



MILENA BAGETTI

**“CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, COMPOSTOS FENÓLICOS
MAJORITÁRIOS DA FRUTA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA GELEIA DE
CAMBUCI (*CAMPOMANESIA PHAEA* O. BERG)”**

CAMPINAS

2014



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

MILENA BAGETTI

**“CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, COMPOSTOS FENÓLICOS
MAJORITÁRIOS DA FRUTA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA GELEIA
DE CAMBUCI (*CAMPOMANESIA PHAEA* O. BERG.)”**

Tese apresentada à
Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas
como parte dos requisitos exigidos
para a obtenção do título de
Doutora em Ciência de Alimentos

Orientador: Marcelo Alexandre Prado

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA
PELA ALUNA MILENA BAGETTI E ORIENTADA PELO PROF. DR. MARCELO
ALEXANDRE PRADO**

CAMPINAS, 2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MÁRCIA REGINA GARBELINI SEVILLANO – CRB8/3647 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

B146c Bagetti, Milena, 1983-
Caracterização físico-química, compostos fenólicos
majoritários da fruta e atividade antioxidante da geleia de
cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg.) / Milena Bagetti. --
Campinas, SP: [s.n.], 2014.

Orientador: Marcelo Alexandre Prado.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Compostos fenólicos. 2. Frutas típicas brasileiras. 3.
Atividade antioxidante. I. Prado, Marcelo Alexandre. II.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia
de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Physicochemical characterization, major phenolic compounds
of fruit and antioxidant activity of jam cambuci

Palavras-chave em inglês:

Phenolic compounds

Brazilian typical fruits

Antioxidant activity

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Titulação: Doutora em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Marcelo Alexandre Prado [Orientador]

Elizete Maria Pesamosca Facco

Márcia Vizzotto

Mário Roberto Maróstica Junior

Raquel Grando de Oliveira

Data da defesa: 21-02-2014

Programa de Pós Graduação: Ciência de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Alexandre Prado
(Orientador)

Dra. Elizete Maria Pesamosca Facco
(Membro Titular)
Universidade de Caxias do Sul

Márcia Vizzotto
(Membro Titular)
Embrapa-Clima Temperado

Mário Roberto Marostica Junior
(Membro Titular)
FEA-DEPAN-UNICAMP

Raquel Grando de Oliveira
(Membro Titular)
(Universidade Federal do Rio de Janeiro – Pós-doc)

Juliana Isabelle Simionato
(Membro suplente)
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Marta Cristina Teixeira Duarte
(Membro Suplente)
CPQBA/UNICAMP

Taís Maria Bauab
(Membro suplente)
FCF-UNESP

ABSTRACT

Some Brazilian fruits *in natura* and processed require more studies about its bioactive constituents and physico-chemical composition, including the cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg). This study sought to find the best parameters indicative of phenolic compounds and determine the antioxidant activity of jam cambuci. Furthermore evaluate the physical-chemical characteristics of pulp and peel jam cambuci, compare the compound phenolic content with Brazilian fruit with little studied, determine the antioxidant activity (free radical scavenging activity) of extracts of jam cambuci and characterize the main compounds present in jam cambuci and jam strawberry. The extraction Ultra-Turrax with acetone 80% resulted in a higher content of phenolic compounds (232.12 ± 10.4 mg GAE. 100 g⁻¹ on a dry basis). Higher levels of phenolic compounds found in cambuci jam were: 322.56 mg GAE.100 g⁻¹ in dry basis. The jam cambuci presented greater antioxidant activity with DPPH method. The results found for the antioxidant activity using surface methodology response varied between the antioxidants methodologies (DPPH and ABTS). Cambuci fruit presented high yield in pulp, soluble solids within the mean values found for fruit in General. Skin, pulp and jam presented reasonable values of vitamin C, (13,04 ; 14,76 e 34,21 mg ascorbic acid/100g of fruit, respectively) differed significantly at the 5% level jam and pulp fresh, jam and skin. The skin of cambuci is a part of the fruit that can be used, because presented good content of lipids, minerals and reducing sugars (0,72g%; 0,44 g% e 12,96% respectively), beyond of the phenolic compounds founds and content vitamin C. Fresh cambuci pulp showed better results than mana-cubiu and malay red-apple ($p < 0.5$). The following phenolic compounds were obtained from cambuci: cambuci pulp: vanillic acid; skin: elagic acid, p-coumárico acid and kaempferol. Cambuci jam presented ellagic acid and kaempferol. The jam cambuci may be indicate for a better use

of a fruit in extinction. These dates of fruit and jam cambuci can also assist in the characterization of a fruit with little studies and reducing the limitations of the studies on the beneficial actions of phenolic compounds in *vivo*.

RESUMO

Algumas frutas brasileiras *in natura* e processadas necessitam de mais estudos sobre seus constituintes bioativos e composição físico-química, dentre estas se encontra o cambuci (*Campomanesia phaea* O.Berg.). Este estudo buscou encontrar os melhores parâmetros indicativos de compostos fenólicos e determinar a atividade antioxidante (desativadora de radicais livres) dos extratos da geleia de cambuci. Além disso, avaliar as características físico-químicas de polpa, casca e geleia de Cambuci, comparar o teor de compostos fenólicos e flavonoides com frutas brasileiras também pouco estudadas, determinar os compostos fenólicos majoritários presentes na casca, na fruta e na geleia de cambuci e em geleia de morango. A extração em Ultra-Turrax com acetona 80% resultou em um maior teor de compostos fenólicos ($232,12 \pm 10,4$ mg GAE.100g⁻¹ em base seca). A extração em ultra-turrax com acetona 80% resultou em um maior teor de compostos fenólicos ($232,12 \pm 10,4$ mg GAE.100g⁻¹ em base seca). Os teores mais altos de compostos fenólicos encontrados na geleia de cambuci foram: 322,56 mg GAE.100g⁻¹ base seca. A geleia apresentou melhor atividade antioxidante (desativadora de radicais livres) com o método DPPH. Os melhores resultados encontrados utilizando a metodologia de superfície de resposta variaram entre as diferentes metodologias antioxidantes. A fruta cambuci apresentou elevado rendimento em polpa, teor de sólidos solúveis dentro dos valores médios encontrados para frutas, em geral. Casca, polpa e geleia apresentaram valores razoáveis de vitamina C (13,04, 14,76 e 34,21 mg ácido ascórbico/100g de fruta, respectivamente). A polpa de cambuci apresentou resultados superiores tanto para fenólicos quanto para flavonoides em relação ao maná-cubiu e jambo vermelho ($p < 0,05$), com diferenças significativas. A casca do cambuci é uma parte da fruta possível de ser utilizada, por apresentar bons teores de lipídios, minerais e açúcares redutores (0,72g%; 0,44 g% e 12,96% respectivamente), além dos teores de

vitamina C e dos compostos fenólicos encontrados. As diferentes partes do cambuci diferiram quanto aos tipos de compostos fenólicos encontrados, exceto para kaempferol. Na polpa de cambuci foram encontrados ácido vanílico e kaempferol, enquanto nas casca foi observada a presença de: ácido elágico, ácido p-coumárico, kaempferol. Na geleia de cambuci foram encontrados ácido elágico e kaempferol. A geleia de cambuci pode ser indicada para um melhor aproveitamento de uma fruta em extinção. Estes dados também podem auxiliar na caracterização de uma fruta pouco estudada e na redução das limitações dos estudos sobre ações benéficas dos compostos fenólicos *in vivo*.

