar
FAO .....	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
FAU .....	Fibra Antioxidante de Uva
Fluoresceína ....	3,6'- dihydroxy-spiro [isobenzofuran-1 [3H],9'[9H]-xanthen]-3-ona
FRAP .....	Poder Antioxidante de Redução do Ferro
GSH .....	Sulfidril
GSHPx .....	Glutaciona Peroxidase
GSSG .....	Glutaciona Dissulfeto
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	Peróxido de hidrogênio
HAT .....	Hidrogen Atom Transfer
IBGE .....	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBRAF .....	Instituto Brasileiro de Frutas
IPBGR .....	International Board for Plant Genetic Resources
K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> .....	Persulfato de Potássio
LCC .....	Líquido da Castanha de Caju
N .....	Nitrogênio
NADPH .....	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo-P
NO <sub>2</sub> .....	Dióxido de nitrogênio
NSP .....	Non-Starch Polysaccharides
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> .....	Íon superóxido
OH· .....	Radical hidroxila
OMS .....	Organização Mundial da Saúde
ONOO <sup>-</sup> .....	Peroxinitrito
ORAC .....	Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio
PFE .....	Polifenóis Extraíveis
PFNE .....	Polifenóis não Extraíveis
RNA .....	Ácido ribonucleico

RO <sup>•</sup> .....	Alcoxila
ROS .....	Reactive Oxygen Species
SET .....	Single Electron Transfer
SOD .....	Superóxido Dismutase
TEAC .....	Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox
Trolox .....	6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico
β-PE .....	β-ficoeritrina

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA .</b>	<b>1</b>
1.1 INTRODUÇÃO GERAL .....	1
1.2 REVISÃO DE LITERATURA .....	4
<b>1.2.1 Fruticultura tropical .....</b>	<b>4</b>
1.2.1.1 Fruteiras tropicais não tradicionais: nativas e exóticas .....	5
1.2.1.2 Espécies .....	6
1.2.1.2.1 <i>Açaí</i> .....	7
1.2.1.2.2 <i>Acerola</i> .....	10
1.2.1.2.3 <i>Bacuri</i> .....	12
1.2.1.2.4 <i>Cajá</i> .....	16
1.2.1.2.5 <i>Caju</i> .....	19
1.2.1.2.6 <i>Camu-camu</i> .....	23
1.2.1.2.7 <i>Carnaúba</i> .....	25
1.2.1.2.8 <i>Gurguri</i> .....	27
1.2.1.2.9 <i>Jaboticaba</i> .....	29
1.2.1.2.10 <i>Jambolão</i> .....	31
1.2.1.2.11 <i>Juçara</i> .....	33
1.2.1.2.12 <i>Mangaba</i> .....	34
1.2.1.2.13 <i>Murici</i> .....	37
1.2.1.2.14 <i>Murta</i> .....	39
1.2.1.2.15 <i>Puçá-coroa-de-frade</i> .....	42
1.2.1.2.16 <i>Puçá-Preto</i> .....	44
1.2.1.2.17 <i>Umbu</i> .....	45
1.2.1.2.18 <i>Uvaia</i> .....	49
1.2.1.3 Recursos genéticos .....	51

1.2.1.4 Centros de diversidade .....	51
1.2.1.5 Qualidade e potencial de utilização .....	54
<b>1.2.2 Propriedades antioxidantes .....</b>	<b>58</b>
1.2.2.1 Radicais livres .....	59
1.2.2.2 Antioxidantes .....	61
1.2.2.2.1 <i>Enzimas antioxidantes</i> .....	61
1.2.2.2.2 <i>Mecanismos de ação antioxidante</i> .....	63
1.2.2.3 Agentes antioxidantes .....	64
1.2.2.3.1 <i>Polifenóis</i> .....	65
1.2.2.3.2 <i>Carotenóides</i> .....	69
1.2.2.3.3 <i>Vitaminas</i> .....	71
1.2.2.4 Metodologias para a determinação da atividade antioxidante <i>in vitro</i> ....	75
1.2.2.4.1 <i>Método folin-ciocalteau</i> .....	78
1.2.2.4.2 <i>ABTS ou TEAC</i> .....	79
1.2.2.4.3 <i>DPPH</i> .....	81
1.2.2.4.4 <i>FRAP</i> .....	83
1.2.2.4.5 <i>ORAC</i> .....	85
1.2.2.4.6 <i>Sistema <math>\beta</math>-caroteno/ácido linoléico</i> .....	86
<b>1.2.3 Compostos vegetais não digeríveis .....</b>	<b>88</b>
1.2.3.1 Conceito de fibra dietética e metodologia para sua determinação .....	93
1.2.3.2 Efeitos fisiológicos dos compostos não digeríveis .....	96
1.2.3.3 Consumo de alimentos como fonte de fibra dietética .....	100
1.2.3.4 Fibra dietética antioxidante.....	102
1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	104
<b>CAPÍTULO 2 - QUALITY FOR FRESH CONSUMPTION AND PROCESSING OF SOME NON-TRADITIONAL TROPICAL FRUITS FROM BRAZIL .....</b>	<b>134</b>
2.1 ABSTRACT .....	134

2.2 RESUMÉ .....	134
2.3 INTRODUCTION .....	135
2.4 MATERIAL AND METHODS .....	137
<b>2.4.1 Chemicals .....</b>	<b>137</b>
<b>2.4.2 Samples .....</b>	<b>137</b>
<b>2.4.3 Methods .....</b>	<b>138</b>
<b>2.4.4 Statistic Analysis .....</b>	<b>139</b>
2.5 RESULTS AND DISCUSSION .....	139
<b>2.5.1 Total soluble solids (TSS) and sugars (SS and RS) .....</b>	<b>140</b>
<b>2.5.2 Acidity (TTA and pH) and TSS/TTA .....</b>	<b>140</b>
<b>2.5.3 Starch and pectins .....</b>	<b>141</b>
2.6 CONCLUSIONS .....	143
2.7 ACKNOWLEDGEMENTS .....	143
2.8 REFERENCES .....	143
2.9 RESUMEN .....	147
<b>CAPÍTULO 3 - BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF SOME NON-TRADITIONAL TROPICAL FRUITS FROM BRAZIL .....</b>	<b>152</b>
3.1 ABSTRACT .....	152
3.2 INTRODUCTION .....	152
3.3 MATERIAL AND METHODS .....	155
<b>3.3.1 Chemicals reagents .....</b>	<b>155</b>
<b>3.3.2 Sample preparation .....</b>	<b>155</b>
<b>3.3.3 Extraction of antioxidants .....</b>	<b>156</b>
<b>3.3.4 Total Phenolics Determination .....</b>	<b>157</b>
<b>3.3.5 Antioxidant Capacity Assays .....</b>	<b>157</b>
3.3.5.1 ABTS Assay .....	157
3.3.5.2 DPPH <sup>•</sup> Assay .....	158

3.3.5.3 FRAP assay .....	159
3.3.5.4 $\beta$ -carotene bleaching method .....	159
<b>3.3.6 Statistical analysis .....</b>	<b>160</b>
3.4 RESULTS AND DISCUSSION .....	160
<b>3.4.1 Quantification of bioactive compounds .....</b>	<b>160</b>
<b>3.4.2 Polyphenols and antioxidant capacity .....</b>	<b>162</b>
3.4.2.1 Extractable polyphenols .....	162
3.4.2.2 Measurement of antioxidant capacity .....	163
<b>3.4.3 Correlation between study variables .....</b>	<b>166</b>
<b>3.4.4 Considerations on the methods used to evaluate tropical fruits .....</b>	<b>167</b>
3.5 ACKNOWLEDGEMENTS .....	168
3.6 LITERATURE CITED .....	168
<b>CAPÍTULO 4 - AÇAÍ ‘BRS-PARÁ’: A TROPICAL FRUIT WITH POTENTIAL HEALTH EFFECTS AND A NEW SOURCE OF ANTIOXIDANT DIETARY FIBER AND DIETETIC OIL .....</b>	<b>181</b>
4.1 ABSTRACT .....	181
4.2 INTRODUCTION .....	181
4.3 MATERIAL AND METHODS .....	184
<b>4.3.1 Chemicals .....</b>	<b>184</b>
<b>4.3.2 Samples .....</b>	<b>184</b>
<b>4.3.3 Methods .....</b>	<b>185</b>
4.3.3.1 Dietary fiber determination .....	186
4.3.3.2 Antioxidant capacity and phenolic compounds determination .....	187
4.3.3.2.1 <i>Extraction of antioxidants</i> .....	187
4.3.3.3 Antioxidant capacity methods .....	188
4.3.3.3.1 <i>DPPH<sup>•</sup> assay</i> .....	188
4.3.3.3.2 <i>ABTS assay at a fixed end-point</i> .....	189
4.3.3.3.3 <i>ABTS assay expressed kinetically</i> .....	189

4.3.3.3.4 <i>FRAP</i> assay .....	190
4.3.3.3.5 <i>ORAC</i> assay .....	190
4.3.3.4 Antioxidant compounds .....	191
<b>4.3.4 Other determinations .....</b>	<b>192</b>
4.4 RESULTS AND DISCUSSION .....	192
<b>4.4.1 Composition .....</b>	<b>192</b>
<b>4.4.2 Polyphenols and antioxidant capacity .....</b>	<b>194</b>
<b>4.4.3 Antioxidant capacity of defatted pulp .....</b>	<b>195</b>
<b>4.4.4 Antioxidant capacity of the oil .....</b>	<b>196</b>
<b>4.4.5 Polyphenols and antioxidant capacity associated with dietary fiber .....</b>	<b>197</b>
4.5 ACKNOWLEDGEMENTS .....	198
4.6 REFERENCES .....	199
<b>CAPÍTULO 5 - ACEROLA ‘BRS 236’ AND CASHEW APPLE ‘CCP 76’: NEW TROPICAL SOURCES OF ANTIOXIDANTS AND DIETARY FIBER .....</b>	<b>210</b>
5.1 ABSTRACT .....	210
5.2 INTRODUCTION .....	211
5.3 MATERIAL AND METHODS .....	213
<b>5.3.1 Chemicals .....</b>	<b>213</b>
<b>5.3.2 Samples .....</b>	<b>214</b>
<b>5.3.3 Methods .....</b>	<b>214</b>
5.3.3.1 Dietary Fiber Determination .....	215
5.3.3.2 Antioxidant capacity and phenolic compounds determination .....	216
5.3.3.2.1 <i>Extraction of antioxidants</i> .....	217
5.3.3.3 Antioxidant capacity methods .....	217
5.3.3.3.1 <i>DPPH</i> assay .....	217
5.3.3.3.2 <i>ABTS</i> assay .....	218
5.3.3.3.3 <i>FRAP</i> assay .....	218

5.3.3.3.4 <i>ORAC</i> assay .....	219
5.3.3.4 Antioxidant compounds .....	219
<b>5.3.4 Other determinations</b> .....	<b>220</b>
5.4 RESULTS AND DISCUSSION .....	221
5.4.1 Dietary fiber in Acerola BRS 236 and Cashew CCP 76 .....	221
5.4.2 Polyphenols and antioxidant capacity in Acerola and Cashew apple .....	222
5.4.2.1 Antioxidant capacity of Acerola and Cashew apple .....	223
5.4.2.2 Polyphenols and antioxidant capacity of Acerola and Cashew apple associated with dietary fiber .....	224
5.5 ACKNOWLEDGEMENTS .....	225
5.6 REFERENCES .....	226
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>236</b>

## **CAPÍTULO 1**

### **INTRODUÇÃO GERAL E REVISAO DE LITERATURA**

#### **1.1 INTRODUÇÃO GERAL**

Várias espécies de frutíferas, ainda pouco conhecidas, vêm sendo avaliadas mais recentemente, como alternativa as espécies tradicionais, que estão sofrendo, muitas vezes, não apenas a perda de competitividade e rentabilidade advindas de problemas relacionados a restrições de cultivo em determinadas regiões, assim como pelas novas demandas e exigências do mercado. Neste contexto, os produtos agrícolas cujo conhecimento é limitado e seus níveis de produção e consumo são comparativamente modestos, sendo considerados como não tradicionais.

Ulloa e Suárez (2004) definem as frutas oriundas das espécies consideradas não-tradicionais como um conjunto de produtos agrícolas nativos ou exóticos de uma determinada região, pouco conhecidas nos mercados pelos consumidores. Nos países desenvolvidos são conhecidas simplesmente por sua origem como produtos exóticos, tropicais ou especialidades. A maior parte dos produtos agrícolas não-tradicionais conhecidos são resultados de esforços, inovação e criatividade na diversificação de produtos mais rentáveis, agregando valor às matérias-primas locais.

No Brasil, diversas espécies não-tradicionais vêm sendo utilizadas pelas populações locais, em decorrência de que apresentam grande potencial para exploração no mercado de consumo in natura e/ou industrialização. No entanto, necessitam serem preservadas, cultivadas racionalmente e caracterizadas através do estudo de suas propriedades, visando sua utilização no mercado de alimentos funcionais. Além disto, existe uma demanda nos mercados interno e externo por novos sabores, cores e textura.

Numa dieta saudável, as frutas desempenham papel de grande destaque, seja pelo simples prazer de consumi-las; seja pela saúde que nos proporcionam, traduzida em aumento da expectativa de vida, vitalidade, prevenção de inúmeras doenças; como também pela presença de uma vasta gama de vitaminas, minerais e fibras. Tudo isso as tornam um alimento essencial, salutar e sem precedentes em nossas vidas (LORENZI et al., 2006).

O aumento das enfermidades crônicas e degenerativas converteu-se em um dos principais problemas de saúde nos países desenvolvidos e em subdesenvolvimento. Isto tem provocado o aumento no interesse da ciência em descobrir fatores preventivos destes processos. Nesse sentido, o consumo de frutas e verduras vem sendo comprovado que pode prevenir o desenvolvimento de enfermidades devido à presença de diferentes compostos bioativos nestes alimentos. Dentre estes encontram-se os antioxidantes, um amplo grupo de compostos capazes de prevenir os processos degenerativos associados a radicais livres presentes no organismo (COSTA; ROSA, 2006).

Nas últimas décadas, um grande número de métodos foi desenvolvido para determinar a atividade antioxidante *in vitro* em extratos de alimentos. Partindo do princípio que os antioxidantes atuam de forma sinérgica, faz-se necessário mais de um método para avaliar a atividade antioxidante da amostra. No entanto, não existe um consenso sobre qual seria a combinação mais adequada para realizar esta medida, bem como os procedimentos de preparação da amostra, fazendo com que haja uma grande disparidade nos resultados publicados pelas técnicas empregadas, dificultando a comparação (VILLANO et al., 2005; PÉREZ-JIMÉNEZ, 2007).

Outro aspecto de suma importância é o estudo sobre fibras presentes em frutas, a sua associação com compostos bioativos e o seu papel na qualidade do alimento e na saúde do consumidor. Esta é uma área de pesquisa emergente no Brasil e encontra-se em expansão comercial como suplemento alimentar e fármaco.

Atualmente, a fibra é o ingrediente mais utilizado na elaboração de alimentos funcionais, representando mais de 50% do total de ingredientes do mercado. Além do fator nutricional, a conveniência vem de encontro aos desejos dos consumidores pela facilidade de armazenamento e de preparo para o consumo doméstico (SAURACALIXTO, 2006).

O estudo da fibra dietética em frutas associada a compostos bioativos faz-se necessário no sentido de identificar as propriedades fisiológicas e nutricionais e os possíveis efeitos prebióticos. Além disso, favorecerá também um melhor aproveitamento destas frutas por parte da indústria, evitando o desperdício.

Com o intuito de gerar tais informações, os objetivos deste trabalho foram:

1. Caracterizar físico-quimicamente dezoito frutas tropicais não tradicionais (nativas e exóticas) conhecidas pela cultura regional e/ou já com alguma expressão econômica, identificando potenciais características de qualidade;
2. Proporcionar uma atualização e padronização metodológica de alguns dos principais métodos para determinação da atividade antioxidante, adaptando às frutas em estudo, como também avaliar algumas classes de compostos bioativos presentes nestas e que possam contribuir para este potencial;
3. Avaliar o teor de fibra alimentar, compostos fenólicos e atividade antioxidante em polpas de variedades comerciais de acerola, açaí e caju, visando à possibilidade de identificar novas fontes de fibra dietética antioxidante, como também avaliar a qualidade e atividade antioxidante do óleo do açaí.

## 1.2. REVISÃO DE LITERATURA

### 1.2.1 Fruticultura tropical

O aumento no consumo de frutas frescas, assim como nos níveis de processamento e nas exportações, têm impulsionado a produção brasileira. Em 2006, segundo os dados oficiais divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), foram colhidas 41,9 milhões de toneladas, em um elenco de 20 espécies, numa área de 2,2 milhões de hectares. Em relação a 2005, o volume cresceu 4,6 %. De acordo com o presidente do Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF), o incremento de produção tem se mantido na média de 4,5 % ao ano. Sendo assim, a entidade estima que, em 2007, tenham sido colhidas 43,7 milhões de toneladas de frutas. O grande consumo interno, absorvendo a maior parte da safra, faz com que o país ocupe apenas a 15<sup>a</sup> posição no ranking dos maiores exportadores (CORRÊA, 2008).

Com base nestes dados, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, perdendo apenas para a China e Índia. Do total produzido, 47% é consumido in natura e apenas 2% desse percentual são direcionados para a exportação e os 53% do total produzido destina-se para a agroindústria, cujos 29% são vendidos ao mercado externo, em que a maior parte é suco concentrado e congelado de laranja. Corrêa (2008) ainda relata que a região Sudeste continua sendo o maior produtor de frutas frescas do Brasil; a região Nordeste, especificamente os Estados do Ceará e do Rio Grande do Norte, apresentam grande potencial para aumentar a produção frutícola; na região Norte, o grande potencial é o açaí, o cupuaçu e o murici, transformados em polpas; e o Centro-Oeste tem investido em maracujá e abacaxi.

A importância econômica das fruteiras para as diversas regiões do Brasil não pode ser mensurada apenas por dados estatísticos, esta atividade é uma das principais geradoras de renda, de empregos e desenvolvimento regional. O país apresenta variadas condições ecológicas, possibilitando o cultivo de diferentes fruteiras com o objetivo de diversificar sua produção.

Existe um grande número de espécies de fruteiras nativas ainda pouco exploradas. A maioria delas sequer consta de bancos de germoplasma, existindo apenas em seus ambientes naturais, correndo risco de serem perdidas. Tanto espécies exóticas, como as nativas poderiam ser mais bem avaliadas, se incluídas em bancos de germoplasma (DONADIO, 1999).

#### 1.2.1.1 Fruteiras tropicais não tradicionais: nativas e exóticas

Algumas frutas vêm sendo descobertas recentemente como uma alternativa aos cultivos tradicionais que estão sofrendo, não apenas a perda de competitividade e rentabilidade, como também em algumas regiões as opções produtivas nas zonas rurais estão se extinguindo e se restringindo. No entanto, existe uma variedade de produtos agrícolas cujo conhecimento é limitado e seus níveis de produção e consumo são comparativamente modestos podendo ser chamados de comercialmente não tradicionais, os quais podem ser definidos como o conjunto de produtos agrícolas nativos ou exóticos, de uma determinada região manifestada pela rica biodiversidade e que são pouco conhecidos nos mercados pelos consumidores. Nos países desenvolvidos, são conhecidos simplesmente como exóticos, tropicais ou especialidades. A maior parte dos produtos não tradicionais conhecidos são resultados de esforços, inovação e criatividade na diversificação de produtos mais rentáveis, como por exemplo: frutas, flores, hortaliças, fibras, corantes naturais, plantas medicinais e

aromáticas, dentre outros, agregando valor às matérias-primas locais (ULLOA; SUÁREZ, 2004).

A América Tropical é considerada como centro de origem de muitas frutíferas, algumas das quais foram domesticadas há longo tempo pelos povos nativos. A sua riqueza se dá também pela situação geográfica, a heterogeneidade e a mistura de duas floras, a da América do Norte e a da Amazônia, as quais vão até as áreas baixas da América Central (DONADIO, 1993).

Quando se procura informações sobre frutíferas não ou pouco comerciais, depara-se com um número muito grande de espécies, se considerarem aquelas de origem nos vários continentes. Somente das Américas são citadas cerca de mil espécies nativas, distribuídas em 80 famílias, sendo que pelo menos 400 espécies são de origem ou ocorrem no Brasil. Da África são citadas outras mil espécies. Da Ásia, da Austrália e das Ilhas do Pacífico mencionam 600 espécies e são estas, de fora do Brasil, que são denominadas exóticas. Entre as frutíferas tropicais de alguma importância, são citadas cerca de 300 espécies, das quais apenas 10% são do Brasil e estas possuem um grande potencial de exploração (DONADIO et al., 1998).

#### 1.2.1.2 Espécies

Pinto (1993) relata que na região Nordeste ocorre uma diversificação ecológica com flora rica e variada, com muitos endemismos, valioso potencial genético de espécies nativas produtoras de frutos edulos, necessitando de domesticação e melhoramento. O número de espécies nativas integradas aos diversos ecossistemas da região é elevado. Poucas estão em processo de domesticação incipiente, em que a variação individual de caracteres é ponderável, no porte, na produtividade de frutos, na suculência, no sabor e no tamanho das sementes. Segundo o autor pode-se destacar as

seguintes famílias como as mais promissoras: Anacardiaceae, Passifloraceae, Myrtaceae, Sapotaceae e Annonaceae, embora as demais famílias também ofereçam aos geneticistas, melhoristas e fitotecnistas valiosos germoplasmas para serem trabalhados e potencializados.

Neste trabalho foram avaliados frutos de 18 espécies frutíferas não-tradicionais das seguintes famílias: Anacardiaceae, Apocynaceae, Arecaceae, Clusiaceae, Malpighiaceae, Melastomataceae e Myrtaceae. Algumas delas já estão domesticadas e cultivadas comercialmente, outras ainda se encontram na forma extrativista. No entanto, todas apresentam algum potencial de uso.

#### 1.2.1.2.1 Açaí

O açaizeiro (*Euterpe oleracea*) é uma frutífera ocasionalmente cultivada, nativa da Amazônia brasileira, sendo o Estado do Pará o principal centro de dispersão natural. Populações espontâneas também são encontradas nos Estados do Amapá, Maranhão, Mato Grosso, Tocantins e em países da América do Sul (Venezuela, Colômbia, Equador, Suriname e Guiana) e da América Central (Panamá). No entanto, é na região do estuário do Rio Amazonas que se encontram as maiores e mais densas populações naturais dessa palmeira, adaptada às condições elevadas de temperatura, precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar (NOGUEIRA et al., 2006).

Conhecido também por açaí, açaí-do-pará, açaí-do-baixo-amazonas, açaí-de-touceira, açaí-de-planta, açaí-da-várzea, juçara, juçara-de-touceira e açaí-verdadeiro, pode ser considerado como a espécie mais importante do gênero *Euterpe*, dentre as dez registradas no Brasil e as sete que ocorrem na Amazônia. Botanicamente, classifica-se como pertencente à divisão Magnoliophyta (Angiospermae), classe Liliopsida (Monocotyledoneae), subclasse Arecidae (Espadiciflorae), super-ordem Arecanae,

ordem Arecales (Principes), família Arecaceae (Palmae), subfamília Ceroxylineae, gênero *Euterpe* (HENDERSON; GALEANO, 1996; OLIVEIRA et al., 2002).

É uma palmeira cespitosa (forma touceiras), de 3 a 20 m de altura; caule de 7 a 18 cm de diâmetro, com raízes basais visíveis e um palmito no topo; 8 a 14 folhas contemporâneas por haste; possui 40 a 80 pares de pinas, distribuídas uniformemente e dispostas num mesmo plano, porém pêndulas; inflorescências infrafoliares, com 80 a 160 raquilas e frutos com mesocarpo fino e fibro-carnoso de pouco sabor. Na região amazônica, o açazeiro flora e frutifica praticamente durante todo o ano. Porém, os picos de floração e frutificação ocorrem com maior frequência, nos períodos de janeiro a maio, e de setembro a dezembro, respectivamente (CALZAVARA, 1972; OLIVEIRA; FERNANDES, 1993).

O fruto do açazeiro (Figura 01) é uma drupa globosa, apresentando resíduos florais, com diâmetro variando entre 1 e 2 cm e pesando em média, 1,5 g. O epicarpo, na maturação, é roxo ou verde, dependendo do tipo. O mesocarpo, com cerca de 1 mm de espessura, é polposo, envolvendo um endocarpo volumoso e duro que acompanha, aproximadamente, a forma do fruto e contém em seu interior uma semente (OLIVEIRA et al., 2000).

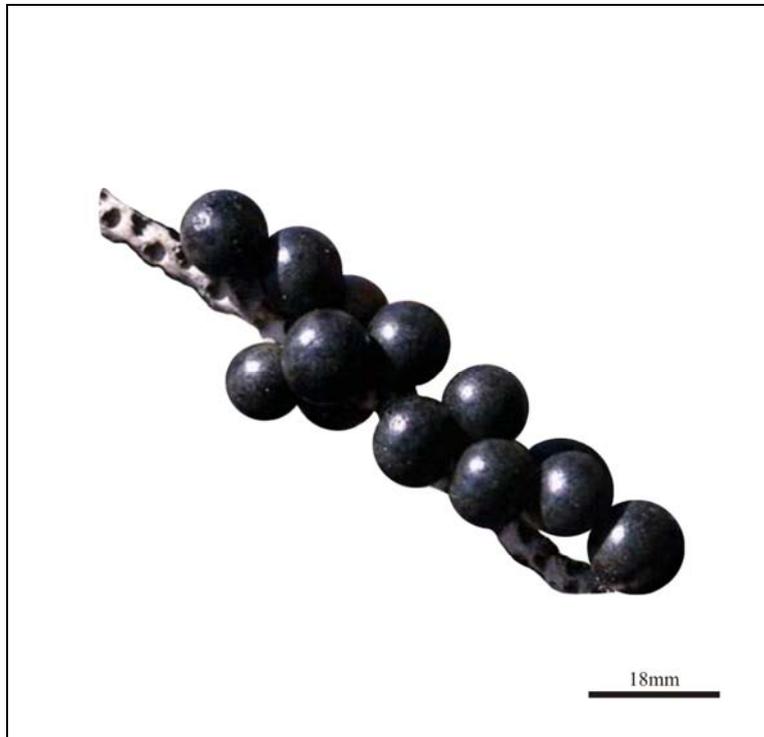


Figura 01 - Frutos do açazeiro (*Euterpe oleracea*).

Dos frutos do açazeiro é extraído o vinho, polpa ou simplesmente açai, como é conhecido na região com alto valor calórico, com elevado percentual de lipídeos, e nutricional, pois é rico em proteínas e minerais. O açai é habitualmente consumido com farinha de mandioca, associado ao peixe, camarão ou carne, é o alimento básico das populações de origem ribeirinha e torna-se aos poucos um hábito popular em todo o país (ROGEZ, 2000), porém em outra forma de consumo que não o da região de origem.

#### 1.2.1.2.2 Acerola

A aceroleira (*Malpighia emarginata*) é uma planta rústica e resistente que se propaga com facilidade em todo o mundo. Vem se destacando no Brasil principalmente, pela adaptação ao clima tropical e subtropical do país. A exemplo de outras plantas frutíferas deixa dúvidas quanto a sua origem. Segundo Simão (1971), ela foi encontrada no Mar das Antilhas, no Norte da América do Sul e na América Central, chegando assim à Flórida, vinda de Cuba, por volta de 1903 e introduzida no Continente Americano posteriormente.

De acordo com Schultz (1968), a família Malpighiaceae possui cerca de 850 espécies conhecidas, mais de 350 destas encontram-se no território brasileiro. Sua distribuição, todavia, é restrita apenas às Américas Centrais e do Sul, razão que constitui material dos mais interessantes para trabalhos de pesquisa. Esta família é formada por aproximadamente 63 gêneros.

A planta consiste em um arbusto ou árvore de pequeno porte, que atinge 3 a 4 m de altura, com hábito de ramificação vertical ou curvado. A diferenciação do botão floral ocorre entre 8 a 10 dias e a antese após 15 a 17 dias. As flores, de coloração rósea, apresentam cinco sépalas, cinco pétalas, 10 estames e três carpelos concrecidos formando um ovário único e súpero (MARTINS et al., 1999). Os frutos apresentam-se maduros aos 21 a 25 dias após a antese e com coloração que varia do laranja-claro ao vermelho-escuro e pesam de 2 a 10g, sua tonalidade pode também, dependendo da variedade e região, ser verde quando em desenvolvimento, passando a amarelo e, finalmente, vermelho quando maduro (MARTINS et al., 1999; LOPES; PAIVA, 2002).

O fruto da aceroleira (Figura 02) é uma baga drupácea que apresenta três sementes, cada uma envolvida por um endocarpo reticulado e trilobado. As sementes são pequenas, proporcionais ao tamanho do fruto e, conseqüentemente, ao “caroço”

(COSTA et al., 2003). Estes frutos, quando de cor vermelha brilhante são semelhantes à cereja européia (*Prunus cerasus* L.) e desperta grande interesse e importância econômica face ao seu alto teor de ácido ascórbico (vitamina C).

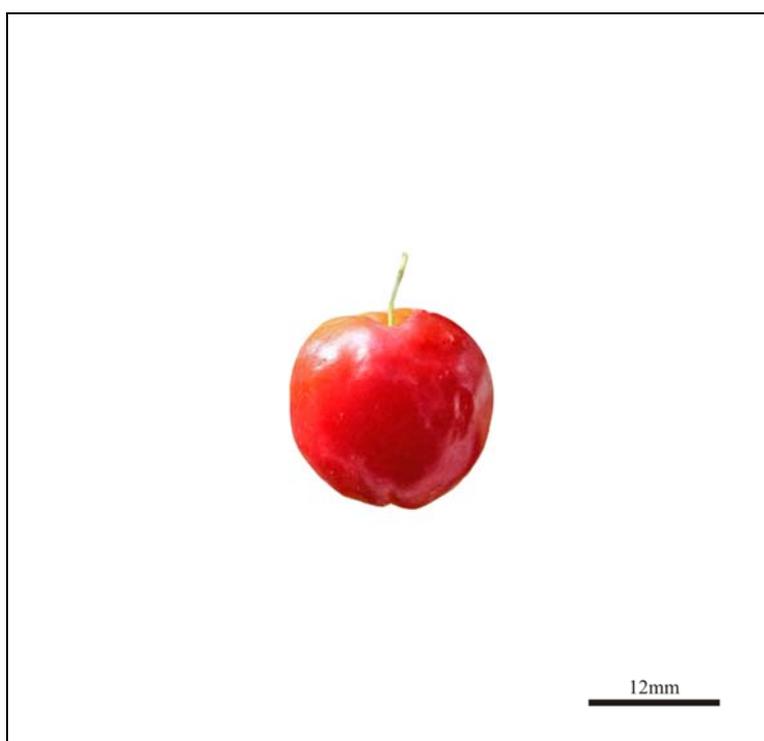


Figura 02 - Fruto da aceroleira (*Malpighia emarginata*).

O cultivo da acerola no Brasil teve um forte incremento nos últimos 20 anos, tendo se consolidado como uma importante alternativa econômica para a Região Nordeste, proporcionando também um impulso para a agroindústria de polpa de fruta congelada. Conforme dados do IBGE em 2000, dentre os principais Estados brasileiros produtores de acerola, Pernambuco representa 23,11% da produção nacional, seguido pelo Ceará, com 14,32% e São Paulo, com 11,40%. Uma análise econômica da produção de acerola para mesa realizada no município de Jales-SP demonstrou que há

potencial para o crescimento da produção e comercialização da acerola na região. O estudo permitiu ainda estimar os custos de implantação e produção, bem como evidenciar a potencialidade da acerola no local (PETINARI; TARSITANO, 2002).

O fruto da aceroleira despertou a atenção dos agricultores não somente pelo seu elevado conteúdo de vitamina C em relação a outras frutíferas, mas também pelo seu potencial para industrialização (ALVES, 1992, 1999). Além de *in natura*, a fruta pode ser consumida na forma de sucos, compotas e geléias, bem como ser utilizada no enriquecimento de sucos e de alimentos dietéticos e nutracêuticos, como comprimidos ou cápsulas usados como suplemento alimentar, chás, bebidas para esportistas, barras nutritivas e iogurtes (CARPENTIERI-PÍPOLO et al., 2002; MATSUURA; ROLIM, 2002; MATTA et al., 2004). Barnabé e Venturini Filho (2004) desenvolveram formulações de refrigerantes, com elevado teor de vitamina C, a partir desta fruta.

#### 1.2.1.2.3 Bacuri

O bacurizeiro pertence à família Clusiaceae, subfamília Clusioideae, gênero *Platonia* e a espécie classificada como *Platonia insignis* (BRAGA, 1976). Conforme Mourão e Beltrati (1995), a subfamília do bacurizeiro é a Moronoboideae, o que inclui vários outros gêneros como: *Clusia*, *Rheedia*, *Garcinia*, *Hypericum*, *Allanblackia*, *Kielmeyera*, *Symphonia*, *Calophyllum*, *Mammea* e *Pentadesma* (DIONELO; BASTA, 1980).

A palavra bacuri vem do tupi, onde “ba” significa – cair e “curi” – logo, isto é, o que cai logo, que amadurece (FONSECA, 1954).

O bacuri também é chamado de bacuri-açu nos Estados do Amazonas e Pará; bacuri grande no Maranhão; bacuriba, bacori, bacuriuba, ibacori, ibacopari, landirana e pacori na Bahia; bulandim em Pernambuco. Já no Suriname é conhecido como

*pakoelie of geelhart*; *bacuri-grazú* no Paraguai; *matozona* no Equador; *palooru* na Guiana Inglesa e *pacouri* na Guiana Francesa (CAMPOS et al., 1951).

É uma planta frutífera de cultura pré-colombiana, tipicamente tropical, sendo considerada uma espécie nativa da Amazônia. Na Ilha de Marajó e no estuário do rio Amazonas, Estado do Pará, encontram-se as maiores concentrações de bacurizeiros (CARVALHO; MÜLLER, 1996). No entanto, a distribuição da espécie ocorreu ao longo da costa atlântica, percorrendo desde as Guianas até o Nordeste Ocidental ou Meio-Norte, que compreende Maranhão e Piauí, penetrando nos Estados de Tocantins, Goiás e Mato Grosso, até alcançar o Paraguai, existindo também referência de sua ocorrência no Equador (FERREIRA et al., 1987; MACEDO, 1995; CAVALCANTE, 1996; VILLACHICA et al., 1996).

Segundo Clement e Venturieri (1990) a frequência de ocorrência da planta é baixa, variando, normalmente, de 0,5 a 1,0 indivíduo por hectare. Nos Estados do Ceará e Pernambuco são encontrados alguns exemplares isolados de bacurizeiro, particularmente, nas serras úmidas (BRAGA, 1976).

A planta é de porte alto, com exemplares que podem chegar até 30 a 35 metros de altura, porém a média de altura das plantas é de 25 metros (CALZAVARA, 1970; CAVALCANTE, 1996; VILLACHICA et al., 1996). Apresenta tronco reto, com até 1,0 m de diâmetro, casca espessa e quando cortada exuda um látex amarelado e resinoso (SOUZA et al., 2000). Segundo Lorenzi (1992) o bacurizeiro é uma planta perenifólia, heliófita e seletiva higrófila, característica da vegetação aberta de transição, nas áreas descampadas, sendo rara na floresta primária densa.

As flores são hermafroditas e andróginas, actinomorfas, polistêmones, grandes (cerca de sete cm de comprimento e três cm de diâmetro) solitárias e terminais, localizadas nos ramos jovens e terminais, cobrindo toda a copa, com um belo efeito ornamental (CLEMENT e VENTURIERI, 1990). Estas flores são constituídas de quatro sépalas e de 4 a 6 pétalas róseas no início e vermelhas depois, sendo muito vistosas, com estames numerosos, reunidos em 5 feixes (falanges) opostos às pétalas.

Essas características das flores de se apresentarem de cor rósea inicialmente, passando para a cor vermelha depois, mais o formato típico da copa em forma de cone invertido, criam no local onde se encontram essas plantas um colorido para ser visto e apreciado (MANICA, 2000).

Segundo Villachica et al. (1996), no Estado do Pará, o bacurizeiro floresce, normalmente, entre junho e julho, em continuação à caída das folhas. Os frutos maduros caem de dezembro a maio do ano seguinte, com maior produção entre fevereiro a março. Santos (1982) relata que o florescimento ocorre durante os meses de junho a setembro, com maturação dos frutos iniciando no mês de dezembro e prolongando-se até março. Na porção norte dos Estados do Piauí e Maranhão, a queda de folhas ocorre no período de maio a junho; a floração e foliação, de julho a agosto, e a frutificação e desenvolvimento dos frutos de setembro a fevereiro, com a maturação e queda de frutos concentrada no período de dezembro a março. No sul do Maranhão e norte de Tocantins, a queda de folhas ocorre no período de março a abril; a floração e foliação, de maio a junho; a frutificação e o desenvolvimento de frutos de julho a dezembro; e a maturação e colheita, de novembro a janeiro (SOUZA et al., 2000).

Segundo Manica (2000) uma planta adulta, com cerca de 15 anos de idade, pode produzir de 350 a 750 frutos por safra. Em plantas adultas de bacurizais nativos, colhem-se, em média, 500 frutos/plantas, com peso médio variando de 350 a 500g (VILLACHICA et al., 1996).

O fruto (Figura 03) origina-se de um ovário com cinco carpelos uniovulados. É uma baga volumosa, uniloculada, de formato ovóide a arredondado ou subglobosa, de tamanho variável, com diâmetro entre 7 e 15 cm, com média de 7,2 a 8,4 cm, e comprimento de 7,5 a 15,5 cm. O peso do fruto varia de 150 a 750 g, com média de 450 a 550 g, porém, alguns frutos podem alcançar 900 a 1000 g (CAVALCANTE, 1996).

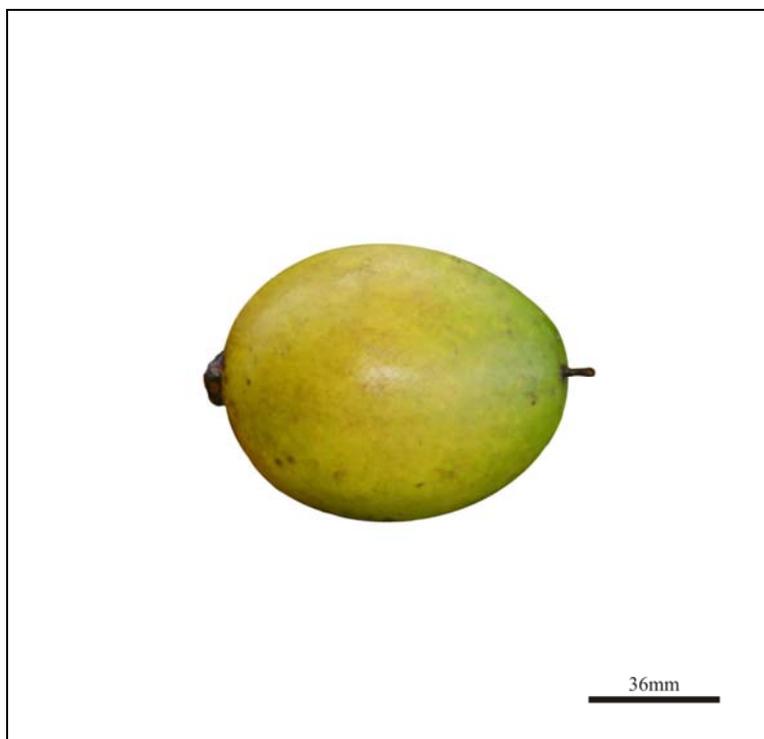


Figura 03 - Fruto do bacurizeiro (*Platonia insignis*).

As sementes são grandes e oleaginosas, normalmente, em número de 1 a 3 em cada fruto e envolvidas por uma polpa agridoce de sabor agradável. Segundo Villachica et al. (1996) o óleo extraído das sementes possui alta porcentagem dos ácidos palmítico e oléico.

Nos óvulos não fecundados, o bacuri apresenta na parte central, colado a uma minúscula “semente”, de 2 a 3 formações, onde apenas se desenvolve a polpa, a qual é muito espessa no fruto maduro e recebe a designação popular de “filho” ou “língua”, sendo geralmente a parte mais preferida devido á sua maior quantidade de polpa (CAVALCANTE, 1996).

Os frutos do bacurizeiro estão entre os mais importantes da Amazônia, pois suas características de odor e sabor os tornam bastante procurados e consumidos pela

população local (FERREIRA et al., 1987). Sua importância econômica nas regiões Norte e Nordeste do Brasil é devido ao grande consumo pela população local, tanto in natura, como integrante de sorvetes, cremes, néctares, refrescos, compotas e geléias (VILLACHICA et al., 1996).

É uma planta cujo cultivo comercial tem sido considerado possível e econômico, com possibilidade de lucro para plantios que são viáveis no litoral dos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo e no litoral dos Estados do Nordeste e Norte do Brasil (MANICA, 2000).

A industrialização tem sido feita através de pequenas indústrias, que se utilizam das seções partenocárpicas dos frutos para a produção de diferentes produtos. Alguns destes têm sido enviados para o Sudeste do Brasil, mas sua exportação é incipiente (CLEMENT; VENTURIERI, 1990).

Pode ser aproveitada como fruta fresca para consumo in natura e para agroindústria de polpa, sorvetes e derivados. No entanto, apesar da multiplicidade de uso, apenas a polpa tem sido utilizada de forma econômica, sendo o seu principal produto o néctar (SOUZA et al., 2000). O mesmo autor relata sobre o chocolate com recheio de bacuri que é um produto tradicional na região Amazônica. O recheio oferece um contraste interessante com o chocolate e torna o produto muito apreciado, atraindo a atenção de visitantes.

#### 1.2.1.2.4 Cajá

A cajazeira (*Spondias mombin*) pertence à família Anacardiaceae e ao gênero *Spondias*, o qual inclui a cirigüeleira (*Spondias purpurea*), a cajaraneira (*Spondias cytherea*), o umbuzeiro (*Spondias tuberosa*), a umbugueleira (*Spondias* sp.) e a umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) (SACRAMENTO; SOUZA, 2000).

Quanto à origem, existem algumas versões divergentes, apesar da mais difundida ser que a mesma é procedente do continente americano, sendo amplamente disseminada pela América Tropical. No Brasil, a cajazeira é largamente distribuída nas regiões Norte e Nordeste, vegetando espontaneamente em grupos ou isoladas na Amazônia Ocidental e Mata Atlântica. Nessas regiões, é explorada em estado silvestre em áreas de terra firme ou de várzea, podendo também ser encontradas em formações secundárias, onde se regenera naturalmente, tanto a partir de sementes como de estacas e raízes (MOREIRA et al., 2002).

No Ceará, ocorrem com maior frequência nas regiões de precipitação média anual superior a 1.100 mm, ou seja, nas zonas litorâneas próximas à Fortaleza e nas serras de Meruoca, Baturité e Ibiapaba. Na Bahia, a cajazeira encontra-se presente nas áreas de plantio de cacau da região Sul (SACRAMENTO; SOUZA, 2000). Na Paraíba, as cajazeiras podem ser encontradas em quase todas as microrregiões do Estado, seja em convivência com a vegetação nativa, seja como plantas aleatórias em pomares de granjas e fazendas ou constituindo-se cerca viva em áreas onde ocorre com maior frequência (BOSCO et al., 2000).

De acordo com Sacramento e Souza (2000) o fruto da cajazeira é conhecido por diversos nomes no Brasil como cajá, cajá-mirim, taperebá e cajá verdadeiro. Em alguns países de idiomas inglês, *hog plum* e *yellow mombin*. Em espanhol, *ciruela amarilla*. Em francês, *mombin*, *mombin jaune*, *prune d'or*, entre outros. O fruto da cajazeira também apresenta outras denominações na América Central como *hobo*, *hobo blanco*, *hobo colorado*, *ubo*, *jobo*, *jobo gusanero*, *jobillo*, *jobito*, *canajo*, *jocote*, *jocote común* e *yocote* (MOREIRA et al., 2002).

A cajazeira é uma planta exótica e selvagem, podendo atingir de 25 a 30 m de altura, formando copa estendida até 15 m de diâmetro. Flores verde-esbranquiçadas, pequenas, dispostas em grandes panículas terminais, destacadas da copa (MOREIRA et al., 2002). De acordo com o mesmo autor, o fruto (Figura 04) é uma drupa que apresenta de 3 a 4 cm de comprimento, ovóide ou oblongo, achatado na base e de cor

variando do amarelo ao alaranjado. O fruto possui a casca fina, lisa, polpa pouco espessa, succulenta, de cor variando do amarelo ao alaranjado, de sabor ácido – adocicado e muito agradável. O endocarpo ou caroço é grande, de cor branca, súbero lignificado e enrugado, não apresenta espinhos e pode apresentar de zero a cinco sementes por endocarpo, possuindo germinação lenta, errática e desuniforme.

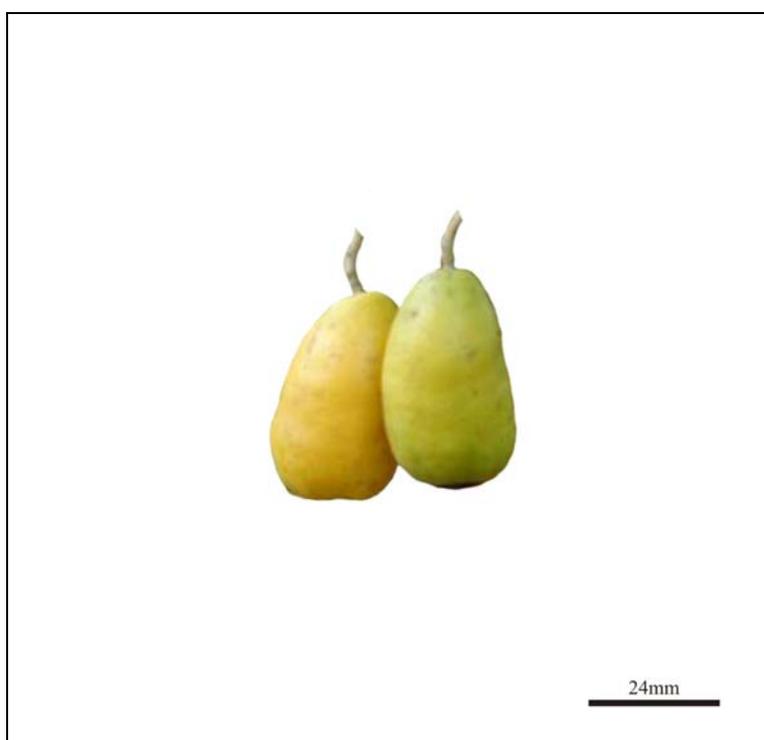


Figura 04 - Frutos da cajazeira (*Spondias mombin*).

A cajazeira desenvolve-se bem nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, em clima úmido, sub-úmido, quente, temperado-quente e resiste a longo período de seca, sendo considerada uma planta caducifólia e inicia a senescência foliar em fins de agosto e em setembro, entretanto em algumas regiões não perde as folhas totalmente. A emissão de novas brotações e inflorescências inicia-se em outubro/dezembro no Ceará,

e no Brejo-Paraibano, com produção concentrando-se de janeiro a julho (SACRAMENTO; SOUZA, 2000).

Os frutos da cajazeira possuem excelente sabor e aroma, além do rendimento acima de 60 % em polpa, e por isso são amplamente utilizados na fabricação de sucos, néctares, sorvetes, geléias, vinhos e licores. Devido a sua acidez não é consumido ao natural. Na região Sul da Bahia, a polpa de cajá é a que possui maior demanda entre as polpas de frutas comercializadas, entretanto, a sua industrialização é totalmente dependente das variações das safras, considerando a forma de exploração extrativa e a grande perda de frutos devido à problemas de colheita e transporte. Desse modo, apesar da polpa do cajá despertar interesse em outras regiões do país, a atual produção industrializada não é suficiente para atender o mercado consumidor do Norte e Nordeste (SACRAMENTO; SOUZA, 2000).

#### 1.2.1.2.5 Caju

O gênero *Anacardium* apresenta um pequeno número de espécies, todas elas originárias das Américas Central e do Sul à exceção do *A. encardium*, provavelmente originário da Malásia. É reconhecido que o maior centro de dispersão do gênero *Anacardium* é a Amazônia e que um centro secundário se localiza no Brasil Central. No entanto, o cajueiro é a única espécie cultivada comercialmente, tem como possível centro de origem o Nordeste do Brasil (JOHNSON, 1973; LIMA, 1988; BARROS, 1994).

De acordo com IPBGR - *International Board for Plant Genetic Resources* (1986) - o gênero foi estabelecido em 1753 por Linneau com uma única espécie, o caju (*Anacardium occidentale*) e, posteriormente, foram descritas no mínimo 25 outras, sendo que alguns autores consideram algumas delas em outro Gênero denominado

*Semecarpus*. A posição sistemática do gênero *Anacardium*, de acordo com Judd et al. (1999), é a seguinte: Divisão - Spermatophyta; Subdivisão - Angiospermae; Classe - Eudicots; Subclasse - Eurosids II; Ordem - Sapindales; e Família - Anacardiaceae.

Considerando-se a sistemática tipológica (botânica clássica) o gênero é composto por 21 espécies, as quais foram descritas por Johnson (1973). No entanto, Mitchel e Mori (1987) utilizando a taxonomia numérica, reduziram este número a apenas 10. A taxonomia do gênero ainda possui controvérsias, pois alguns autores defendem a existência de cerca de 15 espécies conforme relata Cunha (2002). Além disso, Barros (1994) considera ser possível a existência de maior número na Amazônia e Cerrados, locais de dispersão do gênero, tanto pela sistemática tipológica como pela numérica.

Apesar de classificado como *A. occidentale* var. *nanum*, o cajueiro anão precoce, também conhecido por cajueiro precoce e cajueiro de seis meses, parece ser um ecótipo ou forma botânica do cajueiro comum sendo encontrada em praticamente todo o mundo tropical (ARAÚJO; SILVA, 1995). É uma planta perene e de porte baixo, copa compacta e homogênea, atingindo uma altura média que varia de 3,5 a 4,5 m, desde que as condições do ambiente sejam favoráveis. Em pomares estabelecidos com mudas enxertadas, e sendo empregada toda tecnologia disponível, é possível manter a altura em torno de 3,0 m (BARROS et al., 1984).

O caju (Figura 05) consiste de duas partes, isto é, o pedúnculo e a castanha ou fruto verdadeiro (RAO et al., 1962). O fruto é um aquênio com formato aproximado de um rim (WAIT; JAMIESON, 1986) constituído pela amêndoa (parte central e principal fator de exploração da cultura), que é protegida por uma película (BARROS et al., 1984). O epicarpo do fruto é liso, coriáceo, cinzento ou verde acinzentado; o mesocarpo é espesso, alveolado, cheio de um líquido chamado LCC. A amêndoa, parte comestível da castanha, é composta por dois cotilédones brancos, carnosos e oleosos.

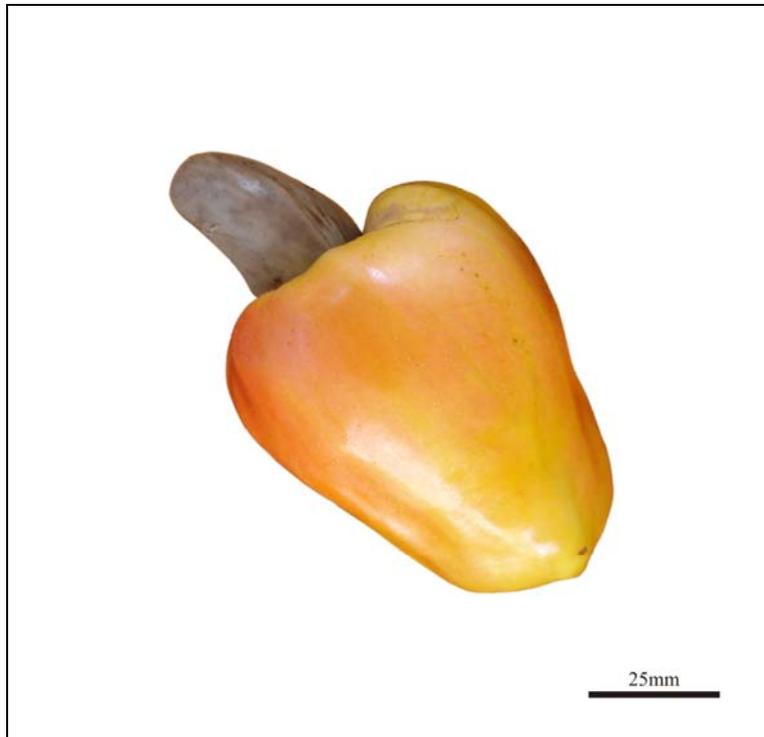


Figura 05 - Caju – castanha + pedúnculo (*Anacardium occidentale*).

O pedúnculo floral é hipertrofiado, carnoso, succulento e bastante variável em tamanho, peso, forma e cor. É comumente denominado de caju, embora também seja dada esta denominação ao conjunto (castanha e pedúnculo). Após o pegamento dos caju, as castanhas começam o desenvolvimento e atingem o tamanho completo por volta de quatro semanas. Isso é seguido pelo crescimento do pedúnculo. O fruto completo cai quando maduro (JOHNSON, 1973). Do pegamento até a completa maturação decorre um período médio de 52 dias (BARROS et al., 1993). O tamanho do pedúnculo pode variar muito em relação à castanha, e o formato também. O pedúnculo muito jovem é verde ou púrpura, tornando-se verde mais tarde. Quando maduro, torna-se vermelho ou amarelo ou de outra cor intermediária (AUGUSTIN; UNNITHAN, 1981).

O cultivo do cajueiro tem crescido em países emergentes, a exemplo do Vietnã, Indonésia, Guiné Bissau, Tailândia, Benin e México. No Brasil é encontrado em todo o território, entretanto, em termos de importância econômica a sua exploração concentra-se no Nordeste, principalmente, nos Estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte (FIGUEIREDO, 2000).

O Brasil apresenta uma característica diferenciada dos demais países produtores que é o aproveitamento industrial do pseudofruto (o pedúnculo floral, também conhecido como caju ou maçã do caju), cujo potencial econômico e dos mais surpreendentes, pelo leque de opções que possibilita. O principal produto dessa indústria é o suco concentrado, o mais vendido do país, seguido de doces e bebidas refrigerantes. Além disso, o emergente mercado de frutas para mesa, aumentou as perspectivas de lucratividade do negócio e a possibilidade de sua utilização na alimentação animal encerra o conjunto de possibilidades deste ainda subproduto (BARROS, 2002).

A importância do cajueiro reside não só no aproveitamento da amêndoa, considerada uma das nozes preferidas no mercado, mas também na utilização do pedúnculo. Vale ressaltar que o Brasil é o pioneiro e único país do mundo que possui tecnologia, experiência e hábito de consumo nas diferentes formas, o que é uma oportunidade a mais para a diversificação do agronegócio, favorecendo assim, ao país a liderança no ranking de aproveitamento do pedúnculo de caju (AGOSTINI-COSTA et al., 2003).

As pesquisas na área de melhoramento genético priorizam atender as demandas atuais da cajucultura, com enfoque num maior aproveitamento do pedúnculo. Isso envolve um conjunto de procedimentos com fundamentação científica, cujo objetivo é alterar as características dos cultivares, de modo que os novos materiais obtidos possibilitem aumento na produtividade e qualidade do produto final, a um menor custo e de uma forma mais duradoura (MOURA, 2004), levando vantagens na melhoria de saúde e bem-estar da população.

O caju possui elevado potencial para o consumo in natura e para o processamento industrial. Diversos são os produtos obtidos a partir do pedúnculo do cajueiro, dentre eles os sucos, refrigerante gaseificado, cajuína, doces, geléias, néctares, farinhas e bebidas alcoólicas, que podem ser industrializados, sendo o Brasil, o país pioneiro e líder de seu aproveitamento (ABREU, 2007).

#### 1.2.1.2.6 Camu-camu

O camu-camu (*Myrciaria dubia*), também conhecido como caçari, araçá d'água ou sarão, é uma espécie silvestre pertencente à família Myrtaceae, nativa das várzeas e lagos da Amazônia (MAEDA et al., 2007). Sua distribuição geográfica é limitada aos cursos dos rios, sendo encontrado desde o Estado do Pará até o Peru, onde há grandes concentrações mono-específicas (FALCÃO, 1993).

A planta apresenta porte arbustivo, com altura entre 3 e 8 m, e é encontrada na estação chuvosa, parcial ou totalmente submersa. O camu-camuzeiro é uma frutífera ainda pouco cultivada em pomares domésticos, principalmente, da região Amazônica, onde também é encontrada em estado silvestre em sua parte noroeste, sobretudo em áreas alagadas, com a metade inferior do caule imersa na água (VIÉGAS et al., 2004).

É um arbusto de folhagem perenifólia, de 2 a 4 m de altura, raramente na forma de árvore de até 7 metros. Folhas cartáceas, glabras, de 4 a 7 cm de comprimento, com pecíolo de 3 a 6 mm. Flores andróginas e perfumadas, formadas em fevereiro e março (LORENZI et al., 2006).

Os frutos (Figura 06) são bagas globosas, de superfície lisa e brilhante, de 2 a 4 cm de diâmetro e peso médio de 8,4 g, coloração variando de vermelho-escuro a púrpuro-negro, quando maduros, com polpa succulenta e muito ácida. A maturação

ocorre de dezembro a janeiro. Possui 1 a 4 sementes por fruto, reniforme, elipsóides, coberta com malha de fibrila (VILLACHICA, 1996).



Figura 06 - Fruto do camu-camuzeiro (*Myrciaria dubia*).

Dada à elevada acidez da polpa e o amargor da casca, os frutos dificilmente são consumidos *in natura*, levando à necessidade de pesquisas para o melhor aproveitamento do fruto (MAEDA et al., 2006).

A grande importância deste fruto como alimento é devido ao seu elevado teor de vitamina C. Nos Estados Unidos, Japão e França, as indústrias farmacêuticas transformam esta fruta em tabletes de vitamina C, enquanto que no Brasil, são utilizados no preparo de cosméticos e, na Amazônia, em especial, são utilizadas no preparo de refresco, sorvete, picolé, geléia, doce e licor (VIÉGAS et al., 2004).

#### 1.2.1.2.7 Carnaúba

O nome carnaúba teve origem na língua indígena tupi, significando “árvore que arranha”, devido ter uma camada espinhosa resultante da queda das folhas na parte inferior do caule. Marcgrave e Piso deram em 1648 esta primeira indicação, no trabalho “*Naturalis Brasilliae*”. Isso levou a inclusão desta denominação na história “*Plantarum*” de Ray, no ano de 1688, contribuindo para Miller designá-la de *Palma prunifera* no *The Gardeners Dictionary*, em 1768. No Brasil, depois da tentativa de classificação do Padre Veloso, em 1790, o botânico Arruda Câmara classificou-a como *Corypha cerifera* em 1810, incluindo-a na ordem das Hexândrias monogínicas, de Linneu. Em 1819, Martius classificou-a como *Copernicia cerifera* (CARVALHO, 1942). Atualmente, a carnaubeira chama-se *Copernicia prunifera*, o nome da espécie foi restabelecido por Moore, em 1963 (CARVALHO, 2005).

Pertencente à família Arecaceae é nativa da região Nordeste do Brasil, encontrada também na região Central e em outros países. Foi denominada “árvore da vida” pelo naturalista Humbolt tendo em vista suas numerosas e significativas finalidades, mantendo-se no grupo das árvores mais assediadas pelo consumo humano (CRESPO, 2007).

A carnaubeira tem sido um dos suportes da economia dos Estados do Maranhão, Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte, os quais são os maiores produtores de cera, contribuindo com 86,2% do total produzido no Brasil, podendo ser encontrada ainda na Bahia, Alagoas e Sergipe (SUDENE, 1967; LORENZI et al., 1996). A extração do pó das folhas, que submetido à fusão transforma-se em cera de carnaúba, é um produto de grande importância histórica, social e econômica nos Estados do Piauí e Ceará (CRESPO, 2007).

Arruda e Calbo (2004) relatam que a maior concentração de carnaubais encontra-se nos vales dos rios do Nordeste, que muitas vezes formam extensas

planícies inundáveis. Estas áreas podem permanecer inundadas por alguns meses e, posteriormente, chegam a ser submetidas ao estresse hídrico nos meses mais secos. A ocorrência periódica da inundação nos carnaubais dos vales dos rios indica que a carnaúba deva apresentar adaptações para suportar a diminuição do oxigênio no solo.

Esta palmeira chega a atingir até 20 m de altura e 15 a 25 cm de diâmetro. Planta de crescimento lento possui um sistema radicular fibroso, abundante, desenvolvendo-se a grandes profundidades e adaptada ao clima seco com solos arenosos e alagadiços, várzeas e margens dos rios de regiões de clima quente. Apresenta na ponta superior um feixe de folhas em leque peciolado de cor verde esbranquiçada, recoberta por uma camada de p  cerifero, resultado de uma condição genética da planta, um mecanismo natural de defesa contra agentes externos, principalmente, incidência de elevadas temperaturas, t picas dos períodos secos (HENDERSON et al., 1995; CRESPO, 2007).

O período de corte das folhas ocorre, geralmente, por ocasião da frutificação, o que produz o risco de os frutos serem cortados, reduzindo a capacidade de reprodução da espécie a longo prazo. Outro fator importante, quanto ao manejo dos carnaubais, relaciona-se ao uso na prática de outras atividades, como a criação de gado e plantios após a queima da área selecionada, gerando s rios problemas de degradação ambiental, comprometendo o desenvolvimento da carnaúba (CARVALHO, 2005).

Além da exploração extrativista para obtenção de cera da folhas, outras partes da planta podem ser utilizadas: o caule na edificação de casas, cercas, prédios rurais, quiosques de praia e artesanato; as folhas no artesanato, na cobertura de casas; o resíduo da produção do p , chamado de “bagana”, como cobertura morta na agricultura ou na produção de celulose (ainda em pesquisa). As sementes na produção artesanal de bijuterias e as raízes juntamente com outros elementos, são utilizadas na composição de remédios. Da amêndoa pode ser extraído um tipo de óleo comestível e, quando torrada e moída, costuma ser aproveitada em substituição ao p  de café. Serve, ainda, para extração de um tipo de farinha e de um leite semelhante ao do babaç , usado na

alimentação. Os frutos (Figura 07) inteiros da carnaúba servem de alimento para animais de criação, porém, sua polpa pode ser consumida *in natura* ou usada na fabricação de licor, doces, geléias, biscoitos dentre outros produtos alimentícios (CARVALHO, 2005; CRESPO, 2007).



Figura 07 - Frutos da carnaubeira (*Copernicia prunifera*).

#### 1.2.1.2.8 Gurguri

O gurguri (*Mouriri guianensis*), também conhecido por creoli, criuri, criviri, socoró e uriri, pertence à família Mestatomataceae e ocorre da Venezuela e Guianas até

o Rio de Janeiro, em áreas sujeitas a inundações, como beiras de rios. As flores são brancas, róseas ou violetas e estão em inflorescências axilares. O fruto (Figura 08) mede de 1 a 1,5 cm de diâmetro, é arredondado e de cor alaranjada. A planta é uma árvore pequena ou arbusto, com até 10 m de altura, com folhas elíptico-ovaladas, com 3 a 10 cm de comprimento, base arredondada e ápice agudo a acuminado. A polpa do fruto é agradável e de bom sabor e é consumida ao natural (DONADIO, 2007).

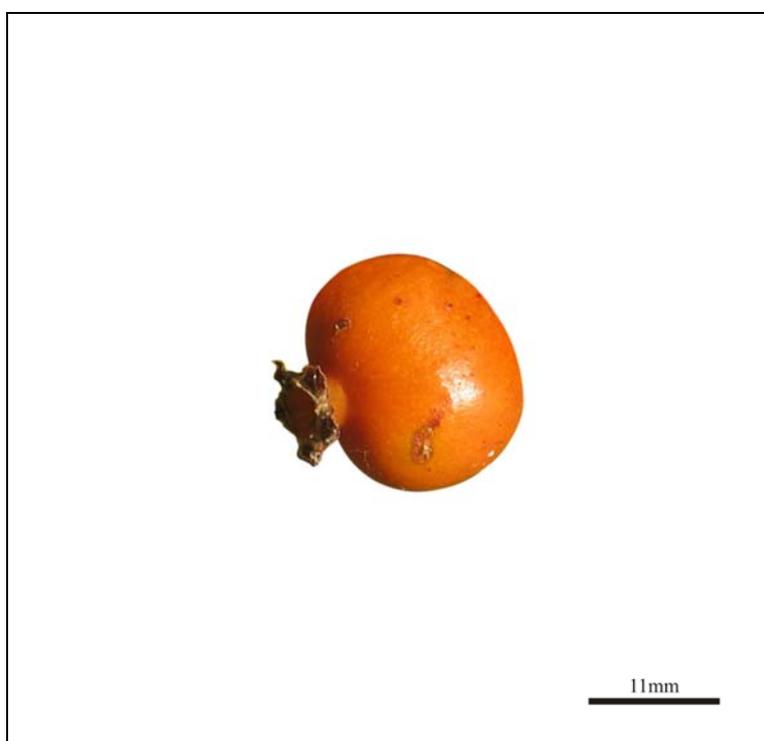


Figura 08 - Fruto do gurgurizeiro (*Mouriri guianensis*).

Não foram encontradas outras informações sobre esta espécie na literatura, como exceção da ocorrência da mesma em áreas inundadas. No município de Beberibe, litoral do Estado do Ceará a mesma é utilizada como matéria-prima para fabricação de geléia.

#### 1.2.1.2.9 Jaboticaba

A jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora*) é uma árvore frutífera nativa do Brasil, da família Myrtaceae, originária da Mata Atlântica e muito cultivada desde os tempos coloniais, podendo ser encontrada desde o Estado do Pará até o Rio Grande do Sul, mas é na região Sudeste, nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo que ocorrem as maiores produções. Sua origem é desconhecida, tendo sido descrita em 1828 a partir de material cultivado (LORENZI et al., 2006).

No entanto, a Universidade Federal de Viçosa conseguiu reunir, de diversas regiões, nada menos que doze variedades distintas, sendo que algumas ainda não estão devidamente identificadas botanicamente (ANDERSEN; ANDERSEN, 1988). Dentre as espécies atualmente conhecidas, destaca-se a *Myrciaria cauliflora* (jaboticaba, jaboticaba-paulista, jaboticaba-ponhema ou jaboticaba-açú) e a *Myrciaria jaboticaba* (jaboticaba sabará ou jaboticaba-murta) (DONADIO, 2000).

É uma árvore semidecídua, de 3 a 6 m de altura, podendo chegar até 15 m de altura, com casca lisa de cor pardo-clara e manchada. Possui folhas glabras, com pontuações esparsas, de 3 a 7 cm de comprimento, com a nervura principal levemente impressa na face superior e saliente na inferior. As flores são aglomeradas sobre o caule e ramos, com pedicelos unifloros curtíssimos, com botão floral glabro, formadas na primavera e verão. Os frutos (Figura 09) globosos, de polpa succulenta geralmente doce, são consumidos, principalmente, in natura sendo muito apreciados na forma de licor, geléia e aguardente. A forma de propagação é por sementes (LORENZI et al., 2006).

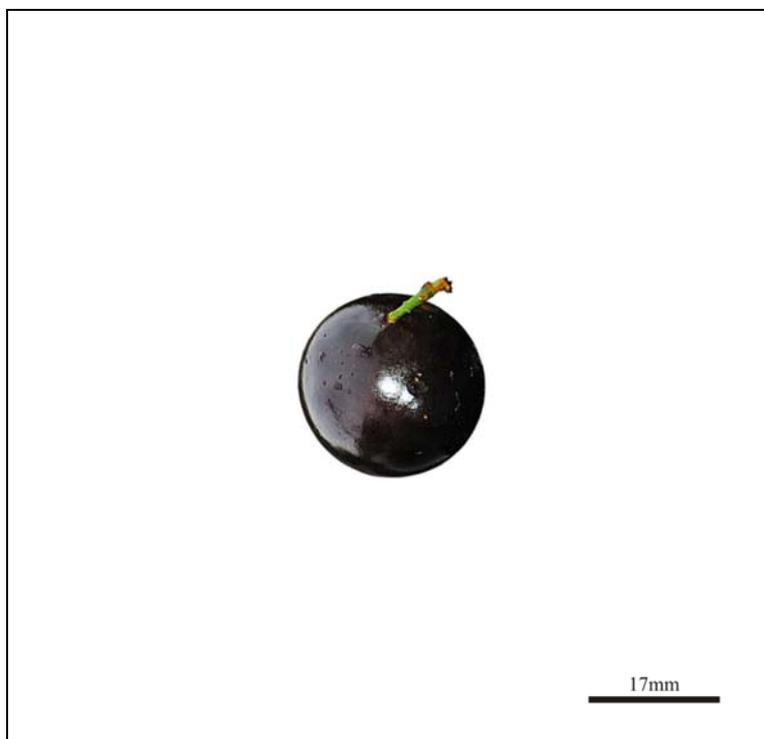


Figura 09 - Fruto da jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora*).

A jaboticabeira é uma das frutíferas que tem despertado grande interesse entre os produtores rurais devido a sua alta produtividade, rusticidade e aproveitamento de seus frutos nas mais diversas formas. É uma fruta tipicamente brasileira, que apesar de ser considerada apropriada tanto para consumo *in natura* como para a indústria (MAGALHÃES, 1996) tem seu comércio limitado devido a sua alta perecibilidade, que não somente reduz a quantidade produzida como também compromete a qualidade, principalmente, o aspecto externo.

Dentre os fatores que comprometem a qualidade dos frutos pode-se citar a perda de água, que resulta em murchamento, enrugamento da casca e perda de peso (AWAD, 1993) fatores estes importantes na comercialização. Como outras frutas tropicais, a jaboticaba apresenta curto período de comercialização após a colheita

(DUARTE, 1996), conseqüentemente, são necessários estudos sobre técnicas de conservação visando estender sua vida útil sem afetar a qualidade.

Os frutos de jaboticaba podem ser utilizados no preparo de sucos, vinhos, geléias, compotas, licor e vinagre (ANDERSEN; ANDERSEN, 1988).

#### 1.2.1.2.10 Jambolão

O jambolão (*Syzygium cumini*) é uma frutífera exótica, da família Myrtaceae, originária da Índia e Sirilanka, amplamente cultivada no Brasil como árvore ornamental e de sombra, principalmente, ao longo do litoral. É uma árvore perenifólia de copa frondosa e densa, de 15 a 20 metros de altura, com tronco geralmente tortuoso (LORENZI et al., 2006).

Também conhecido por Jamelão, jalão, cereja, azeitona-doce, jambul, *jaman* (Ásia), *faux pistachier* (França), *Indian black berry* (Inglaterra) e *jambal, duhat* (Finlândia). Prefere o clima quente e úmido, sendo uma planta bastante rústica, adaptando-se bem em qualquer tipo de solo, inclusive aqueles impróprios para o cultivo comercial de outras fruteiras (DONADIO, 2007).

As folhas são simples, coriáceas, glabras, aromáticas, lustrosas, medindo de 8 a 14 cm de comprimento, com a nervura principal destacada e pecíolo de 1 a 3 cm. As flores dominadas pelos estames brancos estão dispostas em racemos axilares ramificados, formadas em setembro a novembro. A forma de multiplicação é por sementes (LORENZI et al., 2006).

A maturação ocorre em janeiro e fevereiro. O fruto (Figura 10) é uma baga elipsóide com 3 a 4 cm de comprimento e com uma semente medindo 2 cm de diâmetro, com coloração roxo-escuro, quando maduro ou mais clara, quando imaturo (DONADIO, 2007).

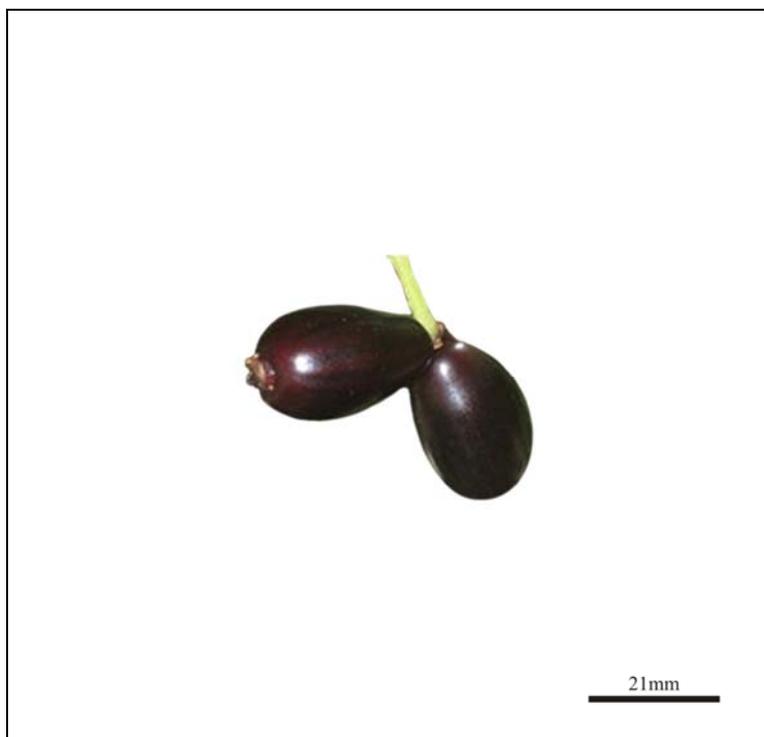


Figura 10 - Frutos do jamboleiro (*Syzygium cumini*).

Os frutos são oblongos, com polpa suculenta, de sabor adocicado e adstringente, contendo uma única semente e os frutos são consumidos in natura e apreciados em algumas regiões do país (LORENZI et al., 2006). São utilizados também no preparo de tortas, geléias, gelatinas, bebidas, suco, vinho, vinagre e pickles (DONADIO, 2007).

#### 1.2.1.2.11 Juçara

A juçara (*Euterpe edulis*) também conhecida por palmitreiro, icará, palmito-doce, *ensarova*, *juçara-palm*, é uma frutífera da família Arecaceae pouco cultivada e seriamente ameaçada em seu habitat natural que é a Mata Atlântica. É uma palmeira de tronco solitário de 5 a 12 m de altura, com caule de 10 a 15 cm de diâmetro e 8 a 15 folhas. As flores são numerosas em inflorescência intrafoliar (LORENZI et al., 2006). O fruto (Figura 11) é uma drupa com cerca de 1 cm, de coloração roxa a violeta escura, com mesocarpo fino, carnoso e fibroso contendo apenas uma semente. Consumida ao natural, como também na forma de sucos tipo do vinho-do-açaí (DONADIO, 2007).



Figura 11 - Frutos da juçara (*Euterpe edulis*).

#### 1.2.1.2.12 Mangaba

A palavra mangaba é de origem indígena (*mã'gawa*), e segundo FERREIRA (1973) significa “coisa boa de comer”. BRAGA (1960) a menciona como corruptela de mongaba, que significa grude ou visgo, em alusão ao látex da planta. De acordo com MONACHINO (1945), os índios tupis a chamam de tembiú-catu e os guaranis do Paraguai, de manga-icé. Ainda conforme esse autor, algumas variantes do nome mangaba são usadas no Brasil, como mangaíba, mangareíba, mangava, mangaúva e manguba. Outros sinônimos popularmente empregados são encontrados na literatura (BAHIA, 1979), como catu e fruta-de-doente (em Sergipe), tembiú e tembiucatinga. Por fim, Villachica et al. (1996) acrescenta mangaba em espanhol, mangaba, mangabeira e mangabinha do norte em Português, como outros nomes comuns.

A mangaba ou mangabeira pertence à classe Dicotyledoneae, ordem Gentianales e família Apocynaceae. No gênero *Hancornia*, a espécie mais importante é a *Hancornia speciosa*, descrita por Gomes, em 1812 (LEDERMAN et al., 2000), existindo ainda mais duas espécies: *H. pubescens* e *H. laxa*. No caso da *H. speciosa*, são descritas seis variedades: *H. speciosa* var. *speciosa*, *H. speciosa* var. *maximilliani*, *H. speciosa* var. *lundii*, *H. speciosa* var. *cuyabensis*, *H. speciosa* var. *gardneri* e a *H. speciosa* var. *pubescens* (MONACHINO, 1945; MANICA, 2002).

A mangaba é nativa da zona de transição entre a vegetação tipo cerrado e a do bosque tropical atlântico no Brasil. Nestas zonas, a temperatura média anual está entre 24 e 26 °C, umidade relativa do ar em torno de 80 %, altitude entre 28 e 80 m e a pluviosidade variando de 750 a mais de 1400 mm por ano. Também se encontra em zonas com temperaturas médias mínimas e máximas diárias de 15 e 43 °C, respectivamente (VILLACHICA et al., 1996; AGUIAR FILHO et al., 1998).

Ocorre com maior abundância nas áreas de tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas do Nordeste. Na região Norte, como relata Villachica et al., (1996), tem como provável centro de dispersão a Amazônia, encontrando-se com maior frequência na Ilha de Marajó, no Estado do Pará. Segundo MANICA (2002) ela produz também na Venezuela, Bolívia, Peru, Paraguai e na região do Chaco da Argentina.

A planta da mangabeira é um arbusto de 2 a 10 m de altura podendo chegar raramente até os 15 m, porte harmonioso, com seus galhos separados e bem formados. Copa ampla, às vezes mais larga do que alta com galhos pendentes, abundantes e folhagens reduzidas. (VILLACHICA et al., 1996; LEDERMAN et al., 2000).

Conforme citações de Aguiar Filho et al. (1998) a flor da mangabeira é hermafrodita gêmea ou trigêmea no ápice dos ramos, branca, campanulada e aromática. Androceu dotado de cinco estames epipétalos, anteras lanceoladas de filetes curtos e deiscência rimosa. Gineceu com ovário pequeno, unicarpelar, dotado de muitos óvulos, estilete longo com estigma em carretel.

O fruto (Figura 12) é classificado como do tipo baga, tem a forma elipsóide ou arredondada, atingindo até 6,5 cm de comprimento, mas com diferentes tamanhos na mesma planta; apresenta a casca ou exocarpo, exibindo uma coloração, que varia de verde-clara a amarelada, com estrias amareladas ou avermelhadas, produzindo um suco viscoso na casca; a polpa é de cor branca, de gosto acidulada a doce, suave, carnosa e viscosa, de aroma perfumado e muito saborosa. O período de florescimento até a colheita dos frutos maduros varia de 97 a 113 dias. O fruto tem no seu interior muitas sementes (até 38 sementes em cada fruto), sendo elas de coloração castanho-claro, delgadas, rugosas, com um hilo no centro, de forma discóide ou circular, achatadas ou comprimidas, com 7 a 8 mm de diâmetro (MANICA, 2002).

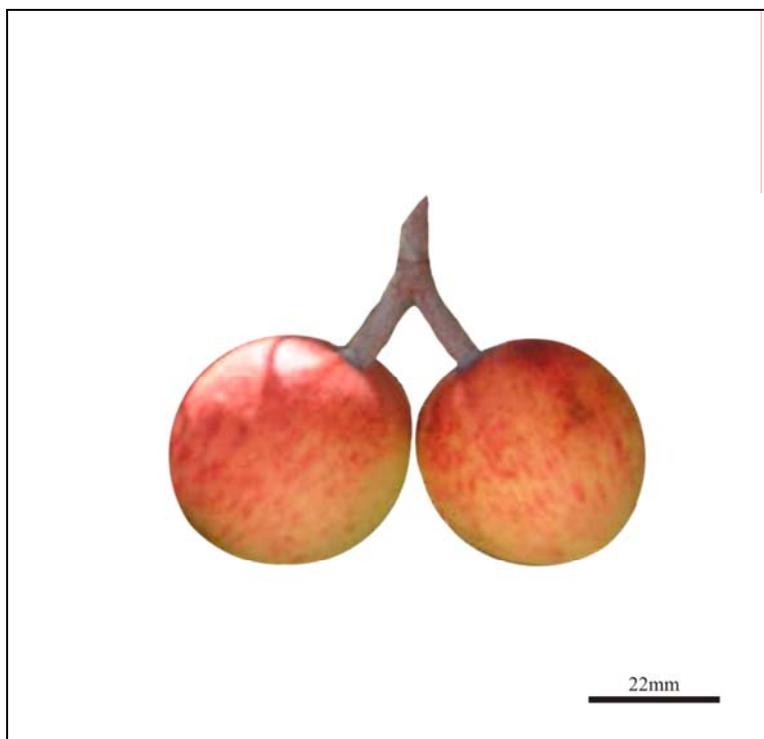


Figura 12 - Frutos da mangabeira (*Hancornia speciosa*).

O fruto apresenta ótimo aroma e sabor, sendo utilizado além do consumo in natura, na produção de doces, compotas, xarope, vinho, vinagre, licor, refresco e, principalmente, suco e sorvete. Ultimamente, estudos têm sido desenvolvidos visando a sua utilização sob a forma de passas, por possuir efeitos medicinais, indicados para pessoas convalescentes no tratamento de úlceras gástricas (VIEIRA NETO, 1997; SOUZA, 2007).

O mercado para esta fruta encontra-se, principalmente, nas regiões Norte e Nordeste do Brasil. Em Sergipe, a mangaba é uma das frutas mais abundantes e procuradas nas feiras livres, atingindo preço superior ao da uva e de outras frutas nobres. Atualmente, já ocorre a comercialização em supermercados, em bandejas de isopor revestidas com

filme PVC com capacidade para 500 g (LEDERMAN et al., 2000), porém, sua comercialização em lanchonetes é feita na forma de polpa congelada, sorvetes e sucos.

#### 1.2.1.2.13 Murici

A palavra murici provém do Tupi (*mborici*) que significa “faz resinar” (BRAGA, 1976). Os muricis do Brasil são muitos e variados, sendo, em sua maioria, plantas da família Malpighiaceae. Em suas diferentes espécies, os muricis distinguem-se, também, por suas cores e locais de ocorrência. Assim, são conhecidos murici-amarelo, (*Cassia verrucosa*) da família das leguminosas – Cesalpiniáceas; o murici-da-serra (*Vochysia saldanhae*) da família das Voquisiáceas e os muricis da família Malpighiaceae, tais como: o murici-pequeno (*B. verbascifolia*), o murici-de-flor-vermelha (*B. punctulata*), o murici-da-chapada (*B. Salzmanniana*), o murici-das-capoeiras (*B. lancifolia*), o murici-do-campo (*B. crassifolia*; *B. intermedia*), entre outros (CORRÊA, 1974).

As espécies de muricizeiro mais comuns e de ocorrência no Brasil são: *B. crassifolia* (CORRÊA, 1974) que ocorre das Guianas até a Bahia; *B. verbascifolia*, sua ocorrência é no Brasil Central e região Amazônica, em cerrados, cerradões e campos cerrados (LORENZI, 1998); e *B. intermédia*, nativo dos cerrados do Brasil (LORENZI, 2002; MATOS, 2002).

A espécie estudada neste trabalho segundo Lourenço (2008), foi identificada como *Byrsonima dealbata*, que é um arbusto ou pequena árvore cuja distribuição ocorre na Bahia. Possui folha oboval, oval lanceolada-oblonga, com a face superior sem pêlo e a inferior com pêlo esbranquiçado ou avermelhada, possui nervuras espaçadas, pecíolo curto ou subséssil, bráctea com o quádruplo do tamanho do pedicelo, ápice atenuado, bractéolas semelhantes e pouco maiores que as brácteas,

corola com mais de uma cor, conectivo sub-igual aos lóculos da antera, sem pêlo e ovário com pouco pêlo. Seus frutos podem ser observados na Figura 13.

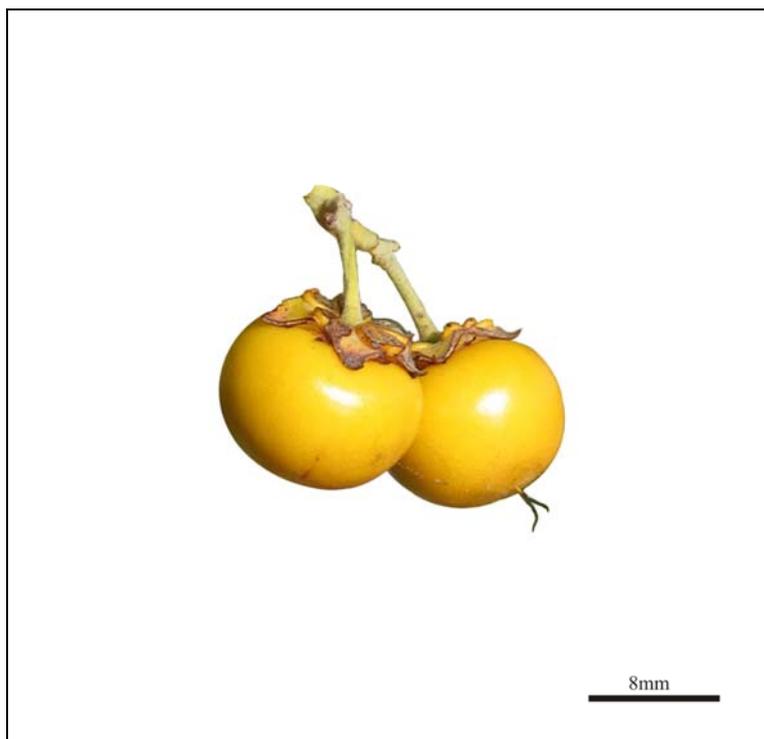


Figura 13 - Frutos do muricizeiro (*Byrsonima dealbata*).

Na época da safra, o murici torna-se uma fruta de grande procura pela população devido a sua grande aceitação pelo seu delicioso sabor. A comercialização nas capitais nordestinas, especialmente, na zona litorânea, ocorre em grande parte com a fruta in natura nas feiras livres e mercados públicos das cidades. As outras diversas formas, manufaturadas ou industrializadas, são comercializadas nas lanchonetes, sorveterias e supermercados das cidades (LOURENÇO, 2008).

Algumas espécies nativas têm experimentado, mais recentemente, um grande extrativismo, em função da demanda por polpa, sucos, bebidas lácteas e sorvetes. Essa

demanda tem sido viabilizada, em parte, pela possibilidade da extração e congelamento da polpa obtida de frutos de plantas cultivadas em chácaras de inúmeros recantos da região ou em áreas de ocorrência natural. A grande popularização do liquidificador doméstico possibilitou o processamento das polpas congeladas, adquiridas em diversos pontos de venda espalhados nas grandes cidades da região (FERREIRA et al., 2005). O mesmo autor cita que o hábito de consumir sucos de polpas congeladas estabeleceu-se de tal forma que pressiona toda a cadeia das frutas nativas por tecnologias que eliminem os gargalos de produção, pós-colheita e processamento.

O muricizeiro apresenta fruto de importância econômica para pequenas comunidades do litoral que o colhem de forma extrativista para consumo e comercialização. O fruto é coletado, principalmente, por mulheres e crianças, aproveitando a mão de obra disponível, diversificando a dieta e aumentando a renda familiar no período de safra da fruta. Apesar da importância do muricizeiro para as comunidades locais, pouco se conhece sobre a sua reprodução, requerimentos de polinização, agentes polinizadores, sucesso reprodutivo da espécie e outros aspectos importantes para assegurar a sua perpetuação (PEREIRA, 2001). Pode-se acrescentar ainda a falta de informações sobre pós-colheita no que diz respeito às características nutricionais, físicas, químicas, físico-químicas e de conservação.

#### *1.2.1.2.14 Murta*

Segundo Legrand e Klein (1978), *Blepharocalyx* é um gênero sul-americano, da família Myrtaceae, com aproximadamente 30 espécies, mas que seguramente devem ser muito reduzidas, agregando em troca muitas variedades, formas híbridas ou formas ecológicas. Denardi e Marchiori (2005) afirmam que reconhecem apenas três espécies para o gênero e apenas *Blepharocalyx salicifolius* para a flora sul-brasileira, pois esta é

uma espécie bem definida que se distingue pelos seguintes caracteres: pêlos simples, cálice aberto e lobos calicinares fortemente côncavos, deiscentes na antese.

De acordo com o autor, as discontinuidades no padrão de variação não são suficientes para o reconhecimento de espécies distintas, motivo pelo qual mais de 60 binômios foram por ele reduzidos à sinonímia de *Blepharocalyx salicifolius*.

As flores são hermafroditas, esbranquiçadas e reúnem-se em dicásios de 3 a 15 flores, mais curtos do que as folhas. Lobos do cálice fortemente côncavos, suborbiculares, com aproximadamente 1,5 a 2 mm de comprimento, pecíolo glabro ou piloso, caduco na antese com a margem pilosa. Quatro pétalas livres, com aproximadamente 2 a 3 mm de diâmetro, glabras, exceto na margem que é ciliada, ou com menos frequência escassamente pilosas. Estames de 80 a 160 com 3 a 7 mm de comprimento. Anteras com 0,2 a 0,3 mm de comprimento. Normalmente, o ovário possui dois lóculos e 4 a 17 óvulos por lóculo. A floração ocorre de agosto a janeiro, e a polinização é realizada por abelhas e diversos insetos pequenos (CARVALHO, 2006).

O fruto (Figura 14) é uma baga globosa de 3 a 5 mm, glabra, com uma cicatriz quadrangular e possui de uma a 4 sementes. A semente é reniforme, de cor esverdeada, medindo de 4 a 5 mm de comprimento e o embrião possui a forma de espiral. A maturação dos frutos ocorre de janeiro a março e a dispersão dos frutos e sementes é zoocórica, realizada, principalmente, pela avifauna e pelo lagarto-teiú (*Theju tupinamba*) (REGO, 2008).

Esta espécie ocorre no Paraguai, Uruguai, Argentina (Misiones a Jujuy), Bolívia e Equador. No Brasil, se distribui nos Estados da Bahia, Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. É encontrada na Floresta Estacional Decidual na formação Submontana, na Floresta Estacional Semidecidual nas formações Montana e Alto-Montana, na Floresta Ombrófila Densa nas formações Alto-Montana, na Floresta Ombrófila Mista nas

formações Aluvial e Montana, em Vegetação com Influência Marinha (Restinga), no Cerrado e Cerradão, e em Estepes ou Campos (CARVALHO, 2006).

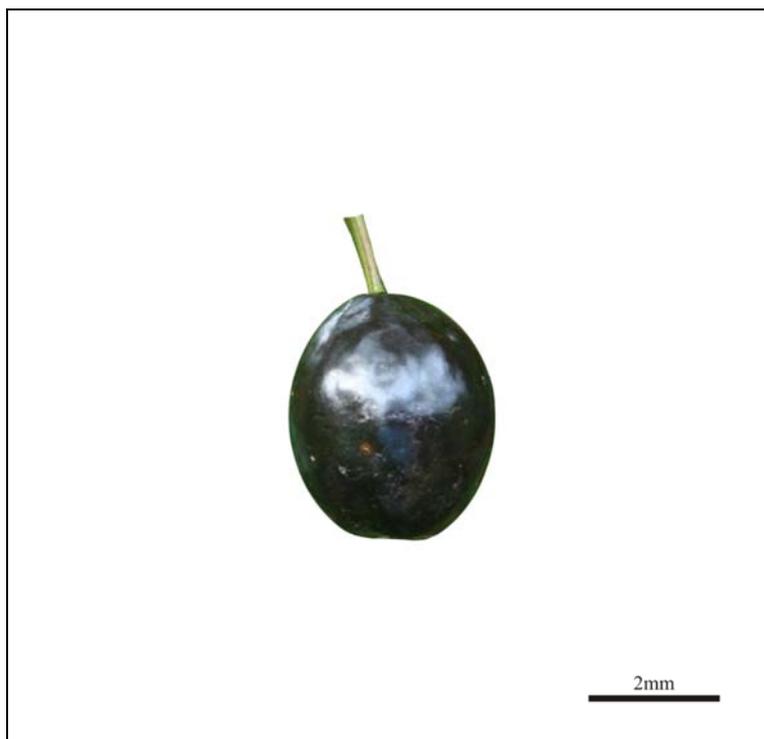


Figura 14 - Fruto da murteira (*Blepharocalyx salicifolius*).

Na Argentina, *B. salicifolius* é conhecida popularmente como *horco molle*, *multa*, *cocha mole*, *anacahuita* e *arrayán* e no Brasil por murta, cambuí, cambuim, maria-preta, murtinha, guruçuca, pitanga-da-várzea, vassourinha, guabiju, pitangueira-do-banhado, piúna-preta, murteira, guabiroba, e guamirim (REGO, 2008).

A murta é uma árvore de pequeno porte com 4 m podendo chegar até 30 m, com tronco, geralmente reto, podendo chegar a 40 cm de diâmetro. Casca espessa, marrom-escura, marcada por fissuras longitudinais, com espessura de até 20 mm. A

copa é globosa ou irregular, possuindo finos ramos pendentes (SILVA JÚNIOR, 2005).

Esta espécie é considerada secundária tardia ou clímax exigente de luz (CARVALHO, 2006), perenifólia, seletiva, higrófila, heliófita até esciófita, desenvolvendo-se nos mais variados ambientes ou estágios da vegetação, desde campos abertos até sub-bosques desenvolvidos. É freqüente nas matas ciliares e nas submatas dos pinhais situados em solos úmidos (LORENZI, 1998). É sem dúvida uma das mirtáceas mais expressivas nas submatas dos pinhais, que já se encontram em estágios mais desenvolvidos, estando associada com a sapopema (*Sloanea monosperma*), com a imbuia (*Ocotea porosa*) e com a canela-lajeana (*Ocotea pulchella*) (LEGRAND, 1978; KLEIN, 1978).

O uso popular de suas folhas faz-se como digestivo, em casos de náuseas, como hipotensor, adstringente, antibacteriano, antiespasmódico, em casos de tosse, bronquite, reumatismo, artrite, sinusite e entorses (CERON et al., 2006). Na literatura não foram encontrados relatos sobre o uso de seus frutos.

#### 1.2.1.2.15 Puçá-coroa-de-frade

O puçazeiro-coroa-de-frade é uma espécie frutífera nativa de cerrado, encontrada nos Estados de Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, Piauí e Ceará. É conhecido vulgarmente por croadinha, croada, puçá e manipuçá. Classifica-se botanicamente como pertencente à divisão *Magnoliophyta* (*Angiospermae*), classe *Magnoliopsida* (*Dicotyledonae*), subclasse *Rosidae*, superordem *Myrtales*, ordem *Myrtales*, família *Melastomataceae*, gênero *Mouriri*, espécie *elliptica* e nome científico *Mouriri elliptica* (SILVA et al., 2001; SILVEIRA, 2007).

As Melastomataceas são plantas herbáceas, arbustivas ou arbóreas compreendendo cerca de 200 gêneros e 4 mil espécies. As folhas são em pares e opostas ou raramente alternadas, sem estípulas. As flores são hermafroditas, de simetria actinomorfa. A corola apresenta, geralmente, 5 pétalas distintas. O androceu é formado por dois grupos contendo o número de estames equivalentes ao número de pétalas. Os estames podem ser dimórficos. O gineceu é formado por um único conjunto de pistilo com 4-14 carpelos, um único estigma e um ovário superior ou inferior com 4-14 lóculos e numerosos óvulos. O fruto (Figura 15) é uma cápsula ou baga (SILVEIRA, 2007).



Figura 15 - Frutos do puçazeiro-coroa-de-frade (*Mouriri elliptica*).

A espécie *M. elliptica* de modo geral, é uma planta arbórea, de 4 a 6 m de altura por 2 a 4 m de diâmetro. Flor de pétalas brancas e creme, estames amarelos, cálice verde, botões florais verdes. O fruto tem mesocarpo alaranjado e doce, 3 a 5 sementes no endocarpo, presentes de 100 a 200 frutos por planta. As dimensões do fruto são de 2,5m a 3,5cm de comprimento por 2,5 a 3,0cm de diâmetro, pesando cerca de 13 a 20g. (SILVA et al., 2001; SILVEIRA, 2007).

Estudos realizados por Dalponte e Lima (1999) na Chapada dos Guimarães, mostraram que o puçazeiro teve período de frutificação intermediário, de agosto a dezembro, final da estação seca e início da estação chuvosa naquela região. A colheita pode ser realizada no solo após a queda do fruto através de catação ou na árvore. Por se tratar de um fruto não climatérico, o puçá não amadurece se colhido verde.

Na literatura não foram encontrados trabalhos sobre a utilização desta fruta, apesar de, no litoral do Ceará, a mesma seja utilizada na fabricação de geléia.

#### 1.2.1.2.16 Puçá-preto

O puçazeiro (*Mouriri pusa*) é uma frutífera não cultivada, pertencente a família Melastomataceae e pouco freqüente na natureza, em seu habitat natural que abrange cerrados e campos de terrenos pedregosos e arenosos desde o sul do Pará, o Nordeste, o Brasil Central até as Minas Gerais. É uma árvore semi-decídua podendo chegar até 8 m de altura e de 6-8 m de diâmetro de copa. Folhas subcoriáceas, de 3 a 6 cm de comprimento, com as nervuras laterais quase invisíveis. Flores alvas e perfumadas, dispostas em agrupamentos pequenos ao longo dos ramos lenhosos nas áreas sem folhas e até sobre o tronco principal, formadas entre julho e setembro. Os frutos (Figura 16) amadurecem de março a junho e apresentam de 2 a 3 cm de comprimento por 3 a 4 cm de diâmetro, do tipo baga, globosa ou oblonga, com casca fina, contendo

1 a 3 sementes envoltas por polpa suculenta, de sabor doce e agradável. Os frutos são consumidos apenas in natura e muito apreciados localmente (SILVA et al., 2001; LORENZI et al., 2006).



Figura 16 - Fruto do puçazeiro-preto (*Mouriri pusa*).

#### 1.2.1.2.17 Umbu

A palavra imbu e a variação umbu têm origem no tupi-guarani (*Y'm'bu*), que significa “árvore que dá de beber”, em alusão à água contida nas túberas, que era

consumida pelos índios que habitavam as caatingas. Também chamado de ombu, ambu, giqui e umbu, e *brazilian-plum* em inglês (CORRÊA, 1978).

O umbuzeiro *Spondias tuberosa* pertence à família Anacardiaceae e ao gênero *Spondias*, que é composto de dez a quinze espécies que ocorrem de forma espontânea ou subespontânea no Nordeste do Brasil, sendo o umbuzeiro, uma espécie exclusiva do semi-árido. Planta típica do sertão e do agreste, destaca-se por possuir diversos mecanismos contra a falta de água, como às raízes modificadas, os xilopódios (ARAÚJO; SANTOS, 2004). Cresce espontaneamente nas regiões do Cariri paraibano, no planalto, sobre a Serra da Borborema, nas Serras do Seridó norte-rio-grandense, no agreste piauiense, no norte do Estado de Minas Gerais e nas caatingas, baiana, alagoana e pernambucana, onde ocorre a maior concentração dessa planta (MENDES, 1990; LORENZI, 1992).

De acordo com Giacometti (1993), o centro de alta diversidade e domesticação da espécie *S. tuberosa* encontra-se classificado no Centro 6: Centro Nordeste / Caatinga, onde vários autores constataram a ocorrência natural de elevado número de plantas dessa espécie. O Centro 6 inclui a caatinga dos Estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas e a Chapada Diamantina na Bahia. Tendo como coordenada os paralelos 2°S e 14°S e os meridianos 37° a 42° W.

A planta é uma árvore com altura de 4 a 7 metros, apresenta tronco muito curto, revestido por casca lisa, de 40-60 cm de diâmetro. Copa baixa com profusa ramificação aparentemente desordenada. Folhas compostas de 3 a 7 folíolos membranáceos. Seu sistema radicular é dotado de órgão de reserva, os xilopódios, que armazenam água, amido, etc., denominados também de ‘túberas aquíferas’ ou ‘cunangas’. Essa anacardiácea floresce quase sempre um pouco antes das primeiras chuvas quando ainda sem folhas, ou no início das chuvas quando já enfolhado. Como as chuvas na caatinga não iniciam na mesma época, a floração e a produção de frutos varia de local para local. Entretanto, de maneira geral, sua época predominante de

floração é durante os meses de setembro-dezembro e o amadurecimento predomina nos meses de janeiro-fevereiro (LORENZI, 2000).

Os frutos (Figura 17) são drupas glabras ou levemente pilosas, arredondadas, com 2 cm a 4 cm de diâmetro, 10 g a 20 g de massa e superfície lisa ou com 4 a 5 pequenas protuberâncias na porção distal (MENDES, 1990). A casca é de cor amarelo-esverdeada e a polpa é branco-esverdeada, mole, succulenta, de sabor agridoce agradável (SILVA et al., 1987). Os frutos são constituídos, em média, por 22% de casca, 68% de polpa e 10% de caroço apresentando elevada porcentagem de rendimento em polpa (MENDES, 1990).



Figura 17 - Fruto do umbuzeiro (*Spondias tuberosa*).

De acordo com Neves e Carvalho (2005), o umbu é um fruto climatérico, portanto, os frutos devem ser colhidos quando estiverem bem formados e se apresentarem no estágio *de vez* ou próximo dele, isto é, quando a cor da casca começar a se transformar de verde-escura para verde clara brilhante a ligeiramente amarelada e nesse ponto, a textura da casca apresenta-se mais lisa em relação ao fruto ainda verde.

Em muitos locais, no período da colheita, o umbu tem se tornado a principal atividade econômica, chegando a produzir entre 28 e 32 mil frutos por planta, algo em torno de 350 quilos safra/ano (SANTOS e OLIVEIRA, 2001).

Duque (1980) já apontava a importância do incremento do cultivo dessas plantas, de forma a terem uma exploração sistemática, em que proporcionaria aos pequenos agricultores, maior renda e tranquilidade, diante das incertezas das safras prejudicadas pelas irregularidades das chuvas que ocorrem na região semi-árida.

Segundo Maia et al., (1998) o fruto, uma vez colhido, e, em condições ambientais de preservação, dura no máximo dois ou três dias. Portanto, durante o período de máxima produção, existe uma grande perda do produto devido à falta de uma infra-estrutura adequada. Nesse sentido, várias pesquisas têm sido realizadas para o desenvolvimento de métodos de processamento e conservação para que se evite a perda desse produto no pico das safras, bem como se agregue valor a essa produção. Como exemplos, podem ser citados: produção da polpa de umbu em pó e avaliação da estabilidade desse produto (GALDINO et al., 2003); estudo do aproveitamento industrial do umbu na forma de geléia e compota (FOLEGATTI et al., 2003); avaliação de alterações das características sensoriais da polpa do umbu submetida a diferentes métodos de congelamento (FERREIRA et al., 2000) e estudo da estabilidade da cor de doces em massa de polpa de umbu no estágio de maturação verde (POLICARPO et al., 2007).

De forma mais artesanal, Mendes (1990) e Campos (1994) apresentam diversas formas de aproveitamento do umbu (suco, doce, umbuzada, licor, xarope, pasta concentrada, umbuzeitona, batida, umbu cristalizado, etc.), demonstrando a grande

capacidade que essa planta tem para contribuir com o desenvolvimento da região semi-árida, de forma especial com a industrialização caseira dos produtos derivados do fruto do imbuzeiro.

De acordo com Epstein (1998), o umbu é sumarento, agridoce e quando maduro, sua polpa é quase líquida. É consumido ao natural fresco ou ao natural sob forma de refrescos, sucos, sorvete, misturado a bebida (em batidas) ou misturado ao leite (em umbuzadas, polpa do umbu cozida com leite e açúcar). O fruto industrializado apresenta-se sob forma de sucos engarrafados, de doces, de geléias, de vinho, de vinagre, de acetona, de concentrado para sorvete, polpa para sucos, ameixa (fruto seco ao sol). O fruto fresco serve como forragem para animais.

Martins et al. (2007) desenvolveram formulações de doces em massa de umbu verde e maduro, estas tiveram boa aceitação entre os consumidores residentes no Rio de Janeiro.

#### *1.2.1.2.18 Uvaia*

A uvaia (*Eugenia pyriformis*) é uma espécie arbórea da família Myrtaceae nativa de São Paulo ao Rio Grande do Sul, em florestas semi-decíduas e na bacia do rio Paraná. Também é nativa no Paraguai e Argentina. Também conhecida como uvalha, uvaia-domato, uvalheira e ubaia. Segundo Cruz (1985), a uvaia é também conhecida como ubaia do campo e pitombo. O nome indígena tupi (*iwa'ya*) significa fruto ácido.

A planta é uma árvore com até 15 m de altura, com mínimo de 6 m, com copa densa, formada de ramos delgados, subachatados, serícios ou velutinos. O tronco é reto, geralmente descamante, com 30 a 50 cm de diâmetro. A madeira é pesada, dura, resistente, de textura média, e longa durabilidade. É empregada para moirões, lenha e carvão, entre outros usos. A planta é ornamental, melífera e produz frutos que atraem

animais silvestres, podendo ser utilizada em reflorestamento. As flores são axilares, pedúnculo filiforme e tem botões muito pequenos, com 5 mm de comprimento. As pétalas são brancas e obovadas e o ovário é piloso nas paredes internas dos lóculos. Os frutos (Figura 18) são bagas de tamanho e forma variáveis, com 1,4 a 4 cm de comprimento e até 3 cm de diâmetro, com forma obovóide ou piriforme, com cálice, são vilosos, de cor amarela ou alaranjada, com 1 a 4 sementes e polpa comestível, macia, perecível e muito variável quanto a acidez (DONADIO et al., 2002).



Figura 18 - Fruto da uvaieira (*Eugenia pyriformis*).

Seus frutos podem ser consumidos *in natura*, na forma de sucos, geléias e doces em pasta (ANDERSEN; ANDERSEN, 1988). Devido a sua perecibilidade, é preferível retirar a polpa e congelar para uso, conforme a necessidade (DONADIO et al., 2002).

### 1.2.1.3 Recursos genéticos

A flora Brasileira destaca-se pela riqueza de espécies com potencial para uso na agricultura. O Brasil possui cerca de 44.000 a 50.000 espécies de plantas vasculares, o que representa aproximadamente 18% da diversidade vegetal do mundo, considerando a flora mundial com cerca de 257.400 espécies (NASS et al., 2008). No entanto, poucas dessas espécies foram inseridas em sistemas de produção de larga escala e alguns recursos fitogenéticos nativos têm perdido importância de uso ao longo do tempo (FREITAS; MEDEIROS, 2008).

As floras da Amazônia e do Cerrado são verdadeiros pomares com centenas de espécies de frutas. Algumas poucas já foram coletadas e domesticadas, como os maracujazeiros, cajueiros, jaticabeiras, abacaxizeiros e goiabeiras. Algumas espécies estão em processo de domesticação e cultivo, como a cagaita, o pequi, o camu-camu, a castanha-do-pará, o cupuaçu, o abiu e outras. Entretanto, ainda existem muitas espécies nativas que precisam ser coletadas e domesticadas (LORENZI et al., 2006). Com muito menor percentagem de uso que as espécies exóticas, mas com forte importância regional e local, várias espécies nativas têm sido usadas na alimentação humana, algumas espécies de palmeiras e outras fruteiras (NASS et al., 2008).

### 1.2.1.4 Centros de diversidade

As plantas cultivadas originaram-se de ancestrais selvagens em locais hoje conhecidos como "centros de origem" ou "centros de diversidade", que são áreas geográficas específicas. Frequentemente, há uma única área para um determinado

gênero no qual se inclui uma planta cultivada. O número de espécies do gênero diminui, progressivamente, à medida que se aumenta a distância em relação ao centro de diversidade. O conhecimento dos centros de diversidade e os estudos multidisciplinares realizados nesses locais são fundamentais para o entendimento da origem das plantas cultivadas, para o seu melhoramento genético e a conservação de seu germoplasma. Castro et al. (2005) define centro de diversidade como a área biogeográfica onde concentram-se as espécies de fruteiras endêmicas ou não, em comunidades ou populações; mostrando elevado nível de variabilidade inter e infra-específica, essenciais à sua evolução e sobrevivência.

Vale salientar que os conceitos de centros de origem e centros de diversidade não são sempre considerados sinônimos. Alguns autores sugerem que os centros de diversidade nem sempre correspondem aos centros de origem de uma dada espécie, existindo para a definição destes últimos, pelo menos duas exigências mínimas: a presença obrigatória de espécies silvestres naquele local e a existência do registro fóssil de plantas com afinidades morfológicas (GIACOMETTI, 1993).

O autor propôs a existência de dez centros de diversidade de fruteiras nativas no Brasil, os quais indicam as áreas de alta diversidade e que merecem atenção especial, tanto para eventual conservação *in situ* como para coletas de espécies prioritárias, com a finalidade de mantê-las em bancos de germoplasma para avaliação e caracterização com fins de domesticação e uso. Embora ocorram espécies endêmicas em vários desses centros, considerável número ocorre em mais de um deles, distribuindo-se amplamente no território brasileiro, principalmente, àquelas da Amazônia e do cerrado, estimando que cerca de 10% ocorram em mais de um centro. Esses centros são:

1. Alto Noroeste/Rio Negro;
2. Costa Atlântica/Baixo Amazonas;
3. Roraima/Manaus;
4. Oeste da Amazônia/Solimões;

5. Acre/Rondônia;
6. Nordeste, incluindo a Caatinga, as zonas de transição da mata para o agreste e sertão até a Chapada Diamantina - BA;
7. Sul-Sudeste, abrangendo áreas dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Sul de Minas Gerais;
8. Brasil Central/ Cerrado;
9. Mata Atlântica; Setor A: João Pessoa - PB a Maceió – AL; Setor B: do Rio Real, na divisa da Bahia com Sergipe, ao Sul de Vitória, incluindo o vale do Rio Doce em Minas Gerais; Setor C: do Cabo São Tomé, no Estado do Rio de Janeiro, a Tramandaí, no Rio Grande do Sul;
10. Brasil (Mato Grosso e Mato Grosso do Sul) / Paraguai.