SUMÁRIO

ABSTRACT.....	vii
RESUMO.....	viii
DEDICATÓRIA.....	xiv
AGRADECIMENTOS.....	xvi
CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA.....	18
Características gerais de <i>Campomanesia phaea</i> O. Berg., atividade antioxidante, compostos fenólicos e obtenção de geleia de fruta.....	19
CAPÍTULO 2: ARTIGO CIENTÍFICO.....	55
Phenolic compounds of cambuci fruit (<i>Campomanesia phaea</i> O. Berg.) and determination of antioxidant activity of Cambuci jam.....	56
CAPÍTULO 3: ARTIGO CIENTÍFICO.....	76
Constituintes nutricionais, atributos da polpa, casca, geleia de cambuci (<i>Campomanesia phaea</i> O. Berg.) e compostos fenólicos de frutas brasileiras	78
CAPÍTULO 4: ARTIGO CIENTÍFICO.....	104
Perfil de compostos fenólicos dos extratos da polpa e da casca de cambuci (<i>Campomanesia phaea</i> O. Berg.) e de geleias de fruta	106
CONCLUSÕES GERAIS.....	124

Dedico

À população e aos trabalhadores que construíram meios para que se desenvolvesse tal conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Vilmar e Lucia, professores da rede pública estadual que sempre me incentivaram e aos meus irmãos, Tatiana, Aline e Mateus, pela amizade, carinho e companheirismo.

Ao prof Dr Marcelo Alexandre Prado por me orientar, pela amizade e companheirismo, dando orientando na sala do café e nos corredores do laboratório, sempre com simplicidade e humildade.

Aos funcionários da FEA, por todo apoio, conversas, carinho e dedicação: Miriam Camilla, Seu Dirceu, Rosemar, Silvinha, Marcela, Guiomoar, Jardette, Cosme: sem vocês nada funcionaria.

As amigas de Santa Maria: Franciele Gabriel e Lidia Maria de Campos Melo e de Campinas Flávia Ferreira da Silva, Nathalia Toledo, Lais Silva por todo apoio e carinho.

À Nancy e demais trabalhadoras da Cooperativa Cooper Cambucy da Serra por ceder às amostras de fruta e geleia, por todo apoio, carinho e incentivo.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Análise de Alimentos, pela amizade, pela companhia nas jornadas de trabalho na bancada ou no computador, muitas vezes sem equipamento ou reagente, mas sempre com bom humor: Sheila, Michele, Michelly, Mirela, Ana Alice Andrade, Paula, Juliana e as minhas queridas “iniciantes cientificamente” Susane e Rebeca.

A todos os colegas da FEA, que tive algum contato durante este período, além dos amigos de outros institutos da Unicamp, como o IFCH, IE e FE e os companheiros da Ler-qi.

A todos aqueles com quem aprendi ou ensinei e por fim a todos que contribuíram de alguma forma com este trabalho: muito obrigada!!!

CAPÍTULO I: REVISÃO DA LITERATURA

Características gerais de *Campomanesia phaea* O. Berg., compostos fenólicos, atividade antioxidante e obtenção de geleia de frutas

Formatado conforme normas de submissão de artigos para a Revista Química Nova,
disponíveis em: http://quimicanova.sbq.org.br/spec/qn/pt_BR/normas.php

**CARACTERÍSTICAS GERAIS DE *CAMPOMANESIA PHAEA* O. BERG. ,
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, COMPOSTOS FENÓLICOS E OBTENÇÃO DE
GELEIA DE FRUTAS**

Bagetti, Milena ^{a*}, Prado, Marcelo Alexandre ^a

^aDepartament of Food Science, Faculty of Food Engineering, Campinas State
University (UNICAMP), P.O. Box 6121, 13083-862 Campinas-SP, Brazil

*Corresponding author. Tel.: +55 19 3521 2152; fax: +55 19 3521-2153

e-mail*: milena.bagetti@gmail.com

* To whom correspondence should be addressed:(E-mail:milena.bagetti@gmail.com)

29 **GENERAL CHARACTERISTICS OF *CAMPOMANESIA PHAEA* O. BERG.,**
30 **ANTIOXIDANT ACTIVITY, PHENOLIC COMPOUNDS AND OBTAINING OF**
31 **JAM FRUITS**

33 **ABSTRACT**

35 Phenolic compounds are secondary metabolites synthesized by plants with over 8000
36 reported structures, several epidemiological studies have actions related to protection of
37 chronic disorders. Some fruits native Brazilian as the Cambuci (*Campomanesia phaea*
38 *O.Berg*) Landrum still have little data reported in the literature. The study of bioactive
39 compounds from native fruits can help to develop the most comprehensive studies
40 assays for the promotion of knowledge of biological effects of the extracts of fruits and
41 jams. The cambuci and other native fruits still little studied even to have greater clarity
42 regarding how much consumed daily actually becomes sponsor benefits.

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52

53 **Key- words:** phenolic compound, cambuci, jam.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem havido um aumento no interesse por investigações sobre compostos fenólicos, devido as suas significativas bioatividades, tais como desativar radicais livres, quelar metais, regular atividade enzimática e modular a proliferação celular ^{1,2}. Também existem evidências da capacidade moduladora de compostos fenólicos sobre a resposta imune, principalmente com relação à ação anti-inflamatória ³. Consumo de frutas, legumes e cereais ricos em compostos fenólicos podem contribuir para a redução do risco de doenças em humanos e promoção da saúde ⁴. Compostos fenólicos estão presentes em plantas com mais de 8000 estruturas relatadas ⁵. Embora existam dados que sugerem benefícios de ingestão de compostos fenólicos, conclusões relativas ao seu potencial preventivo *in vivo* permanecem obscuras devido a várias limitações nos estudos existentes ⁶.

Os fenólicos são largamente distribuídos no reino vegetal, metabólitos secundários sintetizados por plantas, durante o desenvolvimento normal e em resposta a condições de stress, tais como infecções, exposição a radiações UV, entre outras ⁷. Fazem parte da dieta de forma significativa, influenciando fortemente a qualidade dos frutos, pois contribuem sensorialmente com estes ⁸. Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: compostos fenólicos, terpenos e alcaloides. Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico e mevalônico, sintetizados a partir destas 2 rotas metabólicas ⁹. São compostos de um grupo muito diversificado de fitoquímicos ^{10,4}. Dentre estes estão os fenólicos simples, ácidos fenólicos, coumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos hidrolisáveis e condensados, lignanas e ligninas.

Em plantas, os fenólicos podem atuar como fitoalexinas, atrair polinizadores, contribuir com a pigmentação da planta, como antioxidantes e protetores de radiações

79 UV, entre outros ⁴ . Muitos compostos fenólicos em alimentos estão naturalmente
80 presentes de forma conjugada, os de baixo peso molecular ocorrem como glicosídeos,
81 esterificados com açúcares ou compostos relacionados ¹¹ .

82 Compostos fenólicos na forma livre são normalmente encontrados somente em
83 tecidos secos ou mortos. A fração conjugada varia largamente entre frutas comumente
84 consumidas, de 8,7% em cranberrie para mais de 90% em melão¹². Os flavonoides
85 representam o maior grupo de compostos fenólicos encontrados em alimentos, sendo
86 formados por uma estrutura química C₆-C₃-C₆ e segundo Hendrich (1999)¹³ possuem a
87 mais potente atividade antioxidante em relação aos demais compostos fenólicos, devido
88 a sua estrutura química e são efetivos desativadores de radicais hidroxil e peroxil. Os
89 flavonoides podem ser divididos em várias sub-classes de acordo com o grau de
90 oxidação do heterociclo: flavonas, flavonóis, isoflavonas, antocianinas, flavanois,
91 flavonolóis e flavononas.