O centro Mata atlântica devido à ação antrópica crescente já foi muito devastado, podendo ter sofrido perdas irreparáveis e irreversíveis de várias frutíferas nativas e naturalizadas com algum potencial econômico, melhoramento genético e domesticação de espécies frutíferas. O aproveitamento da variabilidade genética dessas espécies tem sido modesto em relação a seu valor estratégico para o desenvolvimento de novos produtos nacionais. O risco de perda de populações naturais de fruteiras é muito grande, sendo muito importante sua conservação e uso econômico (CASTRO et al., 2005).

Os esforços para assegurar a conservação da biodiversidade e, conseqüentemente, dos recursos genéticos ainda são insuficientes, principalmente, nos trópicos, que detém cerca de dois terços do total de espécies e 95 % da biodiversidade da terra. O Brasil, com sua megadiversidade, é um exemplo desta realidade, pois devido à sua grande expansão populacional, a devastação dos habitats naturais está ocorrendo quase na mesma velocidade do resto do mundo (VIEIRA NETO, 2002).

#### 1.2.1.5 Qualidade e potencial de utilização

Existe uma vasta gama de frutas – nativas e exóticas – que se convencionou chamar de “potenciais”. Elas ocupam mais ou menos o mesmo espaço, outrora reservado às espécies já reconhecidas e produzidas comercialmente a nível nacional, como: acerola, mamão e maracujá. Dentre as nativas com potencial, podem ser citadas: jaboticaba, bacuri, cupuaçu, mangaba, abiu, pitanga, cajá, araçá, feijoa, camu-camu, umbu, açaí, baru e araticum e entre as exóticas aqui naturalizadas estão: lichia, mangostão, carambola, sapoti, fruta-do-conde, atemóia, graviola e as amoras (LORENZI et al., 2006).

A biodiversidade brasileira vem sendo ameaçada na maioria dos ecossistemas (GIACOMETTI, 1993; VIEIRA, 1996). Além disso, estudos envolvendo o aproveitamento econômico de fruteiras não tradicionais (nativas e exóticas), de reconhecidos méritos, têm sido postergados em benefício de espécies tradicionais de mercado garantido, embora seja reconhecido que a oferta de novas alternativas de frutas frescas e/ou processadas somente terá chance de ser bem sucedida se houver suporte tecnológico (LEON, 1987; GIACOMETTI, 1990).

Estas frutas podem ser aproveitadas não somente em seu estado natural, mas também no preparo de sucos, sorvetes, pastas, compotas, geléias, conservas, doces cristalizados, licores, vinhos, etc. Muitas ainda possuem um potencial fantástico para utilização como fonte de vitaminas, na extração de substâncias úteis a diferentes indústrias, dentre outros. Algumas espécies nativas já possuem cultivares melhoradas como, por exemplo: caju, açaí, maracujá, etc. Juntamente com espécies exóticas mais tradicionais como: uva, banana, maçã, manga, abacate, dentre outras, desempenhando destacado papel econômico na agricultura nacional (LORENZI et al., 2006).

Se o conhecimento do tamanho da diversidade ainda é exíguo, o potencial do seu uso pode ser considerado quase que totalmente ignorado. Portanto, as espécies

frutíferas nativas constituem uma preciosa fonte de riqueza e de alimentos para o país, as quais precisam ser adequadamente preservadas, estudadas e utilizadas (MARCELINO, 2003).

Os aspectos de qualidade são, naturalmente, os mais importantes para determinar aceitabilidade das frutas comercialmente. Uma questão de grande importância que influi no êxito comercial é mostrar aos consumidores as características de qualidade dos frutos para o consumo (cor, textura, sabor, aroma, etc.), a forma de consumi-la (in natura, minimamente processada, etc.) e a qualidade nutricional de sua composição (DUCH, 2001).

A preferência do mercado interno por novas frutas, tanto de clima temperado aclimatadas, que exercem forte pressão de mercado, quanto por aquelas tropicais e subtropicais já adaptadas, tem inibido o desenvolvimento de espécies alternativas de reconhecidos méritos, como: mangaba, arará, bacuri, cupuaçú, dentre outras (GIACOMETTI, 1993).

Uma das principais preocupações dos fruticultores da região Nordeste do Brasil é a agregação de valor às fruteiras extrativistas, que atraem cada vez mais devido ao aumento no seu potencial de mercado tendo em vista a busca pela diversificação da oferta (CRISÓSTOMO, 1997).

A qualidade dos frutos é atribuída ao seu tamanho, forma e cor da casca, cujos fatores associados à composição físico-química da polpa, oferecem aos frutos e aos produtos deles obtidos a qualidade organoléptica e nutricional, responsáveis pela aceitação definitiva desses no mercado (SCALON et al., 2004).

As frutas são consideradas produtos perecíveis porque apresentam atividade metabólica elevada, notadamente após a colheita, conduzindo aos processos de deterioração. A manutenção de sua qualidade através de manuseio cuidadoso e da aplicação de tecnologias adequadas na cadeia de comercialização depende do conhecimento da estrutura, da fisiologia e das transformações metabólicas (aspectos físicos, físico-químicos, químicos e bioquímicos) que ocorrem no ciclo vital

(CHITARRA; CHITARRA, 2005). Dentre os aspectos físico-químicos, a acidez total titulável (ATT) e o pH são os principais métodos usados para medir a acidez de frutos e hortaliças. O pH mede a quantidade de íons hidrogênio no suco, enquanto a ATT mede a porcentagem de ácidos orgânicos que variam com a espécie. Bleinroth (1981) cita que os ácidos orgânicos mais encontrados em frutos são: o málico, o cítrico, o tartárico, o oxálico e o succínico, e que, em cada espécie há a predominância de um desses ácidos. A relação SST/ATT ou balanço açúcares/ácidos indicam o grau de doçura de um determinado material, sendo um dos índices mais utilizados para avaliar a maturação de frutos e, conseqüentemente, o sabor dos mesmos (RUFINO, 2004).

A vitamina C, por exemplo, pode sofrer uma grande variação nas diferentes espécies de frutas, como também entre frutos de uma mesma espécie, cujos fatores como as condições de solo, clima, fotoperíodo, regime pluvial, grau de maturação, etc., podem influir na composição vitamínica dos alimentos (FONSECA et al., 1969).

As pectinas encontram-se nos frutos em diferentes formas, caracterizadas por graus de solubilidade variáveis, dependendo do estágio evolutivo do fruto e cada uma delas com possíveis funções nas modificações da firmeza, sendo importantes na matéria-prima destinada à indústria, principalmente, para elaboração de geléias, pois constituem um dos componentes básicos e fundamentais, responsáveis por conferir ao produto aspecto agradável e palatabilidade (EVANGELISTA, 1994).

A coloração dos frutos é atribuída aos pigmentos antocianinas, clorofilas e carotenóides. O primeiro, encontrado em vacúolos de células parenquimatosas e os demais compartimentalizados em plastídeos. As antocianinas são compostos instáveis e sofrem descoloração por ação de sistemas enzimáticos, sendo também degradadas pelo oxigênio. A variação na cor entre frutas, do azul ao vermelho, é muito apreciada nos produtos destinados ao consumo *in natura* e devido às diferenças nas quantidades desses pigmentos ocultando, por exemplo, a clorofila e os carotenóides (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Existem poucas informações sobre a composição química de algumas espécies frutíferas nativas e exóticas. Não foram encontradas nas referências consultadas, informações sobre características de qualidade para as seguintes frutas: carnaúba, gurguri, juçara, murta e puçá-preto. No entanto, para as demais frutas já existem trabalhos voltados para avaliação da qualidade e aproveitamento industrial das mesmas.

De acordo com levantamentos bibliográficos, as demais frutas apresentaram em seus resultados uma grande variação com respeito às seguintes características: sólidos solúveis e açúcares solúveis totais para as seguintes frutas: açaí: 4,8 - 8,85° Brix e 0,5 - 1,84%; acerola: 4,68 - 11,70° Brix e 1,37 - 6,84%; bacuri: 12,19 - 18° Brix e 8,57 - 11,27%; cajá: 7,67 - 14,47° Brix e 3,54 - 9,15 %; caju: 10,47 - 12,90° Brix e 6,36 a 10,31%; jaboticaba: 14,36 ° Brix e 4,83%; jambolão: 9° Brix e 10,07%; mangaba: 17,23° Brix e 12,98 a 16,08%; murici: 5 - 17,25° Brix e 7,29%; puçá-coroa-de-frade: 25,72° Brix e 18,23%; umbu: 7 - 10° Brix e 7,95% e uvaia: 6,2 - 7,5° Brix. Acidez total titulável e pH encontrados foram respectivamente: açaí: 0,17 a 0,37% e 4,25 a 5,5; acerola: 0,53 a 1,52% e 2,4 a 4,0; bacuri: 0,32 a 1,46% e 3 a 3,5; cajá: 1,67% e 2,5; caju: 0,14 a 0,32% e 4,0; jaboticaba: 1,37% e 3,5; jambolão: 5,91% e 3,9; mangaba: 1,77% e 2,99 a 3,46; murici: 0,94 a 2,25 e 3,48; puçá-coroa-de-frade: 0,43% e 4,53; umbu: 1,01 a 2,72% e 2,08 a 2,27 e uvaia: 1,53 a 3,98 e 2,8. Relação sólidos solúveis/acidez total titulável foram: açaí: 37,75; acerola: 4,32 a 11,45; bacuri: 10,97 a 56,83; cajá: 9,0 a 11,0; caju: 37,6 a 74,3; jaboticaba: 10,48; jambolão: 1,52; mangaba: 9,85; murici: 8,46; puçá-coroa-de-frade: 63,45; umbu: 2,65 a 10,09 e uvaia: 4,9 e por fim os resultados de amido e pectina total foram: açaí: 7,57 a 9,30 e 0,67 a 0,94%; bacuri: 0,3 a 1,32% (pectina); cajá: 0,9 a 2,5% (amido); mangaba: 0,52% (amido) e 0,31 a 0,54% (pectina); murici: 4,16% (amido) e 0,94% (pectina); puçá-coroa-de-frade: 2,57% (amido) e 0,65 (pectina) e umbu: 0,52 a 1,92 (amido) e 0,38% (pectina) (BASTOS et al., 1999; FILGUEIRAS et al., 2000; FREIRE et al., 2000; NAZARÉ et al., 2000; TEIXEIRA, 2000; BUENO et al., 2002; MOURA et al., 2002; PEREIRA et al., 2002; BEZERRA, 2003; MATTIETTO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2003;

ALEXANDRE et al., 2004; BRUNINI et al., 2004; COSTA et al., 2004; MENDONÇA, 2004; SOUZA, 2004; LAGO et al., 2006; ABREU, 2007; MOURA et al., 2007; SATO; CUNHA, 2007; SILVEIRA, 2007; SOUZA, 2007; AGUIAR, 2008; LOURENÇO, 2008; SILVA, 2008; SCALON et al., 2008)

### **1.2.2 Propriedades antioxidantes**

A busca de novos produtos com propriedades antioxidantes oriundas de fontes naturais torna-se cada vez mais crescente. O conhecimento de substâncias com atividade antioxidante presentes nos alimentos, das quais muitas ainda não foram suficientemente estudadas, destaca-se tanto pela possibilidade de ter aproveitamento como alimentos funcionais quanto pelo fornecimento de compostos que se enquadram como nutracêuticos (ANDRADE-WARTHA, 2007).

Lajolo (2005) relata que alimentos funcionais, com alegações de funcionais ou de saúde, podem ser descritos como alimentos semelhantes em aparência aos alimentos convencionais, consumidos como parte da dieta usual, capazes de produzir demonstrados efeitos metabólicos ou fisiológicos, úteis na manutenção de uma boa saúde física e mental, podendo auxiliar na redução do risco de doenças crônico-degenerativas, além de suas funções nutricionais básicas. Complementando a definição, o autor salienta ainda que se possa falar em “ingrediente funcional”, como o composto responsável pela ação biológica contida no alimento. Para estes ingredientes ativos, os termos mais adequados são: fitoquímicos, compostos bioativos ou nutracêuticos.

### 1.2.2.1. Radicais livres

A produção de radicais livres, moléculas ou fragmentos de moléculas que possuem elétrons livres ocorrem, constantemente, pelos processos metabólicos normais do organismo humano (MELO; GUERRA, 2002). Nas moléculas, os elétrons são instáveis e, por conseguinte, tornam-se bastante reativos (CHEESEMAN; SLATER, 1996). Sendo assim, estes radicais, gerados *in vivo*, podem reagir com o DNA, RNA, proteínas, lipídios e outros elementos oxidáveis, propiciando danos que poderão contribuir para o envelhecimento e o aumento do risco de doenças crônicas não transmissíveis, como câncer, aterosclerose, artrite reumática, entre outras e para os processos inflamatórios (NAKIMI, 1990; HALLIWELL, 1996; JACOB; BURRI, 1996).

O conceito de radical livre discutido na literatura clínica e nutricional é qualquer espécie capaz de existir independente e que possui em um de seus orbitais atômicos ou moleculares um ou mais elétrons desemparelhados (HALLIWELL, 1996). Este desequilíbrio do elétron faz dos radicais livres espécies bastante instáveis e altamente reativas, capazes de oxidar lipídios, proteínas, DNA e carboidratos. Em geral, estes eventos causam ruptura nas membranas celulares, proporcionando a liberação de conteúdos celulares e apoptose (HU et al., 2004).

No organismo, estes radicais livres podem ter origem endógena e exógena. As fontes endógenas segundo González et al. (2001) podem ser várias, tais como:

1. A cadeia respiratória cuja redução monovalente de uma molécula de oxigênio dá lugar a distintas espécies radicais;
2. As células fagocitárias (monócitos, neutrófilos e macrófagos) que utilizam o sistema de Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo-P (NADPH) oxidase, gerando diretamente um íon superóxido ( $O_2^-$ ). Por outro lado, estas células também sintetizam óxido de nitrogênio como mecanismo de defesa,

composto que reage com o íon superóxido para gerar peroxinitrito, capaz de induzir a peroxidação lipídica em lipoproteínas;

3. A autooxidação de compostos de carbono reduzidos, como aminoácidos, proteínas, lipídios, glucídios e ácidos nucleicos.
4. A ativação catalítica de diversas enzimas do metabolismo intermediário como a hipoxantina e xantina oxidase, aldeído oxidase, monoaminoxidase, ciclooxigenase ou lipoxigenase.

As fontes exógenas de radicais livres podem ser a exposição a certas radiações (eletromagnéticas, luz solar, ozônio), componentes dos cigarros, certos aditivos alimentícios etc (PÉREZ-JIMÉNEZ, 2007).

Além dos radicais livres no organismo, existem outras espécies reativas de oxigênio (*Reactive oxygen species* - ROS). Estima-se que de 1 a 3 % do oxigênio que se consome é parcialmente reduzido, formando componentes intermediários reativos, tais como: o íon superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), o radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ), o alcóxila ( $RO^{\cdot}$ ) e o oxigênio singlete. Existem também espécies reativas com nitrogênio (N), como: o peroxinitrito ( $ONOO^{\cdot}$ ), formado pela reação entre o óxido nítrico e o superóxido ou dióxido de nitrogênio ( $NO_2$ ) e com cloro (Cl), como o triclorometil ( $CCl_3^{\cdot}$ ) (SÁNCHEZ-MORENO, 2002; PRIOR et al., 2005).

A reatividade de um radical livre pode ser estimada a partir da energia de dissociação necessária para seqüestrar um átomo de hidrogênio da cadeia carbonada. Isto faz com que, por exemplo, o radical hidroxila seja mais reativo que o peróxila e que possa atacar qualquer átomo de hidrogênio de uma molécula lipídica, enquanto que o radical peróxila só ataca átomos de hidrogênio de dupla ligação. Por esta razão, os ácidos graxos polinsaturados são mais sensíveis a oxidação que os monoinsaturados e por sua vez, os saturados (PÉREZ-JIMÉNEZ, 2007).

Os radicais livres estão intimamente relacionados com a saúde, já que os compostos gerados neste processo de oxidação de biomoléculas se relacionam com uma grande quantidade de enfermidades, fundamentalmente processos degenerativos

como a enfermidade cardiovascular, certos tipos de câncer (devido às mutações que ocorrem no DNA, favorecendo a proliferação celular ao alterar fatores de transcrição), patologias associadas a uma deterioração do sistema cognitivo, como o Alzheimer etc. (HALLIWELL, 1996; DE LA FUENTE, 2002; STANNER et al., 2004).

#### 1.2.2.2 Antioxidantes

Um conceito clássico de antioxidante é o que o define como uma substância que, quando se encontra em baixas concentrações comparadas com as do substrato oxidável, previne ou retarda que um pro-oxidante oxide o substrato (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). O interesse por estes compostos fez com que entre os anos de 1993 a 2003, o número de publicações sobre antioxidantes e estresse oxidativo tenha passado de 1684 para 6510 (HUANG et al., 2005).

##### *1.2.2.2.1 Enzimas Antioxidantes*

O mecanismo de defesa antioxidante do organismo humano consiste em antioxidantes endógenos e exógenos, e exercem a função de proteção das membranas celulares, lipoproteínas e DNA contra os efeitos prejudiciais dos radicais livres e ROS (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). Os antioxidantes endógenos além do ácido úrico, metaloproteínas entre outros, envolvem também a participação de enzimas antioxidantes. Já os exógenos, incluem nutrientes e não nutrientes que são provenientes ou não da dieta.

No organismo, existem antioxidantes endógenos que evitam as reações em cadeia que geram os radicais livres, os quais podem ser classificados nas seguintes categorias, segundo Aruoma, 1999 e Aruoma, 2003:

1. Sistemas enzimáticos capazes de inibir aos ROS. Superóxido dismutase (SOD) é uma proteína multimérica pertencente ao grupo das metaloenzimas que protege as células dos radicais superóxidos, eliminando o ânion superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) mediante sua conversão a peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Três tipos distintos de SODs com base no íon metálico em seu sítio ativo têm sido encontrados, como a cobre e zinco (Cu/ZnSOD), a manganês (MnSOD) e o ferro (FeSOD);
2. Enzimas capazes de degradar certos compostos intermediários da oxidação que não são radicais:
  - Catalases presentes no peroxissoma (organela presente no citoplasma da célula vegetal), que transformam o peróxido de hidrogênio em  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{O}_2$ ;
  - Glutathione peroxidase (GSHPx), que requer selênio em seu centro ativo e que elimina o peróxido de hidrogênio e outros hidroperóxidos, transformando em glutathione redutase;
  - Glutathione redutase, que reduz a glutathione dissulfeto (GSSG), tendo NADPH como agente redutor para a forma sulfidril (GSH) que é um importante antioxidante celular.

Os antioxidantes podem agir retardando ou prevenindo a oxidação do substrato envolvido nos processos oxidativos (HALLIWELL et al., 1995), embora, não possam reverter o processo oxidativo e nem evitar a rancidez hidrolítica (RAJALAKSHMI; NARASIMHAN, 1995). Durante a oxidação lipídica, os antioxidantes podem agir de várias maneiras: ligando-se a íons metálicos, fazendo a varredura de radicais e/ou decompondo peróxidos e doando prótons  $\text{H}^+$  (MOURE et al., 2001). Frequentemente, mais de um mecanismo ocorre de forma simultânea no processo de inibição da

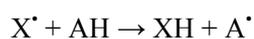
oxidação, podendo assim promover o sinergismo. Como citado por Sant'ana e Mancini-Filho (1995), a remoção do oxigênio é o primeiro mecanismo de proteção à oxidação. A inativação de enzimas, proteção contra luz e a remoção de íons metálicos são de suma importância, mas estas medidas nem sempre são aplicadas em processos tecnológicos. Todavia, o bloqueio das reações oxidativas pode ocorrer pela adição de antioxidantes, podendo ser considerada a mais adequada na indústria alimentícia.

Ênfase tem sido dada à identificação e purificação de novos compostos com atividade antioxidante, oriundos de fontes naturais, que possam agir sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como uma forma de prevenir a deterioração oxidativa dos alimentos e restringir a utilização dos antioxidantes sintéticos (ANDRADE-WARTHA, 2007).

#### 1.2.2.2.2 Mecanismos de ação antioxidante

Existe uma grande quantidade de mecanismos através dos quais os antioxidantes em alimentos podem exercer sua ação. Dentre os compostos que reagem diretamente com os radicais livres podem ser citados os polifenóis, que detêm o processo em cadeia da oxidação lipídica, também conhecido por *chain-breaking*. Esta reação pode ser realizada por duas vias possíveis: reações de transferência de um átomo de H (*Hydrogen Atom Transfer*, HAT) ou de transferência de um elétron (*Single Electron Transfer*, SET). O conhecimento destas duas reações é muito importante para a seleção dos métodos para medir a atividade antioxidante (PRIOR et al., 2005).

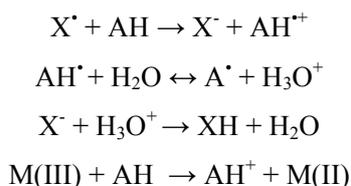
Nas reações transferência de um átomo de hidrogênio ocorrem desta forma:



onde:  $X^{\bullet}$  é o radical livre e AH o antioxidante.

Nesta reação o novo radical formado é mais estável que o inicial.

Nas reações de transferência de um elétron, ao contrário da anterior, o antioxidante transfere um elétron para reduzir o composto, incluindo metais, carbonilas e radicais, como abaixo:



onde:  $X^{\bullet}$  é o radical livre e AH o antioxidante.

Em princípio, estas reações dependem muito mais do solvente do que a HAT.

As reações HAT são determinadas pela entalpia de dissociação (calor que precisa fornecer para cortar, à pressão constante, as ligações químicas e separar os átomos) de modo que um composto que a possui em níveis baixos facilitaria a separação do átomo de H. Foram observados que alguns aspectos estruturais como a presença de um grupo hidroxilo (orto) ou a possível formação de ligações intermoleculares podem contribuir para a redução da entalpia de dissociação, facilitando a formação de um radical estável. Ao contrário, as reações SET dependem do potencial de ionização (SIQUET et al., 2006).

### 1.2.2.3 Agentes antioxidantes

Os vegetais, em particular as frutas, contêm substâncias antioxidantes distintas, cujas atividades têm sido bem comprovadas nos últimos anos. A presença de compostos fenólicos, tais como flavonóides, ácidos fenólicos e antiocianinas, além das já conhecidas vitaminas C, E e carotenóides, contribuem para os efeitos benéficos destes alimentos (GORINSTEIN et al., 1999; GORINSTEIN et al., 2000;

KÄHKÖNEN et al., 2001; SILVA et al., 2004; AJAIKUMAR et al., 2005). Estes compostos podem atuar como antioxidantes primários, reagindo diretamente com os radicais livres - dando lugar a um novo radical menos reativo que o radical livre original – ou como antioxidantes secundários potencializando outros sistemas antioxidantes, como certas enzimas (PÉREZ-JIMÉNEZ, 2007).

Inúmeros trabalhos têm demonstrado a existência de correlação entre o consumo de uma dieta rica em alimentos de origem vegetal com um menor risco de desenvolver certas doenças, como as cardiovasculares, processos degenerativos relacionados com a idade como: Alzheimer, processos inflamatórios, certos tipos de câncer, etc. (HALLIWELL, 1996; DE LA FUENTE, 2002; STANNER, 2004).

#### *1.2.2.3.1 Polifenóis*

Os polifenóis são compostos do metabolismo secundário das plantas que desempenham nestas várias funções, tais como proteger do ataque de patógenos ou herbívoros ou na pigmentação que ajuda a atrair os polinizadores. Possuem estruturas com anéis aromáticos e duplas ligações conjugadas a partir dos quais exercem sua ação antioxidante. Podem aparecer em formas conjugadas, com um ou mais resíduos de açúcares unidos ao grupo hidroxila ou diretamente ao anel aromático, ainda que também se possa associar a outros compostos (PÉREZ-JIMÉNEZ, 2007).

Scalbert et al. (2005) relatam que os polifenóis constituem os antioxidantes mais abundantes na dieta e estão amplamente distribuídos em frutas, cereais, hortaliças *in natura*, chocolate e bebidas, tais como chá, café ou vinho. Vale ressaltar que o chá é uma fonte importante de ácido gálico e a ingestão pela dieta é de aproximadamente 1 g/dia, sendo bem maior do que todos os outros antioxidantes dietéticos já conhecidos,

cerca de 10 vezes mais elevada do que a vitamina C, e 100 vezes maior do que a vitamina E e carotenóides (SCALBERT e WILLIAMSON, 2000).

Os polifenóis podem ser classificados em dois grupos: extraíveis e não extraíveis. Os extraíveis são compostos de baixo ou médio peso molecular que podem ser extraídos empregando diferentes solventes aquosos e aquoso-orgânicos. Os não extraíveis são compostos de elevado peso molecular ou polifenóis unidos a fibra dietética ou a proteínas que podem ser encontrados nos resíduos das extrações (BRAVO et al., 1993; BRAVO et al., 1994).

Os polifenóis extraíveis podem ser classificados em função de sua estrutura química em: ácidos fenólicos, estruturas simples que podem aparecer livres, como os ácidos caféico, ferúlico, p-cumárico e sinápico, ou esterificados, como os ácidos clorogênico, isoclorogênico, neoclorogênico e criptoclorogênico; e flavonóides, estruturas muito mais complexas e que por sua vez se subdividem em flavonas (crisina, rutina), flavonóis (quercetina e miricetina), flavanóis ou catequinas (epicatequina, galato de epicatequina, epigalocatequina, galato de epigalocatequina), flavanonas (hesperidina, naringenina), antocianinas (delfinidina, malvidina, cianidina), taninos condensados (com um número baixo de monômeros) etc (PÉREZ-JIMÉNEZ, 2007).

Os flavonóides formam-se a partir de fenilalanina, tirosina e grupos acetato. A Figura 19 mostra a estrutura geral de um flavonóide unido por três anéis.

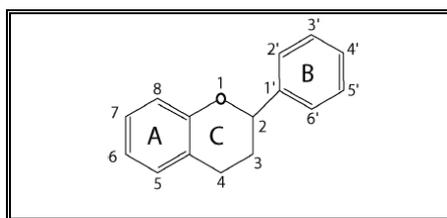


Figura 19. Estrutura geral de um flavonóide. Fonte: Heim et al. (2002)

Os grupos de flavonóides mais abrangentes são as flavonas e os flavanóis. Os flavanóis formam o O-glicosídeo, mas as flavonas podem formar O-glicosídeos e C-

glicosídeos, que não podem se romper por hidrólise ácida, diferentemente dos O-glicosídeos. O mesmo ocorre com as flavanonas (BRAVO, 1998).

Os polifenóis não extraíveis incluem os taninos hidrolizáveis e condensados com um elevado número de unidades na cadeia polimérica. Os taninos hidrolizáveis são estruturas poliméricas que podem ser derivados do ácido gálico ou de produtos oriundos da condensação como o ácido hexahidroxiidifênico (PÉREZ-JIMÉNEZ, 2007).

Os taninos condensados ou proantocianidinas são estruturas poliméricas, formadas pela união de um flavan-3-ol. Existem 15 classes, porém, somente três são de real importância para a alimentação, são elas: procianidinas, prodelfinidinas e propelargonidinas (menos frequentes nos alimentos). Dentre estas o maior destaque é dado a procianidina considerada a mais relevante à dieta humana sendo formada por monômeros de +(-)catequina e (-)epicatequina. Estes monômeros são agrupados por ligações carbono-carbono. A condensação oxidativa ocorre entre o C4 do heterociclo e C6 ou C8 das unidades adjacentes. As proantocianidinas são flavonóis poliméricos que se apresentam em misturas complexas de polímeros podendo se arranjar de dímeros até grandes polímeros, com uma média de polimerização entre 4 e 11. São encontradas em ampla variedade de alimentos, sendo responsáveis pela adstringência em vinhos tintos e chocolates (PETERSON; DWYER, 1998; SCALBERT; WILLIAMSON, 2000; HEIM et al., 2002; BECHER, 2003; DELL'AGLI et al., 2004).

Quanto ao modo de ação dos polifenóis, os grupos OH do anel B podem doar um hidrogênio e um elétron aos radicais hidroxila, peroxila e peroxinitrito, estabilizando-os e transformando o flavonóide em uma molécula radical relativamente estável. Também são capazes de quelar metais, formando complexos que ainda assim mantêm a atividade antioxidante. Isto seria um efeito adverso em pessoas com deficiências crônicas de alguns metais (HEIM et al., 2002).

Por fim, alguns polifenóis, além de sua própria ação antioxidante, podem potencializar as atividades de enzimas antioxidantes como a genisteína, uma isoflavona

que potencializa a catalase, a glutathione peroxidase, a glutathione reductase e a SOD (METIN DONMA; DONMA, 2005).

A estrutura dos polifenóis determina sua atividade antioxidante, fator este que fez com que fosse publicado um grande número de trabalhos estudando esse aspecto (RICE-EVANS et al., 1996; VILLANO et al, 2005; SIQUET et al., 2006).

No que se refere aos taninos condensados, não existem resultados concretos sobre o efeito que possam ter o número de monômeros da cadeia sobre a atividade antioxidante do composto (SANTOS-BUELGA; SCALBERT, 2000).

Deve-se considerar que, estruturas polifenólicas que apresentam uma elevada atividade antioxidante *in vitro*, não necessariamente terão esta mesma atividade *in vivo*. Assim que, um estudo recente mostrou que certos polifenóis metilados, que *in vitro* apresentam uma atividade antioxidante muito inferior ao de suas formas não metiladas, mostraram depois uma elevada atividade na proteção de cultura de células da toxicidade induzida pelo peróxido de hidrogênio (DENG et al., 2006). O mesmo ocorre com os compostos fenólicos mais abundantes nos alimentos que não necessariamente são os mais absorvidos. A exemplo destaca-se o ácido gálico que, em geral, apresenta concentrações muito mais baixas que outros polifenóis e, no entanto, é um dos que possuem as maiores taxas de absorção.

No que se refere ao restante dos compostos fenólicos, em geral, não absorvidos, vale ressaltar que os mesmos possuem um efeito em nível do trato gastrointestinal. Isto é importante dado que o trato gastrointestinal está continuamente exposto a ação dos radicais livres. Por exemplo, no estômago são produzidas misturas de ácido ascórbico e ferro dando lugar a uma combinação pro-oxidante, aparecem peróxidos lipídicos, aldeídos citotóxicos e isoprostanos da dieta e no intestino são ativadas as células imunes devido à toxina dos alimentos (VALLS BELLÉS et al., 2005).

É necessário salientar ainda que muitos polifenóis com estruturas oligo ou poliméricas, que durante muito tempo haviam sido considerados não disponíveis no

intestino delgado, têm mostrado certas taxas de absorção em diversos estudos. Ainda que os oligômeros de procianidinas não possam ser absorvidos como tais, os sucos gástricos os decompõe em monômeros de epicatequina e unidades dímeras e oligoméricas que neste caso podem ser absorvidas (SPENCER et al., 2000). Em testes de digestão in vitro observou-se um pequeno percentual dos taninos condensados que podem ser hidrolizados pelas enzimas do trato gastrointestinal, dos que por sua vez em torno da metade poderiam ser absorvidos no intestino delgado (SERRANO, 2005).

Apesar das vastas pesquisas no campo dos antioxidantes provenientes de fontes naturais, em particular, demonstrando o potencial antioxidante dos compostos fenólicos e seus efeitos biológicos, pouco se sabe a respeito da absorção destes no organismo. Os estudos de absorção de alguns destes ácidos fenólicos têm sido realizado tanto de forma direta como indireta. Evidências indiretas da absorção destes compostos que ultrapassam a barreira do intestino são observadas pelo aumento da atividade antioxidante do plasma após o consumo de alimentos ricos em polifenóis. De outra maneira, a biodisponibilidade obtida diretamente compreende a mensuração das concentrações de compostos fenólicos puros ou provenientes de alimentos (com o conteúdo já conhecido dos compostos em questão) no plasma e na urina. A estrutura química irá determinar a proporção e extensão de absorção e a natureza dos metabólitos circulantes no plasma (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000).

#### *1.2.2.3.2 Carotenóides*

Os carotenóides formam um dos grupos de pigmentos naturais mais abundantes na natureza. São, em geral, responsáveis pelas colorações que vai desde o amarelo ao laranja, na forma de carotenos ou como ésteres de xantofilas, cuja intensidade de

coloração depende da quantidade e tipo de pigmento presente (MATTOO et al., 1975; WILLS et al., 1982; CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Atualmente, são conhecidos, aproximadamente, 600 tipos de carotenóides que são utilizados como aditivos (corantes) alimentares. No entanto, apenas 19 deles foram detectados em diferentes tecidos humanos (EL-AGAMEY et al., 2004). É na nutrição que os carotenóides ganham a maior importância. A Figura 20 apresenta as estruturas químicas de alguns carotenóides.

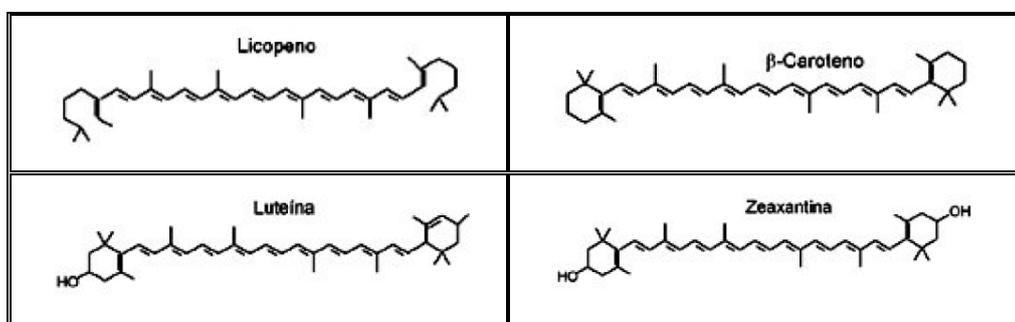


Figura 20. Estruturas químicas de alguns carotenóides. Fonte: Andrade-Wartha, 2007

Os carotenóides podem capturar radicais peroxil mediante transferência de elétrons ou seqüestro de átomos de hidrogênio, mecanismos estes que levam a formação de uma grande variedade de radicais carotenóides. De fato, em função da posição que ocupa o carotenóide na membrana lipídica, estando orientado para a fase aquosa ou para a orgânica, na reação de um mesmo carotenóide com um mesmo radical livre, se pode gerar diferentes produtos (EL-AGAMEY et al., 2004). Por outro lado, os carotenóides podem capturar o oxigênio singlete, algo que os polifenóis não podem fazer. Sua capacidade de captura dependerá do número de duplas ligações presentes na cadeia carbonada. Podem apresentar efeitos sinérgicos com outros antioxidantes como a vitamina E ou C (STAHL; SIES, 2005).

Sua absorção é paralela a dos lipídeos, sofrendo um processo de emulsificação e incorporação em micelas que, por difusão passiva, entram nos enterócitos. Desde aí,

são transportados aos tecidos, onde se incorporam nos quilomicrons e são transportados à circulação via sistema linfático. Sua absorção é maior quando se encontram em frutos de cor alaranjados. A importância desses compostos na saúde humana tem sido reconhecido pela ciência e levado inúmeros pesquisadores a realizarem estudos, buscando determinar as concentrações desses pigmentos nos alimentos mais consumidos (DE PEE et al., 1998; VALLS BELLÉS et al., 2005).

O clima tropical brasileiro favorece a ocorrência de uma grande variedade de frutas ricas em carotenóides tais como a manga com 1,91 a 2,63 mg/100g (RIBEIRO, 2006), a goiaba vermelha (6,21 mg/100g), a pitanga (1,64 mg/100g), e o mamão (0,85 mg/100g). Os frutos de palmeiras são fontes potenciais de carotenóides pró-vitamina A, como por exemplo, o açaí que apresenta 3,88 a 6,23 mg/100g (SOUZA, 2007) e em especial, o buriti, que apresenta 48,88 mg/100g possuindo a maior concentração entre as fontes já analisadas no Brasil (GODOY; RODRIGUEZ-AMAYA, 1998).

#### *1.2.2.3.3 Vitaminas*

O termo vitaminas agrupa os compostos orgânicos que são essenciais em pequenas quantidades para uma série de funções no organismo humano. São convenientemente, classificados de acordo com suas solubilidades, dentro de dois grupos: vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis. As lipossolúveis são representadas pelas vitaminas A, D, E, K; as hidrossolúveis são representadas pela vitamina C; e as vitaminas do grupo B: B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (niacina), B5 (ácido pantotênico), B6 (piridoxina), B7 (biotina), B9 (folacina) e B12 (cianocobalamina) (PELÚZIO; OLIVEIRA, 2006).

Ao consultar tabelas de composição vitamínica de alimentos procedentes de todas as partes do mundo, verifica-se que para uma mesma fruta ou hortaliça há uma

enorme variação quanto ao teor das vitaminas (FALADE, 1981). Isto quer dizer que, as condições de solo, clima, fotoperiodismo, regime pluvial, grau de maturação, etc., influem na composição vitamínica dos alimentos (FONSECA et al., 1969).

O termo genérico “vitamina A” refere-se aos retinóides (retinol e seus derivados metabólicos e derivados sintéticos) e aos carotenóides com atividade pró-vitamínica, ou seja, precursores do retinol, a forma ativa da vitamina que é essencial para a visão, proliferação e diferenciação celular e integridade do sistema imune. Os alimentos fornecem vitamina A sob duas formas: vitamina A pré-formada (ésteres de retinol) nos alimentos de origem animal e carotenóides pró-vitamina A, oriundos de alimentos de origem vegetal. Sofrem ação de enzimas digestivas e são emulsificadas pela bile para posterior absorção pelo enterócito. Cerca de 40-50% da vitamina A absorvida é armazenada no fígado, sendo esse responsável por 90% da reserva corporal do nutriente sob a forma de ésteres retinólicos, sendo excretada 20% pelas fezes, 17% pela urina e 3% pela transpiração (PELÚZIO e OLIVEIRA, 2006).

A vitamina A é descrita como uma família de compostos lipossolúveis e apresenta-se como óleo de cor amarelada ou em sólido cristalino que é a forma mais estável da vitamina (PENTEADO, 2003). É sensível a oxidação na presença de luz, calor e meio ácido, se convertendo a um aldeído (retinal ou retinaldeído) e, posteriormente, a ácido carboxílico (ácido retinóico). Existem alimentos de origem vegetal onde foram determinados carotenóides, que apresentaram atividades de pró-vitamina A, convertidos a retinol pelo organismo.

A mais conhecida função da vitamina A está relacionada à prevenção da cegueira noturna e melhoramento da acuidade visual. Sabe-se que o estresse oxidativo, desbalanço entre a produção de espécies reativas e as defesas antioxidantes do organismo estão envolvidos no desenvolvimento do Diabetes tipo 1 e progressão do diabetes mellitus tipo 2 (GIUGLIANO et al., 1995; RUHE et al., 2001). Os carotenóides podem estar reduzidos em indivíduos diabéticos, pois fazem parte da

defesa antioxidante, principalmente, no estresse oxidativo provocado pela intolerância a glicose (COYNE et al., 2005).

O ácido ascórbico é um material branco, hidrossolúvel e cristalino, sendo facilmente oxidado pelo calor. A oxidação pode ser acelerada pela presença de cobre e pelo pH alcalino considerada então a mais instável das vitaminas. Atua no metabolismo dos aminoácidos de fenilalanina e tirosina e neste último, foi demonstrado que o ácido ascórbico tem um papel na biossíntese de tirosina hidroxilase (PELÚZIO; OLIVEIRA, 2006).

A vitamina C ou ácido ascórbico atua na fase aquosa como um excelente antioxidante sobre os radicais livres, mas não é capaz de agir nos compartimentos lipofílicos inibindo a peroxidação dos lipídeos. Por outro lado, estudos in vitro mostram que essa vitamina na presença de metais de transição como o ferro, pode atuar como uma molécula pró-oxidante e gerar os radicais  $H_2O_2$  e  $OH^\cdot$ , cujos metais, geralmente, estão disponíveis em quantidades muito limitadas (ODIN, 1997).

A vitamina C não é sintetizada pelo organismo humano, sendo indispensável a sua ingestão através da dieta (AGUIAR, 2001). Essa vitamina desempenha várias funções biológicas relacionadas ao sistema imune, formação de colágeno, absorção de ferro, inibição da formação de nitrosaminas e ação antioxidante (VANNUCHI; JORDÃO JÚNIOR, 2000). A Figura 21 mostra a estrutura química do ácido ascórbico.

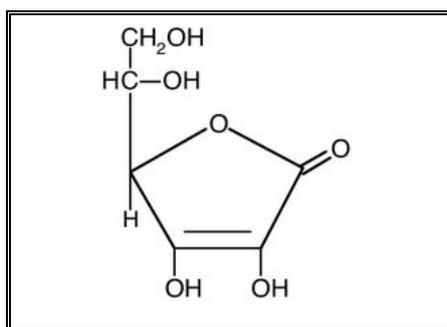


Figura 21 - Estrutura química do ácido ascórbico

As recomendações nutricionais da vitamina C vêm aumentando ao longo do tempo. Na década de 60, a comissão de especialistas da FAO/OMS recomendava 30 mg de vitamina C para adultos (homens e mulheres acima de 13 anos); 50 mg durante a gestação e lactação e 20 mg para crianças recém-nascidas e crianças até a idade de 13 anos. Nos anos 70, o *National Research Council* recomendava 45 mg diários para adultos, 60 mg durante a gestação e 80 mg durante a lactação (PELÚZIO; OLIVEIRA, 2006).

Algumas frutas tropicais estudadas apresentam elevado valor nutricional devido à excelente fonte de vitamina C, como por exemplo, a acerola, considerada como uma das fontes mais ricas em vitamina C; no Brasil, apresenta altos teores tais como: 1021 mg/100 g; 1836,8 mg/100 g e 1239,6 mg/100 g de matéria fresca respectivamente (ALVES et al., 1995; ARAÚJO et al., 2007; MOURA et al., 2007). No entanto, valores superiores ao da acerola foram reportados por Alves et al. (2002) em frutos de camu-camu que chegou a apresentar 2600 mg/100g de polpa. Estes resultados de acerola e camu-camu são superiores ao de muitas frutas conhecidas no mercado internacional como ricas em vitamina C, por exemplo as *berries*.

A vitamina E é um componente lipofílico essencial para o organismo. Dos oito compostos derivados do termo vitamina E, o  $\alpha$ -tocoferol é o que apresenta maior atividade biológica. Esta vitamina é sensível a oxidação na presença de oxigênio, luz UV, álcalis, íons metálicos (Fe e Cu) e peróxidos lipídicos. Assim, durante o processamento e armazenamento de alimentos ricos nesta vitamina, podem ocorrer perdas consideráveis, resultando na diminuição do valor nutricional dos alimentos (PELÚZIO; OLIVEIRA, 2006).

Este composto pode reagir com radicais peroxil, gerando um novo radical mais estável do que inicialmente, devido à existência de um anel aromático (ARUOMA, 1999). Por esta capacidade em evitar a propagação da oxidação lipídica, é considerada importante na manutenção da integridade da membrana celular, sendo o melhor

antioxidante lipofílico biológico na defesa contra efeitos nocivos dos radicais livres (HENSLEY et al., 2004).

Existem outros compostos com atividade vitamínica cuja função não está bem esclarecida quanto a sua atuação no organismo. Nesta relação, destacam-se: colina, inositol, ácido pangânico, ácido lipóico e ácido orótico (PELÚZIO e OLIVEIRA, 2006).

O uso de vitaminas e outros antioxidantes na prevenção e modulação das conseqüências patológicas dos radicais livres precisam da definição de doses e de protocolos de tratamento, sendo necessários mais estudos sobre o mecanismo de ação desses agentes para sua prescrição em larga escala (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

#### 1.2.2.4. Metodologias para a determinação da atividade antioxidante *in vitro*

O crescente interesse pelos possíveis efeitos benéficos dos antioxidantes à saúde tem feito com que seja desenvolvida uma grande quantidade de métodos para determinar a atividade antioxidante dos extratos de alimentos. Com este objetivo, foi planejada uma série de condições que deveria reunir um procedimento padrão de medida da atividade antioxidante *in vitro* (FRANKEL; MEYER, 2000; PRIOR et al., 2005), tais como:

1. Avaliar reações de transferência de elétrons e átomos de hidrogênio;
2. Especificar o substrato de oxidação;
3. Medir reações químicas que de fato ocorram em reações potenciais, ou seja, assegurar que o substrato e o modo de induzir a oxidação sejam relevantes como fontes de danos oxidativos;
4. Ser um método simples e possuir um mecanismo e ponto final definido;
5. Possuir uma instrumentação que seja disponível;

6. Ter uma boa reprodutibilidade;
7. Estar adaptado a medir antioxidantes hidrofílicos e lipofílicos;
8. Utilizar diferentes fontes de radicais; e
9. Estar adaptado para o uso rotineiro de análises em grande escala.

No entanto, é verídico que não existe nenhum método até a atualidade que reúna todas essas características e talvez seja quase impossível que se possa avaliar a atividade antioxidante de uma amostra por um método apenas ao invés da combinação de vários como é feito hoje. Isto ocorre tendo em vista que os antioxidantes podem exercer sua ação mediante diferentes mecanismos. Além disso, em um mesmo alimento pode haver misturas de diferentes antioxidantes com variados mecanismos de ação, ocorrendo reações sinérgicas e faz-se necessário a diversificação nas análises para poder considerar os possíveis mecanismos de ação de todos os antioxidantes presentes no alimento (PÉREZ-JIMÉNEZ, 2007).

Por outro lado, além do mecanismo de reação, existem outros fatores que também devem ser considerados ao determinar a atividade antioxidante de amostras tão complexas como os extratos dos alimentos, tais como as propriedades coloidais do substrato, o estado de oxidação e a localização do antioxidante nas diferentes fases, a composição do sistema, o tipo de substrato oxidável, a forma de causar a oxidação, a natureza heterogênea e heterofásica do sistema, as interações com outros componentes, etc. (MANTLE et al., 1998; YU; ONG, 1999; FRANKEL; MEYER, 2000).

Em sistemas multifases, a eficiência do antioxidante é grandemente afetada pelas propriedades de solubilidade que determinam a distribuição dos compostos nas diferentes fases, incluindo a localização e a orientação. Porter (1980) foi o primeiro a observar estas propriedades e descobriu que antioxidantes solúveis em água (polares) tendem a ser mais ativos do que os solúveis em lipídeos (apolares) quando testados em óleo puro. Ao contrário, os que são solúveis em lipídeos tendem a apresentar uma maior proteção para uma emulsão óleo em água do que os solúveis em água. Por estas razões, muitos autores admitem a necessidade de combinar mais de um método de

determinação da atividade antioxidante *in vitro* (FRANKEL; MEYER, 2000; SANCHEZ-MORENO, 2002; ARUOMA, 2003; PRIOR et al., 2005).

Os ensaios *in vitro* de atividade antioxidante de extratos dos alimentos devem ser completados com ensaios *in vivo*, assim como com estudos sobre o possível efeito pro-oxidante destes compostos em doses elevadas já que nestes compostos existe um equilíbrio muito sensível entre atividade antioxidante e pro-oxidante (FRANKEL; MEYER, 2000). Deve-se considerar se os compostos responsáveis pela atividade antioxidante são ou não biodisponíveis no trato gastrointestinal e, portanto, poderão exercer efeito benéfico, bem como avaliar o grau de retenção desses compostos nos tecidos. Esta biodisponibilidade é determinada, entre outros fatores, pela natureza química destes compostos, seus efeitos na matriz alimentar, a combinação dos alimentos na dieta e o estado geral de saúde (ARUOMA, 2003).

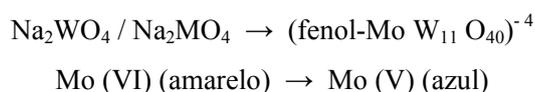
Outro aspecto importante a ser considerado na determinação da atividade antioxidante *in vitro* é que devido às múltiplas modificações feitas em cada um dos métodos existentes, muitas vezes a comparação entre os resultados, ainda que correspondendo ao mesmo método de medida, deve ser efetuada com precaução. Isto é necessário, já que pode ter existido mudanças na manipulação, na temperatura do ensaio, na variedade da amostra ou em suas condições de processamento, no modo de combinar as amostras com os reagentes (por exemplo: tempo de exposição dos compostos ativos aos reagentes, etc), na metodologia empregada na extração (tamanho da partícula, ciclos de extração, modo de agitação da amostra, reação amostra:solvente, etc.) (BOMPADRE et al., 2004; MUKHOPADHYAY et al., 2006). Na literatura, os resultados para um mesmo método são expressos de diversas formas dificultando assim a comparação dos resultados (VILLANO et al., 2005).

A seguir são descritos alguns dos principais métodos para a determinação da atividade antioxidante, indicando o tipo de reação nos casos em que se conhece.

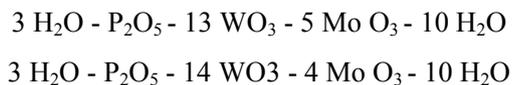
#### 1.2.2.4.1 Método Folin-Ciocalteu

O método Folin-Ciocalteu trata-se de uma reação simultânea HAT e SET, não exatamente um método de determinação da atividade antioxidante, mas sim do conteúdo de polifenóis. Devido ao importante papel dos polifenóis na atividade antioxidante dos alimentos, em muitos trabalhos são referidos como um método de determinação da atividade antioxidante, embora seja apenas um indicador. Baseia-se na reação de redução de um heteropoliânion ( $[XM_{12}O_{40}]^{x-8}$ ) que contém molibdênio (SINGLETON et al., 1999).

No método original, se quantificava a tirosina e o triptofano e a reação era medida a 745-750 nm, como na seguinte reação:



No método modificado posteriormente, o reagente é um heteropoliânion formado por:



Os metais tem um estado 6 de oxidação, mas, durante a reação, em um meio básico, há uma redução a um estado de oxidação entre 5 e 6, ocorrendo a mudança da cor amarela para azul. Quanto maior for o conteúdo de compostos fenólicos, maior intensidade será a coloração. Os resultados são interpolados em uma curva de calibração com o padrão ácido gálico, sendo os resultados expressos em equivalentes de ácido gálico (PÉREZ-JIMÉNEZ, 2007).

Na literatura existem poucos artigos que seguem o mesmo protocolo original do método. Além disso, muitos trabalhos, ao invés de expressarem seus resultados em

equivalentes de ácido gálico, expressam em catequina, ácido clorogênico, caféico, protocateico, vanilínico ou ferrúlico, dificultando a comparação dos resultados. Todos esses fatores fazem com que, por exemplo, os resultados de Folin de uma fruta muito conhecida como é o caso do mirtilo (*Vaccinium sp.*) tenham uma variação entre 22 e 4.180 mg equivalentes ácido gálico/100 g (PRIOR et al., 2005).

Outro fator importante é pelo fato desta medida ser realizada a 730 nm, um comprimento de onda muito alto, em que há maior probabilidade de interferência por outros compostos. Este método baseia-se numa reação de redução muito generalizada, fazendo com que um grande número de substâncias possam interferir na análise, tais como: compostos orgânicos - açúcares (frutose e sacarose), ácido ascórbico, ácidos orgânicos, Fe (II), adenina, adenosina, citosina, guanina, ácido oléico, proteínas, dentre outras; e inorgânicos - hidrazina, sulfato de ferro amoniacal, sulfato de ferro, sulfato de manganês, nitrito de potássio, metabissulfito de sódio, fosfato de sódio, dentre outros (BOX, 1983; IKAWA et al., 2003; PRIOR et al., 2005).

Na literatura brasileira podem-se encontrar vários trabalhos quantificando o teor de polifenóis em frutas tropicais. Dentre eles o realizado por Hassimoto et al. (2005) que encontraram resultados de polifenóis variando de 67 mg GAE/100g (abacaxi) a 583 mg GAE/100 g (jambolão) de matéria fresca. Alves et al. (2005) encontraram em frutos de acerola, por exemplo, 1.055 mg GAE/100g de matéria fresca, valor este superior a maioria dos resultados encontrados com frutas tropicais.

#### 1.2.2.4.2 ABTS ou TEAC (Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox)

O método ABTS (Ácido 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) baseia-se em uma reação SET, no qual avalia-se a capacidade dos antioxidantes de capturar o cátion radical ABTS<sup>•+</sup>. Esta captura produz um decréscimo na absorvância a 734 nm. O

decréscimo produzido pelo Trolox (análogo hidrossolúvel da vitamina E) é comparado ao produzido pelo antioxidante que se está analisando (MILLER et al., 1993). A curva gerada pela inibição da absorbância é calculada, sendo que os resultados são interpolados na curva de calibração e expressos em atividade antioxidante equivalente a 1 mM do trolox (RUFINO et al., 2007b).

O radical  $ABTS^{•+}$  é produzido quimicamente com o persulfato de potássio ( $K_2S_2O_8$ ) como mostra a Figura 22 (VILLANO et al., 2004). No método original de Miller et al. (1993), o radical era gerado diretamente na presença do antioxidante com metamioglobina e peróxido de hidrogênio, este último oxidava a metamioglobina que por sua vez oxidava o ABTS. No entanto, verificou-se que alguns polifenóis, como a quercetina, poderiam interagir com os reagentes impedindo a formação do radical e dando um valor de atividade antioxidante superestimado. Por estes fatores, passou-se a gerar o radical previamente antes de adicionar o antioxidante (RE et al., 1999).

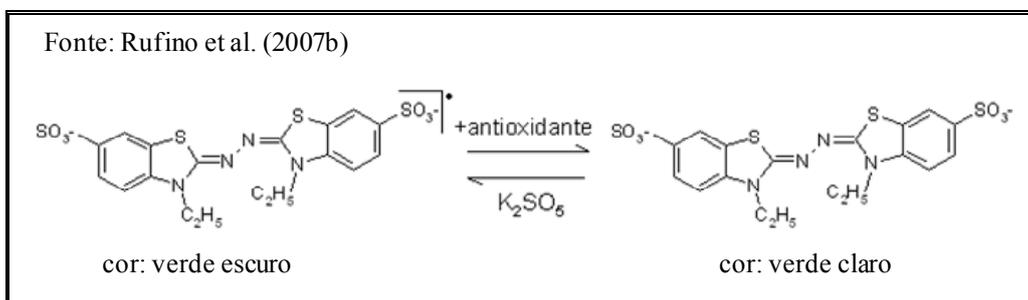


Figura 22 - Estabilização do radical  $ABTS^{•+}$  por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.

Algumas críticas são descritas quanto a esta modificação, no sentido de que os polifenóis além de reagir com o radical dando lugar a uma molécula original, podem dar lugar também a outros compostos. Isto geraria problemas na hora de determinar a estequiometria da reação entre o ABTS e um composto (ARTS et al., 2004; PINELO et al., 2004; OSMAN et al., 2006).

Desta forma, foi proposto também medir a absorvância a 414 nm, só que esta apresenta mais interferências que a 734 nm. Estas interferências aumentam a coloração e levam a uma superestimação da atividade antioxidante, porque é medida uma redução da cor inferior ao que realmente se produz (ARNAO, 2000; LABRINEA; GEORGIU, 2004).

Alguns resultados com frutas tropicais são descritos na literatura utilizando este método, como por exemplo, o trabalho realizado por Kuskoski et al (2005) e Alves et al. (2008) que trabalharam com frutos de aceroleira e encontraram resultados de 67,6 mg trolox/100g e 1315 mg trolox/100g de matéria fresca respectivamente. Essa grande variação pode ocorrer em função da matéria-prima, preparo da amostra, como também do tipo de solvente empregado.

#### 1.2.2.4.3 DPPH

No método do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), este radical orgânico na presença de um antioxidante, a medida que é capturado produz um decréscimo da absorvância a 515 nm (BRAND-WILLIAMS et al., 1995), como mostra a Figura 23.

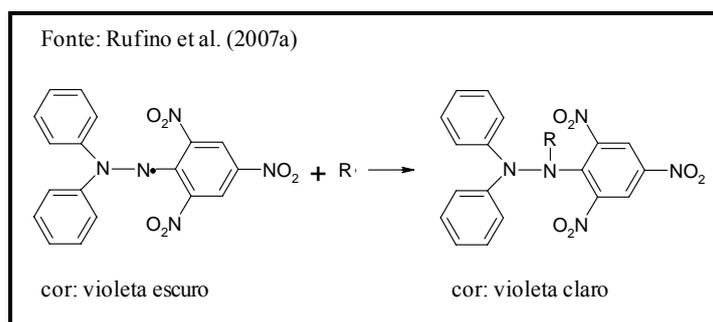


Figura 23 - Estabilização do radical livre DPPH.

O mecanismo de reação deste método ainda não está totalmente claro. Inicialmente, pensou-se que era um mecanismo simultâneo SET e HAT, porém, Foti et al (2004) sugeriram que o mecanismo fundamental seria o SET e que a reação do tipo HAT teria uma escassa contribuição devido a mesma ser produzida lentamente em solventes que são receptores do H como o metanol e etanol.

Este método foi modificado por Sánchez-Moreno et al (1998) que introduziu os seguintes parâmetros cinéticos: o  $EC_{50}$  - que é a quantidade de antioxidante necessária para reduzir em 50% a quantidade inicial do radical; e  $t_{EC50}$  - que é o tempo que essa concentração necessita para reduzir em 50% a quantidade inicial do radical e a eficiência anti-radical ( $AE$ ) =  $1/(EC_{50} * t_{EC50})$  que leva em consideração os outros dois fatores. Quanto maior for o AE, o antioxidante exercerá sua ação em menor concentração e em menos tempo, fator este interessante nos sistemas biológicos. No entanto, quando os antioxidantes são usados como aditivo nos alimentos, o objetivo é que sua ação seja mantida por um tempo prolongado. Então, neste caso haveria que considerar independentemente os dois fatores (PÉREZ-JIMÉNEZ, 2007).

Outra observação importante feita por Wu (2004), é que o DPPH é um radical orgânico nitrogenado e estável e não têm nada a ver com os radicais peroxil altamente reativos envolvidos em reações *in vivo*. Por outro lado, a absorvância a 515 nm pode interferir com a de outros compostos como os carotenóides com o qual subestimaria o DPPH restante e, portanto, a atividade antioxidante da amostra (PRIOR et al., 2005). Além disso, a atividade antioxidante da amostra pode ser subestimada pela interferência de outros compostos presentes na amostra que também são absorvidos (ARNAO, 2000). Outro inconveniente deste método é que pode ocorrer um impedimento estérico nas moléculas com elevado peso molecular (PRIOR et al., 2005). Algumas modificações nesse método são necessárias, devido ao mecanismo da reação entre o antioxidante e o DPPH depender da conformação estrutural de cada antioxidante avaliado (ALVES et al., 2006).

Alves et al. (2008) realizaram um estudo determinando a atividade antioxidante em frutos de acerola e encontraram valores de EC<sub>50</sub> de 838 mg/100g na matéria fresca utilizando o extrato metanólico e acetônico. Outro estudo foi realizado por Reynertson et al. (2008) com catorze diferentes espécies de mirtáceas e encontraram uma grande variação de 19.4 µg/mL (*Myrciaria cauliflora*) a 389 µg/mL (*Syzygium cumini*) na matéria seca.

#### 1.2.2.4.4 FRAP

O método FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro) baseia-se em uma reação SET na qual se observa a redução do complexo férrico tripiridiltriazina ao complexo ferroso por um antioxidante em meio ácido (BENZIE; STRAIN, 1996). Esta reação produz uma mudança na sua coloração que é monitorada medindo a absorbância a 595 nm durante 4 minutos segundo o método original. Posteriormente, este tempo foi ampliado para 30 minutos já que aos 4 minutos muitos compostos não haviam completado sua reação (PULIDO et al., 2000).

A absorbância alcançada em um ponto fixo é interpolada em uma curva de calibração e os resultados são expressos em µM sulfato ferroso/g (RUFINO et al., 2006a). Outros autores expressam seus resultados em µM trolox/g ou µM trolox/L por estas unidades serem mais utilizadas na expressão dos resultados (PÉREZ-JIMÉNEZ, 2007).

A Figura 24 mostra a reação que ocorre neste método de determinação da atividade antioxidante.

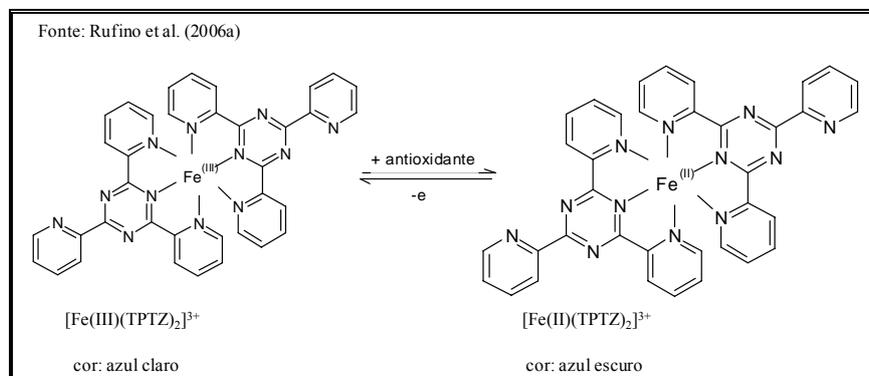


Figura 24 - Redução do complexo TPTZ com  $\text{Fe}^{3+}$ .

Algumas críticas também são feitas a este método. Dentre elas, destaca-se: o pH não fisiológico (PRIOR; CAO, 1999; PULIDO et al., 2000); o comprimento de onda de 593 nm, que pode absorver outros compostos, como a bilirrubina oxidada, que produz biliverdina, aumentando o valor do FRAP (PRIOR; CAO, 1999; OU, 2002); alguns compostos como o ácido ascórbico, além de reduzir o íon férrico a ferroso, podem reagir com este último formando novos radicais livres (CAO; PRIOR, 1998).

Na literatura encontra-se alguns resultados para este método utilizando o sulfato ferroso e o trolox como padrão. Alves et al. (2008) encontraram resultados em frutos de acerola de 495 mg/100g utilizando o sulfato ferroso como padrão. Trabalhos avaliando a atividade antioxidante em polpa de goiaba foram realizados por Thaipong et al. (2006) e Jiménez-Escrig et al. (2001) utilizando o trolox como padrão e encontraram respectivamente 15,5 a 33,3  $\mu\text{M/g}$  e 233 a 238  $\mu\text{M/g}$  na polpa.

### 1.2.2.4.5 ORAC

O método ORAC (Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio) baseia-se em um mecanismo HAT que mede a capacidade de captura de um radical específico, o peróxido, gerado a partir de uma molécula orgânica AAPH. Os radicais atacam a molécula de fluoresceína oxidada que já não emite fluorescência, produzindo, portanto, um decréscimo na mesma (longitude de onda de excitação a 493 nm e de emissão a 515 nm). Na presença dos antioxidantes, a reação do radical peróxido com a fluoresceína fará com que esta mantenha a mesma emissão de fluorescência. Dessa forma, pode-se comparar o decréscimo da fluorescência produzida na presença e na ausência de um antioxidante (OU et al., 2001) como mostra a Figura 25.

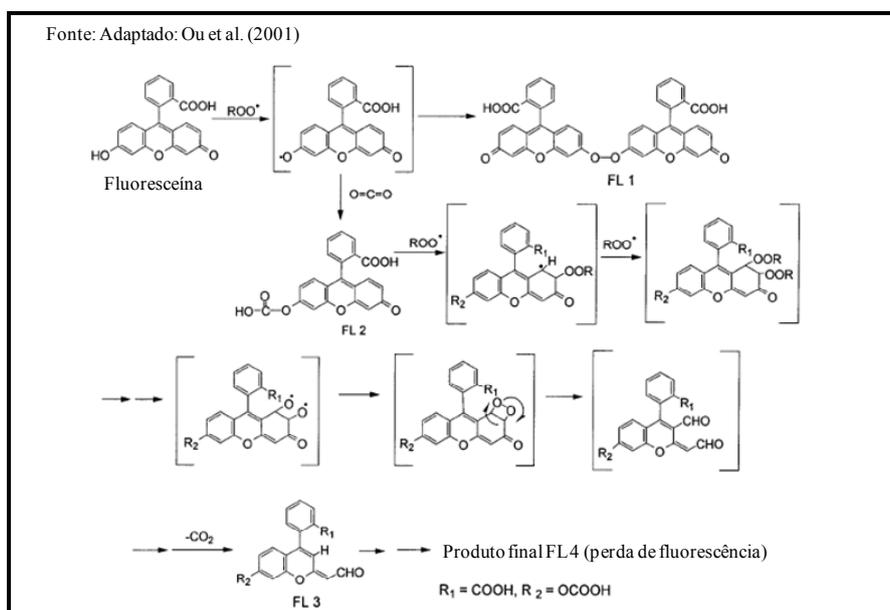


Figura 25 - Exemplo de um processo de oxidação da fluoresceína na presença de AAPH.

Foi observado que nas concentrações empregadas, o AAPH (*2,2'-Azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride*) tem uma relação com o antioxidante muito maior que o ABTS no TEAC (CAO; PRIOR, 1998).

Inicialmente, a reação era realizada com  $\beta$ -ficoeritrina ( $\beta$ -PE) que é uma proteína isolada de *Porphyridium cruentum*, como fonte de radicais peroxil. No entanto, a  $\beta$ -PA não proporcionava resultados reprodutíveis e não era fotoestável e depois de certa exposição à luz se fotodegradava. Além do mais, observou-se a formação de certas ligações não específicas com os polifenóis fazendo com que a atividade antioxidante fosse subestimada, cuja amostra comercial possuía apenas 30% de pureza. Por esta razão, buscou-se uma alternativa que é a fluoresceína- 3,6'-dihydroxy-spiro [isobenzofuran-1 [3H],9'[9H]-xanthen]-3-ona (OU et al., 2001)

Deve-se estar ciente que o ORAC mede a capacidade de captura de um ROS presente em uma molécula que não se encontra no organismo, porém, no corpo humano são formados muitos ROS que poderiam ser medidos por outros métodos (OU et al., 2001; OU et al., 2002).

Outro inconveniente deste método é que a cinética de reação pode variar em função da concentração do antioxidante (LÓPEZ et al., 2003).

Existem alguns trabalhos na literatura com este método utilizando o trolox como padrão. O estudo realizado por Thaipong et al. (2006) com a polpa de alguns genótipos de goiaba, encontraram resultados variando de 18,2 a 25,5  $\mu$ M trolox/g de matéria fresca.

#### 1.2.2.4.6 Sistema $\beta$ -Caroteno/Ácido Linoléico

O sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico foi desenvolvido por Marco (1968) e modificado por Miller (1971), empregando-se o ácido linoléico, Tween 40 e  $\beta$ -

caroteno e avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). Trata-se de um ensaio espectrofotométrico baseado na oxidação (descoloração) do  $\beta$ -caroteno induzida pelos produtos da degradação oxidativa do ácido linoléico. A determinação é efetuada a 470 nm, na presença e na ausência de um antioxidante.

Os resultados são expressos em percentagem de inibição da oxidação. A redução da absorbância do sistema sem antioxidante (Equação 1) é considerada como 100% de oxidação. O decréscimo da leitura da absorbância das amostras é correlacionado com o sistema e estabelece-se a percentagem de oxidação (Equação 2), subtraindo-se a percentagem de oxidação de cada amostra de 100 (Equação 3). Verifica-se a ação antioxidante da amostra (fruta), comparando-a com a atividade do antioxidante sintético (Trolox) como mostram as equações abaixo (RUFINO et al., 2006b).

**Equação 1.** Cálculo da redução da absorbância do sistema.

$$\text{Redução da absorbância} = \text{Abs}_{\text{inicial}} - \text{Abs}_{\text{final}}$$

**Equação 2.** Cálculo da percentagem de oxidação.

$$\% \text{ Oxidação} = [(\text{Redução Abs})_{\text{amostra}} \times 100] / (\text{Redução Abs})_{\text{sistema}}$$

**Equação 3.** Cálculo da atividade antioxidante total (percentagem de proteção).

$$\% \text{ Proteção} = 100 - (\% \text{ Oxidação})$$

É um método simples, sensível, mas não específico, pois, substâncias oxidantes ou redutoras interferem no ensaio (SILVA et al., 1999). A co-oxidação do  $\beta$ -caroteno é normalmente efetuada no meio emulsionado, o que origina muitas vezes falta de reprodutibilidade dos valores de absorbância medidos. Acrescente-se ainda a

dificuldade de interpretação dos resultados devido à interação do  $\beta$ -caroteno com o oxigênio (BERSET e CUVELIER, 1996; VON GADOW et al., 1997).

Apesar dos inconvenientes referidos, este método é amplamente usado e como não recorre a altas temperaturas, permite a determinação do poder antioxidante de compostos termo-sensíveis e a avaliação qualitativa da eficácia antioxidante de extratos vegetais (SILVA et al., 1999).

Trabalho realizado por Andrade-Wartha (2007) avaliando a atividade antioxidante por este método em diferentes clones de cajueiro CCP-09, CCP-76, encontrou percentuais de inibição da oxidação variando de aproximadamente 25 a 60% e 80% para o BHT utilizado como padrão.

### **1.2.3 Compostos vegetais não digeríveis**

A fibra dietética provém de uma matéria vegetal que por sua estrutura química ou pela união com outros compostos resiste à ação das enzimas digestivas durante a digestão (BUCKERIDGE; TINÉ, 2001). Na Figura 26 está esquematizado a organização de uma célula vegetal típica e com especial detalhe da estrutura molecular e da parede celular. A seguir são descritos alguns componentes da célula e da parede celular não digeríveis.

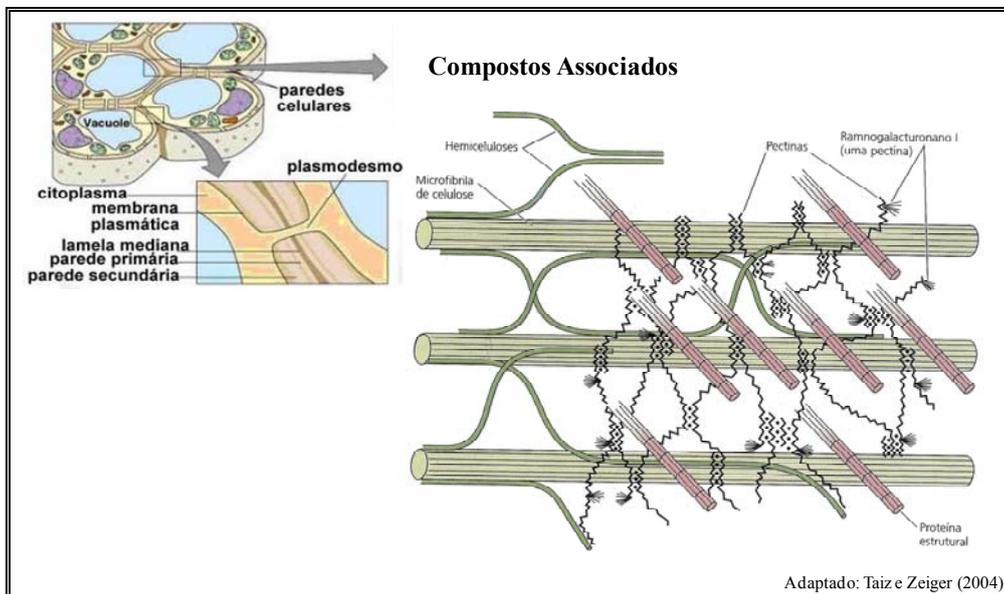


Figura 26 - Esquema de uma célula vegetal e a estrutura da parede celular.

Na parede celular se diferenciam a lamela média e as paredes celulares primária e secundária. Nutricionalmente, os polissacarídeos podem ser classificados em digeríveis e não digeríveis. Os principais polissacarídeos estruturais das paredes celulares caracterizam-se quimicamente por não ter ligações  $\alpha$ -glicosídica (tipo de ligação das moléculas de glicose no amido) e pertencerem ao conjunto de polissacarídeos não amiláceos (*NSP - Non-Starch Polysaccharides*) (ENGLYST et al., 1982; MCCANN; ROBERTS, 1991) tais como:

1. Celulose – Polissacarídeo de elevado grau de polimerização (de 2.000 a 15.000 unidades de  $\beta$ -glicose  $\beta$ 1-4), formando grandes cadeias sem ramificação. É a macromolécula orgânica mais freqüente na biosfera. As moléculas de glicose circulam pelo eixo molecular, sendo estabilizadas por pontes de hidrogênio. Já as moléculas de celulose (até 8  $\mu$ m de comprimento) têm o formato de faixas e que entre diferentes moléculas tem tendência a associar-se por meio de pontes de

hidrogênio, formando fibrilas (3 nm) e microfibrilas (5-30 nm) na parede secundária e retículos cristalinos muito resistentes;

2. Hemicelulose - Grandes moléculas heterogêneas (polissacarídeos), ramificadas e pouco hidrófilas que unem microfibras de celulose por meio de ligações não covalentes. Possui ligações  $\beta$ 1-4 de um tipo de monômero que permite a formação de pontes de hidrogênio, dos quais se ramificam cadeias curtas e outros açúcares diferentes ( $\beta$ 1-6). Dependendo da sua composição monomérica são classificados em glucana, glucomanana, galactomanana, xiloglucana e xilana. As hemiceluloses encontram-se intercaladas às microfibrilas de celulose dando elasticidade e impedindo que elas se toquem;
3. Compostos pectínicos – Polissacarídeo de baixa hidrossolubilidade (solúveis em água quente, formando um gel ao esfriar) e grande capacidade de inchamento. Podem estar constituídos por monômeros de ácido galacturônico (galacturonana e ramnogalacturonana) formando cadeias interrompidas por resíduos de ramnose e outros açúcares ou por polissacarídeos de cadeias mais curtas, menos ácidas e mais hidrófilas (arabinanas, galactanas e arabinogalactanas). Os resíduos livres de ácidos urônicos se ionizam a pH fisiológico, adquirindo a capacidade de unir minerais formando complexos, diminuindo sua absorção intestinal. Nas células vegetais esta capacidade de união a minerais como magnésio e cálcio cumpre funções de adesão celular. Em alguns órgãos vegetais chegam a produzir massivamente substâncias pectínicas conhecidas como gomas.

Além dos NSPs, as paredes celulares estão compostas de outras moléculas de baixa ou nula digestibilidade de natureza não polissacarídica (TABERNERO-URBIETA, 2008) tais como:

1. Lignina - Depois da celulose é a substância mais abundante da natureza. Os precursores da lignina são três alcoóis aromáticos: coumaril, coniferil e sinaptil em proporções variáveis segundo famílias ou órgãos vegetais. Portanto, sua estrutura química é variável, tendo como característica vários radicais que permitem a união

covalente com os polissacarídeos da parede celular. É uma molécula altamente resistente, impermeável a água, que somente é decomposta por fungos que possuem enzima ligninolítica;

2. Proteínas - São as moléculas orgânicas mais abundantes e importantes nas células, formadas por aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas. As principais proteínas da parede celular são glicoproteínas que não são digeridas por enzimas gastrointestinais. Formam uma estrutura rígida de forma linear envolvidas por uma cobertura de arabinosídeo;
3. Compostos lipídicos - Em determinados tecidos vegetais, diferentes substâncias de natureza lipídica como ceras, cutinas ou suberinas podem aparecer unidas às paredes celulares em órgãos aéreos (folhas, troncos e frutos) impedindo a perda de água por evaporação. Por sua natureza hidrófoba, caracterizada pela baixa solubilidade em água e outros solventes polares e alta solubilidade em solventes apolares, são vulgarmente conhecidas como gorduras e suas propriedades físicas estão relacionadas com a das suas estruturas. Todos os seres vivos possuem a capacidade de sintetizar os lipídios, existindo, entretanto, alguns lipídios que são sintetizados unicamente pelos vegetais, como é o caso das vitaminas lipossolúveis e dos ácidos graxos essenciais.

No interior da célula vegetal, podem existir polissacarídeos que cumpram funções de armazenamento e que por sua vez possam ser parcial ou totalmente digeríveis (RUPÉREZ; BRAVO, 2001). Destacam-se:

1. Frutanos - São polímeros naturais, polissacarídeos, da frutose. São sintetizados nas plantas por microorganismos a partir da sacarose e aparecem em plantas que não utilizam amido como substância de reserva. A inulina é um frutano que contém entre 6 a 150 unidades de frutose unidas por ligações  $\beta$ 1-2. Os frutanos de menos de seis monômeros são denominados frutooligossacarídeos. É uma molécula solúvel, que resiste a digestão enzimática humana, mas que é totalmente fermentável pela

ação da flora bacteriana, produzindo em sua grande maioria lactose e ácidos graxos de cadeia curta, apresentando um alto interesse como ingrediente probiótico;

2. Amido - É um polissacarídeo sintetizado pelos vegetais, considerado o principal elemento de reserva. O amido é formado por dois tipos de polímeros de glicose: amilose ligadas por pontes glicosídicas  $\alpha$ 1-4 e amilopectina que é macromolécula, menos hidrossolúvel que a amilose, ligadas por pontes  $\alpha$ 1-6 dando uma estrutura ramificada. Na digestão o amido é decomposto por reações de hidrólise em carboidratos menores. Essa hidrólise é efetuada pelas enzimas amilases existentes na saliva e suco pancreático. Do ponto de vista nutricional o amido se classifica (LOBO; LEMOS SILVA, 2003) em:

a) Digerível - Absorção relativamente rápida, quando em vinte minutos de digestão enzimática é degradado a glicose. Está presente nos alimentos amiláceos cozidos;

b) Absorção lenta - Fisiologicamente inacessível a  $\alpha$ -amilase e, portanto, para ser digerido necessita estar mais de cem minutos na presença de enzimas;

c) Resistente - Resiste à ação das enzimas digeríveis podendo ser subdividido nos seguintes tipos:

I – fisiologicamente inacessível à digestão por causa das paredes celulares e proteínas que formam parte das estruturas de alguns alimentos como sementes ou grãos. Pode tornar-se digerível por meio do processo de trituração;

II – conformação granular resistente à digestão e que resiste a ação enzimática dada a sua desidratação. Torna-se digerível após ser fervido e está presente, por exemplo, em frutos como a banana;

III – consiste em polímeros de amido retrogradado (principalmente de amilose), sendo o mais abundante. Após o seu aquecimento e na presença de umidade, o amido se gelatiniza. O reaquecimento reduz o conteúdo deste tipo de amido mostrando que a retrogradação é um fenômeno reversível;

IV – conhecido por amido modificado, resistente a ação enzimática quando submetidos a tratamentos químicos que tenham mudado as ligações  $\alpha$ 1-4;  $\alpha$ 1-6.

Interações de outros compostos vegetais podem alterar a digestibilidade do amido, diminuindo-a, com alguns inibidores enzimáticos (compostos fenólicos, lecitinas, ácido fítico) e lipídeos ou aumentá-la como proteínas, açúcares simples ou íons que se unem aos resíduos de amilose e amilopectina impedindo a formação de pontes de hidrogênio (TABERNERO-URBIETA, 2008).

#### 1.2.3.1. Conceito de fibra dietética e metodologia para sua determinação

O conceito de fibra dietética evoluiu extraordinariamente pelo estudo de suas propriedades fisiológicas, desde a sua primeira definição feita por Hipsley (1953) até a atualidade, deixando de ser considerada um alimento antinutricional a ser utilizado para enriquecer alimentos funcionais. A mudança é uma consequência da divulgação das propriedades fisiológicas e nutricionais manifestadas pela investigação científica neste campo, com um extraordinário desenvolvimento.

O conceito com significado nutricional e científico da fibra (fibra dietética ou alimentar) surgiu na década 70 descrita como o conjunto de polissacarídeos e lignina derivados das plantas que resistem à hidrólise das enzimas digestivas humanas. Com base em diversos estudos epidemiológicos aparece a hipótese de que a deficiência de fibra na dieta pode ser um fator significativo que, conjuntamente com outros fatores relacionados com a alimentação e estilo de vida, propicia o desenvolvimento de enfermidades características dos países desenvolvidos (câncer de colo, transtornos intestinais, diabetes, cardiovasculares). Desde então, a investigação está confirmando em grande medida esta hipótese inicial (KRITCHEVSKY e BONDFIELD, 1995; CHO e DREHER, 2001).

Esta evolução implicou em mudanças de conceito e metodologia analítica como mostra o Quadro 1.

Quadro 01 - Evolução do conceito de fibra (Adaptado de Saura-Calixto, 2006).

Denominação	Período	Conceito	Métodos de Análises
Fibra bruta	1864-1970	Fração não digerível (celulose/lignina)	Tratamentos NaOH e H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Fibra detergente	1970-1980	Fração não digerível (celulose, lignina, hemiceluloses)	Tratamentos detergentes ácido e neutro
Fibra dietética ou alimentar	1980-1990	Fração não digerível (celulose, hemicelulose, lignina)	Tratamentos enzimáticos
Complexo fibra ou fração indigerível	1990-	Fração não digerível (celulose, hemicelulose, lignina e outros)	Tratamentos enzimáticos
Fibra alimentar antioxidante	2000-	Fibra com antioxidantes associados	Tratamentos enzimáticos e atividade antioxidante
Prebióticos	2000-	Compostos não digeríveis que desenvolvem a flora intestinal saudável (fibra e oligossacarídeos)	Tratamentos enzimáticos (fibra) e HPLC (oligossacarídeos)

A metodologia para a sua determinação aceita como oficial da A.O.A.C. (*Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*, método número 985.29 *total dietary fiber in foods enzymatic-gravimetric-method*) (PROSKY et al., 1988) é utilizada em rótulos de produtos alimentícios e em tabelas de composição de alimentos das quais se baseiam vários estudos epidemiológicos.

Este método determina o conteúdo de fibra dietética nos alimentos pela combinação dos métodos enzimáticos e gravimétricos. Deve-se considerar que os resultados obtidos podem apresentar um valor limitado já que representam apenas parcialmente a porção de carboidratos que escapa da digestão, sendo, portanto, suscetível de ser fermentada no intestino grosso sem levar em consideração outro tipo

de compostos não digeríveis (SAURA-CALIXTO; GOÑI, 2004). Isto se deve ao fato de que, o método AOAC de isolamento da fibra dietética não mantém condições fisiológicas que sejam possíveis de produzir diferenças nos componentes indigeríveis. Estes, por sua vez, não refletem uma situação real como, por exemplo, retrogradação do amido, ruptura de pontes de hidrogênio, degradação de antioxidantes, etc.

Com base em diversos estudos epidemiológicos aparece a hipótese de que a deficiência de fibra na dieta pode ser um fator significativo que, conjuntamente com outros fatores relacionados com a alimentação e estilo de vida, propicia o desenvolvimento de enfermidades características dos países desenvolvidos (câncer de colo, transtornos intestinais, diabetes, cardiovasculares) (KRITCHEVSKY e BONDFIELD, 1995; CHO e DREHER, 2001).

Cabe citar que o principal organismo impulsor do método de análise da AOAC, a *American Association of Cereal Chemist* (AACC), também propôs uma atualização da definição como “parte comestível de plantas ou carboidratos análogos que são resistentes a digestão e absorção no intestino delgado humano com completa ou parcial fermentação no intestino grosso”. A fibra inclui polissacarídeos, oligossacarídeos, lignina e compostos associados, no entanto, contraditoriamente, a AACC continua utilizando e recomendando para análises de fibra o método da AOAC, que corresponde a uma definição de fibra já superada (NELSON, 2002).

Atualmente, a fibra alimentar é o principal ingrediente em alimentos funcionais, pois constitui acima de 50% do total de ingredientes usados mundialmente. Além disso, estão sendo incorporados progressivamente todos os tipos de alimentos e bebidas como fator de qualidade nutricional, que é muito apreciado pelos consumidores (MAZZA, 1998; PACKER, 1999; RANSLEY, 2001).

A fração indigerível é um método alternativo desenvolvido por Saura-Calixto et al. (2000), baseado em condições fisiológicas que reproduzem o processo digestivo. Com este método pode-se analisar a maior parte dos compostos solúveis e insolúveis que escapam da digestão enzimática e chegam ao intestino grosso. Na Figura 27 pode-

se comparar as principais diferenças entre o método descrito pela AOAC e o da fração indigerível, bem como uma aproximação dos componentes não digeríveis na célula vegetal que são englobados. Devem-se ressaltar como principais diferenças: o método AOAC não determina as concentrações de proteína resistente, minerais e oligoelementos, como fenóis e taninos condensados; a precipitação dos açúcares solúveis com etanol subestima o conteúdo em fibra solúvel e os tratamentos com temperaturas elevadas na presença de umidade podem produzir modificações na estrutura e digestibilidade do amido; a fração indigerível engloba o conteúdo de NSP solúveis e insolúveis, proteína resistente, amido resistente e outros compostos associados indigeríveis.

#### 1.2.3.2 Efeitos fisiológicos dos compostos não digeríveis

Por sua estrutura, composição e grau de solubilidade, a fibra possui efeitos fisiológicos associados, derivados de suas propriedades físico-químicas e fermentativas. Entre estas propriedades relacionadas com a estrutura molecular está a capacidade de captura de água e compostos em dissolução. A água retida está relacionada com o grau de viscosidade das fibras com o qual é maior em amostras ricas em pectinas (TABERNEIRO-URBIETA, 2008).

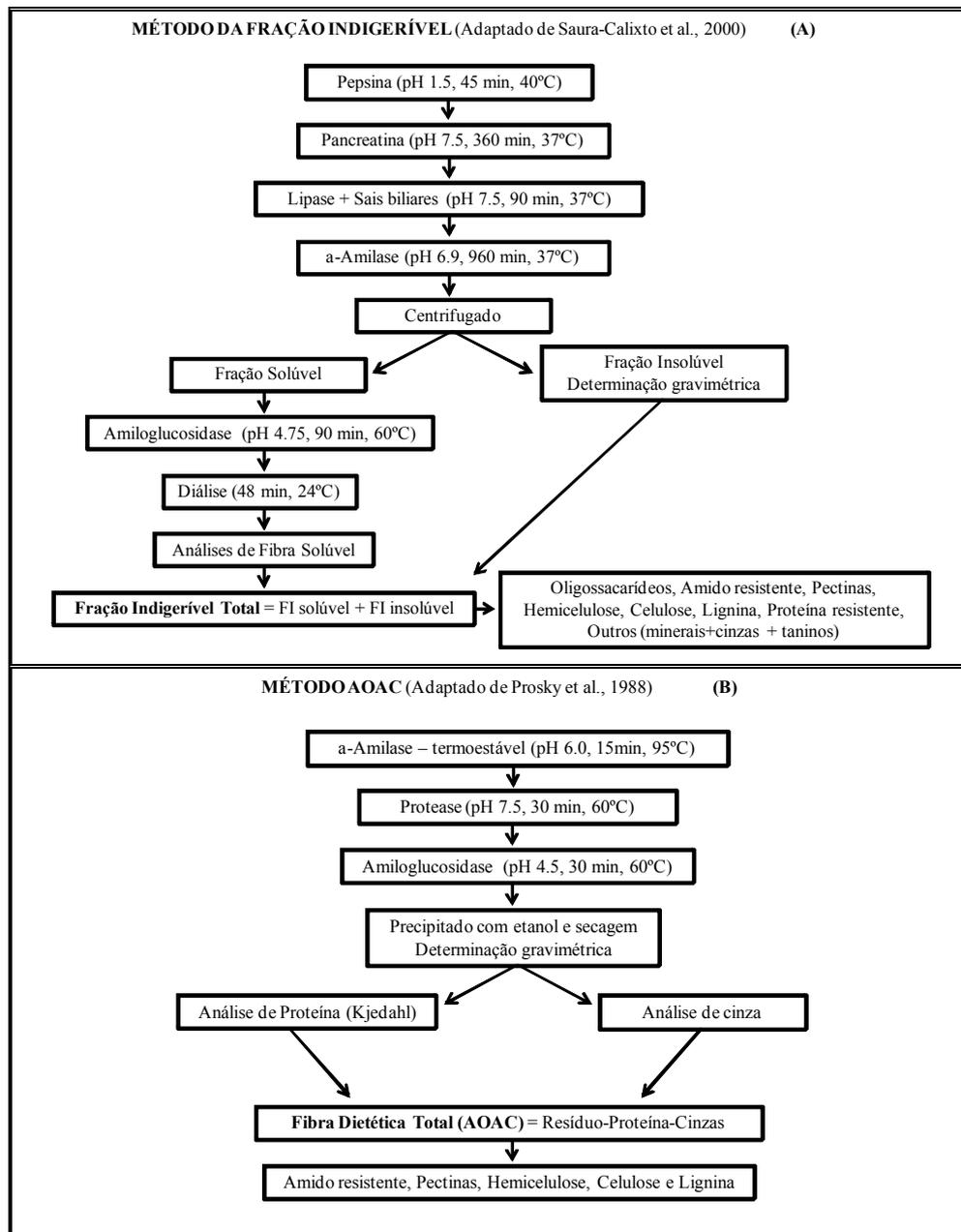


Figura 27 - Diferenças metodológicas entre a fração indigerível (A) e a fibra AOAC (B).

Na primeira parte do trato intestinal, ao aumentar o volume do bolo alimentar, cresce também a sensação de saciedade. No intestino grosso, a capacidade de captação da água contribui para diminuir o tempo de trânsito, reduzir a densidade das fezes e diluir a concentração de compostos nocivos. Um esquema geral da passagem dos alimentos é mostrado na Figura 28.

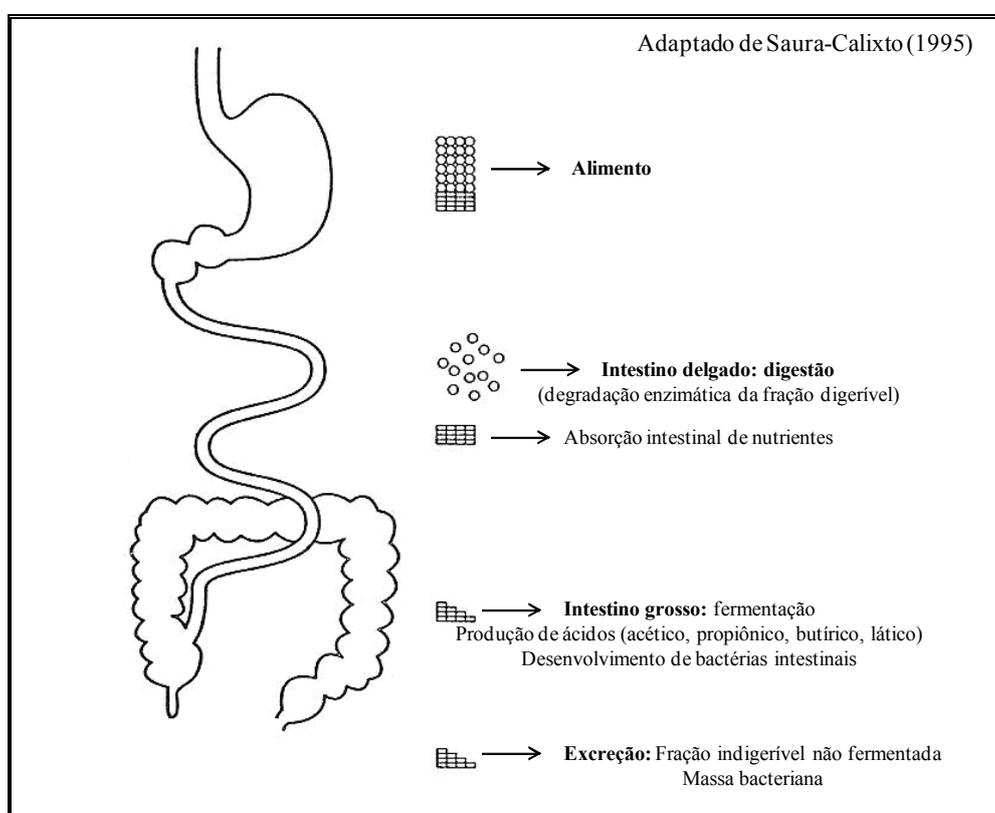


Figura 28 - Trânsito intestinal dos alimentos.

A fibra ao longo do aparato digestivo pode ter diversos efeitos fisiológicos tais como:

1. Sensação de saciedade e menor ingestão de alimentos;
2. Regulação intestinal;

3. Diminuição do tempo do percurso dos alimentos pelo intestino;
4. Controle de prisão de ventre. Aumento de excreção;
5. Atraso da absorção de glicose. Menor índice de glicemia;
6. Diminuição de colesterolemia;
7. Menor conteúdo calórico da dieta;
8. Manutenção e desenvolvimento da flora bacteriana intestinal;
9. Maior excreção de lipídeos e proteínas;
10. Fator preventivo do câncer intestinal.

A fibra consta de duas frações (insolúvel e solúvel em água) e suas propriedades são determinadas pelo percentual destas frações. A fibra insolúvel é escassamente fermentada e possui um potencial efeito laxante e regulador intestinal, enquanto que, a fibra solúvel é fermentada em alta proporção e suas principais propriedades estão relacionadas com a diminuição do colesterol e glicose no sangue e desenvolvimento da flora intestinal (SAURA-CALIXTO, 1995).

Dentre os compostos em dissolução capturados, tem especial importância o seqüestro de ácidos biliares na primeira parte do trato digestivo já que se relacionam com os efeitos cardioprotetores e antimutagênicos. Os ácidos biliares são ácidos esteróides derivados do colesterol sintetizados no fígado e que são secretados no duodeno após ser esterificado com glicina ou taurina. A fibra dietética captura parcialmente os ácidos biliares, reduzindo sua concentração no duodeno e diminuindo a digestibilidade das gorduras na dieta. Além disso, interfere na circulação entero hepática destes compostos, que são reabsorvidos no intestino para serem reconduzidos ao fígado. Por este motivo estimula a síntese de novo a partir do colesterol plasmático ou hepático que, indiretamente diminui a concentração plasmática e hepática. Por último, reduz a conversão em ácidos biliares secundários por fermentação colônica, que gera metabólitos procarcinogênicos relacionados com o aumento do risco de câncer colo-retal (HILL et al., 1975).

### 1.2.3.3 Consumo de alimentos como fonte de fibra dietética

O consumo de fibra nos países europeus encontra-se em torno de 20 gramas/pessoa/dia. Se for elevado para 30 gramas/pessoa/dia, seria o recomendado por nutricionistas e organizações sanitárias, enquadrada em uma dieta com menor quantidade de gordura animal (SAURA-CALIXTO et al., 1995).

A fibra se encontra em todos os alimentos vegetais. De acordo com Dreher (1995) um alimento com teor de 2 a 3% de fibra alimentar (FA) pode ser considerado uma boa fonte de fibra. No Brasil, a portaria nº27, da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, estabelece no regulamento técnico referente à informação nutricional complementar, que um alimento pode ser considerado fonte de FA quando apresentar no produto pronto 3 g/100 g (base integral) para alimentos sólidos e 1,5 g/100 ml (base integral) para líquidos (BRASIL, 1998). Produtos que possuem o dobro deste conteúdo são considerados alimentos com elevado teor de FA.

Os primeiros produtos de fibra que apareceram no mercado há mais de um século, como reguladores intestinais foram os cereais da marca Kellogg's, elaborados fundamentalmente a base de trigo e milho. A casca de trigo tem sido, até o momento, a matéria prima mais utilizada como concentrados de fibra e ingredientes para enriquecer os alimentos em fibra. Isto se deve as suas reconhecidas propriedades de regulação intestinal e a seu baixo preço. Os cereais, que são os vegetais de maior consumo na dieta humana, constituem a principal fonte de fibra para o organismo, apesar de serem deficientes em fibra solúvel. Os legumes, frutas e verduras contêm fibra de maior qualidade, com uma composição mais equilibrada incluindo altos percentuais de fração solúvel (SAURA-CALIXTO et al., 1995).

Paralelamente, começam a aparecer fibras alimentares obtidas a partir de frutas, onde a grande maioria apresenta um teor de fibra solúvel maior que a aveia (Quadro 2).

Nesse contexto, têm importância as fibras de leguminosas que por sua composição equilibrada, apresenta uma boa proporção de fibra solúvel.

Quadro 02 - Conteúdos de fibra (% matéria seca) em produtos de frutas e cereais. Adaptado de Saura-Calixto, 2006.

Concentrado de fibra	Fibra insolúvel (%)	Fibra solúvel (%)	Fibra total (%)
Polpa de Maçã	47,7	12,6	60,1
Polpa de limão	26,0	19,8	45,6
Casca de trigo	41,6	2,9	44,5
Casca de aveia	7,9	7,8	15,7
All- Bran	25,4	2,5	27,9
Quaker Oats	5,7	4,2	9,9

Não obstante, é previsível um incremento importante na utilização de frutas ou subprodutos do processamento de frutas para obter fibras de maior qualidade nutricional. Comparativamente, os fatores determinantes da maior qualidade das fibras de frutas com respeito aos cereais se resumem nos seguintes aspectos:

1. Composição mais equilibrada (maior percentual de fibra solúvel);
2. Menor quantidade de ácido fítico (sequestrante de minerais);
3. Maior capacidade de retenção de água;
4. Maior capacidade de inchamento;
5. Menor conteúdo calórico (menos proteína e amido);
6. Maior fermentabilidade colônica (efeito prebiótico);
7. Maior quantidade de compostos bioativos associados.

As fibras de cereais e frutas são completas, ou seja, todas elas têm uma estrutura que inclui paredes celulares e seus constituintes como celulose, hemicelulose e lignina. Também a este grupo pertencem as fibras de algas, de soja e de numerosas leguminosas que possuem uma estrutura complexa (SAURA-CALIXTO; JIMÉNEZ-ESCRIG, 2001).

#### 1.2.3.4 Fibra dietética antioxidante

Com o estudo de fibras em leguminosas e em alguns subprodutos vegetais observou-se pela primeira vez que tanto a fração insolúvel como a solúvel tinham certa quantidade de compostos polifenóis associados. Estes compostos mostravam um comportamento fisiológico em grande medida similar à própria fibra já que não eram digeríveis e fermentáveis no colo (SAURA-CALIXTO; BRAVO, 2001).

Os polifenóis extraíveis (PFE) solubilizam-se em grande parte em fluidos intestinais e podem ser absorvidos parcialmente no intestino delgado e fermentados no colo. Os polifenóis não extraíveis (PFNE) não se dissolvem e se degradam em pequena proporção por fermentação colônica. Um experimento com animais evidenciou que os PFE são biodisponíveis, enquanto que os PFNE são excretados quase totalmente, favorecendo a excreção de lipídeos, com efeitos positivos no trato intestinal e no metabolismo lipídico (MARTÍN-CARRÓN et al., 1999).

As propriedades fisiológicas e nutricionais de algumas frutas como fonte de fibra e compostos polifenóis associados, têm sido objeto de estudo em várias pesquisas, avaliando tanto a atividade antioxidante como os potenciais efeitos na saúde (LARRAURI et al., 1996). Em algumas frutas foram encontradas fontes de fibra com uma elevada atividade antioxidante como, por exemplo, manga, abacaxi, limão, goiaba e uvas. Simultaneamente, foi determinada a atividade antioxidante de algumas fibras comerciais tais como *All Bran Plus* (Kellogg SA, Espanha), Quaker White Oats (*Quaker Trading Ltd*, Reino Unido) e fibra de frutas (maçã e laranja) do mediterrâneo (*Indulerida SA*, Espanha). Os resultados foram uma atividade antioxidante nula ou desprezível. Os valores de atividade antioxidante referidos nestes trabalhos indicam que estas fibras podem ser usadas como ingrediente alimentar, prevenindo a oxidação de alimentos bem como uma marca diferencial entre as existentes no mercado que possuem baixa atividade antioxidante (SAURA-CALIXTO, 2003).

A partir destes resultados, um novo conceito de fibra alimentar antioxidante (*Antioxidant Dietary Fiber – AODF*) foi definido para diferenciar os materiais com uma elevada atividade antioxidante daqueles que não possuem (SAURA-CALIXTO, 1998). A fibra antioxidante pode ser definida como aquela que contém quantidades apreciáveis de antioxidantes naturais associados à fibra, com as seguintes características (SAURA-CALIXTO, 2003):

1. O conteúdo de fibra deve ser superior a 50% com base na matéria seca;
2. Um grama de AODF deve possuir uma capacidade de inibição da oxidação lipídica equivalente, ao mínimo de 200 mg de vitamina E (método de tiocianato) e uma capacidade de sequestro de radicais livres equivalentes a um mínimo de 50 mg de vitamina E (método DPPH);
3. A atividade antioxidante deve ser uma propriedade intrínseca, derivada de constituintes naturais de material vegetal (solúveis em fluídos digeríveis) adicionados ou não de antioxidantes por tratamentos enzimáticos e químicos.

Pérez-Jiménez (2007) encontrou em seu estudo com uva um valor de fibra dietética total de 77% (solúvel + insolúvel) e uma elevada atividade antioxidante associada à fibra determinada por vários métodos associados aos polifenóis e taninos condensados, podendo ser considerada uma fibra antioxidante de uva (FAU). A mesma autora cita que a FAU apresenta uma elevada atividade antioxidante quando comparada, por exemplo, com outros alimentos de origem como a laranja e ameixa que possuem respectivamente para o método ORAC 51,7 e 79,1  $\mu\text{mol trolox/g}$  de matéria seca (WANG et al., 1996).

### 1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C. R. A. **Qualidade e atividade antioxidante total de pedúnculos de clones comerciais de cajueiro-anão precoce**. 2007. 111 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

AGOSTINI-COSTA, T. DA S.; LIMA, A.; LIMA, M. V. Determinação da tanino em pedúnculo de caju: método da vanilina *versus* método do butanol ácido. **Química Nova**, v.26, n.5, p. 763-765, 2003.

AGUIAR, L.P.; FIGUEIREDO, R.W. de; ALVES, R.E.; MAIA, G.A.; SOUZA, V.A.B. Caracterização física e físico-química de frutos de diferentes genótipos de bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 28, 423-428, 2008.

AGUIAR, L. P.  **$\beta$ -caroteno, vitamina C e outras características de qualidade de acerola, caju e melão em utilização no melhoramento genético**. 2001. 87f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

AGUIAR FILHO, S. P. de; BOSCO, J.; ARAÚJO, I. A. **A mangabeira (*Hancornia speciosa*): domesticação e técnicas de cultivo**. João Pessoa: EMEPA, 1998. 26p. (EMEPA. Documentos, 24).

AJAIKUMAR, K. B. et al. The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L. (pomegranate) methanolic extract. **Limerick**, v.96, n. 1/2, p.171-176, 2005.

ALEXANDRE, D.; CUNHA, R. L.; HUBINGER, M. D. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24, n. 1, p.114-119, 2004.

ALVES, R. E. Cultura da acerola. In: DONADIO, L. C.; MARTINS, A. B. G.; VALENTE, J. P. **Fruticultura tropical**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. p.15-37.

ALVES, R. E. **Qualidade de acerola submetida a diferentes condições de congelamento, armazenamento e aplicação pós-colheita de cálcio**. 1999. 117p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; RUFINO, M. do S. M. Prospecção da atividade antioxidante e de compostos com propriedades funcionais em frutas tropicais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 19., Cabo Frio. **Palestras e resumos...** Cabo Frio : SBF, 2006.

ALVES, R. E., CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. Postharvest physiology of Acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) fruits: maturation changes, respiratory activity and refrigerated storage at ambient and modified atmospheres. **Acta Horticulturae**, v.370, p.223-230, 1995.

ALVES, R.E. et al. Antioxidant activity measurement in tropical fruits: a case study with acerola. **Acta Horticulturae**. v.773, p.299-305, 2008,

ALVES R.E. et al. Camu-Camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh): a rich natural source of vitamin C. **Proceeding Interamerican Society Tropical Horticultural**, v.46, p. 11-13, 2002

ALVES, R. E. et al. **Produção de fruteiras nativas**. Fortaleza: Instituto Frutal, 2005. p. 213.

ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V.U. **As frutas silvestres brasileiras**. 2. ed. Rio de Janeiro: Edições Globo. 1988. 203p.

ANDRADE-WARTHA, E. R. S. **Propriedades antioxidantes de clones do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.):** efeito sobre a lipoperoxidação e enzimas participantes do sistema antioxidante de defesa do organismo animal. 2007. 111p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

**ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, p. 1-136, 2008.

ARAÚJO, F. P. de; SANTOS, C. A. F. Substituição de copa do umbuzeiro por algumas espécies do gênero *Spondias*. In: REUNIÃO NORDESTINA DE BOTÂNICA, 28., Petrolina. 2004. Petrolina. [**Anais...**]. Petrolina: SBB; Embrapa Semi-Árido; UNEB, 2004. 1 CD-ROM. Resumo.

ARAÚJO, J. P. P de; SILVA, V. V. da. **Cajucultura**: modernas técnicas de produção. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1995. 292p.

ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case **Trends in Food Science and Technology**, v.11, p. 419-421, 2000.

ARRUDA, G. M. T.; CALBO, M. E. R. Efeitos da inundação no crescimento, trocas gasosas e porosidade radicular da carnaúba (*Copernicia prunifera* (Mill.) H.E. Moore). **Acta Botanica Brasílica**, p. 219-224, 2004.

ARTS, M. J. T. J. et al. Antioxidant Capacity of reaction products limits the applicability of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) assay. **Food and Chemical Toxicology**, v.42, n.1, p. 45-49, 2004.

ARUOMA, O. I. Free radicals, antioxidants and international nutrition. **Asia and Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 8, n. 1, p. 53-63, 1999.

ARUOMA, O. I. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods **Mutation Research**, v.9, n.20, . p. 523-24, 2003

AUGUSTIN, A.; UNNITHAN, V. K. G. An attempt on maturity of cashew apple. **India Cashew Journal**, Cochin, v.14, n.4, p-9-11, 1981.

AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo : Nobel, 1993. 114p.

BAHIA. Secretaria de Agricultura. **Inventário de plantas medicinais do Estado da Bahia**. Salvador, 1979. p.679-680.

BARNABÉ, D.; VENTURINI FILHO, W. G. Características físico-químicas e sensoriais de refrigerantes de acerola produzidos a partir de suco desidratado e extrato seco da fruta. **Journal of Food Technology**, v. 7, jan./jun. p. 69- 76, 2004.

BARROS, L. M. Botânica, origem e distribuição geográfica. In: ARAÚJO, J. P. P. de; SILVA, V. V. da. **Cajucultura**: modernas técnicas de produção. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1994. p.53-70.

BARROS, L. M. (Ed.) **Caju: produção**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. 148p. (EMBRAPA. Frutas do Brasil, 30)

BARROS, L. M. et al. **A cultura do cajueiro-anão**. Fortaleza: EPACE, 1984. 67p. (EPACE. Documentos, 3).

BARROS, L. M. et al. **Recomendações técnicas para a cultura do cajueiro anão-precoce**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1993. 65p. (EMBRAPA-CNPAT. Circular Técnica, 1).

BASTOS, M. S. R.; FEITOSA, T.; OLIVEIRA, M. E. B de. Análise qualitativa e tecnológica da agroindústria de polpa de fruta na região Nordeste. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 3. p. 359-364, 1999.

BEECHER, G. R. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. **Journal of Nutrition**. Bethesda, v. 133, p. 3248-3254, 2003.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p.70-76, 1996.

BERSET, C.; CUVELIER, M. E. **Sciences des aliments**. 1996. v.16, 219p. FALTA LOCAL E EDITOR

BEZERRA, G. de S. A. **Conservação de polpa de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) por métodos combinados**. Fortaleza, 2003, 139p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os princípios antioxidantes da dieta. **Revista Nutrição**, Campinas, v.12, n.2, p.123-130, 1999.

BLEINROTH, E. W. Matéria-prima. In: Medina, J. C. **Frutos tropicais: manga**. São Paulo: ITAL, 1981. p.243-292.

BOMPADRE, S. et al. Improved FIA-ABTS method for antioxidant capacity determination in different biological samples. **Free Radical Research**, v. 8, n. 38, p. 831-838, 2004.

BOSCO, J. et al. **A cultura da cajazeira**. João Pessoa: EMEPA, 2000. 29p. (EMEPA. Documentos, 28).

BOX, J. D. Investigation on the folin-ciocalteau phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters. **Water Research**, v.17, p. 511-525, 1983.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste**: especialmente do Ceará. 4. ed. Natal: Universitária UFRN, 1960. 540 p.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste**: especialmente do Ceará. Mossoró : Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 1976. 540 p. Edição comemorativa ao II Congresso Brasileiro de Florestas Tropicais.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. **Regulamento técnico referente à informação nutricional complementar**. Disponível em < [http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/27\\_98.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/27_98.htm) >. Acesso em: 10 maio 2007.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**. New York, v.56, n.11, p.317-333, 1998.

BRAVO, L.; ABIA R.; SAURA-CALIXTO, F. Polyphenols dietary fiber associated compounds. Comparative study on in vivo and in vitro properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1481-1487, 1994 .

BRAVO, L.; MAÑAS, E.; SAURA-CALIXTO, F. Dietary non-extractable condensed tannins as indigestible compounds; effects on faecal weight, an protein and fat excretion. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 63, p. 63-68, 1993.

BRUNINI, M. A.; MACEDO, N. B.; COELHO, C. V.; SIQUEIRA, G. F. Caracterização física e química de acerolas provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 486-489, 2004.

BUCKERIDGE, M.S.; TINÉ, M.A.S. Composição polissacarídica: estrutura da parede celular e fibra alimentar. In: LAJOLO, F.M. et al. **Fibra dietética em Iberoamérica: tecnología y salud**. São Paulo: Varela, 2001. p.43-60.

BUENO, S. M.; LOPES, M. do R. V.; GRACIANO, R. A. S.; FERNANDES, E. C. B.; CRUZ, C. H. G. Avaliação da qualidade de Polpas de Frutas Congeladas. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n.2, p.121-126, 2002.

CALZAVARA, B. B. G. **As possibilidades do açázeiro no estuário amazônico**. Belém: FCAP, 1972. 103 p. (Boletim da Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, 5).

CALZAVARA, B. B. G. **Fruteiras**: abieiro, abricozeiro, bacurizeiro, biribazeiro, cupuacuzeiro. Belém: IPEAN, 1970. 84p. (IPEAN. Série: Culturas da Amazônia v.1, n.2).

CAMPOS, C. O. **Industrialização caseira do umbu**: uma nova perspectiva para o semi-árido. Salvador: EBDA, 1994. 13 p. (EBDA. Circular Técnica, 02)

CAMPOS, F. A. M.; PECHINIK, E.; SIQUEIRA, R. da. **Valor nutritivo de frutas brasileiras**: trabalhos e pesquisas. Rio de Janeiro: Instituto de Nutrição, 1951. v.4, p.61-171.