92 A sub-classe de flavonoides chamada de antocianinas é responsável pela coloração
93 vermelha, azul e roxa de muitas frutas e vegetais, flores e outros tecidos de plantas ou
94 produtos. Esses compostos e alguns carotenoides estão envolvidos substancialmente
95 com os benefícios à saúde, inclusive proteção contra cânceres ^{14,15}. A estrutura química
96 básica das antocianinas é o cátion flavilium.

97 A ação antioxidante depende da concentração destes fitoquímicos no alimento ¹⁶.
98 Estudos *in vitro* sugerem que flavonoides também possuem ações anti-inflamatórias,
99 antialérgicas, antivirais e anticarcinogênicas ¹⁶. Os ácidos fenólicos constituem outra
100 importante classe de compostos fenólicos. São abundantes nos alimentos e sua atividade
101 antioxidante está sendo intensamente documentada na literatura, havendo um grande
102 interesse dos pesquisadores em buscar as propriedades antioxidantes dos ácidos

103 fenólicos e seus efeitos benéficos à saúde ¹². O mais frequentemente encontrado em
104 alimentos é o ácido caféico e o menos encontrado é o ácido ferúlico ¹⁷.

105 Considerando a importância do conhecimento nutricional sobre frutas nativas e de
106 seus compostos fenólicos com efeitos benéficos para a saúde, este trabalho apresenta
107 uma revisão sobre o consumo médio de compostos fenólicos, as características gerais do
108 cambuci e os fatores que influenciam na caracterização dos extratos de frutas obtidos,
109 tais como os métodos escolhidos. Verifica-se também o processamento da fruta para
110 obtenção de produtos derivados como a geleia.

111

112 **1. Consumo médio diário de compostos fenólicos**

113

114 Por uma série de razões, incluindo a diversidade estrutural, falta de métodos
115 analíticos padronizados e a variação de conteúdo nos diferentes gêneros alimentícios, é
116 extremamente difícil estimar o consumo médio diário de polifenóis. A ingestão diária de
117 1 g de fenóis totais tem sido relatada, mas os métodos utilizados para obter os resultados
118 não são detalhados ¹⁸. Além disso, os hábitos culturais dietéticos ditam frequentemente
119 que alimentos são consumidos e com isso, a subclasse (s) e o teor de flavonoides ou
120 composto fenólico que são ingeridos. Por exemplo, soja e alimentos a base de soja são
121 altamente consumidos no Japão e como resultado, o consumo de isoflavona tem sido
122 avaliado e encontrado como sendo maior que a ingestão de outras subclasses de
123 flavonoides ¹⁹.

124 Estima-se que a média norte-americana do consumo diário de flavonoides seja de
125 1g por pessoa²⁰. Contudo, Hertog e colaboradores (1993) ²¹, ao medir a quantidade de
126 alguns flavonoides, em vários alimentos de consumo habitual nos países Baixos e EUA,
127 concluíram que a ingestão média foi de 25, 9 mg por dia nos países Baixos, enquanto o

128 consumo de flavonóis pelos norte-americanos foi estimado em cerca de 20 a 25 mg/dia
129 ²². Em outro estudo, o teor de flavonóides em alimentos consumidos diariamente foi de:
130 44 mg em cereais, 79 mg em batatas, 45 mg em grãos e nozes e 162 mg em vegetais e
131 ervas ²³, sendo que a maior parte dos flavonoides consumidos provêm do cacau, cola,
132 café, chá preto, cerveja e vinho, aproximadamente 420 mg/dia, com um adicional de
133 290 mg/dia provenientes de frutas e sucos ²³, valores de consumo muito superiores aos
134 encontrados por Hertog ²¹.

135 O consumo médio diário pode variar também conforme a classe e subclasse de
136 compostos fenólicos e com o difícil acesso de alguns alimentos fontes de compostos
137 fenólicos em alguns países seja por baixa renda ou por diferentes hábitos alimentares.
138 Dentre estes, o Brasil, enquanto 3º maior produtor mundial de frutas poderia ter um
139 consumo elevado. No entanto, segundo um estudo realizado por Jaime et al (2009) ²⁴ o
140 consumo de frutas e hortaliças não é tão elevado na dieta, pois menos da metade dos
141 indivíduos referiu consumo regular de fruta (44,1%) ou hortaliças (43,8%), enquanto
142 23,9% referiram consumo regular de frutas e hortaliças em conjunto e o consumo
143 adequado foi referido por apenas 7,3% dos entrevistados. Neste mesmo estudo, o
144 consumo de frutas e hortaliças variou entre as cidades estudadas, foi maior entre as
145 mulheres e aumentou com a idade e a escolaridade. Outros alimentos muito consumidos
146 também são fontes como chás e cafés, muitas vezes, maiores do que as frutas, os quais
147 poderiam elevar o consumo diário de compostos fenólicos. A disponibilidade média de
148 polifenóis ofertada para o Brasil é de 48,3 mg/dia para o Brasil, sendo a região Sul a que
149 apresenta maior valor (53,6 mg), seguida pelo Sudeste (53,3 mg), Nordeste (45,0 mg),
150 Norte (39,3 mg) e Centro-Oeste (28,2 mg). Neste mesmo estudo, demonstra-se uma
151 correlação positiva entre o consumo de frutas e hortaliças e a ingestão de compostos
152 bioativos benéficos à saúde ²⁵.

153 O consumo médio diário também sofre a influência da biodisponibilidade, em que
154 a absorção intestinal e o metabolismo da quercetina e de outros flavonoides, por
155 exemplo, não estão totalmente elucidados. A forma glicosilada intacta dos flavonoides
156 é dificilmente absorvida no intestino delgado devido ao favorecimento da
157 hidrofiliabilidade. Acredita-se que a forma glicosilada dos flavonoides passa direto pelo
158 intestino delgado sendo hidrolisada pelas enterobactérias liberando a aglicona
159 correspondente, no ceco e cólon ²⁶. Os flavonoides que não são glicosilados podem ser
160 absorvidos mais facilmente pelas células epiteliais do intestino grosso devido a sua
161 lipofiliabilidade que facilita a passagem pela camada fosfolipídica da membrana celular.
162 Assim, estes compostos entram na circulação e são submetidos a orto-metilação,
163 glucoronidação e/ ou sulfatação no fígado. Uma parte substancial desse metabólito pode
164 então ser excretado na bile, retornar ao lúmen intestinal sendo novamente hidrolisado,
165 reabsorvido pelas células intestinais e excretado nas fezes ²⁶.

166

167 **2. Composição físico-química, compostos fenólicos e características gerais do** 168 **Cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg.)**

169

170 Os compostos bioativos presentes em frutas e vegetais podem ser benéficos na
171 proteção do corpo humano contra danos causados por espécies reativas de oxigênio
172 (ROS) ²⁷ o que promove proteção contra doenças crônicas, incluindo câncer e desordens
173 neurodegenerativas, inflamação e doenças cardiovasculares ²⁸. Inúmeras pesquisas têm
174 sido realizadas com o objetivo de determinar as propriedades farmacológicas das plantas
175 usadas na medicina popular, demonstrada por meio de análises químicas e atividades
176 biológicas ²⁹. Alguns estudos sobre frutas nativas do Cerrado, região centro-oeste do
177 Brasil, levaram em conta alguns impactos para a exploração sustentada, com base em

178 seu potencial econômico, nutricional, social e ambiental, com perspectiva de fomentar
179 seu uso pelo pequeno agricultor e por comunidades rurais ³⁰, o que pode servir como
180 incentivo ao aprofundamento de estudos dos compostos bioativos destas frutas. Além
181 da possibilidade de exploração para consumo *in natura* de frutas dos diferentes Biomas
182 brasileiros Floresta Amazônica, Caatinga, Pantanal, Mata Atlântica, Campos do Sul e
183 Cerrado ou para fabricação de sorvetes, geleias, doces, licores e outros produtos ³¹.