CAO, G. et al. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruits and vegetables. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, p. 1081-1087, 1998.

CARPENTIERI-PÍPOLO, V. et al. Novas cultivares de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.): UEL 3 (Dominga) - UEL 4 (Lígia) – UEL 5 (Natália). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, jan. p. 124-126, 2002.

CARVALHO, F. P. A. de. **Eco-eficiência na produção de pó e cera de carnaúba no Município de Campo Maior (PI)**. 2005, 157p. Tese (Mestrado em desenvolvimento e meio-ambiente) - Universidade Federal do Piauí, Teresina.

CARVALHO, J. B. de M. **Ensaio sobre a carnaubeira**. Rio de Janeiro: Serviço de Informação Agrícola, 1942.

CARVALHO, J. E. U. de; MÜLLER, C. H. **Propagação do bacurizeiro, *Platonia insignis* Mart.** Belém: EMBRAPA – CPATU, 1996. 13p. (Mimeografado)

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras.** Colombo: Embrapa Florestas, 2006. v. 2, 627 p.

CASTRO, A. C. R.; ALVES, R. E.; RUFINO, M. S. M. Origem, distribuição e recursos genéticos de fruteiras nativas. In: ALVES, R. E.; Souza, F. X. de; CASTRO, A. C. R. de; RUFINO, M. S. M.; FERREIRA, E. G. (Org.). **Produção de fruteiras nativas.** Fortaleza: Instituto Frutal, 2005. p. 7-18.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia.** 6. ed. Belém: CNPq/ Museu Paraense Emílio Goeldi, 1996. 279 p.

CERON, C. S. et al. Atividade antioxidante dos extratos de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar da Universidade Estadual de Maringá**, v.11, 2007. Suplemento 1. Resumos do Congresso de Farmácia de Maringá, 1, 2006.

CHEESEMAN, K. H.; SLATER, T. F. Uma introdução à bioquímica dos radicais livres. In: CHEESEMAN, K.H., SLATER, T.F. (Ed.). **Radicais livres em medicina.** Rio de Janeiro: Interlivros, 1996. p.1-13.

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

CHO, S.; DREHER, M. **Handbook of dietary fiber.** New York: M. Dekker, 2001. 896p.

CLEMENT, C. R.; VENTURIERI, G. A. Bacuri e cupuassu. In: NAGY, S.; SHAW, P. E.; WARDOWISKI, W. G. (Ed.) **Fruits of tropical and subtropical origin: composition, properties and uses.** Lake Alfred: Florida Department of Citrus, 1990. p.178-192.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil.** Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1974. v. 5, p. 264-269.

CORRÊA, M. P. Umbuzeiro. In: PIO CORREIA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1978. v. 6, p. 336.

COSTA, N. P. da; LUZ, T. L. B.; GONÇALVES, E. P.; BRUNO, R. de L. A. Caracterização físico-química de frutos de umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Câm.), colhidos em quatro estádios de maturação. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.20, n.2, p.65-71, 2004.

COSTA, L. C. et al. Viabilidade de Sementes de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC): Avaliação da Vitalidade dos Tecidos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.3, dez. p. 532-534, 2003.

COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. (Ed.). **Alimentos funcionais**. Viçosa: Ed. Folha de Viçosa, 2006. 202p.

COYNE, T. et al. Evaluation of brief dietary questions to estimate vegetable and fruit consumption : using serum carotenoids and red-cell folate. **Public Health Nutrition**, v. 8, n.3, p.298-308,2005.

CRESPO, M. de F. V. **Estratégia de desenvolvimento do arranjo produtivo local da carnaúba em Ilha Grande de Santa Isabel (PI)** : área de proteção ambiental Delta do Parnaíba. 2007. 115f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Universidade Federal do Piauí, Teresina.

CRISÓSTOMO, R. B. B. **As frutas silvestres no contexto da biodiversidade do litoral cearense**. 1997. 24f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. 3. ed. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1985. 599p.

CUNHA, R. M. S. da. **Filogenia Molecular em *Anacardium* (Anacardiaceae): utilização do gene da subunidade pequena do RNA ribossômico**. 2002. 78f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

DALPONTE, J. C.; LIMA, E. de S. Disponibilidade de frutos e a dieta de *Lycalopex vetulus* (Carnívora – *Canidae*) em um cerrado de Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**. São Paulo, v.22, n.2, p. 325-332, 1999. Suplemento

DE LA FUENTE, M. Effects of antioxidants on immune system aging. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, p. 5-8, 2002. Supplement 3 .

DELL'AGLI, M.; BUSCIALÀ, A.; BOSISIO, E. Vascular effects of wine polyphenols. **Cardiovascular Research**, Houston, v. 63, p 593-602, 2004.

DENARDI, L.; MARCHIORI, J. N. C. Anatomia ecológica da madeira de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 2, p. 119-127, 2005.

DENG, D. et al. Methylated polyphenols are poor chemical antioxidants but can still effectively protect cells from hydrogen peroxide-induced cytotoxicity. **FEBS Letters**, v. 580, p. 5247-50, 2006.

DE PEE, S. et al. Orange fruit is more effective than are dark-green leafy vegetables in increasing serum concentrations of retinol and beta-carotene in schoolchildren in Indonesia. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.68, p.1058-1067, 1998 .

DIONELO, S. B.; BASTA, F. Informações sobre os caracteres quantitativos e qualitativos dos frutos e sementes de *Kielmeyera coriacea* Mart. **Brasil Florestal**, Rio de Janeiro, n.44, p.75-84, 1980.

DONADIO, L. C. **Dicionário das frutas**. Jaboticabal, 2007. 300 p.

DONADIO, L. C. Frutíferas nativas da América Tropical. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1., 1992, Cruz das Almas. **Anais...** Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMF, 1993. p.9-12.

DONADIO, L. C. Introdução e conservação de recursos genéticos de fruteiras. In: Ferreira, F.R. **Recursos genéticos de espécies frutíferas no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. p.40-41.

DONADIO, L. C. **Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg.** Jaboticabal: FUNEP, 2000. 55 p.

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: Novos Talentos, 2002. 288p.

DONADIO, L. C.; NACHTIGAL, J. C.; SACRAMENTO, C. K. **Frutas exóticas**. Jaboticabal: Funep, 1998. 279p.

DREHER, M. L. Food industry perspective: functional properties and food uses of dietary fiber. In: KRITCHEVSKY, D.; BONFIELD, C. **Dietary fiber in health & disease**. Minnesota : Eagan Press, 1995. p. 467-74.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n.2, p. 446-452, 2006.

DUARTE, O.; LUDDERS, P.; HUETE, M. Extending storage life of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora Berg*) fruits. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14., 1996, Curitiba. **Resumos...** Curitiba : SBF, 1996. p. 556

DUQUE, J. G. **O Nordeste e as lavouras xerófilas**. 3.ed. Mossoró : Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 1980. 316p.

EL-AGAMEY, A. et al. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/prooxidant properties. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 430, p. 37-48, 2004.

ENGLYST, H.N. et al. Nonstarch polysaccharide consumption in four Scandinavian populations. **Nutrition Cancer**, v.4, p.50-60, 1982.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1994. 652p.

FALADE, J. A. Varietal differences in tree size and yield of cashew (*Anacardium occidentale* L.) in Nigeria. **Journal of Plantation Crops**, Kerala, v.9, n.2, p.77-83, 1981.

FALCÃO, M. de A. **Aspectos fenológicos, ecológicos e de produtividade de algumas fruteiras cultivadas na Amazônia**. 2 ed. Manaus, : UFAM, 1993. 97p.

FERREIRA, E. G. et al. Frutíferas. In: SAMPAIO, E. V. S. B. et al. **Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial**. Recife: Associação Plantas do Nordeste, 2005. p. 49-100.

FERREIRA, F. R.; FERREIRA, S. A. do N.; CARVALHO, J. E. U. de. Espécies frutíferas pouco exploradas, com potencial econômico e social para o Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.9, p.11-22, 1987. Número especial.

FERREIRA, J. C.; CAVALCANTI-MATA, M. E. R. M.; BRAGA, M. E. D. Análise sensorial da polpa de umbu submetida a congelamento inicial em temperaturas criogênicas e armazenadas em câmaras frigoríficas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.2, n.1, p.7-17, 2000.

FERREIRA, M. B. **Frutos comestíveis do Distrito Federal**. III. Pequi, mangaba, marolo e mamãozinho. **Cerrado**, Brasília, DF, v.5, n.20, p.22-25, 1973.

FIGUEIREDO, R. W. **Qualidade e bioquímica de parede celular durante o desenvolvimento, maturação e armazenamento de pedúnculos de cajueiro-anão precoce CCP 76 submetidos à aplicação pós-colheita de cálcio**. 2000. 154f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

FILGUEIRAS, H. A. C., MOURA, C. F. H, ALVES., R. E. cap.5. Cajá (*Spondias mombin*) In: **Caracterização de frutas nativas da América Latina**. Jaboticabal: Funep. 66p. Série Frutas Nativas, 9, 2000.

FOLEGATTI, M. I. S. et al. Aproveitamento industrial do umbu: Processamento de Geléia e Compota. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras. v.27, n.6, p.1308-1314, 2003.

FONSECA, E. T. da. **Frutas do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Livro, 1954. p.77-78.

FONSECA, H.; NOGUEIRA, J. N.; MARCONDES, A. M. S. Teor de ácido ascórbico e beta-caroteno em frutas e hortaliças brasileiras. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v.19, p.9-16, 1969.

- FOTI, M. C.; DASQUINO, C.; GERACI, C. Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH radical in alcohol solutions. **Journal of Organic Chemistry**, v. 69, p. 2309-2314, 2004 .
- FRANKEL, E. N.; MEYER, A. S. Review. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1925-1941, 2000. .
- FREIRE, E. S.; SOUZA, S. M. M. de.; MENDONÇA, M. A. S. Caracterização de frutas nativas da América Latina: **Açaí**. Jaboticabal: Funep. (Série Frutas Nativas). 3-6, 2000.
- FREITAS, F. de O.; MEDEIROS, M. B. **Conservação *in situ* de recursos fitogenéticos**. In: MARIANTE, A. da S.; SAMPAIO, M. J. A.; INGLIS, M. C. V. **Informe nacional sobre a situação dos recursos fitogenéticos para a alimentação e a agricultura do Brasil**. Brasília, DF, 2008. p. 21-29.
- GALDINO, P. O. et al. Avaliação da estabilidade da polpa de umbu em pó. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.5, n.1, p.73-80, 2003.
- GIACOMETTI, D. C. Domesticação de espécies frutíferas da Amazônia. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 35., 1984, Manaus. **Anais...** Brasília, DF : IBAMA., 1990. p.117-124.
- GIACOMETTI, D. C. Recursos genéticos de fruteiras nativas do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1992, Cruz das Almas. **Anais ...** Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMPF, 1993. p. 13-27.
- GIUGLIANO, D.; CERIELLO, A.; PAOLISSO, G. Diabetes mellitus, hypertension and cardiovascular disease: which role for oxidative stress? **Metabolism**, p. 363-368, 1995.
- GODOY, H.T.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Occurrence of cis-isomers of provitamin A in Brazilian vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 3081-3086, 1998.

- GONZÁLEZ SAN JOSÉ, M. J.; MUÑIZ RODRÍGUEZ, P.; VALLS BELLÉS, V. **Actividad antioxidante de la cerveza:** estudios in vitro e in vivo Madrid : Centro de Información Cerveza y Salud, 2001,
- GORINSTEIN, S. et al. Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, New York, v.10, p.367-371, 1999.
- GORINSTEIN, S. et al. The effects of diets, supplemented with either whole persimmon or phenol-free persimmon, on rats fed cholesterol. **Food Chemistry**, Barking, v.70, p. 303-308, 2000.
- HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 16, p.33-50, 1996.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 2.ed. Oxford: Clarendon Press, 1989.
- HALLIWELL, B. et al. The characterization of antioxidants. **Food Chemical Toxicology**, v.33, n.7, p.601-617, 1995.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 2.ed. Oxford: Clarendon Press, 1989.
- HASSIMOTTO, N. M. A.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.53, n.8, p.2928-2935, 2005.
- HEIM, K. E. et al. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal Nutricional Biochemistry**, v.13, p.572-584, 2002.
- HENDERSON, A.; GALEANO, G. **Euterpe, prestoca, and neonicholsonia** (Palmae: Euterpeinae). New York: New York Botanical Garden, 1996. 90p. (Flora Neotropica, 72).
- HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. **Palms of the Americas**. Princeton: Princeton University Press, 1995.

- HENSLEY, K. et al. New perspectives on vitamin E: gammatocopherol and carboxyelthylhydroxychroman metabolites in biology and medicine. **Free Radical Biology and Medicine**, v.36, n.1, p.1–15, 2004.
- HILL, M.J. et al. Faecal bile-acids and clostridia in patients with cancer of the large bowel. **Lancet**, v.1, p.535-539, 1975.
- HIPSLEY, E. H. Dietary ‘fiber’ and pregnancy toxemia. **British Medical Journal**, v.2, p.420-422, 1953.
- HU, C. C. et al. Antioxidant activity of fermented soybean extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.52, p.5735-5739, 2004.
- HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.1841-56, 2005 .
- IKAWA, M. et al. Utilization of Folin-Ciocalteu reagent for the detection of certain nitrogen compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.1811-15, 2003.
- INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES. **Genetic resources of tropical and sub-tropical fruits and nuts** (Excluding *Musa*). Rome: FAO, 1986. 162p.
- JACOB, R. A.; BURRI, B. Oxidative damage and defense. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.63, p.985-990, 1996.
- JIMÉNEZ-ESCRIG, A. et al. Guava Fruit (*Psidium guajava* L.) as a New Source of Antioxidant Dietary Fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.5489-5493, 2001.
- JOHNSON, D. The botany, origin and spread of the cashew (*Anacardium occidentale* L.). **The Journal of Plantation Crops**, Kerala, v.1, n.2, p.1-7, 1973.
- JUDD, W. S.; et al. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland: Sinauer Associates, 1999. 464p.

KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; HEINONEN, M. Berry phenolics and their antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v.49, p.4076-4082, 2001.

KRITCHEVSKY, D.; BONDFIELD, C. **Dietary fiber in health and disease**. Minnesota: Eagan Press, 1995. 486p.

KUSKOSKI, E.M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

LABRINEA, E. P.; GEORGIU, A. Stopped-flow method for assessment of pH and timing effect on the ABTS total antioxidant capacity assay. **Analytica Chimica Acta**, v.526, p.63-68, 2004.

LAGO, E. S.; GOMES, E.; SILVA, R. Produção de geléia de jabolão (*Syzygium cumini* Lamarck): processamento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 26, 4, 847-852, 2006.

LAJOLO, F. M. Alimentos funcionais: uma visão geral. In: DE ANGELS, R. C. **A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidades degenerativas**. São Paulo: Atheneu, 2005. p.175-181.

LARRAURI, J. A. et al. Measurement of Health-Promoting properties in fruit dietary fibres: antioxidant capacity, fermentability and glucose retardation index. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.71, p.515-519, 1996.

LEDERMAN, I. E. et al. **Mangaba (*Hancornia speciosa*)**. Jaboticabal: São Paulo, 2000. 35p. (Série frutas Nativas).

LEGRAND, D. C.; KLEIN, R. Mirtáceas. In: REITZ, P.R. **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1978. v. 17-22, 876 p.

LEON, J. **Botânica de los cultivos tropicales**. 2. ed. São José: IICA, 1987. 445p

LIMA, V. de P. M. S. **A Cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil**. Fortaleza: BNB. ETENE, 1988. 486p.

LOBO, A.R.; LEMOS SILVA, G.M. de. Resistant starch and its physicochemical properties. **Revista Nutrição**, Campinas, v.16, n.2, p. 219-226, 2003.

LÓPEZ, M. et al. Study of phenolic compounds as natural antioxidants by a fluorescence method, *Talanta*, v.60, p. 609-616, 2003.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 3. ed. Nova Odessa : Instituto Plantarum, 2000. v.1, 368 p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 2.ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 1998. v. 2, 228 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002. 325 p.

LORENZI, H. et al. **Frutas Brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura)**. São Paulo : Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006. 672p.

LORENZI, H. et al. **Palmeiras no Brasil : nativas e exóticas**. Nova Odessa : Ed. Plantarum, 1996.

LOURENÇO, I. P. **Potencial de utilização de frutos de genótipos de muricizeiros cultivados no litoral do Ceará**. Tese - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brazil, 2008, 98 p.

MACEDO, M. **Contribuição ao estudo de plantas econômicas no Estado do Mato Grosso**. Cuiabá: UFMT, 1995. 70p.

MAEDA, R. N. et al. Determinação da formulação e caracterização do néctar de camu (*Myrciaria dubia* McVaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.1, p.70-74, 2006.

MAEDA, R. N. et al. Estabilidade de ácido ascórbico e antocianinas em néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.2, p.313-316, 2007.

MAGALHÃES, M. M.; BARROS, R. S.; FINGER, F. L. Changes in structural carbohydrates in developing fruit of *Myrciaria jaboticaba*. **Scientia Horticulturae**, Netherlands, v. 66, n. 66, p. 17-22, 1996.

MAIA, G. A.; OLIVEIRA, G. S. F. de O.; FIGUEIREDO, R. W. **Curso de especialização em tecnologia de processamento de sucos e polpa tropicais: matérias-primas**. Brasília, DF : ABEAS, 1998. v.2, p.219-224.

MANICA, I. **Frutas nativas, silvestres e exóticas 1: técnicas de produção e mercado: abiu, amora-preta, araçá, bacuri, biriba, carambola, cereja-do-rio-grande, jaboticaba**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2000. 327p.

MANICA, I. Mangaba. In: \_\_. **Frutas nativas, silvestres e exóticas 2: técnicas de produção e mercado**. Feijoa, figo-da-índia, fruta-pão, jaca, lichia, mangaba. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2002. p.459-540.

MANTLE, D. et al. Comparison of methods for determination of total antioxidant status: application to analysis of medicinal plant essential oils. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.121, p.385-91, 1998.

MARTÍN-CARRÓN, N. et al. Reduction in serum total and LDL cholesterol concentrations by a dietary fiber and polyphenol-rich grape products in hypercholesterolemic rats. **Nutrition Research**, v.19, n.9, p.1371-81, 1999.

MARTINS, M. L. A. et al. Características de doce em massa de umbu verde e maduro e aceitação pelos consumidores. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.42, n.9, p.1329-1333, 2007.

MARTINS, C. G. M.; LORENZON, M. C. A.; BAPTISTA, J. L. Eficiência de tipos de polinização em acerola. **Caatinga**, Mossoró, v.12, n. 1, p. 55-59, 1999.

MATSUURA, F. C. A. U.; ROLIM, R. B. Avaliação da adição de suco de acerola em suco de abacaxi visando à produção de um "blend" com alto teor de vitamina C. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, abril, p. 138-141, 2002.

MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C.; SILVA, L. F. M. Suco de acerola microfiltrado: avaliação da vida de prateleira. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n. 2, abr./jun. p.293-297, 2004.

MATTIETTO, R. de A.; SOARES, M. da S.; RIBEIRO, C. C. Caracterização física e físico-química do fruto de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) provenientes de Belém-PA. In: Simpósio Brasileiro sobre a cultura da Mangaba, 2003, Aracajú. **Anais...** Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003.

MATTOO, A. K. et al. Chemical changes during ripening and senescence. In: PANTASTICO, E. B. **Postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables.** Westport: AVI, 1975. p.103-127.

MAZZA, G. **Functional foods: biochemical and processing aspects.** Lancaster : Technomic, 1998. 480p.

MCCANN, M.C.; ROBERTS, K. Architecture of the primary cell wall. In: **The cytoskeletal basis of plant growth and form.** , London, : Academic Press, 1991. p.109-129.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. O antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.36, n.1, p.1-11, 2002

MENDES, B. V. **Umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.):** importante fruteira do semi-árido. Mossoró: ESAM, 1990. 66 p. (ESAM. Coleção Mossoroense, Série C - v. 554).

MENDONÇA, R. U. de. Qualidade e Potencial de Cajás (*Spondias Mombin* L.) Oriundos da Região Meio-Norte do Brasil. Monografia - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brazil, 2004, 41 p.

METIN DONMA, M.; DONMA, O. **Phytonutrient and children: the other side of the medallion.** **Food Research International**, v.38, p.681-92, 2005.

MILLER, H. E. A simplified method for the evaluation of antioxidant. **Journal American Oil Society**, v.48, p.91, 1971.

MILLER, N. J. et al. 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.

MITCHELL, J. D.; MORI, S. A. **The cashew and its relatives** (*Anacardium*: Anacardiaceae). New York: The New York Botanical Garden, 1987. 76p. (Memoirs of The New York Botanical Garden, 42).

MOREIRA, M. A. B. et al.. Cajá (*Spondias mombin* L.) In: VIEIRA NETO, R.D. (Ed.). **Frutíferas potenciais para os tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. 216p.

MOURA, C. F. H.; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ARAÚJO, N. C. C.; ALMEIDA, A. S. Quality of fruits native to latin america for processing: mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). **Acta Horticulturae**, Leuven. v.2, n.575, p.549-554, 2002.

MOURA, C. F. H. **Armazenamento de pedúnculos de cajueiro-anão precoce BRS 189, CCP 76, END 183 e END 189 sob diferentes temperaturas e atmosferas**. 2004. Tese (Doutorado em Agronomia/ Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

MOURA, C. F. H.; ALVES, R.E.; FIGUEIREDO, R.W. de.; PAIVA, J.R. Avaliações físicas e físico-químicas de frutos de clones de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.), Revista Ciência Agronômica. 38, 52-57, 2008.

MOURÃO, K. S. M.; BELTRATI, C. M. Morfologia dos frutos, sementes e plântulas de *Platonia insignis* Mart (*Clusiaceae*). I. Aspectos anatômicos dos frutos e sementes em desenvolvimento. **Acta Amazônica**, Manaus, v.25, n.1/2, p.11-31, 1995.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, Barking, v.72, p.145-171, 2001.

MUKHOPADHYAY, S.; LUTHRIA, D. L.; ROBBINS, R. J. Optimization of extraction process for phenolic acids from cohosh (*Cimicifuga racemosa*) by pressurized liquid extraction. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 86, p.156-162, 2006,

NAKIMI, M. Antioxidants/antimutagens in food. **CRC- Critical Review in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v.29, p.273-300, 1990.

NASS, L. L.; WALTER, B. M. T.; CORADIN, L.; CIAMPI, A. Y. Estado da diversidade. In: MARIANTE, A. da S.; SAMPAIO, M. J. A.; INGLIS, M. C. V. **Informe nacional sobre a situação dos recursos fitogenéticos para a alimentação e a agricultura do Brasil**. Brasília, DF, 2008. p.13-19.

NAZARÉ, R. F. R. de. **Produtos agroindustriais de bacuri, cupuaçu, graviola e açaí, desenvolvidos pela Embrapa Amazônia Oriental**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. 27p. (Embrapa Amazônia Oriental, 41).

NELSON, A. M. Defining high fiber ingredient terminology. In: NELSON, A.L. **High fiber ingredients**. St Paul : Eagan Press, 2002. cap.1, p.1-28.

NEVES, O. S. C.; CARVALHO, J. G. de. **Tecnologia da produção do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.)**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, Pró-Reitoria de Extensão, 2005.

NOGUEIRA, O. N.; MULLER, A. A.; HOMMA, A. K. O. Possibilidades de produção de frutos de açaizeiros em área de terra firme no Estado do Pará. In: \_\_\_\_\_. **Contribuição ao desenvolvimento da fruticultura na Amazônia**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2006. p. 91-97.

ODIN, A. P. Vitamins as antimutagens: advantages and some possible mechanisms of antimutagenic action. **Mutation Research**, Amsterdam, v.386, n.1, p.39-67, 1997.

OLIVEIRA, M. S. P. de; FERNANDES, T. S. D. Aspecto da floração do açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) nas condições de Belém-PA. In: Congresso Nacional de Botânica, 44, São Luís, 1993. **Resumos...**, São Luís: SBB, 1993. p.159.

OLIVEIRA, V. H. Cultivo do cajueiro anão precoce. In: OLIVEIRA, V. H. (Ed.). **Sistema de produção**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. 40p.

OLIVEIRA, A. L. de., BRUNINI, M. A., SALANDINI, C. A. R., BAZZO, F. R. **Caracterização tecnológica de jabuticabas 'sabará' provenientes de diferentes regiões de cultivo**. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 25, n. 3, p. 397-400, 2003.

OSMAN, A. M.; WONG, K. K. Y.; FERNYHOUGH, A. ABTS radical-driven oxidation of polyphenols: isolation and structural elucidation of covalent adducts. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.346 p. 321-329, 2006.

OU, B. et al. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.3122-3128, 2002 .

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.

PACKER, L.; HIRAMATSU, M.; YOSHIKAWA, T. **Antioxidant food supplements in human health**. San Diego : Academic Press, 1999. 550p.

PELÚZIO, M. do C. G.; OLIVEIRA, V. P. Vitaminas ntioxidantes. In: COSTA, N. M. B.; ROSA, C. de O. B. **Alimentos funcionais**. Viçosa: Folha de Viçosa, 2006. 202p.

PENTEADO, M. V. C. **Vitaminas: Aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. Barueri: Manole, 2003. 612p.

PEREIRA, J. O. P. **O Papel de abelhas do gênero *Centris* na polinização e sucesso reprodutivo do muricizeiro (*Byrsonima crassifolia*, L.)**. 2001. 59f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

PEREIRA, E. A.; QUEIROZ, A. J. de M.; FIGUEIRÊDO, R. M. F. de. Massa específica de polpa de açaí em função do teor de sólidos totais e da temperatura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande v.6, n.3, p.526-530, 2002.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J. **Metodología para la evaluación de ingredientes funcionales antioxidantes: efecto de fibra antioxidante de uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos**. 2007. 244p. Tesis (Doctoral) - Programa de Doctorado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

PETERSON, J.; DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, New York, v. 18, n. 12, p. 1995-2018, 1998.

PETINARI, R. A.; TARSITANO, M. A. A. Análise econômica da produção de acerola para mesa, em Jales-SP: um estudo de caso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, agos. p. 411-415, 2002.

PINELO, L. et al. Solvent effect on quercetin antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v.88, n.2, p.201-207, 2004.

PINTO, G. C. P. Recursos genéticos de fruteiras nativas na região Nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1., 1992, Cruz das Almas. **Anais...** Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMPF, 1993. p.81-83.

POLICARPO, V. M. N. et al. Estabilidade da cor de doces em massa de polpa de umbu (*Spondias Tuberosa* Arr. Cam.) no estágio de maturação verde. **Ciência Agrotécnica**. Lavras, v. 31, n. 4, p. 1102-1107, 2007.

PORTER, W. L. Recent trends in food applications of antioxidants. In: SIMIC, M.G.; KAREL, M. (Ed.). **Autoxidation in food and biological systems**. New York,,: Plenum, 1980. p. 295-365

PRIOR, R. L.; CAO, G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology & Medicine**, v.27, nov./dez. p.1173-1181, 1999.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.10, p.4290-4302.,2005.

PROSKY, L. et al. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. **Journal - Association of Official Analytical Chemists**, v.71, p.1017-1023, 1988.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.3396-3402, 2000.

RAJALAKSHMI, D.; NARASIMHAN, S. Food antioxidants: sources and methods of

- evaluation. In: MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. (Ed.) **Food antioxidants technological, toxicological and health perspectives**. New York: M. Dekker, 1995. p.65-157.
- RANSLEY, J. K.; DONNELLY, J. K.; READ, N. W. **Food and nutritional supplements: their role in health and disease**. Germany: Springer, 2001. 197p.
- RAO, C. B.; DASARADHI, T. B.; RAO, Y. Y. Studies on fruit development in cashew (*Anacardium occidentale* L). **South India Horticulture**, Coimbatore, v.10, p.18-21, 1962.
- REGO, S. S. **Germinação, morfologia e sanidade de sementes de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg e *Myrceugenia gertii* Landrum – Myrtaceae**. 2008. 113f. Dissertação (Mestrado Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- RE, R. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v.26, set./out. p.121-137, 1999.
- REYNERTSON, K.A. et al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v.109, p.883–890, 2008.
- RIBEIRO, S. M. R. **Caracterização e avaliação do potencial antioxidante de mangas (*Mangifera indica* L.) cultivadas no Estado de Minas Gerais**. 2006. 149f. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical of Biology and Medicine**, v.20, n.7, p.933-956, 1996.
- ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação**. Belém: EDUFPA, 2000. 313p.
- RUFINO, M.S.M. **Qualidade e potencial de utilização de cajuís (*Anacardium spp.*) oriundos da vegetação litorânea do Piauí**. 2004. 92p. Tese (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal do Piauí., Teresina.

RUFINO, M. S. M. et al. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007a. 4p, (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 127)

RUFINO, M. S. M. et al. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007b. 4p, (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 128)

RUFINO, M. S. M. et al. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP)**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2006a. 4p, (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 125)

RUFINO, M. S. M. et al. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006b. 4p, (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 126)

RUHE, R. C.; MCDONALD, R. B. Use of antioxidant nutrients in the prevention and treatment of type 2 diabetes. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 20, p. 363-366, 2001. Supplement 5.

RUPÉREZ, P.; BRAVO, L. Oligofructanos y gomas. In: LAJOLO, F.M. et al. (Ed.). **Fibra dietética en Iberoamérica: tecnología y Salud**. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos. São Paulo: Varela, 2001. p.61-76.

SACRAMENTO, C. K. do; SOUZA, F. X. de. **Cajá (*Spondias mombin* L.)**. Jaboticabal: Funep, 2000. 42p. (Série Frutas Nativas, 4).

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v.8, n.3, p.121-139, 2002.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal Science Food Agriculture**, v.76, p.270-276, 1998.

SANT'ANA, L. S.; MANCINI-FILHO, J. Mecanismos da proteção oxidativa na utilização de antioxidantes in vivo em músculos animais. **Cadernos de Nutrição**, São Paulo, v.10, p.48-63, 1995.

SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds- nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.1094-1117, 2000.

SANTOS, E. de O. C.; OLIVEIRA, A. C. N. de. **Importância sócio-econômica do beneficiamento do umbu para os municípios de Canudos, Uauá e Curaçá.** Juazeiro: Instituto Regional da Pequena Agropecuária Apropriada , 2001. 8 p.

SANTOS, M. do S. S. A. **Caracterização física, química e tecnológica do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e seus produtos.** 1982, 75p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SATO, A. C. K.; CUNHA, R.L da. Influência da temperatura no comportamento reológico da polpa de jaboticaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 27(4): 890-896, 2007.

SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant dietary fibre. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 2, n. 1, p. 223-226, 2003.

SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant dietary fibre product: a new concept and a potential food ingredient . **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.4303-4306, 1998.

SAURA-CALIXTO, F. Fibra dietética: um nuevo concepto em nutrición. **Dossier Fronteras de La ciência y La tecnologia**, n.7, p. 29-31 1995.

SAURA-CALIXTO, F.; BRAVO, L. Dietary fiber-associated compounds: chemistry, analysis, and nutritional effects of polyphenols. In: CHO, S.; DREHER, M. **Handbook of dietary fiber.** New York : M. Dekker, p.415-434, 2001.

SAURA-CALIXTO, F.; GOÑI, I. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. **Food Chemistry**, v.94, p.442-47, 2006 .

SAURA-CALIXTO, F.; GOÑI, I. The intake of dietary indigestible fraction in the spanish diet shows the limitations of dietary fibre data for nutritional studies. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.58, n.7, p.1078-1082, 2004.

SAURA-CALIXTO, F. et al. In vitro determination of the indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.48, p.3342-3347, 2000.

SAURA-CALIXTO, F.; JIMÉNEZ-ESCRIG, A. Compuestos bioactivos asociados a la fibra dietética. In: LAJOLO, F.M. et. al (Ed.). **Fibra dietética en Iberoamerica: tecnología y Salud**. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos. São Paulo: Varela, 2001. p.103-126.

SAURI-DUCH, E. **Frutas exóticas de la Península de Yucatán**. Mérida, México : COSNET. Instituto Tecnológico de Mérida, 2001. 109p.

SCALBERT, A. et al. Polyphenols and the prevention of diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v.45, n.4, p.287-306, 2005.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.130, p.2073-2085, 2000.

SCALON, S. de P. Q.; DELL'OLLIO, P.; FORNASIERI, J. L. Temperatura e embalagens na conservação pós-colheita de *Eugenia uvalha* Cambess – mirtaceae. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, p.1965-1968, 2004.

SCHULTZ, A. R. Família malpighia. In: \_\_\_\_\_ . **Botânica sistemática**. 3.ed. Porto Alegre: Globo, 1968. 164p.

SERRANO, J. **Disponibilidad intestinal de compuestos bioactivos de la dieta (polifenoles y carotenoides)**. Tesis (Doctoral) - Departamento de Nutrición y Bromatología I, Facultad deFarmacia, UCM, Madrid.

SILVA, B. M. et al. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.52, n.15, p.4705-4712, 2004.

SILVA, C. M. M. de; PIRES, I. E.; SILVA, H. D. da. **Caracterização dos frutos do umbuzeiro**. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA, 1987. 17 p. (EMBRAPA-CPATSA .Boletim de Pesquisa, n.34),

SILVA, D. B. da. et al. **Frutas do cerrado**. Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 107p.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v.22, n.1, p. 94-103, 1999.

SILVA, W. S. da. **Qualidade e atividade antioxidante em frutos de variedades de aceroleira**, 2008. 134 p. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SILVA JÚNIOR, M. C. da. **100 árvores do Cerrado: guia de campo**. Brasília, DF: Rede de sementes do Cerrado. 2005. 278p.

SILVEIRA, M. R. S. da. **Qualidade e atividade antioxidante de frutos de genótipos de puçazeiro ‘Coroa de Frade’ (Mouriri elliptica Mart.) da vegetação litorânea do Ceará** 2007. 124 p. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SIMÃO, S. **Manual de fruticultura**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1971. p.477-485.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin: ciocalteau reagent. **Methods of Enzymology**, v.299, p.152-178, 1999.

SIQUET, C. et al. **Antioxidant** profile of dihydroxy-andtrihydroxyphenolic acids: a structure-activity relationship study. **Free Radical Research**, v.40, p. 433-42, 2006.

SOUZA, M.C. **Qualidade e atividade antioxidante de frutos de diferentes progênies de açazeiro (Euterpe oleracea Mart)**. 2007, 124 p. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

- SOUZA, F.G.; FIGUEIREDO, R.W.; ALVES, R.E.; MAIA, G.A.; ARAÚJO, I.A. Qualidade pós-colheita de frutos e diferentes clones de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia**. 31, 1449-1454, 2007.
- SOUZA, V. A. B. de. et al. **Bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.)**. Jaboticabal: Funep, 2000.72p. (Série Frutas Nativas, 11).
- SPENCER, J. et al. Decomposition of cocoa procyanidins in the gastric milieu. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.272, p.236-241, 2000.
- STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochemical and Biophysical Acta**, v.1740, n.2, p.101-107, 2005.
- STANNER, S.; HUGHES, J.; BUTTRISS, J. A review of the epidemiological evidence for the antioxidant hypothesis. **Public Health Nutrition**, v.7, n.3, p.407-422, 2004.
- SUDENE. **Estudo dos principais extrativos vegetais do Nordeste**. Recife, 1967. 66p. (SUDENE. Agricultura, 1)
- TABERNERO-URBIETA, M. **Fibra dietética y compuestos asociados en dietas mediterráneas y escandinavas**: composición, ingestas, fermentabilidad y efectos potenciales quimiopreventivos en salud intestinal. 2008. 254p. Tese (Doctorado en Bioquímica y Biología Molecular I). Universidad Complutense, Madrid.
- TEIXEIRA, G. H. de A. **Frutos do bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart)**: caracterização, qualidade e conservação. Jaboticabal, 2000. 106p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- THAIPONG, K. et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p.669-675, 2006.
- ULLOA, J. Z.; SUÁREZ, H. R. De México al mundo: importancia y perspectivas de los productos no tradicionales. **Revista Claridades Agropecuarias**, Mexico, n.132. 2004.

VALLS BELLÉS, V. et al. **Biodisponibilidad de los flavonoides de la cerveza:** efecto antioxidante "in vivo". Madrid: Centro de Información Cerveza y Salud, 2005.

VANNUCHI, H.; JORDÃO JÚNIOR, A. F. Vitaminas hidrossolúveis. In: MANCHI, J. S.; DUTRA-DE-OLIVEIRA, E. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier, 2000. p.190-207.

VIÉGAS, I. J. M. et al. Efeito da omissão de macronutrientes e boro no crescimento, nos sintomas de deficiências nutricionais e na composição mineral de Plantas de camucamuzeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.315-319, 2004.

VIEIRA NETO, R. D. Caracterização física de frutos de uma população de mangabeiras (*Hancornia speciosa* Gomes). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.19, n.2, ago. p.247-250, 1997.

VIEIRA, R. F. Aspectos práticos da coleta de germoplasma. In: PUIGNAN, J.P., CUNHA, R. da. ed. **Conservation de germoplasma vegetal**. Motevideo: IICA/PROCISUR, 1996. p. 75-84. (IICA-PROCISUR. Diálogo, 45).

VILLACHICA, H. **El cultivo del camu-camu en la Amazonia Peruana**. Lima: Secretaria Pro Tempore del Tratado de Cooperación Amazónica, 1996.

VILLACHICA, H. et al. Mangaba. In: \_\_\_\_\_. **Frutales y hortalizas promisorios de la amazonia**. Lima: Tratado de Cooperacion Amazonica, 1996. p.191-194.

VILLAÑO, D. Comparison of antioxidant activity of wine phenolic compounds and metabolites in vitro. **Analytica Chimica Acta**, v.538, p.391-398, 2005.

VILLAÑO, D. The antioxidant activity of wines determined by the ABTS method: influence of sample dilution and time. **Talanta**, v.64, p.601-609, 2004.

VON GADOW, A.; JOUBERT, E.; HANSMANN, C. F. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*Aspalathus linearis*), a-tocopherol, BHT and BHA. **Journal Agriculture Food Chemistry**, Washington, DC, v.45, p.632-638, 1997.

WAIT, A. J.; JAMIELSON, G. I. The cashew: its botany and cultivation. **Queensland Agricultural Journal**, Brisbane, v.112, p.253-257, 1986.

WALKER, A.R.P. Dietary fiber and pattern of diseases. **Annals of Internal Medicine**, v.80, p.663-664, 1974.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.701-705, 1996.

WILLS, R. B. H. et al. **Postharvest** – an introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables. Kensington: New South Wales University, 1982. 166p.

WU, X. et al. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States" **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.4026-4037, 2004.

YU, T. W.; ONG, C. N. Lag-time measurement of antioxidant capacity using myoglobin and 2, 2-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid): rationale, application and limitation. **Analytical Biochemistry**, v.275, p.217-223, 1999.

## CAPÍTULO 2

### QUALITY FOR FRESH CONSUMPTION AND PROCESSING OF SOME NON-TRADITIONAL TROPICAL FRUITS FROM BRAZIL

#### 2.1 ABSTRACT

**Quality for fresh consumption and processing of some non-traditional tropical fruits from Brazil - Introduction:** Brazil is home to a great diversity of tropical, non-traditional fruit species with a potential for consumption *in natura* and agroindustrial processing. The objective of the study was to evaluate the quality of 18 non-traditional fruits from Brazil belonging to the families Anacardiaceae, Apocynaceae, Arecaceae, Clusiaceae, Malpighiaceae, Melastomataceae and Myrtaceae. **Material and methods:** Samples were collected from areas of occurrence, commercial orchards and collections in Northern, Northeastern and Southeastern Brazil and tested for total soluble solids (TSS), soluble sugars (SS), reducing sugars (RS), total titratable acidity (TTA), pH, TSS/TTA ratio, starch and total pectin (TP) and soluble pectin (SP). **Results and discussion:** Parameters varied greatly among the species. Thus, TSS was 4.75–37.07 °Brix, SS 1.26–17.74%, RS 2.53–9.92%, TTA 0.20–2.64%, pH 2.56–5.38, TSS/TTA 3.26–107.70, starch 0.12–12.65%, TP 0.15–1.27% and SP 0.04–1.49%. **Conclusion:** Many of the fruits evaluated show potential for both consumption *in natura* and agroindustrial processing.

**Brazil / native and exotic fruits / consumption *in natura* / industrialization**

#### 2.2 RESUMÉ

**Qualité de quelques fruits tropicaux non traditionnels du Brésil utilisés dans la consommation des fruits frais et industrialisés - Introduction.** Le Brésil possède une grande diversité de fruits non traditionnels (natifs ou exotiques) qui possèdent des caractéristiques importantes permettant de les utiliser aussi bien comme des fruits frais dans la consommation que leur transformation à l'échelle industrielle. Tenant compte

de cette potentialité existante, l'objectif de ce travail de recherche fut d'évaluer la qualité de dix huit (18) espèces de fruits tropicaux non traditionnels du Brésil appartenant aux familles botaniques suivantes : Anacardiaceae, Apocynaceae, Arecaceae, Clusiaceae, Malpighiaceae, Melastomataceae et Myrtaceae. **Matériel et méthodes.** Les fruits ont été récoltés dans différentes parcelles de production telles que celles destinées à la production commerciale ; on a aussi réalisé la récolte des fruits dans le Nord, le Nord-est et le Sud-est du pays. Ensuite, on a procédé à leur évaluation en fonction des caractéristiques et des paramètres de qualités suivantes : Solides solubles totaux (SST), Sucres Solubles (SS) et Réducteurs (SR), Acidité Totale Titrable (ATT), pH, Relation SST/ATT, Amidon et Pectine Totale (PT) et Soluble(PS). **Résultats et discussion.** On a observé une grande variation des caractéristiques évaluées selon les données suivantes: SST - 4,75 a 37,07 °Brix, AS - 1,26 a 17,74 %, AR - 2,53 a 9,92 %, ATT - 0,20 a 2,64 %, pH - 2,56 a 5,38, SST/ATT - 3,26 a 107,70, amidon - 0,12 a 12,65 %, PT - 0,15 a 1,27 % e PS - 0,04 a 1,49 %. **Conclusion.** Selon les caractéristiques évaluées on a pu sélectionner des fruits aussi bien pour la consommation que pour l'obtention de leurs dérivés à travers la transformation industrielle.

**Brésil / fruits natifs y exotiques / Consommation des fruits frais / transformation industrielle**

## 2.3 INTRODUCTION

In all the world, there is a great number of underexploited, non-traditional fruits [1-2]. Especially many tropical fruit species remain virtually unknown and absent from international markets [3]. It is estimated that a quarter million plant species have been described around the globe, sixty thousand in Brazil alone—the country with the world's greatest plant diversity. Nearly one thousand fruit species belonging to 80 families are known from the Americas. At least half of these occur in or stem from Brazil. Most have been very little studied [4].

Northern and Northeastern Brazil features many non-traditional fruits with attractive commercial aspects. Production is not always limited to extraction, but rational culture is on the increase throughout the country. Some species already play an

important role in tropical fruit business and are exploited for both consumption *in natura* and agroindustrial processing [5].

In fact, the Brazilian flora is rich in fruit species with promising potential for agriculture, genetic improvement and domestication. The genetic variability remains underexploited compared to the strategic value it represents for the development of new products. Also, as natural populations of fruit trees are endangered by an array of environmental impacts, conservation policies and actions will be necessary to ensure survival and sustainable economic use [6].

However, domestication and agricultural expansion will primarily depend on the development of essential technical information on these fruit species, ranging from chemical composition to quality seedling production and post-harvest conservation. Thus, the objective of the present study was to evaluate the quality properties of 18 non-traditional fruits from Brazil with potential for both consumption *in natura* and agroindustrial processing.

## 2.4 MATERIAL AND METHODS

### 2.4.1 Chemicals

The reagents used were: 9,10-dihydro-9-oxoanthracene (anthrone) from Merck; D-(+)-galacturonic acid from Fluka Biochemika; 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) from Aldrich; and D-(+)-glucose anhydrous from Vetec. All reagents were of analytical grade.

### 2.4.2 Samples

Figures 1 and 2 show the 18 fruits included in the study along with their botanical identification. Table 1 includes common names, family and sample origin. The fruits were harvested and sent to the Postharvest Physiology and Technology Laboratory of the Embrapa Tropical Agroindustry (Fortaleza, Brazil) for pulp extraction.

Two fruits (assai and jussara) required special processing due to their highly fibrous epicarp and endocarp and small edible percentage (<30%). Pulp and fiber were mechanically separated with a knife and weighed, and then distilled water was added (1:2). The mass was homogenized and the inedible parts were discarded. Bacuri pulp was extracted manually with knife and scissors, and the husk and seed were discarded. For the other fifteen fruits, the pulp and peel were processed and only the seeds were discarded. In some cases the pulp required dilution in water prior to analysis. The final results were corrected accordingly.

### 2.4.3 Methods

Total soluble solids (TSS): Filtered pulp was analyzed using a digital refractometer (Atago PR-101) with a 0–45 °Brix scale [7];

Soluble sugars (SS): One gram of pulp was diluted in water and/or 80% ethanol and evaluated by Antrona method using glucose as standard. Readings were taken with a *Spectronic Genesys 2* spectrophotometer at 620 nm. Results were expressed in % [8];

Reducing sugars (RS): One gram of pulp was diluted in water and/or 80% ethyl alcohol and RS concentration determined by the DNS method using glucose as standard. Readings were taken with a spectrophotometer at 540 nm. Results were expressed in % [9];

Total titratable acidity (TTA): Following titration with 0.1 N NaOH to final pH 8.1, readings were taken with an automatic Mettler potentiometer (model DL 12) [10];

pH: Measured directly in the pulp following processing. Readings were taken with an automatic Mettler potentiometer (model DL 12), adjusted with buffer solutions at pH 4 and 7 [7];

TSS/TTA ratio: calculated by dividing TSS by TTA;

Starch: The residue from centrifugation (3000 g) was extracted under reflux by hydrolysis (HCl p.a.) for two hours, and then neutralized with 20% sodium carbonate solution. The final concentrations were determined by the DNS method using glucose as standard. Readings were taken with a spectrophotometer at 540 nm. Results were expressed in % [7];

Total pectin (TP): The pulp was weighed and homogenized with 95% ethyl alcohol. The residue was centrifuged with 75% ethyl alcohol and adjusted with 1.0 N NaOH to pH 11.50 and with glacial acetic acid to pH 5.0–5.5 (15:50 v/v). Pectinase was added to the extract and submitted to enzyme hydrolysis for one hour under shaking. Following centrifugation, concentrations were determined by the m-hydroxy-

diphenyl method using galacturonic acid as standard. Readings were taken with a spectrophotometer at 520 nm. Results were expressed in % [11-12];

Soluble pectin (SP): The pulp was weighed and homogenized with 95% ethyl alcohol and the residue was centrifuged with 75% ethanol. The extract was diluted in water and concentrations were prepared with the m-hydroxy-diphenyl method using galacturonic acid as standard. Readings were taken with a spectrophotometer at 520 nm. Results were expressed in % [11-12].

#### **2.4.4 Statistic Analysis**

Assays were performed in triplicate constituted by pulp from samples weighing at least 500 g. Results were expressed as mean values  $\pm$  standard deviation (SD).

### **2.5 RESULTS AND DISCUSSION**

Table 2 shows mean values  $\pm$  standard deviations for all variables. No studies were found in the literature describing the nutritional properties of six of the fruits included in this work: carnauba, gurguri, jussara, murta, puçá-coroa-de-frade and puçá-preto.

Few of the 18 fruits studied are presently grown in commercial orchards, although some species are marketed in processed form as jam, juice, nectar and, most often, frozen pulp. With regard to the latter, identity and quality standards have been determined by regulations issued by the Brazilian Ministry of Agriculture and Food Supply (MAPA) [13].

### **2.5.1 Total soluble solids (TSS) and sugars (SS and RS)**

The fruits differed considerably with regard to solids and sugars. Thus, TSS ranged from 4.75 (jussara) to 37.07 °Brix (carnauba), SS varied between 1.26 and 17.74% and RS between 2.53 and 9.92%. In general, our findings matched results reported in the literature, when such could be found, for assaí, acerola, bacuri, camu-camu, jaboticaba, java plum, mangaba, nance, umbu uvaia and yellow mombin, [14–28].

Only five of the 18 fruits studied (assaí, acerola, cashew apple, mangaba and yellow mombin) are specifically mentioned in the Brazilian legislation [13]. Pulp of the four latter fruits were found to be within the limits of solids and sugars determined by law. No limits have been established for assaí.

Total soluble sugars usually make up 65–85% of total soluble solids [29]. Our findings show interspecies variation to be as large as 21% (assaí) to 89% (bacuri). Sugars play a very important role in the quality of fruits products. The most common types found in fruits are saccharose (non-reducing), fructose and glucose (reducing). In most of our fruits, sugars were predominantly of the reducing type. In seven species, RS represented 36% (bacuri) to 88% (jaboticaba and umbu) of total soluble sugars.

### **2.5.2 Acidity (TTA and pH) and TSS/TTA**

TTA and pH are the main acidity parameters of interest in fruits and vegetables. The pH measure indicates the level of hydrogen ions in the juice, while TTA indicates the percentage of organic acid [29].

TTA values varied greatly in this study, from 0.20% for cashew apple to 2.92% for camu-camu. Findings for these two fruits match with values reported in the literature [30, 21].

pH values ranged between 2.56 (camu-camu) and 5.38 (assai). The pH value helps determine the state of deterioration of most foodstuffs and is therefore associated with food quality and safety [31]. Based on the minimum pH (4.5) required for the multiplication and toxin production of *Clostridium botulinum* and the minimum pH (4.0) required for the proliferation of most bacteria, the 18 species evaluated in this study may be classified into slightly acid (pH>4.5: assai, carnauba, gurguri, jussara and puçá-preto), moderately acid (pH 4.0–4.5: cashew apple, jussara, murta and puçá-coroa-de-frade) and the others like highly acid (pH<4.0) [32].

As for TSS and SS, pulp produced with samples of the fruits for which regulations exist (assai, acerola, cashew apple, mangaba and yellow mombin) were found to be within the required standards of TTA and pH [13].

The TSS/TTA ratio indicates the level of sweetness in a foodstuff. It is one of the most common indicators of ripeness in fruit destined for consumption *in natura* or agroindustrial processing. The sweetest among the 18 fruits studied were carnaúba (107.70), puçá-preto (75.98) and caju (58.79). Nevertheless, even fruits with low TSS/TTA ratios may be attractive sources of raw material, especially because a low TSS/TTA ratio is often the result of a high level of acidity—a desirable quality.

### **2.5.3 Starch and pectins**

Only 8 of the 18 fruits studied displayed starch contents below 1%. In general, total soluble solids and sugars increase as fruits ripen, making them more palatable. The process is associated with the hydrolysis of reserve starch by  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -

amylase and/or phosphorylase [33], reducing starch contents to very low levels—sometimes to virtually zero.

In contrast, in some of our fruits starch contents were surprisingly high, such as in carnauba (12.65%), nance (7.01%), assai (5.94 %) and jussara (4.82%). The starch in the pulp of the three latter fruits is associated with high energy levels and a texture appropriate for fresh consumption in the form of mash most often mixed with cassava meal or equivalent regional ingredients [16].

From the nutritional point of view, the importance of starch lies in that it may be partially or totally digested by the enzymes in the gastrointestinal tract and absorbed in the form of glucose by the small bowel [34]. On the other hand, the relatively high starch contents (>1%) observed in most of the fruits in this study can make the processing and stabilization of juice and nectar difficult and may be detected by consumers as a starchy taste [16].

Pectin contents also varied greatly: from 0.15% (cashew apple) to 1.27% (nance) for total pectin, and from 0.04% (camu-camu) to 1.49% (carnauba) for soluble pectin. Because pectins affect the texture and conservation of fruits, they are among the most essential inputs of the agroindustry (especially in jam production) and confer palatability and attractive appearance to processed foods [29]. The high pectin and acidity contents in fruit pulps can favor gelling in jam production. On the average, our fruits were low in pectins, with the exception of nance, carnauba and assai.

Conversely, high levels of pectin and starch can make manual pulp extraction difficult. The yield of mechanical extraction methods may be increased by employing amylase and pectinase-containing enzyme complexes in the procedure [35].

## 2.6 CONCLUSIONS

The quality properties found for some of the eighteen fruits included in this study clearly indicate a potential for consumption *in natura* and agroindustrial processing. Assai, acerola, cashew apple, mangaba and yellow mombin were found to be within or above standards required by the Brazilian Ministry of Agriculture and Food for fruit pulp produced from these fruits. However, the high levels of pectin and starch in some of the fruits can make juice and nectar production difficult but may be compensated for by the introduction of enzyme complexes into the processing technique.

## 2.7 ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank CNPq, CAPES, EMBRAPA, UFERSA and the European Union (INCO-CT-2005-015279) for financial support.

## 2.8 REFERENCES

- [1] Akinnifesi F.K., Leakey R.R.B., Ajayi O.C., Sileshi G., Tchoundjeu Z., Matakala P., Kwesiga F. R., *Indigenous fruit trees in the Tropics*, CABI, London, UK, 2008.
- [2] Janick J., Paull R.E., *The Encyclopedia of Fruit & Nuts*, CABI, London, UK, 2008.
- [3] Duch E.S., *Frutas exóticas de la península de Yucatán*, CoSNET, Instituto Tecnológico de Mérida, Mérida, México, 2001.

- [4] Donadio L.C., Nachtigal J.C., Sacramento C.K., Frutas exóticas, Funep, Jaboticabal, Brazil, 1998.
- [5] Oliveira M.S.P., Carvalho J.E.U., Nascimento W.M.O., Açai (*Euterpe oleracea* Mart.), Funep, Jaboticabal, Brazil, 2000.
- [6] Alves R.E., Souza F.X., Castro A.C.R., Rufino M.S.M., Ferreira E.G., Produção de fruteiras nativas, Instituto Frutal, Fortaleza, Brazil, 2005.
- [7] Association of Official Analytical Chemistry, Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry, AOAC, Washington, Estados Unidos, 1992.
- [8] Yemn E.W., Willis A.J., The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone, *Biochem. J.* 57 (1954) 508-517.
- [9] Miller G.L., Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars, *Anal. Chem.* 31 (1959) 426-428.
- [10] Instituto Adolfo Lutz, Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos, IAL, São Paulo, Brazil, 1985.
- [11] Mccready R.M., Mccomb E.A., Extraction and determination of total pectic material in fruits, *Anal. Chem.* 24 (1952) 1586-1588.
- [12] Blumenkrantz N., Asboe-Hansen G., New method for quantitative determination of uronic acids, *Analytical Biochemistry.* 54 (1973) 484-489.
- [13] BRASIL, Instrução Normativa nº 01, de 07 de janeiro de 2000. Anexo I. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 jan. 2000. Seção 1. p.54.
- [14] Aguiar L.P., Figueiredo R.W. de, Alves R.E., Maia G.A., Souza V.A.B., Caracterização física e físico-química de frutos de diferentes genótipos de bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.), *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 28 (2008) 423-428.

- [15] Alves R.E., Características das frutas para exportação, in: Embrapa/ Frupex (Eds.), Acerola para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita, Brasília, Brazil, 1996.
- [16] Alves, R.E., Filgueiras, H.A.C., Moura, C.F.H., Caracterização de frutas nativas da América Latina, Série Frutas Nativas, Jaboticabal, Brazil, 2000.
- [17] Alves R.E., Filgueiras H.A.C., Moura C.F.H., Araújo N.C.C., Almeida A.S., Camu-Camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh): A Rich Natural Source of Vitamin C, *Proc. Interam. Soc. Trop. Hort.* 46 (2002) 11-13.
- [18] Donadio L.C., Study of some brazilian myrtaceae in Jaboticabal-SP, *Act. Hort.* 452 (1997), 181-183.
- [19] Filgueiras H.A.C., Alves R.E., Oliveira A.C., Moura C.F.H., Araújo N.C.C., Calidad de frutas nativas de latinoamerica para industria: jobo (*Spondias mombin* L.), *Proc. Interam. Soc. Trop. Hort.* 43 (2001) 72-76.
- [20] Lago E.S., Gomes E., Silva R., Produção de geléia de jambolão (*Syzygium cumini* Lamarck): processamento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 26, 4 (2006), 847-852.
- [21] Lourenço I.P., Potencial de utilização de frutos de genótipos de muricizeiros cultivados no litoral do Ceará, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brazil, Thesis, 2008, 98 p.
- [22] Mendonça R.U. de., Qualidade e Potencial de Cajás (*Spondias Mombin* L.) Oriundos da Região Meio-Norte do Brasil, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brazil, Thesis, 2004, 41 p.
- [23] Moura C.F.H., Alves R.E., Filgueiras H.A.C., Araújo N.C.C., Almeida A.S., Quality of Fruits Native to Latin America for Processing: Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), *Act. Hort.* 575 (2002) 549-554.
- [24] Moura C.F.H., Alves, R.E., Figueiredo R.W. de., Paiva J.R., Avaliações físicas e físico-químicas de frutos de clones de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.), *Rev. Ciênc. Agron.* 38 (2007) 52-57.

- [25] Oliveira A.L., Brunini M.A., Salandini C.A.R., Bazzo F.R., Physico Chemical Characteristics of 'Sabara' jaboticaba provenients of differents regions of cultivation, *Rev. Bras. Frutic.* 25 (2003) 397-400.
- [26] Silva S.M., Moura F.T., Martins L.P., Silva M.S., Mendonça R.M.N., Alves R.E., Some physical and physival-chemical characteristics of imbu (*Spondias tuberosa* Arr. Câm.) fruit, *Proc. Interam. Soc. Trop. Hort.* 45 (2001) 42-44.
- [27] Souza M.C., Qualidade e atividade antioxidante de frutos de diferentes progênes de açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart), Universidade Federal do Ceará, Thesis, 2007, 124 p.
- [28] Souza F.G., Figueiredo R.W., Alves R.E., Maia G.A., Araújo I.A., qualidade pós-colheita de frutos e diferentes clones de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), *Ciênc. Agrotec.* 31 (2007) 1449-1454.
- [29] Chitarra A.B., Chitarra M.I.F., Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio, UFLA, Lavras, Brazil, 2005.
- [30] Abreu C.R.A., Qualidade e atividade antioxidante total de pedúnculos de clones comerciais de cajueiro anão precoce, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brazil, Thesis, 2007, 111 p.
- [31] Gomes J.C., Análise de alimentos, UFV, Viçosa, Brazil, 1996.
- [32] Franco B.D.G.M., Landgraf M., Microbiologia dos alimentos, Atheneu, São Paulo, Brazil, 1996.
- [33] Kays S.J., Postharvest physiology of perishable plant products. AVI Book, New York, USA, 1991.
- [34] Tabernero, M., Serrano, J., Saura-Calixto, F., Dietary fiber intake in two european diets with high (Copenhagen, Denmark) and low (Murcia, Spain) colorectal cancer incidence, *J. Agric. Food Chem.* 55 (2007) 9443-9449.
- [35] Oke M., Paliyath G., Biochemistry of fruit processing, in: Hui Y.H. (Ed.), *Fruit biochemistry and fruit processing*, Blackwell, Ames, USA, 2006.

## 2.9 RESUMEN

**Calidad de algunas frutas tropicales no-tradicionales brasileñas para consume en fresco y industrialización - Introducción.** Brasil presenta una gran diversidad de frutales no-tradicionales (nativas o exóticas) con características promisorias tanto para el consumo en fresco cuanto para a industrialización. Tomándose en cuenta este potencial, el objetivo de ese trabajo fue evaluar la calidad de dieciocho especies de frutas tropicales no-tradicionales de ocurrencia en el país, oriundas de las siguientes familias botánicas: Anacardiaceae, Apocynaceae, Arecaceae, Clusiaceae, Malpighiaceae, Melastomataceae y Myrtaceae. **Material y métodos.** Los frutos fuera cosechados en áreas de ocurrencia, cultivos comerciales y colecciones en las regiones Norte, Noreste y Sureste del país y evaluados cuanto a las siguientes características de calidad: sólidos solubles totales (SST), azúcares solubles (AS) e reductores (RS), acidez total titulable (ATT), pH, relación SST/ATT, almidón y pectina total (PT) y soluble (PS). **Resultados y discusión.** Fue observada una gran variación para todas las características evaluadas: SST - 4,75 a 37,07 °Brix, AS - 1,26 a 17,74%, AR - 2,53 a 9,92%, ATT - 0,20 a 2,64%, pH - 2,56 a 5,38, SST/ATT - 3,26 a 107,70, almidón - 0,12 a 12,65 %, PT - 0,15 a 1,27 % e PS - 0,04 a 1,49 %. **Conclusión.** Con bases en las características evaluadas pódense seleccionar frutas tanto para el consumo en fresco cuanto para la obtención de diferentes productos procesados.

**Brasil / frutas nativas y exóticas / consumo in natura / industrialización**

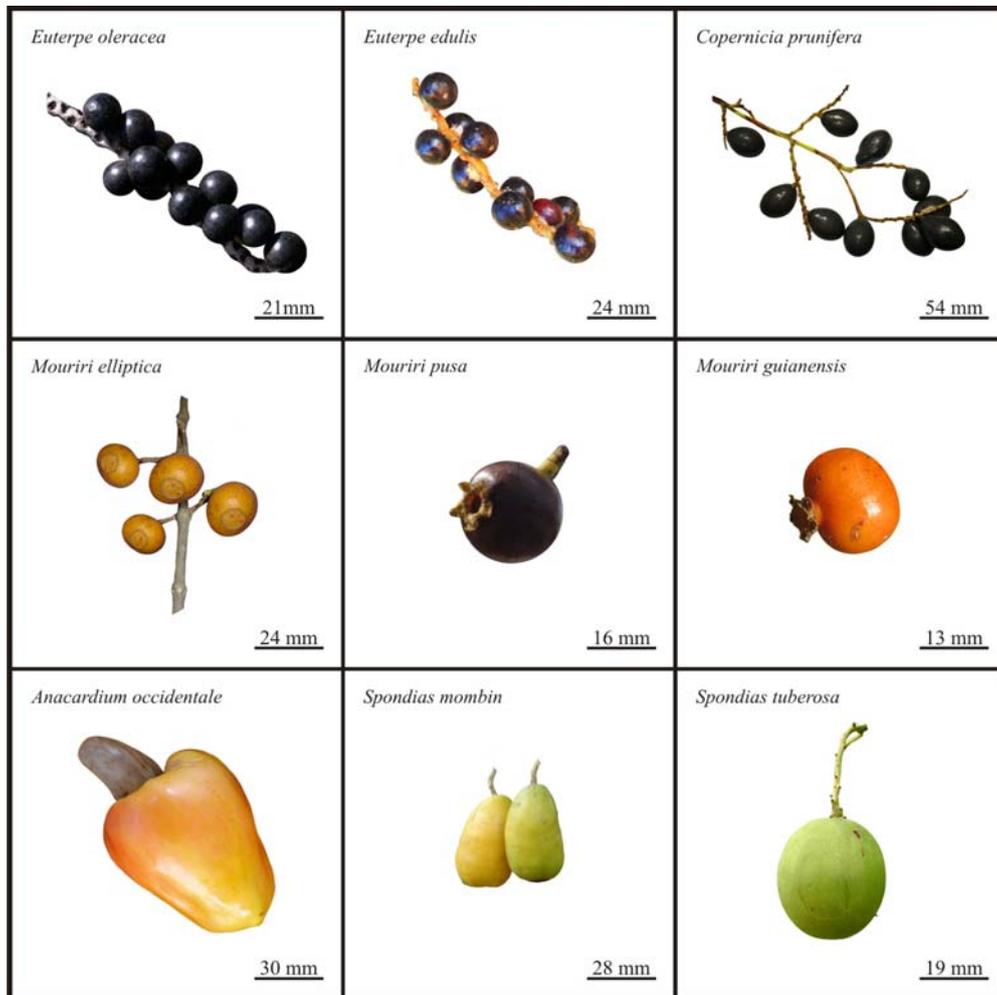


Figure 1- Fruits of the families Arecaceae, Melastomataceae and Anacardiaceae.

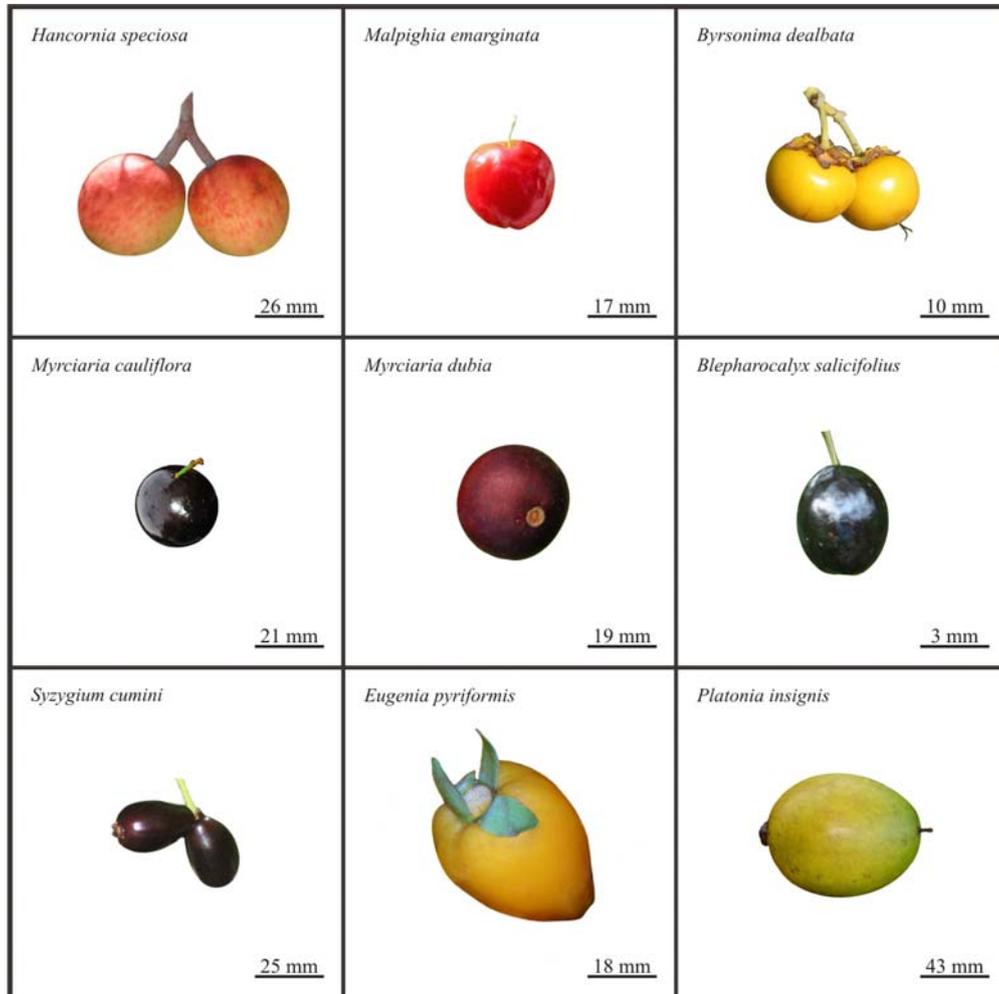


Figure 2 - Fruits of the families Apocynaceae, Malpigiaceae, Myrtaceae and Clusiaceae.

Table 1 - List of the 18 Brazilian tropical, non-traditional fruits included in the study.

Number	Brazilian name	English Name	Scientific name	Family	Origin (City, State)
1	Açaí	Assai	<i>Euterpe oleracea</i>	Arecaceae	Paraipaba, Ceará
2	Acerola	Acerola	<i>Malpighia emarginata</i>	Malpighiaceae	Limoeiro do Norte, Ceará
3	Bacuri	Bacuri	<i>Platonia insignis</i>	Clusiaceae	Coelho Neto, Maranhão
4	Cajá	Yellow mombim	<i>Spondias mombin</i>	Anacardiaceae	Limoeiro do Norte, Ceará
5	Caju	Cashew	<i>Anacardium occidentale</i>	Anacardiaceae	Pacajus, Ceará
6	Camu-camu	Camu-camu	<i>Myrciaria dubia</i>	Myrtaceae	Belém, Pará
7	Carnaúba	Carnauba	<i>Copernicia prunifera</i>	Arecaceae	Maracanaú, Ceará
8	Gurguri	Gurguri	<i>Mouriri guianensis</i>	Melastomataceae	Beberibe, Ceará
9	Jaboticaba	Jaboticaba	<i>Myrciaria cauliflora</i>	Myrtaceae	Serra de Ibiapaba, Ceará
10	Jambolão	Java plum	<i>Syzygium cumini</i>	Myrtaceae	Trairi, Ceará
11	Juçara	Jussara	<i>Euterpe edulis</i>	Arecaceae	São Paulo, São Paulo
12	Mangaba	Mangaba	<i>Hancornia speciosa</i>	Apocynaceae	Ipiranga, Piauí
13	Murici	Nance	<i>Byrsonima dealbata</i>	Malpighiaceae	Fortaleza, Ceará
14	Murta	Murta	<i>Blepharocalyx salicifolius</i>	Myrtaceae	Crato, Ceará
15	Puçá coroa de frade	Puçá-coroa-de-frade	<i>Mouriri elliptica</i>	Melastomataceae	Beberibe, Ceará
16	Puçá-preto	Puçá-preto	<i>Mouriri pusa</i>	Melastomataceae	Ipiranga, Piauí
17	Umbu	Umbu	<i>Spondias tuberosa</i>	Anacardiaceae	Picos, Piauí
18	Uvaia	Uvaia	<i>Eugenia pyriformis</i>	Myrtaceae	Paraipaba, Ceará

Table 2 - Nutritional properties of the 18 Brazilian tropical, non-traditional fruits included in the study<sup>a</sup>

Fruit	TSS (°Brix)	SS (%)	RS (%)	TTA (%)	pH	TSS/TTA	Starch (%)	TP (%)	SP (%)
Açaí	6.02 ± 1.16	1.26 ± 0.34	n.d.	0.31 ± 0.06	5.38 ± 0.10	19.65 ± 1.13	5.94 ± 0.40	0.96 ± 0.08	0.34 ± 0.05
Acerola	7.60 ± 0.17	2.55 ± 0.03	n.d.	1.46 ± 0.02	3.19 ± 0.02	5.21 ± 0.08	0.58 ± 0.02	n.d.	n.d.
Bacuri	14.00 ± 0.19	12.42 ± 0.26	4.77 ± 0.21	1.63 ± 0.01	2.68 ± 0.06	8.59 ± 0.13	4.19 ± 0.23	0.56 ± 0.09	0.82 ± 0.12
Cajá	12.80 ± 0.89	7.80 ± 0.12	n.d.	1.09 ± 0.08	3.07 ± 0.06	11.71 ± 0.18	0.13 ± 0.03	0.46 ± 0.03	n.d.
Caju	11.83 ± 0.49	10.39 ± 0.51	n.d.	0.20 ± 0.03	4.37 ± 0.07	58.79 ± 10.35	0.69 ± 0.02	0.15 ± 0.01	n.d.
Camu-camu	7.18 ± 0.16	1.64 ± 0.05	n.d.	2.92 ± 0.09	2.56 ± 0.01	2.46 ± 0.02	0.93 ± 0.19	0.40 ± 0.03	0.04 ± 0.00
Carnaúba	37.07 ± 1.10	17.74 ± 0.80	n.d.	0.35 ± 0.03	4.93 ± 0.16	107.70 ± 12.49	12.65 ± 1.95	1.08 ± 0.10	1.49 ± 0.04
Gurguri	18.60 ± 2.79	11.49 ± 1.69	n.d.	0.48 ± 0.08	4.51 ± 0.06	39.19 ± 4.67	1.81 ± 0.22	0.44 ± 0.02	0.14 ± 0.00
Jaboticaba	11.22 ± 0.13	8.50 ± 0.17	6.88 ± 0.04	1.65 ± 0.07	3.18 ± 0.06	6.81 ± 0.31	0.89 ± 0.09	0.44 ± 0.01	0.06 ± 0.01
Jambolão	12.13 ± 0.06	8.49 ± 0.07	n.d.	0.87 ± 0.03	3.53 ± 0.02	13.95 ± 0.55	1.28 ± 0.10	0.57 ± 0.01	0.72 ± 0.07
Juçara	4.75 ± 1.32	1.51 ± 0.36	2.53 ± 0.58	0.37 ± 0.02	4.66 ± 0.09	9.53 ± 0.44	4.82 ± 1.28	0.40 ± 0.08	1.19 ± 0.32
Mangaba	21.50 ± 0.53	13.55 ± 0.87	9.13 ± 0.45	0.72 ± 0.16	3.22 ± 0.02	35.51 ± 5.50	0.76 ± 0.06	0.48 ± 0.04	0.37 ± 0.02
Murici	22.13 ± 0.15	4.18 ± 0.12	n.d.	2.64 ± 0.14	3.48 ± 0.01	8.41 ± 0.50	7.01 ± 0.28	1.27 ± 0.00	0.46 ± 0.09
Murta	20.73 ± 0.45	15.22 ± 0.22	n.d.	0.64 ± 0.08	4.05 ± 0.00	32.60 ± 4.43	2.74 ± 0.10	0.67 ± 0.13	0.10 ± 0.01
Puçá cora de frade	26.13 ± 0.15	16.63 ± 0.60	9.81 ± 0.32	0.53 ± 0.03	4.42 ± 0.60	49.17 ± 2.02	2.73 ± 0.34	0.63 ± 0.03	0.22 ± 0.02
Puçá-preto	28.53 ± 0.47	15.69 ± 0.05	9.92 ± 0.26	0.38 ± 0.01	4.53 ± 0.07	75.98 ± 3.63	2.58 ± 0.26	0.59 ± 0.04	0.25 ± 0.03
Umbu	10.30 ± 0.46	4.51 ± 0.31	3.65 ± 0.18	2.17 ± 0.13	2.62 ± 0.01	4.75 ± 0.07	0.12 ± 0.04	0.51 ± 0.06	0.37 ± 0.07
Uvaia	7.53 ± 0.32	4.00 ± 0.09	2.77 ± 0.09	2.31 ± 0.08	2.77 ± 0.01	3.26 ± 0.03	0.35 ± 0.04	0.37 ± 0.02	0.17 ± 0.01

<sup>a</sup> Average ± standard deviation, n = 3

n.d. = not detected.

## CAPÍTULO 3

### BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF SOME NON-TRADITIONAL TROPICAL FRUITS FROM BRAZIL

#### 3.1 ABSTRACT

The bioactive compounds (vitamin C, anthocyanins, yellow flavonoids, carotenoids and chlorophyll) and the antioxidant capacity of polyphenolic extracts of 18 native non-traditional fruits from Brazil were determined for fresh and dry matter using four laboratory methods (ABTS, DDPH, FRAP and  $\beta$ -carotene bleaching). The study provides an update and modification of these methods along with an evaluation of the compounds associated with antioxidant potential. The results point to promising perspectives for the exploitation of non-traditional tropical fruit species with considerable levels of nutrients and antioxidant capacity. Although evaluation methods and results reporting have not yet been sufficiently standardized, making comparisons difficult, our data add valuable information to current knowledge on the nutritional properties of tropical fruits, such as the considerable antioxidant capacity found for acerola and camu-camu (ABTS, DPPH and FRAP) and for puçá-preto (all methods).

**Keywords:** tropical fruits; phenolics; antioxidants; ABTS; DPPH; FRAP;  $\beta$ -carotene bleaching

#### 3.2 INTRODUCTION

Tropical America is home to a great variety of fruit species, some of which have long been domesticated by native Amerindians. The species richness is associated with the geographical characteristics of the region, especially to the heterogeneity of the floras of North and South America and partial overlapping between the Amazon region and lower Central America (1). A list of fruits from the tropics, including both

Americas, Asia, Australia and Africa, mentions over two thousand species (2). In the Americas alone, about one thousand species belonging to 80 families have been identified; of these, at least 400 occur in or stem from Brazil.

Brazil is the world's third largest fruit producer, following China and India. However, since the domestic market absorbs most of the production, Brazil is only 15th on the ranking of fruit exporting countries (3).

Tropical fruit consumption is on the increase on the domestic and international markets due to growing recognition of the nutritional and therapeutic value of fruit. Brazil boasts a large number of underexploited native and exotic fruit species of potential interest to the agroindustry and possible future source of income for the local population. These fruits represent an opportunity for local growers to gain access to special markets where consumers lay emphasis on exotism and the presence of nutrients capable of preventing degenerative diseases (4).

Fruit consumption is no longer merely a question of taste and personal preference, but has become a question of health due to the vital nutrients fruits content. In addition to essential nutrients, most fruits feature a considerable amount of micronutrients such as minerals, fibers, vitamins and secondary phenolic compounds (5). Increasing evidence shows the importance of these micronutrients for human health. For example, health benefits associated with the uptake of anthocyanins include reduced risk of coronary heart disease, protection against obesity and hypoglycemia, memory enhancement and protection of fetal brain tissue (6-9).

Over time, the different methodologies employed to evaluate antioxidant capacity *in vitro* have yielded conflicting and non-comparable results. Variations in sample preparation may also have affected results greatly and is a problem deserving attention from researchers. Antioxidant capacity may be expressed using several different parameters, including peroxy radical scavenging capacity (ORAC, TRAP), metal reduction capacity (FRAP; CUPRAC), hydroxyl radical scavenging capacity (the deoxyribose method), organic radical scavenging capacity (ABTS, DPPH) and amount

of lipid peroxidation products (TBARS, LDL oxidation,  $\beta$ -carotene co-oxidation) (10-13).

FRAP, ABTS, DPPH and ORAC are the most widely used methods for determining antioxidant capacity *in vitro*. It is recommended that at least two (or even all) of these assays be combined to provide a reliable picture of the total antioxidant capacity of a foodstuff, provided the strengths, weaknesses and applicability of each type of assay are taken into account (14). The  $\beta$ -carotene bleaching method is also popular. It evaluates the level of inhibition of free radicals generated during linoleic acid peroxidation (15).

Results from experiments using the same methodology may also be difficult to compare due to differences in sample type and handling, assay temperature, processing conditions, exposure to reagents and extraction method (particle size, extraction cycles, sample shaking technique and sample/solvent ratio), among other factors (16, 17).

Because methods for measuring antioxidant capacity require the use of pure antioxidant compounds, sample protocols should be previously established. As part of the author's efforts at investigating the functional properties of non-traditional tropical fruits, the present study provides an update for and standardization of current methods for determining antioxidant capacity along with a quantification of the major bioactive compounds found in these fruits.

### 3.3 MATERIAL AND METHODS

#### 3.3.1 Chemical reagents

The reagents used were 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH), 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), and 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) from Sigma Chemical Co., in addition to potassium persulfate from Acrós Organics, ferrous sulfate from Vetec and  $\beta$ -carotene from Merck.

#### 3.3.2 Sample preparation

Table 1 shows the 18 fruits included in the study along with their respective botanical identification and geographical origin.

The fruits were harvested and sent to the postharvest physiology and technology laboratory of the agroindustrial division of Embrapa (Fortaleza, Brazil) for pulp extraction. Two fruits (assai and jussara) required a special processing due to their highly fibrous epicarp and endocarp. Pulp and fiber were mechanically separated and weighed, and distilled water was added (1:2). The mass was homogenized and the inedible parts (fiber and pit) were discarded. Bacuri pulp was extracted manually with a knife and scissors, and the husk and seed were discarded. As for the other fifteen fruits, the pulp and peel were processed and only the seeds were discarded.

The bioactive compounds evaluated were vitamin C (18) total anthocyanins and yellow flavonoids (19) total carotenoids (20) and chlorophyll (21).

In preparation for the antioxidant assay, part of the pulp was kept fresh while the remainder was freeze-dried and stored at -80°C until extraction and analysis. The moisture content was determined for all fruits (Table 2). The samples were pretested for extractable polyphenols and total antioxidant capacity in order to determine the ideal sample size (g) for each method. The purpose of the pretesting was to obtain extractable antioxidants using aqueous organic solvents.

The final fresh and dry weight for polyphenol extraction were, respectively, assai: 5 g and 2 g; acerola: 2 g and 0.2 g; bacuri: 40 g and 10 g; camu-camu: 1 g and 0.2 g; carnauba: 20 g and 10 g; cashew apple: 20 g and 2 g; gurguri: 5 g and 4 g; jaboticaba: 3 g and 0.5 g; java plum: 5 g and 2 g; jussara: 2 g and 2g; mangaba: 10 g and 2 g; murta: 5 g and 4 g; puçá-coroa-de-frade: 5 g and 2 g; puçá-preto: 5 g and 2 g; umbu: 20 g and 2 g; and uvaia: 6 g and 0.6 g; yellow mombin: 30 g and 4 g. The antioxidant capacity could not be determined for fresh samples of nance due to interference from oil contents. Thus, testing was limited to a dry sample weighing 0.8 g.

### **3.3.3 Extraction of antioxidants**

Figure 1 shows how antioxidant capacity is determined from aqueous organic extraction procedure.

Fresh and lyophilized samples from the pretesting stage were weighed (g) in centrifuge tubes and extracted sequentially with 40 mL methanol/water (50:50, v/v) at room temperature for 1 hour. The tubes were centrifuged at 25,400 g for 15 min and the supernatant was recovered. Then 40 mL acetone/water (70:30, v/v) was added to the residue at room temperature, extracted for 60 min and centrifuged. Methanol and acetone extracts were combined, made up to 100 mL with distilled water and used to

determine antioxidant capacity and extractable polyphenol contents (4,22). All analyses were carried out with a Spectronic Genesys 2 spectrophotometer.

### **3.3.4 Total phenolics determination**

Total polyphenols were determined with the Folin-Ciocalteu method (23) in supernatant. Extracts (1.0 mL) were mixed with 1 mL Folin-Ciocalteu reagent (1:3), 2 mL 20% sodium carbonate solution and 2 mL distilled water. After 1 hour, absorbance at 700 nm was read on the spectrophotometer. Results were expressed as g gallic acid equivalents (GAE)/100g.

### **3.3.5 Antioxidant capacity assays**

Aqueous organic extracts obtained as described above were used with different methods to determine the antioxidant capacity of the samples.

#### **3.3.5.1. ABTS assay**

The ABTS assay was based on a method developed by Miller (24) and modified by Rufino (25). ABTS<sup>•+</sup> radical cations were produced by reacting 7 mM ABTS stock solution with 145 mM potassium persulfate and allowing the mixture to stand in the dark at room temperature for 12-16 hours before use. The ABTS<sup>•+</sup> solution

was diluted with ethanol to an absorbance of  $0.70 \pm 0.02$  at 734 nm. After the addition of 30  $\mu\text{L}$  of sample or Trolox standard to 3 mL of diluted ABTS<sup>+</sup> solution, absorbances were recorded at 6 min after mixing and until the value reached a plateau. Ethanolic solutions of known Trolox concentrations were used for calibration and the results were expressed as  $\mu\text{M}$  trolox/g fruit.

#### 3.3.5.2 DPPH<sup>•</sup> (free radical scavenging) Assay

In order to determine the kinetic parameters of the samples, the antioxidant capacity was determined with the modified DPPH<sup>•</sup> method (26-28) which is based on the quantification of free radical scavenging.

A methanol solution containing 0.06 mM DPPH was prepared. After adjusting the blank with methanol, an aliquot of 100  $\mu\text{L}$  fruit extract was added to 3.9 mL of this solution.

The decrease in absorbance at 515 nm was measured at 1-min intervals for the first 10 minutes, then at 5-min intervals until stabilization. Based on preliminary study, the time required to obtain DPPH readings of each fruit was as follows: assai: 120 min; acerola: 10 min; bacuri: 180 min; caju: 30 min; camu-camu: 5 min; carnauba: 120 min; gurguri: 60 min; jaboticaba: 60 min; java plum: 90 min; jussara: 60 min; mangaba: 30 min; murta: 30 min; nance: 240 min; puçá-coroa-de-frade: 120 min; puçá-preto: 150 min; umbu: 180 min; uvaia: 120 min; and yellow mombin: 180 min;.

The antioxidant capacity was expressed as the concentration of antioxidant required to reduce the original amount of free radicals by 50% ( $\text{EC}_{50}$ ). The decreased steady-state absorbance of DPPH was expressed as g fruit/g DPPH.

#### 3.3.5.3 Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

The antioxidant capacity of each sample was estimated by FRAP assay following the procedure described in the literature (29) with modifications (30, 31).

Briefly, 2.7 mL freshly prepared FRAP reagent (TPTZ, FeCl<sub>3</sub> and acetate buffer) at 37°C was mixed with 90 µL fruit extract and 270 µL distilled water. Using a blank containing FRAP reagent as reference, absorbance at 595 nm was determined at baseline and every 30 min until reaching a plateau. Aqueous solutions of known Fe (II) concentrations in the range of 100-1500 µM (Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) were used for calibration.

#### 3.3.5.4 β-carotene bleaching method

The antioxidant capacity of each sample was estimated with the β-carotene bleaching method following the procedure described in the literature (32) with modifications (33-35). The spectrophotometric assay is based on β-carotene oxidation (discoloring) induced by the products from linoleic acid oxidative degradation.

Solutions were prepared mixing 5 mL β-carotene/linoleic acid system solution and 0.4 mL fruit extract/trolox solutions at different concentrations. The mix was kept in a water bath at 40°C. Spectrophotometric readings were made at 470 nm two minutes after the mixing and then at 15 to 120-min intervals.

Results were expressed in oxidation inhibition percentage, as the absorbance of successive samples decreased in relation to trolox.

### 3.3.6. Statistical analysis

Assays were performed in triplicate for each sample. Results were expressed as mean values  $\pm$  standard deviation (SD).

To determine whether the bioactive compounds contributed to the antioxidant capacity, Pearson's correlation coefficients were calculated at 1% and 5% probability using Student's *t* test for all variables of fresh samples.

## 3.4 RESULTS AND DISCUSSION

### 3.4.1. Quantification of bioactive compounds

Most of the fruits included in this study are absent from the international market, but play an important economic role locally in certain regions or countries of tropical America, especially Brazil.

Tests for vitamin C, total anthocyanins, yellow flavonoids, total carotenoids and chlorophyll based on fresh matter (Table 2) revealed that most of the fruits contained considerable amounts of vitamin C, especially *camu-camu* (1,881.7mg/100g) and *acerola* (1,356.6mg/100g).

Ascorbic acid has several well-known functions in the organism, but its metabolism in plants is still not clearly understood. Likewise, very little has been published regarding the genetic and environmental factors affecting ascorbic acid contents in fruits (36).

Camu-camu is considered a highly nutritious food. Other authors (37) have reported vitamin C contents (2,600 mg/100 g pulp) for this fruit even higher than the levels observed in the present study. Acerola is almost as rich in vitamin C as camu-camu. Different authors (38-40) reported 1,021mg/100g, 1,836.8mg/100g and 1,239.6mg/100g, respectively, for samples based on fresh matter.

Anthocyanins are brightly colored compounds responsible for much of the red, blue, and purple coloring of fruits. They are especially abundant in berries like blueberries and blackcurrants (41). Assai and jussara, sometimes called palm berry, display a characteristic purplish-black coloring due to their large contents of anthocyanins (111.4 and 191.7mg/100 g), flavonoids (91.3 and 374.7mg/100 g) and chlorophyll (20.8 and 21.5mg/100 g), respectively. Both fruits are potential sources of natural dye for use in the industry. Puçá-preto was shown to be an excellent source of total anthocyanins (102.8mg/100g) as were the myrtaceans murta (142.9mg/100g), java plum (93.3mg/100g), jaborcaba (58.1mg/100g) and camu-camu (42.2mg/100g), with levels comparable to those of other well-known fruit sources of anthocyanins.

Anthocyanin contents have recently been reported for several tropical fruits, including jussara (290mg/100g fresh weight), guajiru (104mg/100g), java plum (79mg/100 g), acerola var. 'II47/1' (48mg/100g) and acerola var. 'Roxinha' (23mg/100g) (42). In comparison, strawberries contain 21mg/100g, red grapes 27mg/100g, red raspberries 92mg/100g, cherries 122mg/100g, blackberries 245mg/100g and cultivated blueberries 387mg/100g. The publication of evidence of considerable amounts of anthocyanins and other health-promoting phytonutrients for several of the non-traditional fruits included in this study is likely to draw attention to these species as potential commodities and increase their value on the international market.

Carotenoids are not only important vitamin A precursors, but display a considerable level of antioxidant activity (43). The fruits included in this study contained carotenoids in the range of 0.3 mg/100 g (mangaba) to 4.7 mg/100 g

(gurguri). The latter is by any standards a rich source of carotenoids to which few fruits valued for their carotenoid contents, such as mango (1.91–2.63mg/100g) (44) and papaya (0.85mg/100g). The most obvious exception is perhaps the wine palm (*Mauritia vinifera*; 48.88mg/100g), one of the most important vitamin A precursors in the Brazilian flora (45).

The Brazilian Ministry of Health has lately sponsored awareness programs encouraging the consumption of foods rich in vitamin A and other nutrients. Many such foods, especially native fruit species, are accessible to local socioeconomically challenged communities. Sustainable exploitation of these fruits can potentially benefit health in general, aggregate value to Brazilian natural resources, offer alternative sources of income to rural populations and favor the preservation of native species (46).

### **3.4.2. Polyphenols and antioxidant capacity**

#### 3.4.2.1. Extractable polyphenols

To our knowledge, no previous study has quantified the extractable polyphenols and antioxidant capacity of most of the non-traditional fruits included in this study. Therefore, comparisons were made with findings for more traditional tropical fruits (Tables 3 and 4).

The amount of extractable polyphenols varied greatly among the fruit species. Following the example of Vasco (47), who tested seventeen fruits from Ecuador for polyphenol contents, we classified our fruits in three categories: low (<100mg GAE/100g), medium (100–500mg GAE/100g) and high (>500mg GAE/100g) for

samples based on fresh matter, and low (<1000mg GAE/100g), medium (1000–5000mg GAE/100g) and high (>5000mg GAE/100g) for dry matter.

The fresh and dried fruits richest in polyphenols were, respectively, camu-camu (1176.3mg GAE/100g and 11615.1mg GAE/100g), acerola (1063.3mg GAE/100g and 10279.9mg GAE/100g) and puçá-preto (867.5mg GAE/100g and 2638.3mg GAE/100g), indicating these fruits as excellent sources of natural antioxidants.

The fresh and dried fruits classified as having intermediate polyphenol contents were assai (454.1mg GAE/100g and 3267.5mg GAE/100g) and jaboticaba (440.4mg GAE/100g and 3584mg GAE/100g), respectively.

Finally, fresh fruits classified as low in polyphenols included umbu, yellow mombin and bacuri; dried fruits included mangaba, carnauba, cashew apple, umbu and yellow mombin.

A recent study yielded similar findings for total phenol contents in fresh acerola from Ceará, Brazil (1055.9mg GAE/100g) (4). In another study involving fourteen myrtaceans (48), results were also close to our own: 10,100 mg GAE/100g, 3,160mg GAE/100g and 995mg GAE/100g for dried camu-camu, jaboticaba and java plum, respectively.

Phenols can be difficult to quantify in fruits with high levels of ascorbic acid, because both types of compounds are detected by the same oxidation/reduction reaction (49).

#### 3.4.2.2 Measurement of antioxidant capacity

Antioxidant capacity, as determined by DPPH, ABTS, FRAP and the  $\beta$ -carotene method, is shown in Tables 3 and 4.

When testing fresh and dry matter, respectively, with the DPPH method, the most antioxidant fruits were puçá-preto ( $EC_{50} = 414.3$  and  $65.6$  g/g DPPH), camu-camu ( $EC_{50} = 477.7$  and  $42.6$  g/g DPPH) and acerola ( $EC_{50} = 670.1$  and  $49.2$  g/g DPPH), indicating an association between antioxidant capacity and phenol contents and, in the case of acerola and camu-camu, between antioxidant capacity and vitamin C contents as well. In another study measuring the antioxidant capacity of fresh samples of acerola from Ceará, Brazil, figures were slightly higher than our own ( $838.8$  g/g DPPH) (4). The banana passion fruit (*Passiflora mollissima*) produced in tropical America (47) also boasts a large antioxidant capacity ( $407$  g fresh fruit/g DPPH), not unlike the species evaluated in the present study.

Organized in decreasing order of antioxidant capacity measured with the DPPH method using fresh matter, our fruits ranked as follows: yellow mombin > cashew apple > umbu > assai > carnauba > mangaba > uvaia > java plum > jussara > jaboticaba > gurguri > puçá-coroa-de-frade > murta > acerola > camu-camu > puçá-preto. For dry matter the order observed was: bacuri > carnauba > yellow mombin > java plum > umbu > cashew apple > mangaba > assai > murta > gurguri > puçá-coroa-de-frade > uvaia > nance > jaboticaba > jussara > puçá-preto > acerola > camu-camu.

When evaluated with the ABTS method, our fruits ranged from  $6.3$  to  $152.7$   $\mu\text{M}$  trolox/g (fresh matter) and from  $16.4$  to  $1237.2$   $\mu\text{M}$  trolox/g (dry matter). The corresponding figures for the FRAP method were  $11.8$ – $278.6$  and  $16.1$ – $2501.5$   $\mu\text{mol}$   $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\text{g DM}$ .

When organized in order of increasing antioxidant capacity measured with the ABTS method, the ranking was: umbu < yellow mombin < carnauba < cashew apple < mangaba < assai < uvaia < java plum < gurguri < jaboticaba < puçá-coroa-de-frade < murta < jussara < acerola < puçá-preto < camu-camu for fresh matter. For dry matter was: carnauba < bacuri < yellow mombin < assai < mangaba < umbu < cashew apple < java plum < gurguri < puçá-coroa-de-frade < murta < uvaia < jaboticaba < puçá-preto < nance < juçara < acerola < camu-camu.

The corresponding sequence based on tests with the FRAP method was: yellow mombin < carnauba < umbu < mangaba < cashew apple < assai < java plum < uvaia < gurguri < puçá-coroa-de-frade < jussara < jaboticaba < murta < acerola < puçá-preto < camu-camu for fresh matter, and bacuri < carnauba < yellow mombin < umbu < cashew apple < mangaba < java plum < assai < gurguri < murta < nance < puçá-coroa-de-frade < uvaia < jaboticaba < jussara < puçá-preto < acerola < camu-camu for dry matter.

It may be concluded from the ABTS, DPPH and FRAP assays performed that acerola, camu-camu and puçá-preto contain high levels of antioxidants, indicating the existence of high levels of antioxidant phenols.

Fruits in general display great variations in antioxidant capacity when evaluated as fresh samples with the ABTS method. However, compared to findings published elsewhere (47), the non-traditional species included in our study ranked relatively high. Thus, in a study (50) of four genotypes of guava (*Psidium guajava*) tested with the ABTS assay, results ranged from 22.3 to 37.9  $\mu\text{M}$  trolox/g for fresh matter.

The  $\beta$ -carotene bleaching method is widely used in laboratories around the world. Since no high temperatures are required, the antioxidant capacity of thermo-sensitive vegetable extracts may be determined and qualitatively evaluated (51).

In the present study antioxidant capacity was determined from the ability of samples to inhibit  $\beta$ -carotene bleaching caused by free radicals generated during linoleic acid peroxidation. Antioxidant capacity was classified as high (> 70%), intermediate (40–70%) or low (< 40%) level of oxidation inhibition (OI) (52).

In our study, fresh samples of yellow mombin, carnauba, gurguri, jaboticaba, jussara, murta, puçá-coroa-de-frade, puçá-preto and uvaia displayed high levels of OI. The intermediate group included java plum and umbu. Only two fruits (assai and cashew apple) displayed less than 40% OI.

In the evaluation of lyophilized samples, 12 fruits showed high levels of IO, while only three (cashew apple, nance and uvaia) presented intermediate levels. No fruits scored below 40% IO.

Acerola and camu-camu could not be tested with this method in any concentration, possibly because the high content of vitamin C in these fruits interfered in the system as a pro-oxidant factor. A similar study (4) likewise failed to detect antioxidant capacity in acerola.

Vitamin C is the most abundant hydrosoluble antioxidant in plants. However, ascorbic acid displayed pro-oxidant activity in the  $\beta$ -carotene system and so may have influenced our findings for acerola. Pro-oxidant activity has previously been reported for ascorbic acid when using the  $\beta$ -carotene bleaching method or the liposome method (52). The pro-oxidant behavior of ascorbic acid has been described elsewhere (53) and appears to be due to the formation of ascorbyl radicals during oxidation.

Other authors have found vitamin C to play a somewhat insignificant role in the total antioxidant capacity of fruits (0.35–8.6%) (54) and of fresh fruits and fruit juices (<15%) (55).

Pozo-Insfran (56) concluded that anthocyanins were the predominant contributing factor to the antioxidant capacity of assai, which was found to be higher than that of muscadine grape juice and that of several berries, such as high-bush blueberries, strawberries, raspberries, blackberries and cranberries.

### **3.4.3 Correlation between study variables**

Correlation coefficients for vitamin C, total anthocyanins, yellow flavonoids, total carotenoids, chlorophyll and extractable polyphenols measured with the ABTS

assay, DPPH assay, FRAP assay and  $\beta$ -carotene bleaching method are shown in Table 5.

A positive and significant correlation was found in this study between vitamin C-extractable polyphenols ( $r = 0.70$ ) and antioxidant capacity using the ABTS method ( $r = 0.70$ ) and the FRAP method ( $r = 0.70$ ), with the antioxidant properties being attributed to the phenolic compounds in the respective fruits. Polyphenols and DPPH were negatively and significantly correlated ( $r = -0.72$ ;  $p < 0.05$ ) because the DPPH method yields inversely proportional results.

No correlation was observed between  $\beta$ -carotene bleaching and any of the study variables. In another study (52), the correlation between antioxidant capacity and vitamin C could not be established with the  $\beta$ -carotene method and liposome method because vitamin C was pro-oxidant in both systems. Other authors (53) reported a negative influence of vitamin C, showing ascorbate content and antioxidant capacity to be negatively correlated ( $r = -0.80$ ) for strawberries, raspberries and high and low-bush blueberries.

#### **3.4.4 Considerations on antioxidant capacity: methods and values in tropical fruits**

The ABTS, DPPH, FRAP and  $\beta$ -carotene bleaching methods are performed on a spectrophotometer, available in many—if not most—laboratories.

It is not always a simple task to choose the most appropriate method to determine antioxidant capacity. The FRAP and ABTS methods are generally indicated for hydrophilic compounds, while the  $\beta$ -carotene bleaching method is suitable for lipophilic compounds. The DPPH method may be employed routinely with aqueous-organic extracts containing hydrophilic and lipophilic compounds.

Little or no technical information is available for most of the non-traditional fruits evaluated in this study.

Nevertheless, our results point to promising perspectives for the exploitation of non-traditional tropical fruit species with considerable levels of nutrients and antioxidant capacity. Although evaluation methods and results reporting have not yet been sufficiently standardized, making comparisons difficult, the data add valuable information to current knowledge on the nutritional properties of tropical fruits, such as the considerable antioxidant capacity found for acerola and camu-camu (ABTS, DPPH and FRAP) and for puçá-preto (all methods).

### 3.5 ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to thank CAPES, CNPq, EMBRAPA, UFRS and the European Union (INCO-CT-2005-015279) for financial support.

### 3.6 LITERATURE CITED

- (1) Donadio, L. C. Frutíferas Nativas da América Tropical. In: *Simpósio Nacional de Recursos Genéticos de Fruteiras Nativas*, Anais, 1, Embrapa-CNPq: Cruz das Almas, Bahia. 1993, 9-12.
- (2) Martin, F. W.; Campbell, C. W.; Ruberté, M. R. Perennial edible fruits of the tropics: an inventory. In *USDA, Agriculture Handbook*, 642. Publisher: United States, Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 1987, 247pp.
- (3) Corrêa, S. *Anuário Brasileiro da Fruticultura*, Ed. Gazeta Santa Cruz; Santa Cruz do Sul, Brazil, 2008, 136pp.

- (4) Alves, R.E.; Brito, E.A.; Rufino, M.S.M.; Sampaio, C.G. Antioxidant activity measurement in Tropical fruits: a case study with acerola. *Acta Horticulturae*. 2008, 773, 299-305.
- (5) Harbone, J.B.; Williams, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. 2000, 25, 481-504.
- (6) Sumner, M. D.; Elliot-Eller, M.; Weidner, G.; Daubenmeier, J. J.; Chew, M. H.; Marlin, R.; Raisin, C. J.; Ornish, D. Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart disease. *American Journal of Cardiology*. 2005, 96, 810-814.
- (7) Jayaprakasam, B.; Olson, L. K.; Schutzki, R. E.; Tai, M. H.; Nair, M. G. Amelioration of obesity and glucose intolerance in highfat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in Cornelian cherry (*Cornus mas*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, 54(1), 243-248.
- (8) Andres-Lacueva, C.; Shukitt-Hale, B.; Galli, R. L.; Jauregui, O.; Lamuela-Raventos, R. M.; Joseph, J. A. Anthocyanins in aged blueberry-fed rats are found centrally and may enhance memory. *Nutritional Neuroscience*. 2005, 8, 111-120.
- (9) Loren, D. J.; Seeram, N. P.; Schulman, R. N.; Holtzman, D. M. Maternal dietary supplementation with pomegranate juice is neuroprotective in an animal model of neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Pediatric Research*. 2005, 57, 858-864.
- (10) Alves, R. E.; Brito, E. S.; Rufino, M. S. M. Prospecção da capacidade antioxidante e de compostos com propriedades funcionais em frutas tropicais. In: Carvalho, A. J. C.; Vasconcelos, M. A. da S.; Marinho, C. S.; Campostrini, E. Frutas do Brasil: saúde para o mundo. *Palestras e Resumos*. Congresso Brasileiro de Fruticultura. SBF/UENF/UFRuralRJ: Cabo Frio. 2006, 19, 133-141.
- (11) Aruoma, O.I. Methodological characterizations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Research*. 2003, 9(20), 523-524.
- (12) Frankel, E.N.; Meyer, A.S. The problem of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2000, 80, 1925-1941.

- (13) Sánchez-moreno, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*. 2002, 8, 121-137.
- (14) Pérez-Jiménez, J.; Arranz, S.; Tabernero, M.; Díaz-Rubio, M.E.; Serrano, J.; Goñi, I.; Saura-Calixto, F. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*. 2008, 41, 274–285.
- (15) Duarte-Almeida, J. M.; Santos, R. J. dos; Genovese, M. I.; Lajolo, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/Ácido Linoléico e método de Sequestro de radicais DPPH. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2006, 26(2), 446-452.
- (16) Bompadre, S.; Leone, L.; Politi, A.; Battino, M.; Improved FIA-ABTS method for antioxidant capacity determination in different biological samples. *Free Radical Research*. 2004, 38(8), 831-838.
- (17) Mukhopadhyay, S.; Luthria, D. L.; Robbins, R. J. Optimization of extraction process for phenolic acids from cohosh (*Cimicifuga racemosa*) by pressurized liquid extraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2006, 86, 156-162.
- (18) Strohecker, R.; Henning, H. M. *Analisis de vitaminas: metodos comprobados*. Madrid:Paz Montalvo, España, 1967. 428pp.
- (19) Francis, F. J. Analysis of anthocyanins. In: *Anthocyanins as food colors*, Markakis, P., Ed.; New York: Academic Press, United States, 1982, p.181-207.
- (20) Higby, W. K. A simplified method for determination of some the carotenoids distribution in natural and carotene-fortified orange juice. *Journal of Food Science*. 1962, 27, 42-49.
- (21) Bruinsma, J. The quantitative analysis of chlorophylls A and B in plant extracts. *Photochemistry and Photobiology*. 1963, 2, 241-249.
- (22) Larrauri, J. A.; Pupérez, P.; Saura-Calixto, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1997, 45, 1390-1393.

- (23) Obanda, M.; Owuor, P. O. Flavanol Composition and Caffeine Content of Green Leaf as Quality Potential Indicators of Kenyan Black Teas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1997, 74, 209-215.
- (24) Miller, N. J.; Diplock, A. T.; 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*. 1993, 84, 407-412.
- (25) Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Morais, S. M.; Sampaio, C. de G.; Perez-Jimenez, J.; Saura-Calixto, F. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS•+. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. *Comunicado Técnico on line*. 2007, 128, 1-4.
- (26) Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 1995, 28, 25-30.
- (27) Sánchez-Moreno, C.; Larrauri, J. A.; Saura-Calixto, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1998, 76, 270-276.
- (28) Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Morais, S. M.; Sampaio, C. de G.; Perez-Jimenez, J.; Saura-Calixto, F. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. *Comunicado Técnico on line*. 2007, 127, 1-4.
- (29) Benzie, I. F. F.; Strain, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 1996, 239, 70-76.
- (30) Pulido, R.; Bravo, L.; Saura-Calixto, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2000, 48, 3396-3402.
- (31) Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Morais, S. M.; Sampaio, C. de G.; Perez-Jimenez, J.; Saura-Calixto, F. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP).

Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. *Comunicado Técnico on line*. 2006, 125, 1-4.

(32) Marco, G. A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1968, 45, 594-598.

(33) Miller, H. E. A simplified method for the evaluation of antioxidant. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1971, 48, p.91.

(34) Moreira, A. V. B.; Mancini-Filho, J. Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva-doce, em sistemas aquoso e lipídico (CN 136). *Nutrire*. 2003, 25, 45-60.

(35) Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Mancini-Filho, J.; Moreira, A. V. B. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas no Sistema  $\beta$ -caroteno/Ácido Linoléico. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. *Comunicado Técnico on line*. 2006, 126, 1-4.

(36) Monte, D. C. Os desafios da nutrigenômica no desenvolvimento de alimentos funcionais. In: Carvalho, A. J. C.; Vasconcelos, M. A. da S.; Marinho, C. S.;

Campostrini, E. Frutas do Brasil: saúde para o mundo. *Palestras e Resumos*. Congresso Brasileiro de Fruticultura. SBF/UENF/UFRuralRJ: Cabo Frio. 2006, 19, 45-53.

(37) Alves, R. E.; Filgueiras, H. A. C.; Moura, C. F. H.; Araújo, N. C. C.; Almeida, A. S. Camu-Camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh): A Rich Natural Source of Vitamin C. *Proceedings of Interamerican Society for tropical Horticulture*. 2002, 46, 11-13.

(38) Alves, R. E.; Chitarra, A. B.; Chitarra, M. I. F. Postharvest physiology of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) fruits: maturation changes, respiratory activity and refrigerated storage at ambient and modified atmospheres. *Acta Horticulturae*. 1995, 370, 223-229.

(39) Araújo, P.G.L. de.; Figueiredo, R.W.de.; Alves, R.E.; Maia, G.A.; Paiva, J.R. de.  $\beta$ -caroteno, ácido ascórbico e antocianinas totais em polpa de frutos de aceroleira conservada por congelamento durante 12 meses. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2007, 27(1), 104-107.

- (40) Moura, C.F.H.; Alves, R.E.; Figueiredo, R.W. de.; Paiva, J.R.de. Avaliações físicas e físico-químicas de frutos de clones de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). *Revista Ciência Agronômica*. 2007, 38(1), 52-57.
- (41) Kähkönen, M. P.; Hopia, A. I.; Heinonen, M. Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001, 49, 4076-4082.
- (42) Brito, E. S. de., Araújo, M. C. P., Alves, R. E., Carkeet, C., Clevidence, B. A.; Novotny, J. A. Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, 55, 9389-9394.
- (43) Silva, C. R. de M.; Naves, M. M. V. Suplementação de vitaminas na prevenção de câncer. *Rev. Nutr.* 2001, 14(2), 135-143.
- (44) Ribeiro, S. M. R. *Caracterização e avaliação do potencial antioxidante de mangas (Mangifera indica L.) cultivadas no Estado de Minas Gerais*. 2006. 149p. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2006.
- (45) Godoy, H.T.; Rodriguez-Amaya, D.B. Occurrence of cis-isomers of provitamin A in Brazilian vegetables. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 1998, 46, 3081-3086.
- (46) Costa, T.S.A.; Vieira, R.F. Frutas Nativas Do Cerrado: Qualidade Nutricional e Sabor Peculiar. Toda Fruta, 2004.
- (47) Vasco, C.; Ruales, J.; Kamal-Eldin, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*. 2008, 111, 816-823.
- (48) Reynertson, K.A.; Yang, H.; Jiang, B.; Basile, M.J.; Kennelly, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry*. 2008, 109, 883-890.
- (49) Prior, R. L.; Wu, X.; Schaich, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, 53(10), 4290-4302.

- (50) Thaipong, K.; Boonprakob, U.; Crosby, K.; Cisneros-Zevallos, L.; Byrne, D. H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2006, *19*, 669–675.
- (51) Berset, C.; Cuvelier, M.E. Methods of estimating the degree of lipid oxidation and of measuring antioxidizing power. *Sciences des Aliments*. 1996, *16*(3), 219-245.
- (52) Hassimotto, N. M. A.; Genovese, I. S.; Lajolo, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, *53*, 2928-2935.
- (53) Kalt, W.; Forney, C. F.; Martin, A.; Prior, R. L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 1999, *47*, 4638-4644.
- (54) Sun, J.; Chu, Y. F.; Wu, X.; Liu, R. H. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 2002, *50*, 7449-7454.
- (55) Wang, H.; Cao, G.; Prior, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 1996, *44*, 701-705.
- (56) Pozo-Insfran, D. D.; Brenes, C. H.; Talcott, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 2004, *52*, 1539-1545.