184 No Sul do Brasil, dentre a diversidade de fruteiras nativas, aparece com maior
185 destaque as pertencentes à família Myrtaceae, botânicas, que agrupa mais de 3000
186 espécies em aproximadamente 140 gêneros ³². Esta família está distribuída por todo o
187 mundo, principalmente, em países de clima tropical e subtropical ³³. No entanto,
188 algumas frutas nativas brasileiras desta família ainda possuem, no entanto, poucos
189 dados na literatura acerca de seus compostos químicos e bioativos, dentre estas o
190 cambuci - *Campomanesia phaea* O.Berg. ³⁴ (Figura 1).

191

192

193

194

195

196

197

198

199



Figura 1. Frutos de cambuci – (*Campomanesia phaea* O.Berg.)

O cambucizeiro é uma planta nativa da Mata Atlântica, vertente da Serra do Mar paulista, que oferece frutos comestíveis, utilizados na alimentação humana na forma de sucos³⁴. No Brasil ele ocorre em São Paulo e Minas Gerais, na vertente da Serra do Mar³⁵ e embora sendo nativo da Mata Atlântica se encaixa perfeitamente como agricultura orgânica, respondendo em boas condições quando plantado em quintais. Seu plantio tem sido incentivado para pequenos produtores a fim de fortalecer o orçamento familiar, sendo que uma única árvore bem manejada pode produzir até 200 quilos³⁶. Durante a safra, que vai de abril a junho, o produtor tira até 50 quilos da fruta por semana com em três árvores, com preço considerado bom para os agricultores: R\$ 3 o Kg. As flores hermafroditas, brancas e atrativas desabrocham de agosto a novembro e os frutos amadurecem de janeiro a abril³⁶.

Uma das características deste fruto é a casca fina e verde que apenas se torna um pouco mais amarelada, mas não muda de cor fortemente. Sabe-se que está maduro quando fica mais macio e cai dos galhos. As bagas, com cerca de seis centímetros de diâmetro, têm polpa cremosa, suculenta, com poucas sementes³⁶.

Tem-se conhecimento de estudos fitoquímicos e farmacológicos realizados por Adati³⁷ nas folhas dessa espécie, detectando-se grande quantidade de óleo essencial,

221 rico em linalol (11,11%), óxido de cariofileno (11,77%), β -cariofileno (6,33%), β -
222 selineno (6,33%) e α -cadinol (1,94%), contando-se assim com as propriedades benéficas
223 destes óleos essenciais. O linanol mostrou ação analgésica e anti-inflamatória em
224 diferentes modelos animais ³⁸ e antiespasmódica ³⁹.

225 Segundo Gonçalves et al, 2010 ⁴⁰, a polpa congelada de cambuci apresenta altos
226 teores de derivados glicosilados de quercetina, considerada também uma rica fonte de
227 ácido elágico, assim como camu-camu, araçá, umbu e cagaita. Cambuci também foi
228 uma das frutas mais eficientes na inibição de α -amilase e α -glicosidase, enzimas
229 relacionadas com a incidência de diabetes mellitus tipo 2.

230 Ao analisar dezesseis frutas e seis polpas congeladas de frutas nativas brasileiras,
231 Gonçalves (2008) ⁴¹ observou que as polpas de cambuci, cagaita, coquinho azedo e
232 araçá foram as amostras que apresentaram melhor capacidade antioxidante com
233 resultados semelhantes aos de frutas ricas em antocianinas com alto potencial
234 antioxidante como o morango. Dentre os principais flavonoides encontrados nestas
235 frutas nativas brasileiras, estão a quercetina em camu-camu, araçá e cagaita, catequina
236 em tucumã, catequina e epicatequina em carambola.

237 Quanto a composição físico-química do fruto *in natura*, Vallillo et al (2005) ⁴²
238 encontraram nos frutos elevados teores de fibras alimentares (4,00%), quando
239 comparado a outras espécies popularmente conhecidas da família das Mirtáceas. Porém
240 foram relatados valores baixos de proteína (0,44%), carboidratos totais (5,00%), lipídios
241 (1,53%) e valores razoáveis de ácido ascórbico (33,37 mg.100 g⁻¹). Ligeiramente doce,
242 mas extremamente ácido como limão, conforme Vallillo et al (2005)⁴², o fruto de *C.*
243 *phaea* (cambuci) apresenta limitações ao consumo *in natura* devido ao baixo teor de
244 carboidratos e elevada acidez, sendo preferível no preparo de doces e geleias. Alguns

245 produtos processados do cambuci são encontrados para venda, tais como a geleia, o
246 fermentado Ice, trufas de creme de cambuci, sorvete, cachaça e geleia diet ³⁶.

247 Apesar de não mostrar uniformidade no seu formato, o cambuci apresenta
248 potencial para a industrialização devido aos seus atributos de qualidade, como alto
249 rendimento em polpa, elevada acidez, razoáveis concentrações de ácido ascórbico,
250 minerais e fibras alimentares. Porém, a variação significativa dos atributos sugere a
251 existência de diferentes variedades de Cambuci ⁴³.

252

253 **3. Geleia de fruta – fonte alternativa de compostos com ação antioxidante**

254

255 A produção mundial de frutas é de 609,2 milhões de toneladas/ano e o Brasil é o 3º
256 produtor mundial, atrás apenas da China e da Índia, de acordo com dados da FAO,
257 sendo que as frutas mais produzidas no mundo são as bananas e plátanos (no Brasil são
258 consumidas como um só produto), melancia, maçã, laranja, uva, pera e abacaxi ⁴⁴. Nem
259 todas as frutas brasileiras estão entre as 609,2 milhões de toneladas produzidas/ano,
260 apesar de cerca de 50% da produção comercial brasileira ser destinada ao mercado de
261 frutas processadas e 47% ao mercado de frutas frescas ⁴⁵.

262 Tendo em vista questão da perecibilidade de algumas frutas, como o cambuci,
263 formas de estimular o consumo de frutas nativas como esta seria através do
264 conhecimento da composição química e dos seus produtos processados como, por
265 exemplo, as geleias. O interesse por fontes alternativas de matéria-prima a custos
266 acessíveis aliados ao crescente interesse por alimentos com atributos funcionais, como é
267 o caso dos compostos fenólicos com ação antioxidante, justifica maiores esforços de se
268 estudar o potencial do uso industrial de frutas regionais. Alguns autores apontam a
269 geleia como uma alternativa viável para o aproveitamento econômico das frutas in

270 natura ⁴⁶. Seu processamento segue uma metodologia relativamente simples, exige
271 poucos equipamentos e traz, ainda, a vantagem de possibilitar a indústria o
272 aproveitamento de frutas impróprias para compota, transformando-as em um produto de
273 melhor qualidade e mais sofisticado que os doces em massa ⁴⁶.

274 Para obtenção de geleia são seguidas etapas de processamento, que são passíveis
275 de degradação de flavonoides e de ácido ascórbico, como o corte, a desintegração, o
276 despulpamento, a concentração em tacho, o aquecimento a 85°C e também o
277 armazenamento por longos períodos. As etapas são as seguintes: recepção, seleção,
278 limpeza e lavagem, descascamento, corte e desintegração, despulpamento, adição de
279 sacarose e açúcar invertido, concentração em tacho, adição de ácido e pectina ATM,
280 aquecimento até 85°C, envase e fechamento, esterilização, resfriamento, limpeza e
281 secagem, rotulagem, armazenamento ⁴⁷. As pectinas BTM são empregadas para a
282 elaboração de geléias de baixas calorias (com reduzido teor de açúcar), formam géis em
283 uma faixa mais ampla de sólidos solúveis e de pH do que as pectinas ATM, sem
284 necessitar da presença de açúcares ⁴⁸.