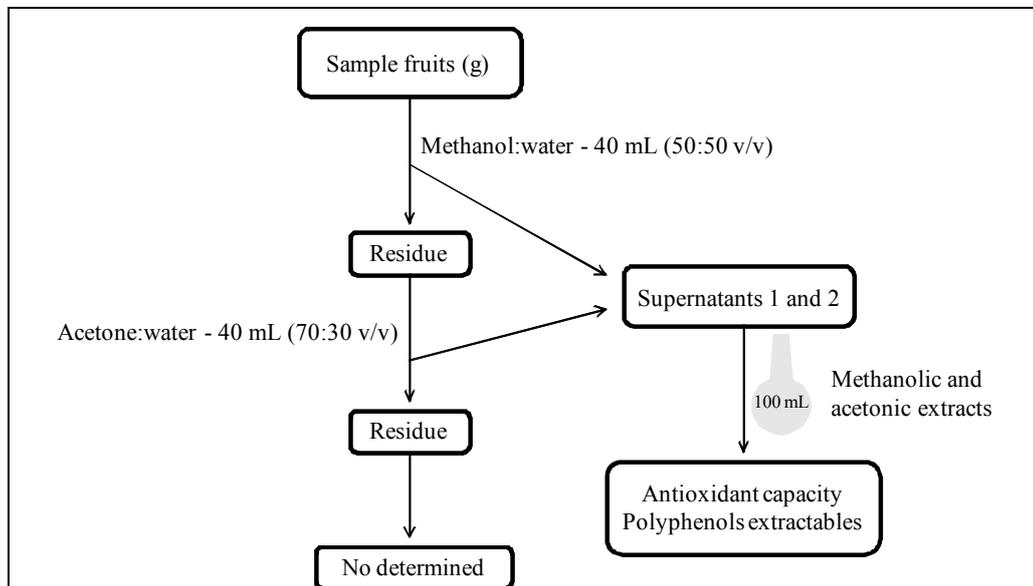


Figure 1 - Flow chart showing determination of antioxidant capacity of aqueous-organic extracts.

Table 1 - List of the 18 tropical non-traditional Brazilian fruits included in the study.

Common Name	Species	Family	Origin (City, State)
Açaí, Assai	<i>Euterpe oleracea</i>	Arecaceae	Paraipaba, Ceará
Acerola	<i>Malpighia emarginata</i>	Malpighiaceae	Limoeiro do Norte, Ceará
Bacuri	<i>Platonia insignis</i>	Clusiaceae	Coelho Neto, Maranhão
Cajá, Yellow mombim	<i>Spondias mombin</i>	Anacardiaceae	Limoeiro do Norte, Ceará
Caju, Cashew apple	<i>Anacardium occidentale</i>	Anacardiaceae	Pacajus, Ceará
Camu-camu	<i>Myrciaria dubia</i>	Myrtaceae	Belém, Pará
Carnaúba	<i>Copernicia prunifera</i>	Arecaceae	Maracanaú, Ceará
Gurguri	<i>Mouriri guianensis</i>	Melastomataceae	Beberibe, Ceará
Jaboticaba	<i>Myrciaria cauliflora</i>	Myrtaceae	Serra de Ibiapaba, Ceará
Jambolão, Java plum	<i>Syzygium cumini</i>	Myrtaceae	Trairi, Ceará
Juçara, Jussara	<i>Euterpe edulis</i>	Arecaceae	São Paulo, São Paulo
Mangaba	<i>Hancornia speciosa</i>	Apocynaceae	Ipiranga, Piauí
Murici, Nance	<i>Byrsonima dealbata</i>	Malpighiaceae	Fortaleza, Ceará
Murta	<i>Blepharocalyx salicifolius</i>	Myrtaceae	Crato, Ceará
Puçá-coroa-de-frade	<i>Mouriri elliptica</i>	Melastomataceae	Beberibe, Ceará
Puçá-preto	<i>Mouriri pusa</i>	Melastomataceae	Ipiranga, Piauí
Umbu	<i>Spondias tuberosa</i>	Anacardiaceae	Picos, Piauí
Uvaia	<i>Eugenia pyriformis</i>	Myrtaceae	Paraipaba, Ceará

Table 2 - Bioactive compounds (mg/100g fresh matter<sup>a</sup>) and humidity (%) in 18 non-traditional Brazilian tropical fruits.

Fruits	Vitamin C	Total anthocyanins	Yellow flavonoids	Total carotenoids	Chlorophyll	Moisture
Açaí, Assai	84.0 ± 10	111.4 ± 30.4	91.3 ± 20.6	2.8 ± 0.4	20.8 ± 3.8	84.1 ± 2.8
Acerola	1,356.6 ± 9.5	18.9 ± 0.9	9.6 ± 1.4	1.4 ± 0.1	n.d.	91.0 ± 0.2
Bacuri	2.4 ± 0.3	0.3 ± 0.2	16.9 ± 1.7	-	n.d.	73.7 ± 8.0
Cajá, Yellow mombim	26.5 ± 0.5	-	7.1 ± 0.7	0.7 ± 0.0	n.d.	86.4 ± 0.9
Caju, Cashew apple	189.9 ± 5.7	9.5 ± 4.6	63.8 ± 26.5	0.4 ± 0.1	n.d.	86.9 ± 0.6
Camu-camu	1,881.7 ± 43.2	42.2 ± 17.0	20.1 ± 4.4	0.4 ± 0.0	n.d.	89.8 ± 0.5
Carnaúba	78.1 ± 2.6	4.1 ± 0.1	66.4 ± 2.3	0.6 ± 0.2	4.2 ± 0.2	70.7 ± 0.6
Gurguri	27.5 ± 0.2	3.3 ± 0.2	41 ± 1.5	4.7 ± 0	n.d.	74.7 ± 3.7
Jaboticaba	237.9 ± 2.2	58.1 ± 0.9	147.1 ± 42.5	0.32 ± 0.1	n.d.	85.9 ± 0.4
Jambolão, Java plum	112.3 ± 5.8	93.3 ± 3.4	70.9 ± 1.2	0.51 ± 0.1	0.9 ± 0.2	84.9 ± 0.3
Juçara, Jussara	185.9 ± 43.3	191.7 ± 43.2	374.7 ± 87.6	1.9 ± 0.5	21.5 ± 4.1	90.2 ± 1.3
Mangaba	189.93 ± 1.91	0.4 ± 0.11	15 ± 1.1	0.3 ± 0.05	n.d.	90.8 ± 1.2
Murici, Nance	147.8 ± 4.0	0.5 ± 0.1	13.8 ± 0.5	1.1 ± 0.1	n.d.	60.6 ± 0.7
Murta	181.1 ± 1.8	142.9 ± 0.5	206.7 ± 8.2	0.5 ± 0.1	5.0 ± 0.5	74.1 ± 2.2
Puçá coroa de frade	41.1 ± 6.7	3.7 ± 0.8	17.7 ± 2.0	3.4 ± 0.1	n.d.	62.6 ± 0.2
Puçá-preto	28.9 ± 1.4	102.8 ± 21.6	143.4 ± 12.6	4.2 ± 0.4	5.6 ± 1.1	64.1 ± 0.8
Umbu	18.4 ± 1.8	0.3 ± 0.2	6.9 ± 1.7	1.0 ± 0.2	n.d.	87.9 ± 0.1
Uvaia	39.3 ± 5.2	1.13 ± 0.1	17.5 ± 1.6	1.7 ± 0.1	n.d.	89.3 ± 1.2

<sup>a</sup> Mean value ± standard deviation,

n = 3

n.d. = not determined.

Table 3 - Polyphenols and antioxidant capacity in aqueous-organic extracts of 18 non-traditional Brazilian tropical fruits based on fresh matter<sup>a</sup>.

Fruits	Extractable polyphenols	DPPH	ABTS	FRAP	$\beta$ -carotene bleaching
	mg GAE/100g	EC <sub>50</sub> (g/g DPPH)	$\mu$ mol Trolox/g	$\mu$ mol Fe <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /g	% O.I.*
Açaí, Assai	454.1 ± 44.6	4,264.1 ± 1381.2	15.1 ± 4.1	32.1 ± 6.5	31.9 ± 3.2
Acerola	1,063.3 ± 53.1	670.1 ± 64.5	96.6 ± 6.1	147.6 ± 16	n.d.
Bacuri	23.8 ± 0.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Cajá, Yellow mombim	72.0 ± 4.4	9,397.3 ± 64.8	7.8 ± 0.2	11.8 ± 0.2	92.7 ± 1.1
Caju, Cashew apple	117.7 ± 3.7	7,142.1 ± 204.9	11.2 ± 0.04	22.9 ± 0.7	25 ± 8.9
Camu-camu	1,176.3 ± 14.8	477.7 ± 1.2	152.7 ± 2.6	278.6 ± 1.5	n.d.
Carnaúba	338.1 ± 36.4	3,548.7 ± 184.4	10.7 ± 0.2	15.5 ± 0.4	87.7 ± 2.7
Gurguri	548.5 ± 22.2	1,384.8 ± 102	35.5 ± 1.6	70.4 ± 7.8	69.7 ± 8.2
Jaboticaba	440.4 ± 9.9	1,472.1 ± 16.9	37.5 ± 1.4	87.9 ± 1.9	90.7 ± 0.1
Jambolão, Java plum	185.4 ± 3.8	3,025.1 ± 65.4	29.7 ± 0.3	35.5 ± 1.4	67.6 ± 3.1
Juçara, Jussara	755.3 ± 8.3	1,710.8 ± 46	78.3 ± 13.3	84.9 ± 16.1	70.8 ± 7.9
Mangaba	169.4 ± 21.5	3,385 ± 349	14.6 ± 1.8	18.3 ± 1.6	n.d.
Murici, Nance	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Murta	609.6 ± 17.7	935.9 ± 33.3	49.1 ± 0.2	107.8 ± 2.3	74 ± 9.2
Puçá coroa de frade	267.8 ± 4.8	1,271.6 ± 51.4	38.5 ± 1.2	84.9 ± 1.3	77.3 ± 1.4
Puçá-preto	867.5 ± 51.0	414.3 ± 14.4	124.5 ± 9.7	208.2 ± 3.9	85.9 ± 7.4
Umbu	90.4 ± 2.2	7,073.6 ± 218.1	6.3 ± 0.2	17.2 ± 0.3	63.4 ± 8.4
Uvaia	126.5 ± 3.3	3,246.5 ± 392.3	18 ± 0.8	38.4 ± 4.1	79.8 ± 5.9

<sup>a</sup>= Mean value ± standard deviation

n = 3

n.d. = not detected

\* = oxidation inhibition

Table 4 - Polyphenols and antioxidant capacity in aqueous-organic extracts of 18 non-traditional Brazilian tropical fruits (dry matter)<sup>a</sup>.

Fruits	Extractable polyphenols	DPPH	ABTS	FRAP	$\beta$ -carotene bleaching
	mg GAE/100g	EC <sub>50</sub> (g /g DPPH)	$\mu$ mol Trolox/g	$\mu$ mol Fe <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /g	% O.I.*
Açaí, Assai	3,267.5 $\pm$ 527	597.9 $\pm$ 164.4	64.5 $\pm$ 19.2	220.4 $\pm$ 32.9	76.1 $\pm$ 6
Acerola	10,279.9 $\pm$ 77.7	49.2 $\pm$ 2.5	952.9 $\pm$ 34.1	1,995.8 $\pm$ 47	n.d.
Bacuri	1,364.9 $\pm$ 43.3	6,980.2 $\pm$ 853.7	18.1 $\pm$ 3.7	16.1 $\pm$ 1.4	74.9 $\pm$ 0.7
Cajá, Yellow mombim	579.2 $\pm$ 12.9	1,064.3 $\pm$ 162.2	40.7 $\pm$ 2.2	97.6 $\pm$ 0.6	84.9 $\pm$ 3.4
Caju, Cashew apple	829.8 $\pm$ 26.5	906.1 $\pm$ 78.2	79.4 $\pm$ 15.7	154.2 $\pm$ 7.8	44.6 $\pm$ 11.7
Camu-camu	11,615.1 $\pm$ 384.2	42.6 $\pm$ 1.4	1,237.2 $\pm$ 33.8	2,501.5 $\pm$ 74.5	n.d.
Carnaúba	829.8 $\pm$ 28.3	4876.7 $\pm$ 24.3	16.4 $\pm$ 0.2	18.8 $\pm$ 0.1	94.2 $\pm$ 3.2
Gurguri	1,364.3 $\pm$ 24.8	360.4 $\pm$ 32.7	135.7 $\pm$ 20.1	273.7 $\pm$ 15.7	97.5 $\pm$ 0.7
Jaboticaba	3,584.0 $\pm$ 90.9	137.6 $\pm$ 3.1	316.5 $\pm$ 2.7	634.9 $\pm$ 11.9	90.6 $\pm$ 0.6
Jambolão, Java plum	1,116.9 $\pm$ 67.1	937.5 $\pm$ 46.9	124.7 $\pm$ 10.8	172.8 $\pm$ 10.8	88.4 $\pm$ 6.8
Juçara, Jussara	5,671.8 $\pm$ 55.9	70.1 $\pm$ 4.8	605.7 $\pm$ 141.7	833.9 $\pm$ 142.4	96.1 $\pm$ 2.5
Mangaba	934.9 $\pm$ 37	889.5 $\pm$ 69.1	65.6 $\pm$ 7.4	163.4 $\pm$ 11.7	34.7 $\pm$ 12.3
Murici, Nance	2,380.1 $\pm$ 104	238.2 $\pm$ 17.7	412.1 $\pm$ 13	334.1 $\pm$ 3.9	61.5 $\pm$ 1.6
Murta	2,054.5 $\pm$ 75.7	363 $\pm$ 27.4	165.9 $\pm$ 4	298.5 $\pm$ 22.4	92.5 $\pm$ 0.6
Puçá coroa de frade	1,046.8 $\pm$ 77	315.6 $\pm$ 2	161.2 $\pm$ 3	379.8 $\pm$ 0.4	95.9 $\pm$ 1.2
Puçá-preto	2,638.3 $\pm$ 48.9	65.6 $\pm$ 2.4	346 $\pm$ 21.7	908.9 $\pm$ 28.4	99.1 $\pm$ 0.5
Umbu	742 $\pm$ 19	933.3 $\pm$ 108.6	77 $\pm$ 15.4	143 $\pm$ 1.3	79.3 $\pm$ 14.6
Uvaia	1,929.6 $\pm$ 128.5	275.9 $\pm$ 22.2	182.1 $\pm$ 14.2	407.5 $\pm$ 34.9	63.7 $\pm$ 5.3

<sup>a</sup> = Mean value  $\pm$  standard deviation

n = 3

n.d. = not detected

\* = oxidation inhibition

Table 5 - Pearson's correlation coefficients (r) between bioactive compounds and antioxidant capacity (fresh matter) of 18 non-traditional Brazilian tropical fruits.

r	Vitamin C	Anthocyanins	Flavonoids	Carotenoids	Chlorophyll	Polyphenols	DPPH	ABTS	FRAP
Anthocyanins	- 0.00								
Flavonoids	- 0.10	0.67**							
Carotenoids	- 0.23	- 0.06	- 0.14						
Chlorophyll	0.17	0.57	0.55	0.93*					
Polyphenols	0.70**	0.32	0.20	0.25	0.66				
DPPH	- 0.38	- 0.21	- 0.26	- 0.32	0.12	- 0.72**			
ABTS	0.70**	0.13	0.03	0.14	0.36	0.92**	- 0.68**		
FRAP	0.70**	0.04	0.01	0.14	0.15	0.89**	- 0.69**	0.97**	
β-carotene.	- 0.45	- 0.10	0.20	0.07	- 0.60	- 0.16	- 0.13	- 0.11	- 0.12

\*\* = significant at  $p < 0.05$

\* = significant at  $p < 0.01$

## CAPÍTULO 4

### **AÇAÍ ‘BRS-PARÁ’: A TROPICAL FRUIT WITH POTENTIAL HEALTH EFFECTS AND A NEW SOURCE OF ANTIOXIDANT DIETARY FIBER AND DIETETIC OIL**

#### 4.1 ABSTRACT

This article reports a study of the concentrations of dietary fiber and antioxidant capacity in açai ‘BRS-Pará’ pulp and oil, with a view to determining the possibility of using it as a source of antioxidant dietary fiber in functional foods or dietary supplements. Results show açai has a high content of dietary fiber (71 % dry matter) and oil (20.82 %) as well as a high antioxidant capacity in both defatted matter and oil. Açai also contains higher concentrations of highly antioxidant phenolics (defatted matter) than other fruits (red grape). Antioxidant capacity of açai oil by DPPH assay ( $EC_{50} = 646.3$  g/g DPPH) was higher than that of extra virgin olive oil ( $EC_{50} = 2,057.27$  g/g DPPH). These features provide to açai considerable potential for nutritional and health. This fruit also may be a suitable source of antioxidant dietary fiber and dietetic oil.

*Keywords:* *Euterpe oleracea*; fatty acids; oil; polyphenols; antioxidant capacity; ABTS; DPPH; FRAP; ORAC

#### 4.2 INTRODUCTION

Açai (*Euterpe oleracea*) is currently among the most economically significant palm species in the Brazilian Amazon and has become one of the main export products of the Amazon estuary to other regions in the world (Galotta & Boaventura, 2005).

Also known as cabbage palm, *Euterpe oleraceae* bears a dark purple, berry-like fruit, clustered into bunches, that serves as a major food source for native and lower income people in Brazil, Colombia, and Suriname (Strudwick & Sobel, 1988).

Traditionally açai grows on flooded areas. However, through a genetic breeding program based on phenotypic selection from its germplasm bank, Embrapa Western Amazonia (Belém-PA, Brazil) developed a cultivar – the BRS-Pará – suitable for growing on stable land, and as a result the production system of this plant has now been modified, making it easier and more productive than the traditional system. For example, 10 t/ha/year of fruits have been produced with 15% to 25% of pulp (Oliveira & Farias Neto, 2004).

The fruits are primarily used to prepare a beverage with the consistency of milkshake by macerating their pulp and mixing it with different amounts of water (Strudwick & Sobel 1988). According to Brazilian government regulations (Brasil, 1999), the açai beverage is classified in three densities: concentrated (> 14% dry matter), medium (11 - 14% dry matter) and low concentration (8 - 11% dry matter).

Açai pulp has attractive nutritional properties, with lipid and starch contents such as to produce an energetic value of almost 247 kcal/100g (Freire, Souza & Mendonça et al., 2000; Rogez, 2000). It is also rich in fiber, tocopherols (vitamin E), and minerals such as manganese, copper, boron, magnesium, calcium, chrome and potassium (Oliveira, Carvalho & Nascimento, 2000).

Recently, much attention has been paid to its antioxidant capacity and its possible role as a “functional food” or food ingredient (Lichtenthaler, Rodrigues & Maia, 2005; Hassimotto, Genovese & Lajolo, 2005). However, there is still only very limited information about the phytochemical and nutrient composition of açai BRS-Pará, so that health claims and its possible role as a “functional food” are open to question. Sales promotions of açai advertise the product as rich in antioxidants and having several potential beneficial health effects, especially for athletes (Strudwick &

Sobel, 1988). So far, with the exception of the energy-donating properties (Rogez, 2000), none of these slogans has been scientifically proven.

The dietary fiber market is highly competitive, with cereals providing the major source for commercial products. Nevertheless, it is well-known that dietary fibers from some fruits which contain a higher proportion of soluble dietary fiber and associated bioactive compounds than cereals have properties specifically related to gastrointestinal health and prevention of chronic diseases (Spiller, 1986). Antioxidant dietary fiber is defined as a natural product that combines the beneficial effects of dietary fiber and natural antioxidants, such as polyphenol compounds (Saura-Calixto, 1998). Antioxidant dietary fiber can be used as a dietary supplement to improve gastrointestinal health and to prevent cardiovascular diseases (Pérez-Jiménez et al., 2008a), and also as an ingredient in seafood and meat products to prevent lipid oxidation (Sánchez-Alonso, Jiménez-Escrig, Saura-Calixto & Borderías, 2006).

The aim of this work was to study the concentrations of dietary fiber and antioxidant capacity in açai 'BRS-Pará' pulp and oil, with a view to determining the possibility of using it as a source of antioxidant dietary fiber in functional foods or dietary supplements. Since the association of antioxidants with dietary fiber may produce specific physiological effects, polyphenols and antioxidant capacity associated with dietary fiber were determined as well. And finally, constituents of potential nutritional utility, such as fatty acids and resistant proteins, were analyzed.

### 4.3. MATERIAL AND METHODS

#### 4.3.1 Chemicals

Pepsin, glucose, inositol and *N*-methylimidazole were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). Amyloglucosidase, pancreatin, lipase, bile extract porcine,  $\alpha$ -amylase, 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), catechin, gallic acid, galacturonic acid, galactose and manose were obtained from Sigma-Aldrich Química, S.A. (Madrid, Spain). 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-5-triazine (TPTZ) was from Fluka Chemicals (Madrid, Spain). Dinitrosalicylic acid, 3,6'-dihydroxy-spiro-[isobenzofuran-1-[3H],90[9H]-xanthen]-3-one (fluorescein) and iron III-chlorure-6-hydrate were from Panreac, Castellar del Vallés (Barcelona, Spain). All reagents used were of analytical grade.

#### 4.3.2 Samples

Fruits of açai 'BRS-Pará' cultivar were collected at Embrapa Western Amazonia at Belém-PA, Brazil. After harvesting, the fruits were transported to the laboratory and processed in a domestic blender (Walita, Brazil) to obtain a pulp and the seeds were discarded. The pulp was freeze-dried (LH 4500, Terroni Fauvel, Brazil) and milled to a particle size of less than 0.5 mm in a centrifugal milling.

### 4.3.3 Methods

Figures 1 and 2 show a scheme of the treatment performed to the samples to determine dietary fiber (DF) and antioxidant capacity in ICTAN-CSIC, Madrid, Spain. Determination of dietary fiber consists of several enzymatic treatments (pepsin, pancreatin and  $\alpha$ -amylase) followed by a centrifugation, that results in a residue (insoluble dietary fiber - IDF) and a supernatant, that is subjected to an incubation with amyloglucosidase followed by a dialysis system. The retentant of the dialysis is the soluble dietary fiber (SDF). Uronic acids and neutral sugars were determined in both soluble and insoluble fiber, and Klason lignine in the insoluble fraction. The insoluble fraction was also determined gravimetrically, as well as resistant protein and ash associated to it. Antioxidant capacity associated to soluble dietary fiber (due to extractable polyphenols) and to insoluble dietary fiber (due to hydrolyzable and condensed tannins) was also determined.

To determine antioxidant capacity of the original sample, an aqueous-organic extraction of the defatted sample was performed and in the supernatant antioxidant capacity and extractable polyphenols were determined. In the residue of this extraction, different hydrolysis procedures were applied to release hydrolyzable tannins and condensed tannins and their content was determined, as well as the corresponding antioxidant capacity. Antioxidant capacity was also determined in açai oil.

Determinations were performed in triplicate and reported on dry basis. Results are expressed as mean values  $\pm$  standard deviation.

#### 4.3.3.1 Dietary Fiber Determination

Previously the samples were defatted with petroleum ether on a Soxhlet device. The DF was measured based on the procedure described by Saura-Calixto, Garcia-Alonso, Goñi and Bravo (2000). This method combines enzymatic treatments and separation of digestible compounds by dialysis using physiological conditions (temperature and pHs), obtaining the fraction of food that is not digested.

Total DF was calculated as the sum of insoluble DF components (resistant starch, nonstarch polysaccharides - NSP, Klason lignin, resistant protein, ash, extractable polyphenols, proanthocyanidins, and hydrolyzable phenols) plus soluble DF components (soluble nonstarch polysaccharides - NSP) and extractable polyphenols.

Samples (300 mg) were incubated with pepsin (0.2 mL of a 300 mg/mL solution in 0.08 M HCl-KCl buffer, pH 1.5, 40°C, 1 h), pancreatin (1 mL of a 5 mg/mL solution in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.5, 37 °C, 6 h) and  $\alpha$ -amylase (1 mL of a 120 mg/mL solution in 0.1 M Tris-maleate buffer, pH 6.9, 37 °C, 16 h). Samples were centrifuged (15 min, 3000g) and supernatants removed. Residues were washed twice with 5 mL of distilled water, and all supernatants were combined. Each supernatant was incubated with 100  $\mu$ L of amyloglucosidase for 45 min at 60 °C before being transferred to dialysis tubes (12,000-14,000 molecular weight cutoff, Visking dialysis tubing; Medicell International Ltd., London, U.K.) and dialyzed against water for 48 h at 25 °C to eliminate digestible compounds.

NSP were hydrolyzed with 1 M sulfuric acid at 100 °C for 90 min and spectrophotometrically measured after alkalization with NaOH (3.9 M) and reaction with dinitrosalicylic acid (Englyst & Cummings, 1988).

The residue was weighed to determine insoluble dietary fiber and resistant protein and ash were determined in it (see “other determinations”). NSP and Klason

lignin were determined in the residue according to the method described by the AOAC (Southgate, 1969): after treatment with sulphuric acid (12 M, 20 °C for 3 h; dilution to 1 M and incubation for 2 h, 100 °C), NSP were determined spectrophotometrically as sugars and uronic acid with dinitrosalicylic acid (Englyst & Cummings, 1988) and Klason lignin was determined gravimetrically.

Neutral sugars were analyzed in the hydrolysates by gas-liquid chromatography (GLC) as alditol acetates (Scott, 1979). A Shimadzu GC-14 A chromatograph (Shimadzu Co., Kyoto, Japan) fitted with a flame ionization detector was used. An SP-2330 capillary column (30 m x 0.32 mm i.d., catalog no. 2-4073, Supelco, Bellefonte, PA) was used. Analytical conditions were as follows: column temperature, 240 °C (isothermal); injector temperature, 270 °C; detector temperature, 270 °C; carrier gas, nitrogen. Inositol was used as internal standard.

Antioxidant capacity and phenolic compounds associated to soluble and insoluble dietary fiber were determined according to the description below.

#### 4.3.3.2 Antioxidant capacity and phenolic compounds determination

##### *4.3.3.2.1 Extraction of antioxidants*

0.5 g of sample is placed in a capped centrifuge tube; 20 mL of acidic methanol/water (50:50, v/v; pH 2) was added and the tube was thoroughly shaken at room temperature for 1 h. The tube was centrifuged at 2,500 g for 10 min and the supernatant recovered. Twenty millilitres of acetone/water (70:30, v/v) is added to the residue, and shaking and centrifugation repeated. Methanolic and acetonetic extracts were combined and used to determine the antioxidant capacity associated with

extractable antioxidants (supernatant 3 in Figure 1, supernatant 1 in Figure 2). The residues of these extractions were subjected either to hydrolysis with  $\text{H}_2\text{SO}_4$  to release hydrolysable tannins (supernatant 1 and 2 in Figure 1, supernatant 2 in Figure 2) or to treatment with butanol/HCl/ $\text{FeCl}_3$  to release anthocyanidins from proanthocyanidins or condensed tannins (supernatant 4 in Figure 1, supernatant 3 in Figure 2).

Total antioxidant capacity was determined directly in vegetable oils, after diluting aliquots in ethyl acetate. To determine separately antioxidant capacity associated to polar and apolar compounds, 5 mL of oil were mixed with 5 mL of methanol. The mixture was vigorously stirred for 20 min and centrifuged at 2,500 g for 10 min and the supernatant was recovered. Another 5 mL were added and the same process was repeated. Antioxidant capacity was measured directly in the methanolic extract (that extracts polar compounds) and in the remaining oil (apolar fraction), after dilution with ethyl acetate (Espín, Soler-Rivas & Wichers, 2000).

#### 4.3.3.3 Antioxidant capacity methods

##### 4.3.3.3.1 *DPPH*<sup>•</sup> (Free-Radical Scavenging) Assay

It was used the method described by Brand-Williams, Cuvelier and Berset (1995), later modified by Sánchez-Moreno, Larrauri and Saura-Calixto (1998) in order to determine kinetic parameters. After adjusting the blank with methanol, 0.1 mL of the sample was mixed with 3.9 mL of a *DPPH*<sup>•</sup> methanolic solution (60  $\mu\text{M}$ ). The absorbance at 515 nm was measured until the reaction reached the plateau. A calibration curve at that wavelength was made to calculate the remaining *DDPH*<sup>•</sup>. The parameter  $\text{EC}_{50}$ , which reflects 50% depletion of *DPPH*<sup>•</sup> free-radical, was expressed in

terms of grams of açai equivalent per gram of DPPH<sup>•</sup> in the reaction medium. The time taken to reach the steady state at EC<sub>50</sub> ( $T_{EC50}$ ) and the antiradical efficiency ( $AE = 1/EC_{50}tEC_{50}$ ) were also determined.

#### *4.3.3.3.2 ABTS Assay at a fixed end-point*

ABTS radical cation (ABTS<sup>•+</sup>) was produced by reacting 7 mM ABTS stock solution with 2.45 mM potassium persulfate and allowing the mixture to stand in the dark at room temperature for 12-16 h before use. The ABTS<sup>•+</sup> solution was diluted with methanol to an absorbance of  $0.70 \pm 0.02$  at 658 nm. After the addition of 100  $\mu$ L of sample or Trolox standard to 3.9 mL of diluted ABTS<sup>•+</sup> solution, absorbance readings were taken every 20 s, using a Beckman DU-640 (Beckman Instruments Inc. Fullerton, CA, USA) spectrophotometer. The reaction was monitored during 6 min. The percentage inhibition of absorbance versus time was plotted, and the area below the curve (0-6 min) was calculated. Methanolic solutions of known Trolox concentrations were used for calibration (Re et al., 1999).

#### *4.3.3.3.3 ABTS assay expressed kinetically*

The ABTS radical cation is generated as described for the ABTS assay at a fixed end-point. A recent procedure described modified the original method so as to determine kinetic parameters. An aliquot of the sample extract (0.1 mL) is added to 3.9 mL of ABTS<sup>•+</sup> (0.044 g/L) in methanol which was prepared daily. Absorbances at 658 nm are measured at different time intervals on a spectrophotometer until the reaction

reaches a plateau. The ABTS<sup>•+</sup> concentration in the reaction medium is calculated by plotting concentration vs. absorbance. EC<sub>50</sub>, tEC<sub>50</sub> and AE are calculated as in the DPPH assay (Pérez-Jiménez & Saura-Calixto, 2008).

#### *4.3.3.3.4 FRAP (ferric reducing antioxidant power) assay*

FRAP reagent (900 µL), freshly prepared and warmed at 37 °C, was mixed with 90 µL of distilled water and either 30 µL of test sample or standard or appropriate reagent blank. Reading at the absorption maximum (595 nm) was taken every 15 s, using a spectrophotometer. The readings at 30 min were selected for calculation of FRAP values. Solutions of known Trolox concentrations were used for calibration. (Benzie & Strain, 1996; Pulido, Bravo & Saura-Calixto, 2000)

#### *4.3.3.3.5 ORAC (oxygen radical absorbance capacity) assay*

Sample/blank is mixed with PBS buffer, AAPH and fluorescein. Fluorescence is recorded until it reaches zero (excitation wavelength 493 nm, emission wavelength 515 nm) in a fluorescence spectrophotometer Perkin–Elmer LS 55 at 37 °C. Results are calculated using the differences of areas under the fluorescein decay curve between the blank and the sample and are expressed as Trolox equivalents (Ou, Hampsch-Woodill & Prior, 2001).

#### 4.3.3.4 Antioxidant compounds

Total polyphenols in extracts were determined according to the Folin-Ciocalteu method (Singleton, Orthfer & Lamuela-Raventós, 1998) in supernatants 1 and 3 (Figure 1) and in supernatant 1 (Figure 2). Test sample (0.5 mL) was mixed with 1 mL of Folin-Ciocalteu reagent and swirled. After 3 min, 10 mL of sodium carbonate solution (75 g/L) was added and mixed. Additional distilled water was mixed thoroughly by inverting the tubes several times. After 1 h, the absorbance at 750 nm was recorded. The results were expressed as g gallic acid equivalents (GAE)/100 g.

Proanthocyanidins (condensed tannins) not extracted by the previous aqueous-organic procedure were measured at 555 nm after hydrolysis with HCL/Butanol/FeCl<sub>3</sub> (3 h, 100 °C) (Reed, McDowell, Van Soest & Horvath, 1982) in supernatant 4 in Figure 1 and in supernatant 3 in Figure 2. Results were compared with carob pod (*Ceratonia siliqua*) proanthocyanidin standard (Nestlé, Ltd., Vers-Chez-les Blanes, Switzerland).

Hydrolyzable tannins were measured according to the method described by Hartzfeld, Forkner, Hunter and Hagerman (2002) by hydrolysis with methanol and sulfuric acid for 20 h at 85 °C, in supernatant 2 in Figures 1 and 2. Concentration was estimated by the Folin–Ciocalteu method (Singleton, Orthfer & Lamuela-Raventós, 1998) and expressed as g GAE/100 g.

The presence of phenolics was also checked performing the HPLC method described by Lamuela-Raventós and Waterhouse (1994) in the aqueous-organic extracts obtained from the pulp (supernatant 1 in Figure 2). A Hewlett-Packard (HP) 1,100 liquid chromatography with a DAD couple to a Chemstation HP 79995 was used. The column was a Novapack C18 (250 mm x 4 mm), 5 µm particle size. Quantification was made at 280 nm for benzoic acids (expressed as gallic acid) and for flavan-3-ols (expressed as catechin), at 320 for hydroxycinnamic acids (expressed as

caffeic acid), at 365 for flavonols (expressed as rutin) and 520 for anthocyanins (expressed as malvidin).

#### **4.3.4 Other determinations**

Protein was determined using an automated nitrogen analyser FP-2000®; Dumas Leco Corp. (Serrano, Goñi & Saura-Calixto, 2005). Fat content was determined using a Soxhlet System HT extractor with petroleum ether, and fatty acid composition by GC, after derivatization to methyl esters (Gómez-Cortés et al., 2008). Ash content was determined with an electric muffle furnace for 16 h at 550°C quantified gravimetrically.

### **4.4. RESULTS AND DISCUSSION**

#### **4.4.1 Composition**

Proximate composition values are presented in Table 1. The most significant aspect of Açai BRS-Pará is its high DF content (70% dry weight), most of it insoluble DF. Açai dietary fiber content, as other tropical fruits, is much higher than in common fruits like apples, oranges or bananas, in which it ranges from 17 to 36% dry matter (Saura-Calixto, Garcia-Alonso, Goñi & Bravo, 2000). Moreover, açai contains comparable levels of DF to other products described as rich in dietary fiber, such as pineapple shell or grape pomace (Larrauri, Rupérez & Saura-Calixto, 1997; Pérez-

Jiménez et al., 2008b), and higher than other tropical fruits like guava or papaya (Jiménez-Escrig, Rincón, Pulido & Saura-Calixto, 2001; Mahattanatawee et al., 2006)

Table 2 shows the composition of açai dietary fiber, including neutral sugars (determined individually), uronic acids, Klason lignin, resistant protein, and ash. Glucose and galactose are the main neutral sugars in soluble dietary fiber, while arabinose and xylose would be the major monosaccharides in insoluble dietary fiber, indicating the presence of arabinoxylans. The uronic acid (26.64%) and Klason lignin (39.27%) contents in insoluble dietary fiber are considerable. Also, açai contains 5.6% of resistant protein, that is to say protein associated with dietary fiber that will reach the colon intact to become a fermentable substrate for certain colonic bacterias. This resistant or indigestible protein may account for a major part of the total protein present in açai. The presence of a high proportion of resistant protein is a characteristic of polyphenol-rich vegetable materials. Polyphenols have the ability to link protein, and consequently polyphenol- and protein-rich materials present a high proportion of resistant protein. Like açai, high levels of resistant protein have been reported in grape pomace (grape seeds and peels) (Bravo & Saura-Calixto, 1998), or edible seaweeds (Goñi, Gudeil-Urbano & Saura-Calixto, 2002).

As for the other components shown in Table 1, açai also has a high oil content, with oleic acid as the major fatty acid. This agrees with results reported by other authors for açai fruits from Pará state (Rogez, 2000; Yuyama *et al.* 2004 & Menezes, 2005) or from the Amazon estuary, both in Brazil (Schauss et al., 2006).

Analysis of fatty acids (Table 3) confirms that this fruit is a source of fatty acids of potential nutritional interest; it contains almost as much oleic acid as olive oil, which contains 70% oleic acid on average, and more than other oil rich sources such as soy, corn and sunflower. It also possesses a high phenolic content that presumably contributes to its antioxidant capacity, as discussed below. Finally, protein, soluble sugars and mineral content agreed with other reported data (Menezes, Torres & Srur, 2008).

#### 4.4.2 Polyphenols and antioxidant capacity

The antioxidant capacity of a food sample comes from the combined synergic action of a mixture of compounds, including phenolics, carotenoids, vitamin C and E, etc. Except for acerola fruits (Alves, Chitarra & Chitarra, 1995), in which vitamin C is a main component, in fruits like açai which contain relatively little of this vitamin, polyphenols have been described as the main contributors to antioxidant capacity.

Polyphenol content determined in aqueous-organic extracts the pulp can be seen in Table 4. The values are similar to those reported by other authors (Schauss et al., 2006). The phenolic profiles of these extracts (according to chemical groups) were evaluated by HPLC-DAD (data not shown), which showed evidence of anthocyanidins (520 nm), glycoflavons (280 nm) and hydroxycinnamic acid (280/320/365 nm). Other authors have characterized the main phenolic compounds present in açai pulp individually (cyanidin 3-O-glucoside and cyanidin 3-O-rutinoside, 520 nm; and homoorientin - 255/271/350 nm; orientin - 255/267/293/346 nm and isovitexin - 271/336 nm) (Gallori et al., 2004) and in the related fruit jussara (*Euterpe edulis*) (cyanidin 3-glucoside – 287 nm and cyanidin 3-rutinoside - 449/287 nm) (Brito et al., 2007).

Total polyphenols present in the residue of these extractions, that is hydrolysable and condensed tannins, were determined in the residues of these extractions, giving values of 1.59 and 1.24% respectively. To the authors' knowledge, this is the first time that phenolic compounds remaining in the residues of these extractions—hydrolysable and condensed tannins or non-extractable proanthocyanidins—have been determined in açai, and in fact they were as abundant as extractable polyphenols. Although non-bioavailable in the small intestine, these non extractable polyphenols reach the colon intact and there become fermentable substrates

for colonic bacterias. The fermentation of these compounds release antioxidant metabolites that may improve the colonic status and yield some absorbable metabolites (Gonthier et al., 2003; Cerdá, Periago, Espín & Tomás-Barberán, 2005)

The antioxidant capacity associated with these phenolic compounds has yet to be determined, and, regarding the oil it was found only one reference in which the antioxidant capacity of açai oil was measured by ORAC assay (Pacheco-Palencia et al., 2008). However, the total antioxidant capacity of açai is calculated as the antioxidant capacity of the oil plus the antioxidant capacity of the defatted matter. Therefore, one aim of this work was to determine the total antioxidant capacity of this fruit. In order to perform these determinations, it was necessary to defat the açai, since its high oil content could interfere in the measurement of this parameter (Arranz, Pérez-Jiménez & Saura-Calixto, 2008).

#### **4.4.3 Antioxidant capacity of defatted pulp**

Antioxidant capacity associated with phenolic compounds was determined by FRAP, ABTS, DPPH and ORAC (Table 4), the most common methods for determining *in vitro* antioxidant capacity in the different supernatants (Figure 2). It is recommended that at least two, and preferably all of these assays be used, so as to provide comprehensive information on the total antioxidant capacity of a foodstuff, taking into account the pros and cons of each assay as well as their applicability (Pérez-Jiménez et al., 2008b).

The aqueous-organic extracts obtained from defatted açai (supernatant 1), showed high antioxidant capacity as compared with other fruits known for their high antioxidant contents, such red grape (Pérez-Jiménez et al., 2008b). All the methods

employed for hydrolysable and condensed tannins likewise showed high antioxidant capacity values.

When fixed time antioxidant capacity measurement methods were compared a wide range of values depending on the methods were found. ORAC exhibited the high values and ABTS the lowest. However only ABTS was suitable procedure to determine in condensed tannins, while ORAC and FRAP were discarded because of interferences. In the case of kinetic measurements, the ABTS assay presented an  $EC_{50}$  value (1.2) lower than DPPH (10.20) which mean higher antioxidant capacity in extractable polyphenols. While the opposite occurred in the hydrolysable tannins. The DPPH, FRAP and ORAC methods could not be used for condensed tannins in the residue, since HCl/n-butanol interferes with the analysis. Only ABTS could therefore be used.

#### **4.4.4 Antioxidant capacity of the oil**

Açaí oil antioxidant capacity results for total oil and the polar and apolar fractions are shown in Table 5. Only total oil and polar fraction values can be directly compared, since both are measured using ethyl acetate as solvent, while in the polar fraction measurements are performed in methanol. The table also compares these values with extra virgin olive oil as a model of a lipophilic antioxidant-rich sample (Arranz, Pérez-Jiménez & Saura-Calixto, 2008). This comparison was possible because oil extraction and antioxidant capacity measurements were equivalent in both studies.

$EC_{50}$  was lower in the açaí oil than the extra virgin olive oil (646.3 g/g DPPH vs. 2,057.3 g/g DPPH) indicating higher antioxidant capacity in the former. On the

other hand, the antiradical efficiency (AE) of extra virgin olive oil is higher, because the kinetics ( $tEC_{50}$ ) of açai oil is much slower than that of extra virgin olive oil.

In the case of the apolar fraction, again açai oil had a lower  $EC_{50}$  than olive oil (536.5 ml oil/g DPPH vs. 1,210.96 ml oil/g DPPH) and consequently higher antioxidant capacity to capture DPPH radical. Açai and olive oil apolar fractions showed similar results for kinetic parameters.

The  $EC_{50}$  of the açai oil polar fraction was 1249.97 ml oil/g DPPH and a comparison with olive oil (10.25 ml oil/g DPPH) clearly evidenced higher antioxidant capacity of this fraction in olive oil. Anyway, this fraction of açai oil had a faster kinetics (lower  $tEC_{50}$  than that of extra virgin olive oil)

In any case açai is a natural source of oil with considerable antioxidant capacity and has potential for use by food and cosmetics industries as an alternative to traditional vegetable oils.

#### **4.4.5 Polyphenols and antioxidant capacity associated with dietary fiber**

Dietary fiber, measured as indigestible fraction (Saura-Calixto et al., 2000), is composed by two fractions: a soluble fraction (supernatant from enzymatic digestion) and an insoluble fraction (residue from enzymatic digestion). Antioxidant capacity and phenolic compounds associated with dietary fiber were determined in both fractions (Table 6). The soluble dietary fiber contained associated extractable polyphenols, while the insoluble dietary fiber contained associated extractable polyphenols, hydrolysable tannins and condensed tannins. These constitute an important fraction of the polyphenols present in açai pulp (Table 1), that is, most of the polyphenols present in açai pulp are associated with dietary fiber.

Although the values in Table 6 cannot be directly compared with those in Table 4, since the extraction methods were different (aqueous-organic *vs* enzymatic extraction), it can be seen that açai dietary fiber exhibits considerable associated antioxidant capacity. For example, the ABTS value of condensed tannins in the insoluble dietary fiber was  $20.51 \pm 0.13$   $\mu\text{mol Trolox/g dm}$ , while hydrolysable tannins in insoluble dietary fiber gave an ORAC value of  $155.6 \pm 8.4$   $\mu\text{mol Trolox/g dm}$ . For comparative purposes, the antioxidant capacity associated with dietary fiber in a mixture of the fruits consumed in the Spanish diet has been calculated as 2  $\mu\text{mol Trolox/g dm}$  by ABTS assay (Serrano, Goñi & Saura-Calixto, 2007). Moreover, the antioxidant capacity of açai dietary fiber is of nutritional significance in that these antioxidant compounds reach the colon intact and there they can produce a variety of beneficial effects, as discussed above.

To summarize, the present work provides nutritional data on pulp composition. Açai pulp contains polyphenols with high antioxidant capacity, most of them associated with dietary fiber. Its oil has higher antioxidant capacity than olive oil and a comparable fatty acids profile. With the high dietary fiber content of açai pulp and the associated polyphenols, this fruit is a suitable source of antioxidant dietary fiber and may be used as a food ingredient to prevent lipid oxidation in seafood and meat products, as well as in dietary supplements. These data suggest that açai could have considerable potential for purposes of nutritional and health.

#### 4.5 ACKNOWLEDGEMENTS

To CAPES, IF-CSIC, EMBRAPA, UFRSA and European Union (INCO-CT-2005-015279) for financial support.

To Dr. Miguel Ángel de la Fuente (Department of Dairy Products Science and Technology, ICTAN-CSIC) is acknowledged for his assistance in fatty acids profile analysis.

#### 4.6 REFERENCES

- Alves, R. E., Chitarra, A. B. & Chitarra, M. I. F. (1995). Postharvest physiology of Acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) fruits: maturation changes, respiratory activity and refrigerated storage at ambient and modified atmospheres. *Acta Horticulturae*. 370, 223-230.
- Arranz, S., Pérez-Jiménez, J. & Saura-Calixto, F. (2008). Antioxidant capacity of walnut (*Juglans regia* L.): contribution of oil and defatted matter. *European Food Research and Technology*. 227, 425-431.
- Benzie, I. F. F. & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239, 70-76.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 28, 25-30.
- Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. (1999). *Padrões de Identidade e Qualidade para Polpas de Frutas*. Brasília. Instrução Normativa, 12.
- Bravo, L., Saura-Calixto, F. (1998). Characterization of dietary fiber and the in vitro indigestible fraction of grape pomace. *American Journal of Enology and Viticulture*. 49(2), 135-41
- Brito, E. S. de., Araújo, M. C. P., Alves, R. E., Carkeet, C., Clevidence, B. A. & Novotny, J. A. (2007). Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 9389-9394.
- Cerdá, B., Periago, P., Espín, J.C. & Tomás-Barberán, F.A. (2005). Metabolism of antioxidant and chemopreventive ellagitannins from strawberries, raspberries, walnuts,

and oak-aged wine in humans: Identification of biomarkers and individual variability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 227-35.

Englyst, H. & Cummings, J. (1988). Improved method for the measurement of dietary fibre as nonstarch polysaccharide in plant foods. *Journal Association of Official Analytical Chemists*. 71, 808-814.

Espín, J. C., Soler-Rivas, C. & Wichers, H. J. (2000). Characterization of the Total Free Radical Scavenger Capacity of Vegetable Oils and Oil Fractions Using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 648-656.

Freire, E. S., Souza, S. M. M. de & Mendonça, M. A. S. (2000). Caracterização de frutas nativas da América Latina: Açaí. Jaboticabal: Funep. (Série Frutas Nativas). 3-6.

Gallori, S.; Bilia, A. R.; Bergonzi, M. C.; Barbosa, W. L. R. & Vincieri, F. F. (2004). Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleraceae* Mart. (açai palm). *Chromatographia*. 59, 739-743.

Galotta, A. & Boaventura, M. (2005). Chemical constituents from roots and leaf stalks of açai (*Euterpe precatoria* Mart., Arecaceae). *Quimica Nova*. 28, 610-613.

Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A. R., Juárez, M., Fuente, M. A. & Hervás, G. (2008). Addition of Olive Oil to Dairy Ewe Diets: Effect on Milk Fatty Acid Profile and Animal Performance. *Journal Dairy Science*. 91, 3119-3127.

Goñi, I., Gudiel-Urbano, M. & Saura-Calixto, F. (2002). In vitro determination of digestible and unavailable protein in edible seaweeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82(15), 1850-1854.

Gonthier, M. P., Donovan, J. L., Texier, O., Felgines, C., Remesy, C. & Scalbert, A. (2003). Metabolism of dietary procyanidins in rats. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 35, 837-844.

Hartzfeld, P. W., Forkner, R., Hunter, M. D. & Hagerman, A. E. (2002). Determination of hydrolyzable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 1785-1790.

- Hassimotto, N. M. A., Genovese, M. I. & Lajolo, F. M. (2005). Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 2928-2935.
- Jiménez-Escrig, A., Rincón, M., Pulido, R. & Saura-Calixto, F. (2001). Guava Fruit (*Psidium guajava* L.) as a New Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 5489-5493.
- Lamuella-Raventós, R. M. & Waterhouse, A. L. (1994). A Direct HPLC Separation of Wine Phenolics. *American Journal of Enology and Viticulture*. 45, 1-5.
- Larrauri, J. A., Rupérez, P. & Saura-Calixto, F. (1997). Pineapple shell as a source of dietary fiber with associated polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45, 428-31.
- Lichtenthaler, R.; Rodrigues, R. B.; Maia, J. G. S.; Papagiannopoulos, M.; Fabricius, H. & Marx, F. (2005). Total oxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart. (açai) fruit. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 56, 53-64.
- Mahattanatawee, K., Manthey, J. A., Luzio, G., Talcott, S. T., Goodner, K., Baldwin, E. A. (2006). Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 7355-63.
- Menezes, E. M. S. (2005). Efeito da alta pressão hidrostática em polpa de açai pré-congelada (*Euterpe oleracea*, Mart.). *Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos*. UFRRJ. Seropédica, RJ. 83 p.
- Menezes, E. M. S., Torres, A. T. & Srur, A. U. S. (2008). Valor nutricional da polpa de açai (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. *Acta Amazônica*. 38(2), 311-316.
- Oliveira, M. S. P., Farias Neto, J. T. de. (2004). Cultivar BRS-Pará: Açazeiro para produção de frutos em terra firme. Embrapa Amazônia Oriental. Belém. Comunicado Técnico, 114. 1-3.
- Oliveira, M. S. P. de, Carvalho, J. E. U. de & Nascimento, W. M. O. do. (2000). Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). Jaboticabal: Funep. 52p. (*Série Frutas Nativas*, 7).

Ou, B., Hampsch-Woodill, M. & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 4619-4626.

Pacheco-Palencia, L. A., Mertens-Talcott, S. & Talcott, S. T. (2008). Chemical composition, antioxidant properties, and thermal stability of a phytochemical enriched oil from açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 4631-4636.

Pérez-Jiménez, J., Serrano, J., Taberner, M., Arranz, S., Díaz-Rubio, M. E., García-Diz, L., Goñi, I. & Saura-Calixto, F. et al. (2008a). Effects of Grape Antioxidant Dietary Fiber on cardiovascular disease risk factors. *Nutrition*. 24, 646-653.

Pérez-Jiménez, J. & Saura-Calixto, F. (2008). Anti-oxidant capacity of dietary polyphenols determined by ABTS assay: a kinetic expression of the results. *International Journal of Food Science and Technology*. 43, 185-191.

Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz-Rubio, M. H., Serrano, J., Goñi, I. & Saura-Calixto, F. (2008b). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*. 41, 274-285.

Pulido, R., Bravo, L. & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 3396-3402.

Reed, J. D., McDowell, R. T. E., Van Soest, P. J. & Horvath, P. R. J. (1982). Condensed tannins: A factor limiting the use of cassava forage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 33, 213-220.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. 26, 1231-1237.

Rogez, H. (2000). Açai: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação. Belém. Brazil: *EDUFPA*. 313 p.

Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. & Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 76, 270-276.

Sánchez-Alonso, I., Jiménez-Escrig, A., Saura-Calixto, F., Borderías, A. J. (2006). Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: evaluation by different methodologies. *Food Chemistry*. 101, 372-78.

Saura-Calixto, F. (1998). Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 4303-4306.

Saura-Calixto, F., Garcia-Alonso, A., Goñi, I. & Bravo, L. (2000). In vitro determination of the indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 3342-3347.

Schauss, A. G., Wu, X., Prior, R. L., Ou, B., Patel, D., Huang, D. & Kababick, J. P. (2006). Phytochemical and Nutrient Composition of the Freeze-Dried Amazonian Palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 8598-8603.

Scott, R. W. (1979). Colorimetric determination of hexauronic acids in plant materials. *Analytical Chemistry*. 51, 936-941.

Serrano, J., Goñi, I. & Saura-Calixto, F. (2007). Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Research International*. 40, 15-21.

Serrano, J., Goni, I. & Saura-Calixto, F. (2005). Determination of betacarotene and lutein available from green leafy vegetables by an in vitro digestion and colonic fermentation method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 2936-2940.

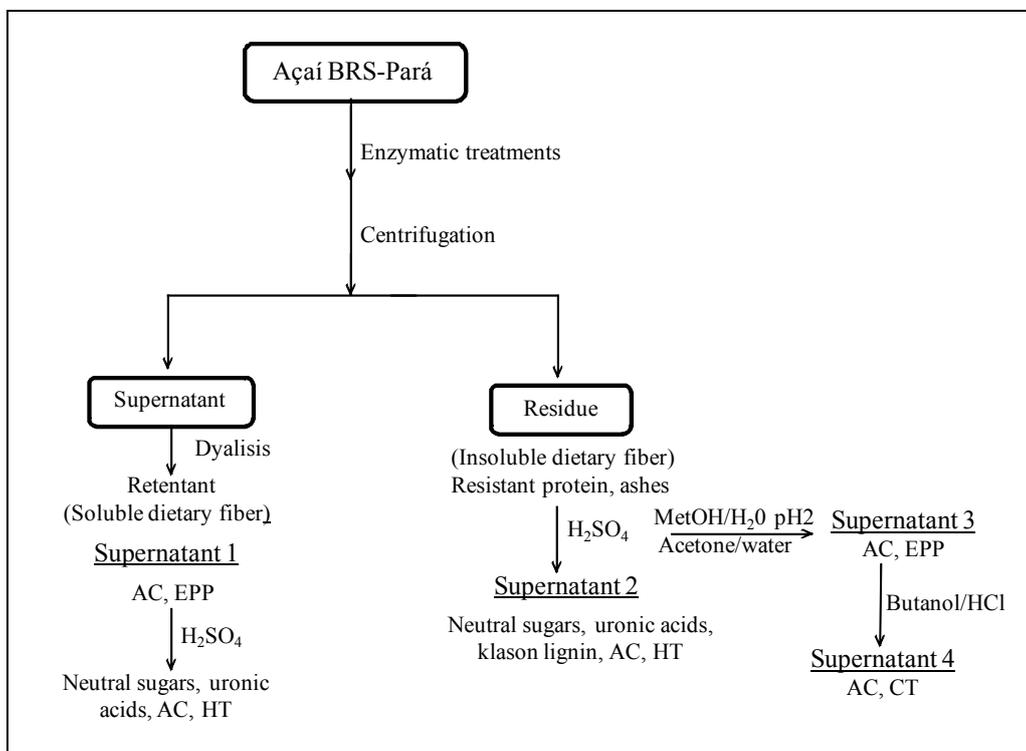
Singleton, V. L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, R. M. (1998). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299, 152-178.

Southgate, D. A. (1969). Determination of carbohydrates in foods. Unavailable carbohydrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 20, 331-335.

Spiller, G. A. (1986). Suggestions for a basis on which to determine a desirable intake of dietary fiber. In handbook of dietary fiber in human Nutrition; Spiller, G.A., *Ed.* CRC Press: Boca Raton, FL, 281-283.