285 No processamento da geleia, o pH é reduzido, havendo uma acidificação do meio,
286 logo a etapa de modificação do pH não levaria a polimerização em diferentes graus e
287 consequentemente às alterações no teor de compostos fenólicos, podendo-se observar-se
288 uma possível hidrólise de compostos ligados que poderiam ser mais facilmente
289 quantificados nas metodologias. Segundo a Resolução – CNNPA n 12, de 1978 da
290 ANVISA⁴⁹, a geleia de fruta é o produto preparado com frutas, sucos ou extratos
291 aquosos das mesmas, apresentando frutas inteiras, partes, ou pedaços sobre variadas
292 formas, devendo tais ingredientes ser misturados com açúcares, com ou sem adição de
293 água, pectina, ácidos e outros ingredientes permitidos por esta norma.

294 De acordo com a quantidade de fruta, segundo a legislação da ANVISA (1978)⁴⁹, a
295 geleia pode ser classificada em: comum quando preparada numa proporção de 40 partes
296 de fruta fresca ou seu equivalente para 60 partes de açúcar. Já a extra quando preparada
297 numa proporção de 50 partes de fruta fresca, ou seu equivalente para 50 partes de
298 açúcar. Tal mistura será convenientemente processada até uma consistência semissólida
299 adequada e, finalmente, acondicionada de forma a assegurar sua perfeita conservação.

300 Existem poucos trabalhos sobre geleias na literatura, em um recente estudo foi
301 validada metodologia para determinação de ácido ascórbico em geleias de variadas
302 frutas, quantificou-se e identificou-se ácido L- ascórbico (LAA) por cromatografia
303 líquida de alta eficiência⁵⁰. Em um estudo realizado sobre a atividade antioxidante de
304 extratos de geleia de uva a metodologia de superfície de resposta utilizada na extração
305 se mostrou um excelente método para aumentar a eficácia da extração com a otimização
306 das variáveis do processo, que podem ser a concentração de etanol, a temperatura de
307 extração e o tempo. Dentre estas variáveis a temperatura foi a que apresentou impacto
308 mais significativo na capacidade antioxidante dos extratos, seguida pela concentração
309 de etanol. Houve aumento significativo da capacidade antioxidante, nos extratos obtidos
310 pelo sistema de ultrassom, avaliados tanto por DPPH• (aumento de 70%) quanto pelo
311 método de beta caroteno/ácido linoléico (aumento de 65%) em relação ao método
312 padrão utilizado. A geleia de uva elaborada com a variedade IAC 138-22 pode ser
313 considerada boa fonte de compostos fenólicos⁵¹. Estudos sobre os compostos fenólicos
314 e atividade antioxidante do cambuci (figura 2) no entanto ainda são inexistentes na
315 literatura.



Figura 2. Geleia de Cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg.)

4. Metodologias e defesas antioxidantes, extração e determinação de compostos fenólicos

4.1. Defesas antioxidantes

Os compostos fenólicos de frutas e vegetais exercem efeito antioxidante através de diversos mecanismos de ação incluindo o sequestro de radicais livres, inibição do surgimento de espécies reativas, por interação com enzimas e sequestro de metais. Dentre esses, o principal ocorre pela doação de hidrogênios e formação de radicais fenólicos intermediários estabilizados por ressonância de elétrons não pareados na estrutura aromática, ou seja, pela ação sequestrante de radicais livres⁵².

O sistema de defesa do organismo funciona por meio de uma complexa rede entre as vitaminas C e E, carotenoides, enzimas antioxidantes, dependentes de zinco, cobre, selênio e magnésio e outros fitonutrientes, entre estes os compostos fenólicos, os quais, juntos executam reações perfeitamente integradas de renovação celular e regeneração, otimizando a proteção contra radicais livres²¹. As dietas contendo substâncias que atuam como antioxidantes (chás, frutas, vegetais, cereais, óleos, grãos) são benéficas para o mecanismo de defesa celular, protegendo dessa forma os componentes da célula das alterações oxidativas⁵³.

338 Usualmente, processos de produção de alimentos podem gerar perdas importantes
339 de antioxidantes endógenos, tais como vitamina C e compostos fenólicos, que limitam
340 sua utilização na proteção contra oxidação lipídica ⁵⁴. Entre os ingredientes funcionais,
341 o grupo mais largamente estudado é a família dos antioxidantes, devido a sua utilização
342 na preservação contra degradação de alimentos. Uma classificação dos antioxidantes
343 pode ser estabelecida baseada no seu mecanismo de ação como a seguinte: antioxidantes
344 primários, que terminam a reação em cadeia de oxidação por doar hidrogênios ou
345 elétrons para os radicais livres; sinérgicos, que são classificados com desativadores de
346 oxigênio e quelantes; e antioxidantes secundários, que previnem a oxidação por
347 decompor os peróxidos em produtos finais estáveis ⁵⁵.

348 As ROS (espécies reativas de oxigênio) estão implicadas em várias doenças
349 degenerativas humanas, como doenças cardiovasculares, disfunções cognitivas e câncer
350 ⁵⁶ e o desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes resulta no chamado
351 estresse oxidativo, causando danos a muitas moléculas biológicas, tais como lipídeos,
352 proteínas, carboidratos e DNA⁵⁷. Para combater os radicais livres e/ou as chamadas
353 espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS), o organismo humano é
354 equipado com um sistema de defesa efetivo formado por antioxidantes endógenos, o
355 qual inclui várias enzimas (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) e
356 moléculas antioxidantes de alto e baixo peso molecular ⁵⁸. A superóxido dismutase
357 catalisa a reação de dismutação do O_2^- em H_2O_2 e O_2 , ou seja, reduz o radical ânion
358 superóxido a peróxido de hidrogênio. A catalase realiza, por sua vez, a reação de
359 dismutação do H_2O_2 em H_2O e O_2 . A glutathione peroxidase é outra via responsável pela
360 eliminação do peróxido de hidrogênio, além da catalase.

361 Além dos antioxidantes endógenos, ocorre ação dos antioxidantes exógenos
362 provenientes da dieta, tais como compostos fenólicos, carotenoides, antocianinas, ácido

ascórbico e tocoferóis. Estes atuam protegendo as células vivas e alimentos *in natura* bloqueando a ação de radicais livres, formados pela oxidação química e, ou enzimática (lipoxigenase e cicloxigenase) envolvidas na oxidação de ácidos graxos poli-insaturados e conseqüentemente, na formação de peróxidos ⁵³. O ácido ascórbico se destaca através da regeneração do alfa-tocoferol, na redução do ânion superóxido, na regeneração do ácido ascórbico pela enzima desidroascorbato redutase. O alfa-tocoferol (vitamina E) previne a peroxidação lipídica e os carotenóides também possuem papel antioxidante. O β-caroteno atua através de captação de radicais peroxil, por reações de adição, transferência de elétrons, abstração de átomos de hidrogênio e o licopeno possui papel importante como captador de ¹O₂ e ROO.

373

374 **4.2. Determinação de atividade antioxidante**

375

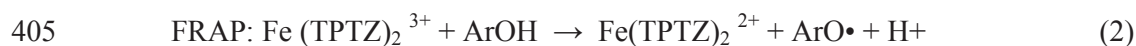
Quase todos os flavonoides possuem várias características biológicas e químicas em comum: atividade antioxidante, capacidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio, capacidade de sequestrar eletrófilos, capacidade de inibir a nitrosação, capacidade de quelar metais (como Fe e Cu), e capacidade de modular a atividade de algumas enzimas celulares ^{20,59}.

As antocianinas têm estrutura química adequada para atuar como antioxidante, pois podem doar hidrogênios ou elétrons aos radicais livres, sendo importantes sequestrantes de radicais livres ⁶⁰, sendo que a maior atividade antioxidante está relacionada com a presença de grupos hidroxílicos nas posições 3' e 4' do anel B, os quais conferem uma elevada estabilidade aos radicais formados ⁶¹. As antocianinas podem se apresentar como desativadores de oxigênio singlete. Os grupos hidroxílicos livres nas posições 3 e 5, juntamente com o grupo carbonílico na posição 4' são doadores de elétrons ⁶². Em

estudos realizados sobre a reatividade de antocianinas frente ao oxigênio singlete ($O_2(^1\Delta_g)$), através da avaliação do efeito protetor de extratos de antocianinas de acerola e de açaí, em diferentes níveis de purificação, sobre o actinômetro dimetil-antraceno e à medida que os extratos foram sendo purificados, a capacidade de desativação do $O_2(^1\Delta_g)$ foi diminuindo ⁶⁰.

Um grande número de métodos tem sido desenvolvido como o objetivo de avaliar a atividade antioxidante ou desativadora de radicais livres em alimentos e há revisões recentes referentes a este tema ^{63, 64,65}. No entanto, apontam-se nesta revisão algumas metodologias para facilitação da escolha desta nos trabalhos de rotina do laboratório.

Devido à complexidade da composição de cada tipo de alimento, tendo em vista que antioxidantes não atuam separadamente, a possível interação entre eles pode fazer com que a determinação da capacidade antioxidante individualmente seja menos efetiva do que o estado antioxidante total ⁶⁶. Os antioxidantes podem desativar radicais livres através de dois mecanismos principais: transferência do átomo de hidrogênio (HAT) (reação 1) e transferência de elétron (ET), demonstrada na metodologia de FRAP (reação 2) ⁶⁷.



Os métodos baseados na transferência de hidrogênios medem a habilidade do antioxidante em eliminar os radicais livres através da doação de hidrogênios. Por isso, muitos pesquisadores entendem que esses métodos são os mais relevantes para as reações onde os antioxidantes tipicamente atuam ⁶⁸. Uma das estratégias mais aplicadas nas medidas *in vitro* da capacidade antioxidante total de compostos, pertencentes a um alimento, consiste em determinar a atividade antioxidante frente a substâncias

414 cromógenas de natureza radicalar; onde o desaparecimento da cor ocorre de forma
415 proporcional à concentração de antioxidantes ⁶⁹.

416 O método do DPPH (diphenyl-2-picrylhydrazyl) ⁷⁰ é baseado na redução do
417 radical DPPH na presença de antioxidante doador de hidrogênio (reação 3). Este método
418 tem sido considerado um dos mais representativos para o emprego em modelos de
419 radicais na avaliação da capacidade de remoção de radicais livres ⁷¹.

420



422

423 Alternativamente, diversos compostos cromógenos (ABTS, DMPD, DMPO e
424 FRAP) são utilizados para determinar a capacidade dos compostos fenólicos que os
425 frutos contêm para captar os radicais livres gerados, operando assim contra os efeitos
426 prejudiciais dos processos de oxidação que as espécies reativas de oxigênio (EROS)
427 causam ⁷².

428 Além disso, são utilizados métodos que fazem uso de modelos de substratos
429 lipídicos. Um deles é o método que utiliza β -caroteno/ácido linoléico, o qual mede a
430 habilidade de um composto em inibir a descoloração do β -caroteno, causada por
431 radicais livres formados durante a peroxidação do ácido linoleico ⁷³. Uma metodologia
432 bastante utilizada em muitos experimentos é o ensaio TEAC (Trolox Equivalent
433 Antioxidant Capacity assay), sendo que os valores de TEAC de muitos compostos e
434 produtos alimentícios têm sido relatados ⁷⁴.

435 O ensaio TEAC avalia espectrofotometricamente a habilidade relativa das
436 substâncias antioxidantes em capturar o cátion radical 2,2'-azinobis (3-
437 etilbenzotiozolino-6-ácido sulfônico) (ABTS.+), quando comparada com uma
438 quantidade padrão do antioxidante sintético Trolox® (ácido 2-carboxílico-6-hidroxi-

439 2,5,7,8-tetrametilcromano), um análogo da vitamina E, solúvel em água. A atividade
440 dos compostos testados é expressa em valores TEAC, que é definido como a
441 concentração de Trolox que possui a mesma atividade que 1 mM da substância
442 antioxidante investigada. Os compostos são considerados ativos quando o seu valor de
443 TEAC é próximo ao da quercetina, flavonoide usado como substância de referência ⁷⁴.
444 O tempo de 1 minuto, para o método ABTS pode ser suficiente para medidas de polpas
445 de frutos enquanto o método DPPH requer um tempo de 60 minutos e os resultados
446 obtidos com o método DMPD (dicloridrato de *N, N*-Dimetil-*p*-fenilendiamina) têm sido
447 pouco reprodutíveis e em alguns casos incoerentes ⁷⁵.

448 A avaliação da atividade antioxidante utilizando estes métodos baseados em
449 radicais não biológicos pode gerar limitações nos estudos sobre a atuação dos
450 compostos fenólicos na desativação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de
451 nitrogênio (RNS) no organismo humano, como o radical peroxila (ROO), o radical
452 hidroxila (HO), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), o ácido hipocloroso (HOCl), o ânion
453 peroxinitrito (ONOO-) e o radical óxido nítrico (NO). Metodologias que determinam a
454 desativação destas espécies são mais condizentes com o que ocorre no organismo
455 humano, no entanto ainda são pouco disponíveis aos laboratórios. Entre elas se
456 apresenta a desativação do radical peroxila (ORAC), em que o radical ROO é gerado
457 por termodecomposição do 2,2'-azobis (2-amidinopropano) di-idrocloro (AAPH)⁷⁶.

458 A atividade de desativação do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) pode ser medida,
459 através do método de quimiluminescência pelo monitoramento da oxidação da
460 lucigenina induzida pelo H₂O₂ ⁷⁷, sendo a atividade de desativação do radical OH
461 determinada por quimiluminescência pelo monitoramento da oxidação do luminol
462 induzida pelo OH, este radical é gerado pela reação de Fenton (FeC₂-EDTA-H₂O₂)

463 (reação 4) a 37 °C em banho-maria ⁷⁸. Estas metodologias são importantes, porque
464 determinam radicais de relevância biológica.

465



467

468

469 Segundo critérios estabelecidos por Huang e Prior (2005)⁷⁹, os métodos
470 empregados na avaliação da atividade antioxidante devem utilizar moléculas
471 biologicamente relevantes, ser tecnicamente simples, ter ponto final e mecanismo
472 químico bem definido, ter instrumentação facilmente disponível, ter boa repetibilidade e
473 reprodutibilidade, ser adaptável para ensaios de antioxidantes hidrofílicos e lipofílicos e
474 para análises *high-throughput*. A tabela 2 demonstra vantagens e desvantagens de
475 alguns métodos de determinação da atividade desativadora de radicais livres.