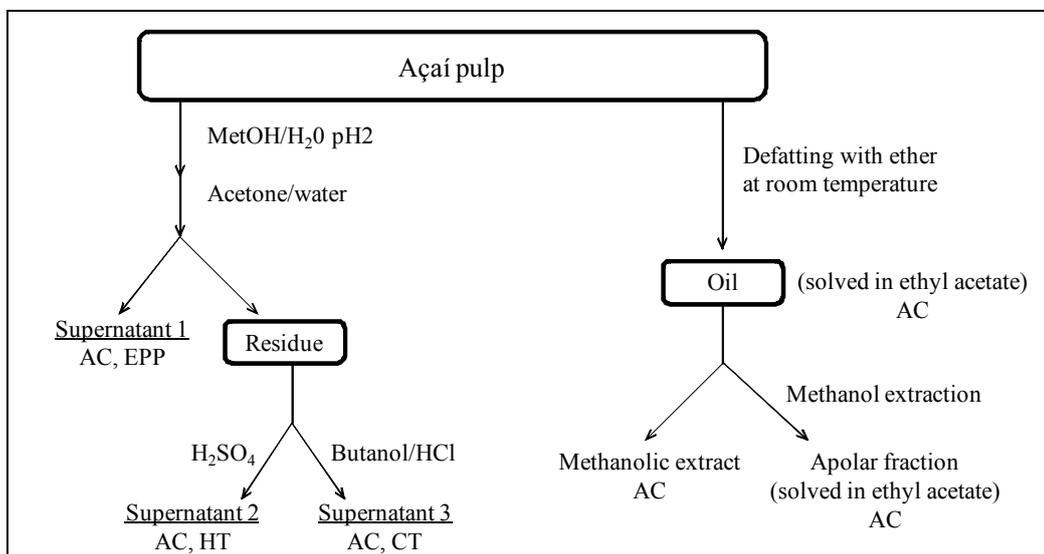
Strudwick, J. & Sobel, G. L. (1988). Uses of *Euterpe oleracea* in the Amazon Estuary, Brazil. *Advances in Economic Botany*. 6, 225-253.

Yuyama, L. K. O., Aguiar, J. P. L., Melo, T., Barros, S. E., Filho, D. F. S., Yuyama, K. et al. (2004). Açai (*Euterpe oleracea* Mart.): Qual o seu potencial nutricional? In: XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura. Florianópolis. *Anais*. Sociedade Brasileira de Fruticultura.



**Figure 1.** Scheme of the determination of dietary fiber and associated antioxidants in Açai BRS-Pará.

AC: antioxidant capacity; EPP: extractable polyphenols; HT: hydrolysable tannins; CT: condensed tannins.



**Figure 2.** Scheme of the determination of antioxidant capacity of the defatted matter and of oil in Açai BRS-Pará.

AC: antioxidant capacity; EPP: extractable polyphenols; HT: hydrolysable tannins; CT: condensed tannins

Table 1 - Proximate composition of Açai 'BRS-Pará'

Component	g/ 100 g dry matter
Protein	6.27 ± 0.31
Ashes	1.99 ± 0.17
Soluble sugars	7.93 ± 2.11
Total lipids	20.82 ± 1.60
Soluble dietary fiber	2.75 ± 0.16 <sup>1</sup>
Insoluble dietary fiber	68.49 ± 1.21 <sup>2</sup>
Total dietary fiber	71.22 ± 1.22
Polyphenols <sup>4</sup>	
Extractable polyphenols	1.5 ± 0.05
Hydrolyzable tannins	1.59 ± 0.18
Condensed tannins	1.24 ± 0.14

Moisture: 85.7%. Mean value ± standard deviation, n = 3.

<sup>1</sup> Determined as non-starchy polysaccharides + associated polyphenols

<sup>2</sup> Determined gravimetrically

<sup>3</sup> A fraction of them is included in dietary fiber

Table 2 - Composition of dietary fiber (% dry matter) of Açai 'BRS-Pará'<sup>a</sup>

	Soluble dietary fiber	Insoluble dietary fiber	Total dietary fiber
Arabinose	0.10 ± 0.04	0.65 ± 0.02	0.75 ± 0.04
Fucose	n.d.	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01
Galactose	0.16 ± 0.04	0.29 ± 0.01	0.45 ± 0.04
Glucose	0.39 ± 0.03	0.25 ± 0.01	0.64 ± 0.03
Manose	0.003 ± 0.0	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00
Rhamnose	n.d.	n.d.	n.d.
Xylose	n.d.	10.59 ± 0.23	10.59 ± 0.23
Total neutral sugars	0.65 ± 0.04	11.9 ± 0.07	12.55 ± 0.10
Uronic acids	0.98 ± 0.08	15.96 ± 0.48	16.92 ± 0.70
Klason lignin	-	39.27 ± 0.02	39.27 ± 0.02
Resistant protein	-	5.6 ± 0.20	5.6 ± 0.20
Ash	-	1.02 ± 0.30	1.02 ± 0.30
Polyphenols	1.12 ± 0.13	2.93 ± 0.11	4.05 ± 0.17
Dietary fiber	2.75 ± 0.16	76.68 ± 0.80	79.43 ± 0.81

<sup>a</sup> Mean value ± standard deviation, n = 3. n.d. non detected.

Table 3 - Fatty acid composition of Açai ‘BRS-Pará’ and contained oil.

	g/100 g dry weight	% oil
Saturated	<b>6.9</b>	<b>26.7</b>
C16:0	5.3	25.3
C18:0	1.6	1.4
Monounsaturated	<b>13.0</b>	<b>62.3</b>
Cis-9 C16:1	1.1	5.4
Cis-9 C18:1	10.9	52.1
Cis-11 C18:1	1.0	4.8
Polyunsaturated	<b>2.3</b>	<b>11.1</b>
Cis-9, cis-12 C18:2	2.2	10.6
Cis-9, cis-12, cis-15 C18:3	0.1	0.5

<sup>a</sup> Mean value ± standard deviation, n = 3.

Table 4 - Polyphenols and antioxidant capacity of defatted Açai ‘BRS-Pará’ in aqueous-organic extracts and its residues\*

	Extractable polyphenols	Hydrolyzable tannins	Condensed tannins
Content (% dm)	1.5 ± 0.05	1.59 ± 0.18	1.24 ± 0.14
FRAP (µmol Trolox/g dm)	128.44 ± 8.51	109.87 ± 5.19	n.d.
ORAC (µmol Trolox/g dm)	379.97 ± 11.96	1,514.46 ± 20.20	n.d.
ABTS at a fixed end-point (µmol Trolox/g dm)	55.79 ± 1.12	20.73 ± 0.04	24.62 ± 4.52
ABTS expressed kinetically			
EC <sub>50</sub> (g dm/g ABTS)	1.20 ± 0.04	13.61 ± 0.15	14.36 ± 0.59
tEC <sub>50</sub> (min)	24.23 ± 1.58	25.20 ± 1.16	51.92 ± 7.03
AE	0.034	0.003	0.001
DPPH			
EC <sub>50</sub> (g dm/ g DPPH)	10.20 ± 0.10	4.92 ± 0.10	n.d.
tEC <sub>50</sub> (min)	41.43 ± 0.90	11.00 ± 0.69	n.d.
AE	0.002	0.018	n.d.

d.m. dry matter. n.d. non determined. All values are expressed per gram of dry whole açai. \* Mean value ± standard deviation, n = 3.

Table 5 - Antioxidant capacity of Açai ‘BRS-Pará’ and Extra virgin olive oil (DPPH method) Mean value  $\pm$  SD (n = 3)

	Total antioxidant capacity <sup>1</sup>	Polar fraction <sup>2</sup>	Apolar fraction <sup>3</sup>
<b>Açai BRS Pará oil</b>			
EC <sub>50</sub> (mL oil/g DPPH)	646.30 $\pm$ 38.40	1,249.97 $\pm$ 32.39	536.53 $\pm$ 11.78
tEC <sub>50</sub> (min)	35.69 $\pm$ 1.80	17.87 $\pm$ 0.33	37.25 $\pm$ 3.75
AE	0.4 x 10 <sup>-4</sup>	0.4 x 10 <sup>-4</sup>	1 x 10 <sup>-4</sup>
<b>Extra virgin olive oil*</b>			
EC <sub>50</sub> (mL oil/g DPPH)	2,057.27 $\pm$ 75.56	10.25 $\pm$ 0.21	1,210.96 $\pm$ 44.09
tEC <sub>50</sub> (min)	4.86 $\pm$ 0.05	43.92 $\pm$ 0.86	35.31 $\pm$ 1.65
AE	1 x 10 <sup>-4</sup>	2.2 x 10 <sup>-4</sup>	0

<sup>1</sup> determined in oil solved in ethyl acetate.

<sup>2</sup> antioxidant capacity determined in methanolic extract.

<sup>3</sup> antioxidant capacity determined in the remaining oil after methanolic extraction.

\* Arranz et al., (2008).

Table 6 - Polyphenols and antioxidant capacity associated to dietary fiber of Açai ‘BRS-Pará’\*

	Soluble dietary fiber Extractable polyphenols	Insoluble dietary fiber		
		Extractable polyphenols	Hydrolyzable tannins	Condensed tannins
Content (% dm)	1.12 $\pm$ 0.13	0.42 $\pm$ 0.02	0.57 $\pm$ 0.05	1.94 $\pm$ 0.10
FRAP ( $\mu$ mol Trolox/g dm)	46.82 $\pm$ 4.65	11.91 $\pm$ 0.92	11.64 $\pm$ 0.84	n.d.
ORAC ( $\mu$ mol Trolox/g dm)	603.03 $\pm$ 9.18	53.72 $\pm$ 6.65	155.61 $\pm$ 8.40	n.d.
ABTS at a fixed endpoint ( $\mu$ mol Trolox/g dm)	78.16 $\pm$ 0.49	3.96 $\pm$ 0.22	n.d.	20.51 $\pm$ 0.13
ABTS expressed kinetically				
EC <sub>50</sub> (g dm/g ABTS)	8.95 $\pm$ 0.04	67.58 $\pm$ 2.11	n.d.	14.41 $\pm$ 0.06
tEC <sub>50</sub> (min)	10.00 $\pm$ 0.80	20.47 $\pm$ 2.04	n.d.	26.87 $\pm$ 0.49
AE	0.011	0.001	n.d.	0.002
DPPH				
EC <sub>50</sub> (g dm/ g DPPH)	39.43 $\pm$ 0.10	119.20 $\pm$ 5.42	47.31 $\pm$ 1.16	n.d.
tEC <sub>50</sub> (min)	23.11 $\pm$ 0.06	31.22 $\pm$ 0.58	7.99 $\pm$ 0.92	n.d.
AE	0.0011	0.0003	0.0026	n.d.

d. m. dry matter. n.d. non determined. \* Mean value  $\pm$  standard deviation, n = 3.

## CAPÍTULO 5

### ACEROLA ‘BRS 236’ AND CASHEW APPLE ‘CCP 76’: NEW TROPICAL SOURCES OF ANTIOXIDANTS AND DIETARY FIBER

#### 5.1 ABSTRACT

Acerola (*Malpighia emarginata*) and cashew (*Anacardium occidentale*) are two tropical fruits highly consumed in Tropical countries. A high content in dietary fiber and phenolic compounds (most of them associated with dietary fiber) has been described for other tropical fruits. These compounds may provide to these fruits specific properties that may be significant in nutrition and health. Therefore, the aim of this work was to study the content of dietary fiber and phenolic compounds in two most important varieties of Acerola ‘BRS 236’ and Cashew apple ‘CCP 76’ and its antioxidant capacity in order to determine its possible use as source of functional ingredient or dietary supplement. Acerola showed a high extractable polyphenol content (17 % dry matter), which along with his exceptional amount of vitamin C provided them a high antioxidant capacity. Cashew apple present low extractable polyphenol, but a high amount of non extractable condensed tannins, mainly associated with dietary fiber, what has been related with specific health properties. Acerola fruits and cashew apples also have a high dietary fiber content (26 % and 20%). On these basis, it was concluded that acerola and cashew have remarkable potential for nutritional and health.

*Keywords:* *Malpighia emarginata*; *Anacardium occidentale*; polyphenols; ABTS; DPPH; FRAP; ORAC

## 5.2 INTRODUCTION

Worldwide fruit market has been characterized in last years by an increase interest of the consumers for new fruits. Brazil is the third biggest producer in the world because the domestic market absorbs about 95% of the fresh fruit market. Brazil's fruit production volumes have been driven by rising fresh consumption, along with soaring processing and exports. From the latest data released by the Brazilian Institute of Geography and Statistics-IBGE, 41.9 million tons were harvested, from a range of 20 varieties, and planted area of 2.2 million hectares (Corrêa, 2008).

Acerola (*Malpighia emarginata*), originally from Antilles can be found from South Texas, through Mexico and Central America to northern South America and throughout the Caribbean (Assis, Fernandes, Martins & Faria Oliveira, 2008). It was introduced in Brazil 50 years ago, particularly in the Northern region, which is, nowadays, the major worldwide producer, consumer and exporter. Acerola is recognized as a functional food due its consideration as one of the highest sources of vitamin C, with content many times higher than guava, cashew apple, orange and lemon, which are also considered as good sources of this vitamin (Alves, Chitarra & Chitarra, 1995; Rosso, Hillebrand, Montilla, Bobbio, Winterhalter & Mercadante, 2008).

In 1995, Embrapa Tropical Agroindustry started a genetic improvement breeding, selecting 100 genotypes with several plant and fruit suitable characteristics. In 2003, according to the development of the morphological characteristics of these plants, and several physico-chemical parameters of the fruits, several genotypes were selected and recommended for commercial production, including three clons from acerola, BRS 235 (Apodi), BRS 236 (Cereja), BRS 237 (Roxinha) e BRS 238 (Frutacor) (Paiva, Correia, Freire, Braga Sobrinho & Jucá, 1999).

The cashew (*Anacardium occidentale*) is native of Tropical America, from Brazil. It has become naturalized in many tropical countries such as Vietnam, India, Nigeria, Tanzania, Ivory Coast, Mozambique, and Benin. It is known in the market for fresh consumption, is formed by the developed peduncle (apple) attached to the nut (actual fruit composed of shell + kernel). The peduncle, which is also called pseudo-fruit, false fruit, cashew apple or simply cashew, represents the edible portion in natura and also as juices, pulp and preserves (Filgueiras, Alves, Mosca & Menezes, 1999). Apart from the usual presence of sugars and organic acids an important characteristic of cashew apple is its high content in vitamin C (e.g., four times higher than sweet orange) (Akinwale, 2000).

In Brazil, the cashew genetic breeding started in the state Ceará State in 1965, from the individual phenotypic selection, including a yearly control of production and clonation. In 1983, the Company of Agronomic Research of Ceará (EPACE) produced the first clons of caju, CCP 06 y CCP 76, shows the importance of the use of superior genotypes with higher productivity, orchard standardization and fruit quality (Paiva et al, 2005).

Several tropical fruits and derived by-products have shown a high content in antioxidant compounds, mainly phenolics (Haruenkit et al., 2007; Vergara-Valencia, Granados-Pérez, Agama-Acevedo, Ruales & Bello-Pérez, 2007), a group of secondary plant metabolites which have been related to a preventive effect in several chronic diseases (Arts & Hollman, 2005) and which, together with other compounds, such as vitamin C or carotenoids, would provide these fruits a high antioxidant capacity. Moreover, it has been reported that some tropical fruits such guava possess a high content of dietary fiber, with a major part of their polyphenol content associated with it (Jiménez-Escrig, Rincón, Pulido & Saura-Calixto, 2001), which provide them specific physiological properties (Saura-Calixto, 1998).

Antioxidant capacity of acerola was recently determined by several techniques (Alves, Brito, Rufino & Sampaio, 2008; Mezadri, Villaño, Fernández-Pachón, García-

Parrilla & Troncoso, 2008). However, determinations were performed only in the supernatants of aqueous-organic extractions, not considering the antioxidant capacity associated with the residues of these extractions, which may have specific health properties (Serrano, Goñi & Saura-Calixto, 2007). Antioxidant capacity of cashew apple, considering all these fractions, as well as dietary fiber content in acerola and cashew apple, and polyphenols associated with it, have not been, to the authors' knowledge, neither been determined.

The aim of this work was to study the content of dietary fiber and total phenolics and vitamin C of acerola fruits and cashew apples and its antioxidant capacity in order to determine its possible use as antioxidant dietary fiber in functional foods or natural antioxidants dietary supplements. Since specific physiological effects may be derived from the association of antioxidants with dietary fiber, polyphenols and antioxidant capacity associated with dietary fiber were also determined.

### 5.3. MATERIAL AND METHODS

#### 5.3.1. Chemicals

Pepsin, glucose, thiourea and anthrone were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). Amyloglucosidase, pancreatin, lipase,  $\alpha$ -amylase, 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), 2,2'-Azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride (AAPH), catechin, gallic acid, galacturonic acid, were obtained from Sigma-Aldrich Química, S.A. (Madrid, Spain). 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-5-triazine (TPTZ) was from Fluka Chemicals (Madrid, Spain). 3,6'-dihydroxy-spiro-[isobenzofuran-1-[3H],9'[9H]-

xanthen]-3-one (Fluorescein) and iron III-chlorure-6-hydrate were from Panreac, Castellar del Vallés (Barcelona, Spain). All reagents used were of analytical grade.

### **5.3.2 Samples**

Acerola ‘BRS 236’ was harvested in Limoeiro do Norte, CE, Brazil and cashew apple ‘CCP 76’ in the Experimental Station of Embrapa Tropical Agroindustry, Pacajus, CE, Brazil. After harvesting, the fruits were transported to the laboratory Postharvest Physiology and Technology – Embrapa Tropical Agroindustry, Fortaleza, CE, Brazil and processed in a domestic blender (Walita, Brazil) to obtain a pulp and the seeds were discarded. The pulp was freeze-dried (LH 4500, Terroni Fauvel, Brazil) and milled to a particle size of less than 0.5 mm in a centrifugal milling.

### **5.3.3 Methods**

Figures 1 and 2 show a scheme of the treatment performed to the samples to determine dietary fiber and antioxidant capacity. Determination of dietary fiber consists of several enzymatic treatments (pepsin, pancreatin and  $\alpha$ -amylase) followed by a centrifugation, that results in a residue (insoluble dietary fiber) and a supernatant, that is subjected to an incubation with amyloglucosidase followed by a dialysis system. The retentant of the dialysis is the soluble dietary fiber. Uronic acids and neutral sugars were determined in both soluble and insoluble fiber and Klason lignin in the insoluble fraction. The insoluble fraction was also determined gravimetrically, as well as

resistant protein and ash associated with it. Antioxidant capacity associated with soluble dietary fiber (due to extractable polyphenols) and to insoluble dietary fiber (due to extractable polyphenols, hydrolyzable tannins and condensed tannins) was also determined.

To determine antioxidant capacity of the original sample, an aqueous-organic extraction of the sample was performed and in the supernatant antioxidant capacity and extractable polyphenols were determined. In the residue of this extraction, different hydrolysis procedures were applied to release hydrolyzable tannins and condensed tannins and their content was determined, as well as the corresponding antioxidant capacity.

Determinations were performed by triplicate and reported on dry basis. Results are expressed as mean values  $\pm$  standard deviation.

#### 5.3.3.1 Dietary Fiber Determination

The dietary fiber (DF) was measured based on the procedure described by Saura-Calixto, Garcia-Alonso, Goñi and Bravo, 2000.

This method combines enzymatic treatments and separation of digestible compounds by dialysis using physiological conditions (temperature and pHs), obtaining the fraction of food that is not digested.

Total DF was calculated as the sum of insoluble DF components (resistant starch, nonstarch polysaccharides - NSP, Klason lignin, resistant protein, ash, extractable polyphenols, proanthocyanidins, and hydrolyzable phenols) plus soluble DF components (soluble nonstarch polysaccharides – NSP and extractable polyphenols).

Samples (300 mg) were incubated with pepsin (0.2 mL of a 300 mg/mL solution in 0.08 M HCl–KCl buffer, pH 1.5, 40°C, 1 h), pancreatin (1 mL of a 5 mg/mL solution in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.5, 37 °C, 6 h) and  $\alpha$ -amylase (1 mL of a 120 mg/mL solution in 0.1 M Tris–maleate buffer, pH 6.9, 37 °C, 16 h). Samples were centrifuged (15 min, 3000g) and supernatants removed. Residues were washed twice with 5 mL of distilled water, and all supernatants were combined. Each supernatant was incubated with 100  $\mu$ L of amyloglucosidase for 45 min at 60 °C before being transferred to dialysis tubes (12000-14000 molecular weight cutoff, Visking dialysis tubing; Medicell International Ltd., London, U.K.) and dialyzed against water for 48 h at 25 °C to eliminate digestible compounds.

NSP were hydrolyzed with 1 M sulfuric acid at 100 °C for 90 min and spectrophotometrically measured by anthrone assay (Loewus, 1952).

The residue was weighed to determine insoluble dietary fiber and resistant protein and ash were determined in it (see “other determinations”). In this residue, after treatment with sulphuric acid (12 M, 20 °C for 3 h; dilution to 1 M and incubation for 2 h, 100 °C), NSP were determined spectrophotometrically as neutral sugars (by anthrone assay) and uronic acids (Loewus, 1952; Scott, 1979) and klason lignin was determined gravimetrically.

#### 5.3.3.2 Antioxidant capacity and polyphenols determination

Antioxidant capacity and phenolic compounds associated with soluble and insoluble dietary fiber were determined according to the description below.

#### 5.3.3.2.1 Extraction of antioxidants

0.5 g of sample is placed in a capped centrifuge tube; 20 mL of acidic methanol/water (50:50, v/v; pH 2) is added and the tube is thoroughly shaken at room temperature for 1 h. The tube is centrifuged at 2,500 g for 10 min and the supernatant is recovered. Twenty millilitres of acetone/water (70:30, v/v) is added to the residue, and shaking and centrifugation are repeated. Methanolic and acetic extracts were combined and used to determine the antioxidant capacity associated with extractable antioxidants (supernatant 3 in Figure 1, supernatant 1 in Figure 2). The residues of these extractions are subjected either to hydrolysis with  $\text{H}_2\text{SO}_4$  to release hydrolysable tannins (supernatant 1 and 2 in Figure 1, supernatant 2 in Figure 2) or to treatment with butanol/HCl/ $\text{FeCl}_3$  to release anthocyanidins from proanthocyanidins or condensed tannins (supernatant 4 in Figure 1, supernatant 3 in Figure 2).

#### 5.3.3.3 Antioxidant capacity methods

##### 5.3.3.3.1 DPPH<sup>•</sup> (Free-Radical Scavenging) Assay

It was used the method described by Brand-Williams, Cuvelier and Berset (1995), later modified by Sánchez-Moreno, Larrauri and Saura-Calixto (1998) in order to determine kinetic parameters. After adjusting the blank with methanol, 0.1 mL of the sample was mixed with 3.9 mL of a DPPH<sup>•</sup> methanolic solution (60  $\mu\text{M}$ ). The absorbance at 515 nm was measured until the reaction reached the plateau. A calibration curve at that wavelength was made to calculate the remaining DPPH<sup>•</sup>. The

parameter  $EC_{50}$ , which reflects 50% depletion of DPPH<sup>•</sup> free-radical, was expressed in terms of grams of fruit equivalent per gram of DPPH<sup>•</sup> in the reaction medium. The time taken to reach the steady state at  $EC_{50}$  ( $T_{EC_{50}}$ ) and the antiradical efficiency ( $AE = 1/EC_{50}tEC_{50}$ ) were also determined.

#### 5.3.3.3.2 ABTS Assay

ABTS radical cation (ABTS<sup>•+</sup>) was produced by reacting 7 mM ABTS stock solution with 2.45 mM potassium persulfate and allowing the mixture to stand in the dark at room temperature for 12-16 h before use. The ABTS<sup>•+</sup> solution was diluted with methanol to an absorbance of  $0.70 \pm 0.02$  at 658 nm. After the addition of 100  $\mu$ L of sample or Trolox standard to 3.9 mL of diluted ABTS<sup>•+</sup> solution, absorbance readings were taken every 20 s, using a Beckman DU-640 (Beckman Instruments Inc. Fullerton, CA, USA) spectrophotometer. The reaction was monitored during 6 min. The percentage inhibition of absorbance versus time was plotted, and the area below the curve (0-6 min) was calculated. Methanolic solutions of known Trolox concentrations were used for calibration (Re et al., 1999).

#### 5.3.3.3.3 FRAP (ferric reducing antioxidant power) assay

FRAP reagent (900  $\mu$ L), freshly prepared and warmed at 37 °C, was mixed with 90  $\mu$ L of distilled water and either 30  $\mu$ L of test sample or standard or appropriate reagent blank. Reading at the absorption maximum (595 nm) was taken every 15 s, using a spectrophotometer. The readings at 30 min were selected for calculation of

FRAP values. Solutions of known Trolox concentrations were used for calibration. (Benzie & Strain, 1996; Pulido, Bravo & Saura-Calixto, 2000)

#### 5.3.3.3.4 ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*) assay

Sample/blank is mixed with PBS buffer, AAPH and fluorescein. Fluorescence is recorded until it reaches zero (excitation wavelength 493 nm, emission wavelength 515 nm) in a fluorescence spectrophotometer Perkin–Elmer LS 55 at 37 °C. Results are calculated using the differences of areas under the fluorescein decay curve between the blank and the sample and are expressed as Trolox equivalents (Ou, Hampsch-Woodill & Prior, 2001).

#### 5.3.3.4 Antioxidant compounds

Total polyphenols in extracts were determined according to the Folin-Ciocalteu method (Singleton, Orthfer & Lamuela-Raventós, 1998) in supernatants 1 and 3 (Figure 1) and in supernatant 1 (Figure 2). Test sample (0.5 mL) was mixed with 1 mL of Folin-Ciocalteu reagent and swirled. After 3 min, 10 mL of sodium carbonate solution (75 g/L) was added and mixed. Additional distilled water was mixed thoroughly by inverting the tubes several times. After 1 h, the absorbance at 750 nm was recorded. The results were expressed as g gallic acid equivalents (GAE)/100 g.

Proanthocyanidins (condensed tannins) not extracted by the previous aqueous-organic procedure were measured at 555 nm after hydrolysis with HCL/Butanol/FeCl<sub>3</sub> (3 h, 100 °C) (Reed, McDowell, Van Soest & Horvath, 1982) in

supernatant 4 in Figure 1 and in supernatant 3 in Figure 2. Results were compared with carob pod (*Ceratonia siliqua*) proanthocyanidin standard (Nestlé, Ltd., Vers-Chez-les Blanes, Switzerland).

Hydrolyzable tannins were measured according to the method described by Hartzfeld, Forkner, Hunter and Hagerman (2002) by hydrolysis with methanol and sulfuric acid for 20 h at 85 °C, in supernatant 2 in Figures 1 and 2. Concentration was estimated by the Folin–Ciocalteu method (Singleton et al, 1998) and expressed as g GAE/100 g.

The presence of phenolics was also checked performing the HPLC method described by Lamuela-Raventós & Waterhouse (1994) in the aqueous-organic extracts obtained from acerola and cashew apple (supernatant 1 in Figure 2). A Hewlett-Packard (HP) 1,100 liquid chromatography with a DAD couple to a Chemstation HP 79995 was used. The column was a Novapack C18 (250 mm x 4 mm), 5 µm particle size. Quantification was made at 280 nm for benzoic acids (expressed as gallic acid) and for flavan-3-ols (expressed as catechin), at 320 for hydroxycinnamic acids (expressed as caffeic acid), at 365 for flavonols (expressed as rutin) and 520 for anthocyanins (expressed as malvidin).

#### **5.3.4 Other determinations**

Protein was determined using an automated nitrogen analyser FP-2000®; Dumas Leco Corp. (Serrano, Goñi & Saura-Calixto, 2005). Fat content was determined using a Soxhlet System HT extractor with petroleum ether. Ash content was determined with an electric muffle furnace for 16 h at 550°C quantified gravimetrically.

## 5.4 RESULTS AND DISCUSSION

### 5.4.1 Dietary fiber in Acerola BRS 236 and Cashew CCP 76

The content and composition of dietary fiber in acerola and cashew apple, including neutral sugars, uronic acids, Klason lignin, resistant protein, ash and polyphenols are presented on Table 1.

Acerola fruits and cashew apple had a total dietary fiber content of 26 % and 20 % in dry weight, respectively, most of it insoluble dietary fiber. This content is in the same range that the values reported for some common fruits, such as apples, oranges or bananas, in which it ranges from 17 to 36% dry matter (Saura-Calixto et al., 2000).

Regarding dietary fiber composition, in acerola the major component was Klason lignin, with a 13.54%. Klason lignin is the gravimetric residue obtained from the sulfuric acid treatment performed to solubilize and hydrolyze polysaccharides in typical analysis of DF ; it is made up of lignin with a associated mixture of protein-polyphenols-polysaccharides. In cashew apple, it is remarkable the fact that it contained a 4.12% of resistant or indigestible protein, that is to say, protein associated with dietary fiber that would reach the colon intact, becoming a fermentable substrate for certain colonic bacteria. The presence of high proportion of resistant protein is a characteristic of vegetable matters rich in polyphenols. Polyphenols have the ability to link protein and, consequently, materials rich in polyphenols and protein present a high proportion of resistant protein. Similar to cashew apple, high content of resistant protein in grape pomace (grape seeds and peels) (Bravo & Saura-Calixto, 1998), or edible seaweeds (Goñi, Gudeil-Urbano & Saura-Calixto, 2002) have been reported.

Table 1 also shows that polyphenols are significant constituents of dietary fiber in acerola fruits and cashew apple, what would provide antioxidant capacity to dietary fiber, as will be discussed below.

#### **5.4.2 Polyphenols and antioxidant capacity in Acerola and Cashew apple**

The antioxidant capacity of plant foods is derived from the cumulative synergistic action of a mixture of compounds, including phenolics, carotenoids, vitamins C and E, etc. (Pérez-Jiménez et al., 2008). Acerola has been described as an excellent source of vitamin C, with content about 1-1.8 g/100 g fw (Alves et al., 1995; Araújo, Figueiredo, Alves, Maia & Paiva, 2007; Moura, Alves, Figueiredo & Paiva, 2007). Vitamin C content in cashew apple is also high, about 0.13-0.39 g/100 g fw (Filgueiras et al., 1999; Maia, Sousa Filho, Figueiredo & Brasil, 2004).

Polyphenol content determined in aqueous-organic extracts from acerola and cashew pulp can be seen in Table 2. Cashew apple exhibited a high polyphenol content of 2.8% in dry weight. In the case of acerola, the extraordinarily high value obtained (17%) may be overestimated, since vitamin C, similarly to many other compounds (Prior, Wu & Schaich, 2005), may react with Folin-Ciocalteu reagent and, therefore, a fraction of this value would really represent vitamin C.

Phenolic profile of these extracts (according to chemical groups) was evaluated by HPLC-DAD (data not shown) and there was evidence in acerola fruits of anthocyanidins (520 nm), flavonols (280/320/365 nm) and benzoic acid (280/320 nm) and in cashew apples of anthocyanidins (280/520 nm) and flavan-3-ol (280 nm). Other authors characterized individually the main phenolic compounds present in acerola pulp (cyanidin 3-rhamnoside, 287 nm and pelargonidin 3-rhamnoside, 271 nm) and the

cashew pulp (5-Methylcyanidin 3-O-hexoside, 282/514 nm) (Brito, Araújo, Alves, Carkeet, Clevidence & Novotny, 2007; Brito, Araújo, Long-Ze & Harnly, 2007).

Total polyphenols present in the residue of these extractions, that is, hydrolyzable tannins and condensed tannins, were determined in the residues of these extractions, obtaining values of 0.39% (acerola) and 1.21% (cashew apple) for hydrolysable tannins, and of 5.2% for condensed tannins in cashew apple.

To the authors's knowledge, this is the first time that phenolic compounds remaining in the residues of these extractions -hydrolysable tannins in acerola fruits and cashew apple and condensed tannins or non-extractable proanthocyanidins in cashew apple- are determined, finding that, in the case of cashew apple, they are even more abundant than extractable polyphenols. These non extractable polyphenols, although non-bioavailable in the small intestine, would reach the colon intact, where they would become fermentable substrates for colonic bacterias. The fermentation of these compounds would release antioxidant metabolites that may improve the colonic status and would yield some absorbable metabolites (Gonthier, Donovan, Texier, Felgines, Remesy & Scalbert, 2003; Cerdá, Periago, Espín & Tomás-Barberán, 2005).

#### 5.4.2.1 Antioxidant capacity of Acerola and Cashew apple

Antioxidant capacity associated with phenolic compounds in the different supernatants obtained (Figure 2) was determined by FRAP, ABTS, DPPH and ORAC (Table 2). The different mechanisms of action that dietary polyphenols may exhibit, as well as the pros and cons associated with the different antioxidant capacity assays, make necessary the use of several of them to assess effectively the antioxidant capacity of a food sample (Pérez-Jiménez et al., 2008).

Regarding antioxidant capacity in the aqueous-organic extracts, both acerola fruits and cashew apples showed a high antioxidant capacity in comparison with other fruits known in South America by its high content in antioxidants (Vasco, Ruales & Kamal-Eldin, 2008) and in comparison with the mixture of fruits consumed in Spanish Mediterranean diet (Serrano et al., 2007).

Similarly, high antioxidant capacity values were obtained for hydrolysable and condensed tannins in cashew apple only ABTS could be applied to condensed tannins, since HCl/n-butanol interferes in the other antioxidant capacity assays.

Regarding kinetic measurements, in DPPH assay extractable polyphenols and hydrolysable tannins provided similar results for acerola fruits and cashew apples, while in acerola antioxidant capacity by DPPH assay provided by hydrolysable tannins was much smaller than that provided by extractable polyphenols, an expected result, since hydrolysable tannins content in acerola was smaller than extractable polyphenols.

#### 5.4.2.2. Polyphenols and antioxidant capacity of Acerola and Cashew apple associated with dietary fiber

Dietary fiber, measured as indigestible fraction (Saura-Calixto et al., 2000), is composed by two fractions: a soluble fraction (supernatant of enzymatic digestion) and an insoluble fraction (residue of enzymatic digestion). Antioxidant capacity, as well as phenolic compounds, associated with dietary fiber was determined in both fractions (Table 3).

Extractable polyphenols associated with soluble dietary fiber, as well as extractable polyphenols and hydrolysable tannins associated with insoluble dietary fiber were observed in acerola fruits, while in cashew apple all polyphenols associated with dietary fiber were associated with its insoluble fraction. Although values in Table

3 cannot be directly compared with those in Table 2, since extraction methods are different (aqueous-organic vs enzymatic extraction), it can be seen that there is a significant amount of polyphenols associated with dietary fiber.

Similarly, all these polyphenols fractions associated with dietary fiber exhibited a high antioxidant capacity by the different methodologies employed. As comparison, antioxidant capacity associated with dietary fiber of a mixture of the fruits consumed in the Spanish diet was 17.7  $\mu\text{mol Trolox/g dw}$  by FRAP assay (Serrano et al., 2007). Moreover, antioxidant capacity of acerola fruits and cashew apples dietary fiber has a nutritional relevance, since these antioxidant compounds would reach the colon intact and, as discussed above, they may give place to different beneficial effects.

In summary, the present work provides new data of nutritional relevance on acerola fruits and cashew apples composition. Acerola showed a high extractable polyphenol content (17 % dry matter), which along with his exceptional amount of vitamin C provided them a high antioxidant capacity. Cashew apple present low extractable polyphenol, but a high amount of non extractable condensed tannins. A significant part of these polyphenols, especially for cashew apples, are associated with dietary fiber, what has been related with specific health properties. Acerola fruits and cashew apples also have a high dietary fiber content (26 % and 20%). On these basis, it was concluded that acerola and cashew have remarkable potential for nutritional and health.

## 5.5 ACKNOWLEDGEMENTS

To CAPES, CNPq, IF-CSIC, EMBRAPA, UFERSA and European Union (FP6 Contract no.: 0015279) for financial support.

## References

- Alves, R. E., Brito, E. A., Rufino, M. S. M. & Sampaio, C. G. (2008). Antioxidant activity measurement in Tropical fruits: a case study with acerola. *Acta Horticulturae*. 773, 299-305.
- Alves, R. E., Chitarra, A. B. & Chitarra, M. I. F. (1995). Postharvest physiology of Acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) fruits: maturation changes, respiratory activity and refrigerated storage at ambient and modified atmospheres. *Acta Horticulturae*. 370, 223-230.
- Akinwale, T. O. (2000). Cashew apple juice: Its use in fortifying the nutritional quality of some tropical fruits. *European Food Research Technology*. 211, 205-207.
- Araújo, P. G. L. de., Figueiredo, R. W. de., Alves, R. E., Maia, G. A.; Paiva, J. R. de. (2007).  $\beta$ -caroteno, ácido ascórbico e antocianinas totais em polpa de frutos de aceroleira conservada por congelamento durante 12 meses. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 27(1), 104-107.
- Arts, I. C., Hollman, P. C. Polyphenols and disease risk in epidemiological studies. (2005). *American Journal of Clinical Nutrition*. 81, 317-325.
- Assis, S. A. de., Fernandes, F. P., Martins, A. B. G. & Faria Oliveira, O. M. M. de. (2008). Acerola: importance, culture conditions, production and biochemical aspects. *Fruits*, 63, 93-101.
- Benzie, I. F. F. & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239, 70-76.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 28, 25-30.
- Bravo, L., Saura-Calixto, F. (1998). Characterization of dietary fiber and the in vitro indigestible fraction of grape pomace. *American Journal of Enology and Viticulture*. 49(2), 135-141.

Brito, E. S. de., Araújo, M. C. P., Alves, R. E., Carkeet, C., Clevidence, B. A. & Novotny, J. A. (2007). Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 9389-9394.

Brito, E. S. de, Araújo, M. C. P. de, Long-Ze, L. & Harnly, J. (2007). Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-ESI/MS. *Food Chemistry*. 105, 1112–1118.

Cerdá, B., Periago, P., Espín, J.C. & Tomás-Barberán, F.A. (2005). Metabolism of antioxidant and chemopreventive ellagitannins from strawberries, raspberries, walnuts, and oak-aged wine in humans: Identification of biomarkers and individual variability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 227-235.

Corrêa, S. (2008). Anuário Brasileiro da Fruticultura. (pp. 136). Santa Cruz do Sul:Gazeta Santa Cruz.

Filgueiras, H. A. C., Alves, R. E., Mosca, J. L. & Menezes, J. B. (1999). Cashew apple for fresh consumption: research on harvest and postharvest technology in Brazil. *Acta Horticulturae*. 485, 155-160.

Goñi, I., Gudiel-Urbano, M. & Saura-Calixto, F. (2002). In vitro determination of digestible and unavailable protein in edible seaweeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82(15), 1850-1854.

Gonthier, M. P., Donovan, J. L., Texier, O., Felgines, C., Remesy, C. & Scalbert, A. (2003). Metabolism of dietary procyanidins in rats. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 35, 837-844.

Haruenkit, R., Poovadorom, S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Sajewicz, M., Kowalska, T., Delgado-Licon, E., Rocha-Guzman, N. E., Gallegos-Infante, J. E., Trakhtenberg, S. & Gorinstein, S. (2007). Comparative study of health properties and nutritional value of durian, mangosteen, and snake fruit: Experiments in vitro and in vivo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 5842-5849.

Jiménez-Escrig, A., Rincón, M., Pulido, R. & Saura-Calixto, F. (2001). Guava Fruit (*Psidium guajava* L.) as a New Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 5489-5493.

- Loewus, F. A. (1952). Improvement in the anthrone method for determination of carbohydrates. *Analytical Chemistry*. 24, 219.
- Maia, G. A., Sousa Filho, M. de S. M. de, Figueiredo, R. W. de & Brasil, I. M. (2004). Chemical characteristics of cashew apples of different clones of early dwarf cashew tree. *Revista Ciência Agronômica*. 35, 272-278.
- Mezadri, T., Villaño, D., Fernández-Pachón, M.S., García-Parrilla, M.C. & Troncoso, A. M. (2008). Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. *Journal of Food Composition and Analysis*. 21, 282-290.
- Moura, C. F. H., Alves, R. E., Figueiredo, R. W. de., Paiva, J. R. de. (2007). Avaliações físicas e físico-químicas de frutos de clones de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). *Revista Ciência Agronômica*. 38(1), 52-57.
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M. & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 4619-4626.
- Paiva, J. R. de, Barros, L. de M., Cavalcanti, J. J. V., Lima, A. C., Corrêa, M. C. de M., Melo, D. S. & Porto, Z. B. (2005). Selection of dwarf cashew clones for commercial plantation in Aracati County, Ceará State, Brazil. *Revista Ciência Agronômica*. 36(3), 338-343.
- Paiva, J. R., Correia, M. P. F., Freire, F. C. O., Braga Sobrinho, R. & Jucá, W. (1999). Seleção massal de acerola em plantio comercial. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 34 (3), 505-511.
- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Tabernero, M., Díaz-Rubio, M. H., Serrano, J., Goñi, I. & Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*. 41, 274-285.
- Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (10), 4290-4302.

- Pulido, R., Bravo, L. & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 3396-3402.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. 26, 1231-1237.
- Reed, J. D., McDowell, R. T. E., Van Soest, P. J. & Horvath, P. R. J. (1982). Condensed tannins: A factor limiting the use of cassava forage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 33, 213-220.
- Rosso, V. V. de., Hillebrand, S., Montilla, E. C., Bobbio, F. O., Winterhalter, P. & Mercadante, A. Z. (2008). Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açai (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC–PDA–MS/MS. *Journal of Food Composition and Analysis*. 21, 291-299.
- Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. & Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 76, 270-276.
- Saura-Calixto, F., Garcia-Alonso, A., Goñi, I. & Bravo, L. (2000). In vitro determination of the indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 3342-3347.
- Saura-Calixto, F. (1998). Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 4303-4306.
- Scott, R. W. (1979). Colorimetric determination of hexauronic acids in plant materials. *Analytical Chemistry*. 51, 936-941.
- Serrano, J., Goñi, I. & Saura-Calixto, F. (2007). Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Research International*. 40, 15-21.
- Serrano, J., Goni, I. & Saura-Calixto, F. (2005). Determination of betacarotene and lutein available from green leafy vegetables by an in vitro digestion and colonic fermentation method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 2936-2940.

Singleton, V. L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, R. M. (1998). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299, 152-178.

Vasco, C.; Ruales, J. & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*. 111, 816-823.

Vergara-Valencia, N., Granados-Pérez, A., Agama-Acevedo, E., Touvar, J., Ruales, J. & Bello-Pérez, A. (2007). Fibre concentrate from mango fruit: Characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. *Food Science and Technology*. 40 (4), 722-729.

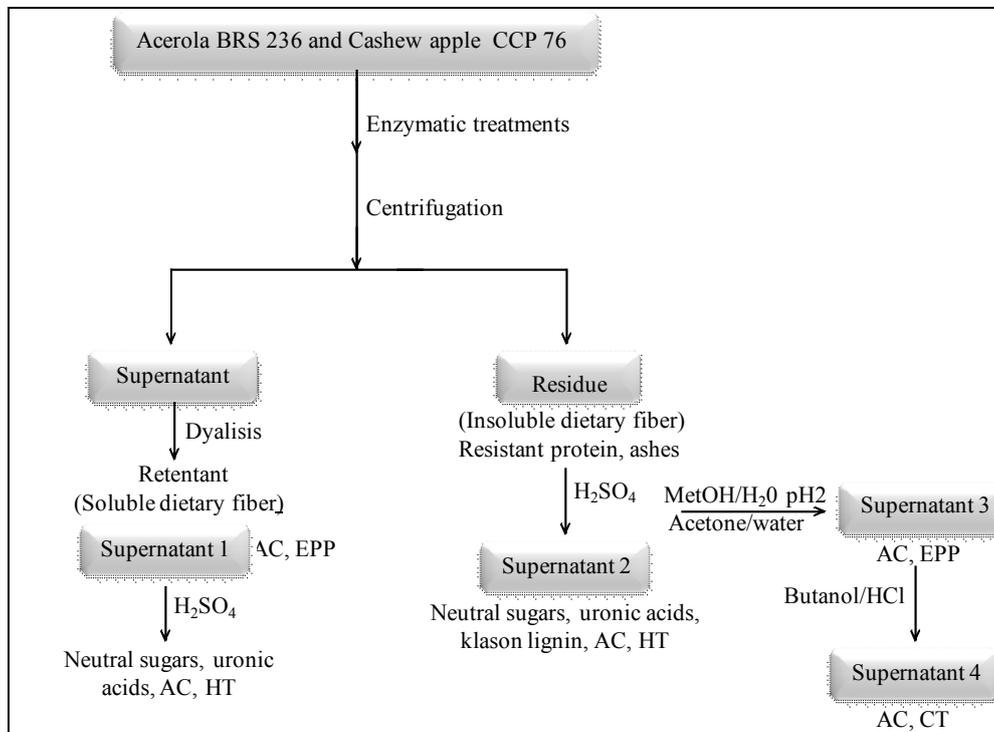


Figure 1 - Scheme of the determination of dietary fiber and associated antioxidants in Acerola BRS 236 and Cashew Apple CCP 76.

AC: antioxidant capacity; EPP: extractable polyphenols; HT: hydrolysable tannins; CT: condensed tannins.

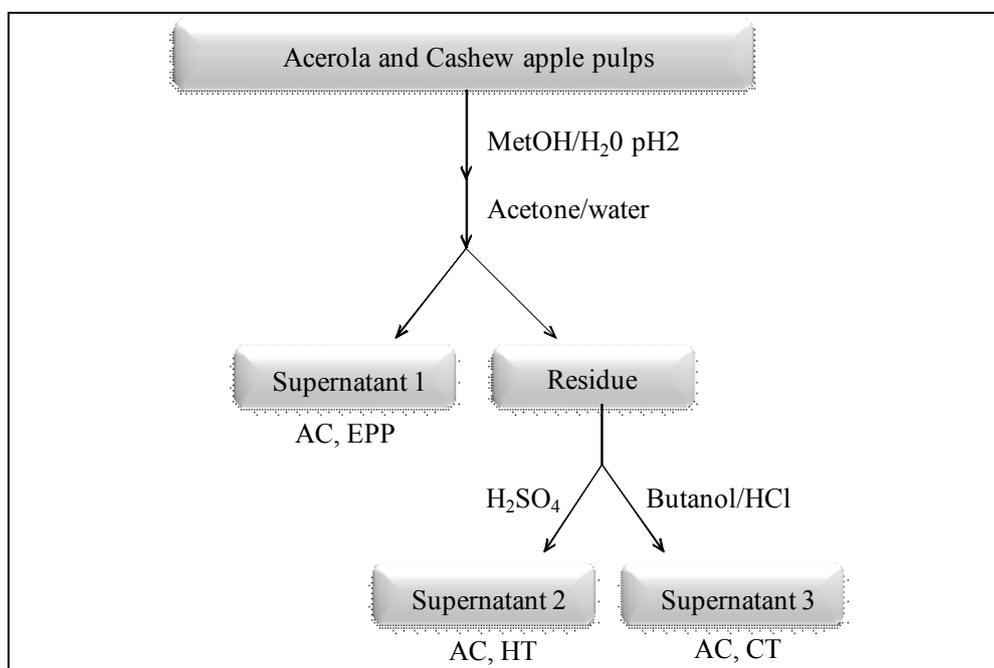


Figure 2 - Scheme of the determination of antioxidant capacity of the dry matter in Acerola BRS 236 and Cashew Apple CCP 76 pulps.

AC: antioxidant capacity; EPP: extractable polyphenols; HT: hydrolysable tannins; CT: condensed tannins

Table 1 - Content and composition of dietary fiber (% dry matter) of Acerola fruits and Cashew apples<sup>a</sup>

	<u>Soluble dietary fiber</u>		<u>Insoluble dietary fiber<sup>1</sup></u>		<u>Total dietary fiber</u>	
	Acerola	Cashew	Acerola	Cashew	Acerola	Cashew
Total neutral sugars	1.63 ± 0.05	0.93 ± 0.06	2.70 ± 0.12	2.86 ± 0.10	4.33 ± 0.13	3.79 ± 0.12
Uronic acids	2.85 ± 0.16	1.55 ± 0.08	0.42 ± 0.06	0.41 ± 0.02	3.27 ± 0.17	1.96 ± 0.08
Klason lignin	-	-	13.54 ± 0.00	9.90 ± 1.28	13.54 ± 0.00	9.90 ± 1.28
Resistant protein	-	-	2.65 ± 0.00	4.12 ± 0.004	2.65 ± 0.00	4.12 ± 0.004
Ash	-	-	0.92 ± 0.00	0.83 ± 0.0	0.92 ± 0.00	0.83 ± 0.00
Polyphenols	0.96 ± 0.08	n.d.	0.36 ± 0.02	0.39 ± 0.03	1.32 ± 0.08	0.39 ± 0.03
Dietary fiber	5.44 ± 0.18	2.48 ± 0.1	20.59 ± 0.13	18.51 ± 1.28	26.03 ± 0.23	20.99 ± 1.29

<sup>a</sup> Mean value ± standard deviation, n = 3. n.d. non detected.

<sup>1</sup> Insoluble dietary fiber determined as neutral sugars + uronic acids + klason lignin + resistant protein + ash + polyphenols.

Table 2 - Polyphenols and antioxidant capacity of acerola fruits and Cashew apples in aqueous-organic extracts and its residues\*

	<u>Extractable polyphenols</u>		<u>Hydrolyzable tannins</u>		<u>Condensed tannins</u>	
	Acerola	Cashew	Acerola	Cashew	Acerola	Cashew
Content (% dm)	17.04 ± 0.95	2.80 ± 0.02	0.39 ± 0.01	1.21 ± 0.07	N.d.	5.20 ± 0.08
FRAP (µmol Trolox/g dm)	1,640.29 ± 94.51	245.44 ± 14.65	14.87 ± 0.82	56.37 ± 4.15	n.d.	n.d.
ORAC (µmol Trolox/g dm)	816.55 ± 57.59	287.31 ± 57.63	173.92 ± 20.74	344.65 ± 65.25	n.d.	n.d.
ABTS (µmol Trolox/g dm)	1,249.83 ± 19.72	188.16 ± 0.92	N.d.	n.d.	n.d.	60.53 ± 0.02
DPPH						
EC <sub>50</sub> (g dm/ g DPPH)	0.56 ± 0.003	4.81 ± 0.04	28.65 ± 1.65	5.95 ± 0.23	n.d.	n.d.
t <sub>EC50</sub> (min)	9.32 ± 0.59	25.97 ± 1.22	16.53 ± 1.25	22.10 ± 2.83	n.d.	n.d.
AE	0.193	0.008	0.002	0.008	n.d.	n.d.

d.m. dry matter. N.d. No detected. n.d. non determined. All values are expressed per gram of dry. \* Mean value ± standard deviation, n = 3.

Table 3 - Polyphenols and antioxidant capacity associated to dietary fiber of acerola fruits and Cashew apples\*

	Soluble dietary fiber		Insoluble dietary fiber					
	Extractable polyphenols		Extractable polyphenols		Hydrolyzable tannins		Condensed tannins	
	Acerola	Cashew	Acerola	Cashew	Acerola	Cashew	Acerola	Cashew
Content (% dm)	0.96 ± 0.08	N.d.	0.36 ± 0.02	0.39 ± 0.03	0.38 ± 0.03	1.69 ± 0.11	N.d.	8.80 ± 0.40
FRAP (µmol Trolox/g dm)	51.22 ± 1.68	N.d.	14.92 ± 0.45	40.35 ± 1.41	8.37 ± 0.84	82.35 ± 4.15	n.d.	n.d.
ORAC (µmol Trolox/g dm)	86.00 ± 2.86	N.d.	91.92 ± 9.50	99.50 ± 8.07	146.21 ± 15.14	469.27 ± 87.34	n.d.	n.d.
ABTS (µmol Trolox/g dm)	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	n.d.	n.d.	n.d.	111.23 ± 0.88
DPPH EC <sub>50</sub> (g dm/ g DPPH)	34.64 ± 1.36	N.d.	41.91 ± 2.85	16.62 ± 0.11	262.28 ± 1.88	28.28 ± 0.15	n.d.	n.d.
tEC <sub>50</sub> (min)	13.00 ± 1.93	N.d.	38.88 ± 0.08	23.97 ± 3.13	5.24 ± 0.21	11.90 ± 0.43	n.d.	n.d.
AE	0.002	N.d.	0.001	0.003	0.001	0.003	n.d.	n.d.

d. m. dry matter. N.d. No detected. n.d. non determined. \* Mean value ± standard deviation, n = 3.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ A grande variabilidade para as características de qualidade avaliadas nas 18 espécies frutíferas permite a seleção destas tanto para o mercado in natura quanto para processamento;
- ✓ Algumas espécies, tais como: acerola, caju, cajá, açai e mangaba, apresentaram qualidade igual ou superior, quanto aos padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para polpa de frutas. Em relação aos SST e AST, com exceção do açai, que a legislação não apresenta limites para estas características, as demais frutas atenderam as exigências determinadas pelas normas;
- ✓ O alto conteúdo de amido e/ou pectinas encontrado na maioria das frutas estudadas poderá dificultar o processamento de sucos e néctares, exigindo-se o uso de complexos enzimáticos para o processamento das mesmas;
- ✓ As perspectivas quanto à prospecção de compostos com propriedades funcionais e alta atividade antioxidante em frutas tropicais não tradicionais brasileiras, e seus tipos ou variedades, são muito grandes, tendo em vista os consideráveis teores vitamina C (camu-camu e acerola), antocianinas (Myrtaceae – murta, jambolão, jaboticaba e camu-camu), carotenóides (Melastomaceae – gurguri, puçá-preto e puçá-coroa-de-frade) e principalmente de fenólicos;
- ✓ Levando-se em consideração a importância dos fenólicos como compostos bioativos e os valores encontrados de polifenóis extraíveis, algumas das frutas estudadas (acerola, camu-camu, puçá-preto, jussara, murta e gurguri) podem ser consideradas como excelentes fontes destes antioxidantes naturais (>500 mg GAE/100 g matéria fresca);
- ✓ As metodologias para determinações da atividade antioxidante in vitro, adaptadas neste trabalho para avaliação de frutas tropicais não tradicionais, são de fácil reprodutibilidade e podem ser realizadas em espectrofotômetros disponíveis em muitos

laboratórios de pesquisa. Entretanto, faz-se necessário a realização de testes prévios em frutas que nunca foram avaliadas por estes métodos e levar em consideração que: o ABTS e o FRAP são mais adequados para medir a atividade antioxidante em frutas com predominância de compostos de natureza hidrofílica; o  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico de compostos lipofílicos; e o DPPH em ambos os casos;

- ✓ A presença de polifenóis com elevada atividade antioxidante associada ao alto teor de fibra dietética (71%) na porção comestível (MS) de frutos do açazeiro ‘BRS-Pará’ caracteriza o mesmo como uma nova fonte de fibra dietética antioxidante;
- ✓ O óleo extraído da porção comestível de frutos do açazeiro ‘BRS-Pará’ pode ser considerado de alto valor nutricional, pois apresenta atividade antioxidante muito maior ( $EC_{50} = 646,3$  g/g DPPH) que a do azeite de oliva extra virgem ( $EC_{50} = 2.057,27$  g/g DPPH) e composição de ácidos graxos (oléico e linoléico) semelhante;
- ✓ A acerola ‘BRS 236’, além de apresentar altos valores de polifenóis extraíveis e atividade antioxidante, é uma boa fonte de fibra dietética (26% MS);
- ✓ Pedúnculos de cajueiro ‘CCP 76’, apesar de não serem ricos em polifenóis, podem também ser considerados como uma boa fonte de fibra dietética (20% MS) rica em taninos condensados;
- ✓ O conhecimento do potencial funcional das frutas tropicais não tradicionais, aqui estudadas, abre perspectivas para o uso das mesmas na indústria como antioxidantes naturais, ou mesmo como ingredientes funcionais ou nutracêuticos, podendo facilitar o acesso destas a novos mercados como produtos diferenciados.