476

477

478

479

480

481

482

483

484

485

486

487

488

489

490 **Tabela 2.** Vantagens e desvantagens de alguns métodos de determinação da atividade
 491 desativadora de radicais livres (antioxidante)

Metodologia	Vantagens	Desvantagens
DPPH	Teste simples e rápido. Necessita somente espectrômetro UV-visível. Não necessita condições drásticas de temperatura e oxidação ⁷⁹.	Interpretação complicada quando o espectro da amostra sobrepõe 515nm. DPPH é um radical de nitrogênio estável (sem similaridade com radical peroxil). Pequenas moléculas que tem maior acessibilidade ao radical teriam aparentes maiores atividades antioxidantes ⁷⁹.
Folin-Ciocalteu (F-C)	Simples, rápido, robusto. Não requer equipamento especializado Pode ser automatizado para <i>high-throughput</i> análises. A correlação com ORAC é geralmente boa ⁷⁹.	Interferências de outras substâncias que reagem com F-C reagente: Açúcares, aminas aromáticas, ácido ascórbico, ácidos orgânicos, além de variadas substâncias inorgânicas ⁷⁹
β caroteno/ácido linoléico	Método simples, sensível. Permite a determinação do poder antioxidante de compostos termo-sensíveis ^{80,81}.	Não específico (substâncias oxidantes ou redutoras interferem no ensaio). Dificuldade de interpretação dos resultados devida à interação do β-caroteno com o oxigênio ^{80,81}.
ABTS⁺	Relativa simplicidade que permite aplicação na rotina de qualquer laboratório ⁷⁴.	O resultado da determinação é dependente do tempo de incubação assim como da taxa da amostra quantificada ⁷⁹ Pouca seletividade do ABTS⁺ na reação com átomos doadores de hidrogênio ⁷⁹.
ORAC	Uso de fluorescência como medida do dano oxidativo ocorre menor interferência dos compostos coloridos presentes ⁸². Uso de radicais peroxila ou hidroxila como pró-oxidantes, conferindo significado biológico ⁸².	Análise relativamente cara ao requerer um sistema multicanal para dispensar reagentes acoplado a um leitor de fluorescência.

4.3. Métodos de extração de compostos fenólicos

Para obtenção dos compostos fenólicos de plantas há diversas formas de extração. Porém, dados da literatura sobre teor de compostos fenólicos em alimentos vegetais são incompletos, contraditórios e difíceis de comparar, além de diferentes metodologias de extração disponíveis na literatura. A solubilidade de compostos fenólicos é governada por sua natureza química na planta e também pela polaridade do solvente (s) utilizado. Tal natureza pode variar de substâncias pouco a muito altamente polimerizadas⁸³. Materiais vegetais podem conter quantidades diferentes de fenólicos ácidos, fenilpropanóides, antocianinas e taninos, entre outros.

Existe uma possibilidade de interação de compostos fenólicos com componentes da planta, tais como carboidratos e proteínas. Estas interações podem levar à formação de complexos muito insolúveis⁸³. Pelo fato da solubilidade de compostos fenólicos também ser afetada pela polaridade do (s) solvente (s) utilizado é muito difícil um procedimento de extração desenvolver mecanismos adequados para a extração de todos compostos fenólicos das plantas. Os extratos fenólicos de materiais vegetais são sempre uma mistura diversificada de compostos fenólicos da planta solúveis no sistema solvente utilizado⁸³.

O procedimento de extração utilizado de maneira mais ampla para fenólicos é o sólido-líquido com uso de solventes como metanol, etanol e acetona ou a mistura destes com água, para a recuperação de uma vasta gama de fenólicos de diversas estruturas⁸⁴. As condições de extração irão depender das características do composto a ser analisado, sendo que eficiência da extração destes constituintes está diretamente relacionada às características químicas das moléculas e aos procedimentos de extração (Waterman, 1994)⁸⁴. Segundo Keinänen (1993)⁸⁵ solventes aquosos, MeOH 80% e EtOH 80% são

26 mais eficazes na extração de fenólicos. Kalt et al⁸⁶ verificaram que esses compostos
 27 foram melhor extraídos em água a 60°C quando comparados com extratos a 25°C,
 28 revelando que uma maior temperatura pode auxiliar na extração. Assim como ocorre
 29 com outras metodologias, as de extração de compostos fenólicos apresentam vantagens
 30 e desvantagens, as quais estão resumidas na tabela 2, que demonstra metodologias
 31 usuais.

32 **Tabela 2.** Vantagens e desvantagens de alguns métodos de extração de compostos
 33 fenólicos

Métodos	Vantagens	Desvantagens
Extração com solventes	O uso de ultrassom em combinação possibilita o uso de uma ampla gama de tamanhos de amostra, rapidez de processamento de amostra ⁸⁷. O uso de vortex, agitação ou homogeneização com Ultra-Turrax pode aumentar o rendimento dos extratos ⁸⁸.	Torna-se agressiva ao ambiente devido aos resíduos gerados durante o uso de substâncias tóxicas, dependendo também da toxicidade do solvente ⁸⁹ Também exige controle rigoroso de fatores como, a polaridade do solvente utilizado, o tempo e a temperatura de extração, pois pode ocorrer perda ou destruição dos compostos antioxidantes ⁸⁹.
Extração supercrítica	Oferece bom rendimento de extrato e preserva as propriedades antioxidantes, permitindo o controle da pressão e da temperatura ⁸⁹.	Torna-se ineficiente para substâncias com alta polaridade e seu alto custo dificulta a aplicação industrial ⁸⁹.

34

35 A extração por solvente pode ser subdividida ainda em percolação, maceração
36 com solvente, infusão, extração lipídica a quente e a frio. E as técnicas não
37 convencionais subdivididas em: extração por fluido supercrítico, extração vortical,
38 extração por energia elétrica e extração realizada ultrassonicamente ⁵⁸. Alguns
39 procedimentos também podem ser combinados, para um melhor rendimento de
40 extração, como a extração por solvente com a extração realizada ultrassonicamente ⁹⁰.
41 Huang et al (2009)⁵⁹ encontraram resultados que indicaram que o rendimento de
42 extração de flavonoides de *Foliun Eucomniae* realizada por ultrassom foi mais eficiente
43 (17,2%) que extrações realizadas por três outros métodos: aquecimento, micro-ondas e
44 assistida por enzimas.

45 Esta maior eficiência pode ser atribuída à ação da vibração do ultrassom, que
46 produz ruptura celular, redução do diâmetro da partícula e leva a uma maior área de
47 contato entre a fase sólida e a líquida, com melhor acesso do solvente aos componentes
48 disponíveis ⁹¹. Foi utilizado um procedimento com ultra-turrax para determinar as
49 propriedades funcionais do fruto e da semente do jambolão produzido na Região Sul do
50 Rio Grande do Sul através da determinação da atividade antioxidante e quantificação
51 dos compostos fenólicos totais, dos carotenóides totais e das antocianinas ⁹². Outro
52 estudo com frutas nativas brasileiras ³⁹ também se utilizou dessa metodologia, que
53 confere aumento no rendimento dos extratos ⁸⁸.

54 O preparo de amostra é um fator muito importante na eficiência da extração. A
55 estabilização por meio de congelamento e liofilização são recursos muito utilizados para
56 a preservação da amostra no período prévio à análise, além da maceração e redução de
57 tamanho das partículas da amostra que aumentam a superfície de contato entre amostra
58 e solvente facilitando a extração e a reprodução do método ⁹³. O uso de nitrogênio
59 líquido é recomendável pela possibilidade de obtenção de uma amostra finamente

60 pulverizada em um ambiente com reduzida concentração de oxigênio e baixas
61 temperaturas ⁹⁴.

62 Segundo Souza et al (2009) ⁹⁵ apesar da vasta literatura sobre o teor de fenólicos
63 em alimentos, poucos trabalhos descrevem justamente o processo de extração em
64 matrizes específicas e/ou as condições de preparo de amostra para quantificação. No
65 entanto, pesquisas foram realizadas para a otimização de processos de extração com
66 solventes ^{96,97} em que foram utilizados planejamentos experimentais fatoriais, como o
67 delineamento composto central rotacional, o qual possibilita o estudo das variáveis de
68 extração simultaneamente. Assim, pode-se avaliar cada variável individualmente e
69 também determinar possíveis efeitos sinérgicos e antagônicos resultantes de interações
70 entre as variáveis estudadas ⁹⁸. Segundo Morelli (2011) ⁵¹ a metodologia de superfície
71 de resposta utilizada na extração é excelente para otimização das variáveis dos
72 processos, tais como: concentração de etanol, temperatura de extração e tempo. Este
73 mesmo estudo indicou que a aplicação de ultrassom e temperatura para a extração dos
74 compostos fenólicos antioxidantes em geleia de uva pode diminuir o tempo de extração,
75 com resultados eficazes.

76 Segundo Souza et al (2009) ⁹⁵, o planejamento experimental realizado em duas
77 etapas se mostrou como uma ferramenta importante para otimizar e construir o modelo
78 preditivo dentro da faixa ótima para a extração de compostos fenólicos a partir da
79 combinação das variáveis; tempo de extração, rotação e extração contínua e não
80 contínua na extração de compostos fenólicos da matriz de amostra de cebola.

81

82 **4.4. Métodos de determinação de compostos fenólicos**

83 A determinação de compostos fenólicos em frutas pode ser realizada por
84 metodologia de Folin Ciocalteu, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

85 somente ou combinada com instrumentos com vários sistemas, tais como massas em
86 série, entre outros. Valores obtidos por técnicas cromatográficas são usualmente
87 menores que aqueles estimados pela metodologia de Folin-Ciocalteu. Uma razão é que
88 pode não se conseguir determinar alguns compostos fenólicos por análises
89 cromatográficas. Estes podem ser compostos desconhecidos, compostos presentes em
90 traços que não são considerados na caracterização das fontes do alimento ou compostos
91 que não são detectados por cromatografia, tais como polímeros de proantocianidinas e
92 polifenóis oxidados⁹⁹, como em maçã, vinho, chá ou bebidas.

93 Além disso, podem estar presentes no alimento alguns outros compostos que
94 também reagem com o reagente Folin-Ciocalteu, como ácido ascórbico
95 superestimando assim os valores encontrados¹⁰⁰. Apesar de suas desvantagens, Folin
96 Ciocalteu (FC) fornece uma estimativa do teor de compostos fenólicos nos alimentos.
97 Este método tem as vantagens de ser simples, rápido, robusto, não requerer
98 equipamento especializado e ser facilmente automatizado¹⁰¹. Folin Ciocalteu também
99 pode ser um método de determinação antioxidante (Tabela 1), pois seu mecanismo
100 ocorre uma reação de transferência simples de elétron (ET)¹⁰¹. Foram relatados na
101 literatura alguns trabalhos que encontraram correlação positiva entre o teor de
102 compostos fenólicos e a atividade antioxidante^{102, 103}.

103 A necessidade de obter o perfil de fenólicos individuais tem substituído os métodos
104 tradicionais por análises por CLAE, que representa uma técnica confiável para análises
105 de fenóis^{104, 105}.

106 Alguns procedimentos atuais englobam técnicas de separação de altíssimo
107 desempenho em combinação com detecção de arranjo de diodos ou espectrometria de
108 massas. Mais sofisticação nos instrumentos em acoplamento com vários sistemas, tais

109 como cromatografia multidimensional com RMN e massas em série já estão ocorrendo
110 em alguns laboratórios¹⁰⁶.

111 A identificação de compostos, baseada somente no espectro característico e
112 tempo de retenção nem sempre é confiável. Para a identificação dos compostos
113 fenólicos e antocianinas com maior certeza, devem ser avaliados um conjunto de
114 informações, considerando, por exemplo, ordem de eluição em fase reversa, co-
115 cromatografia com padrões e comparação das características dos espectros UV-visível e
116 de massas com dados da literatura, como no estudo de Wu & Prior, 2005¹⁰⁷. A
117 identificação de compostos fenólicos é realizada, geralmente, pela combinação de
118 informações obtidas durante a separação cromatográfica e detecção, levando em
119 consideração a ordem de eluição, o espectro DAD (detector de arranjo de diodos), o
120 padrão de fragmentação obtido por espectrometria de massas e, quando possível, a
121 comparação com padrões e com dados da literatura¹⁰⁷. A utilização de espectrometria
122 de massas com ionização por eletrospray acoplada a HPLC/DAD (cromatografia líquida
123 de alta eficiência com detector de arranjo de diodos) são métodos de escolha da maioria
124 dos trabalhos na área de caracterização química, no entanto, deve-se levar em
125 consideração o custo do equipamento.

126 Nos anos recentes, a eletroforese capilar (EC) também tem ganhado uma posição
127 proeminente na análise de produtos naturais, especialmente aqueles com constituintes
128 polares iônicos ou altamente polares. Particularmente para a determinação de compostos
129 fenólicos em matrizes complexas tais como frutas, plantas e alimentos, a versatilidade e
130 as características vantajosas de EC e seus diversos modos de separação tem sido
131 documentados^{108,109}.

132

133

CONCLUSÃO

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários sintetizados por plantas subdivididos em diversas sub-classes de acordo com sua estrutura química. Existem variações na média do consumo diário destes compostos entre os países, regiões de um mesmo país, hábitos culturais dietéticos, entre as classes e sub-classes e de acordo com a biodisponibilidade dos compostos.

Alguns estudos relatam a presença de compostos fenólicos como derivados glicosilados de quercetina e ácido elágico na polpa de cambuci, possuindo assim compostos com atividade benéfica. A geleia da fruta se apresenta como uma alternativa viável para o aproveitamento econômico das frutas *in natura*, sendo assim uma fonte a custo acessível que se alia ao crescente interesse por alimentos com ações funcionais, como é o caso dos compostos fenólicos. Observando-se devidamente o quanto destes compostos é preservado pós-processamento da fruta para obtenção da geleia.

Devido à correlação positiva do teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante relatada por muitos autores, os alimentos que contém tais compostos, em geral são indicados como potenciais antioxidantes. Atualmente métodos que determinam a atividade antioxidante, a partir das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio oferecem resultados de relevância biológica. O método de Folin Ciocalteu para determinação de compostos fenólicos é muito utilizado, por ser simples, rápido e robusto, mas sofre ação de interferentes da própria matriz da fruta e de ingredientes adicionados, como no caso da adição de açúcar na produção de geleias.

O estudo dos compostos fenólicos e flavonoides de frutas nativas, como o cambuci e de produtos processados, a otimização da extração dos compostos e das metodologias de análise podem auxiliar para que se elaborem estudos com resultados

159 que confirmem as ações promotoras de saúde destes compostos em amostras pouco
160 estudadas.

161

162

BIBLIOGRAFIA

163 1. Rice-Evans, C. A.; Miller, N. J.; Papaganda, G. Free Rad. Biol. Med., **1996**, 20, 933-
164 956.

165 2. Virgili, F.; Kim D.; Packer, L. FEBS Lett, **1998**, 431:315-318.

166 3. Wang, Y.; Cheng, M.; Zhang, B.; Mu, M.; Zhou, M.; Wu, J.; Li, C. HBPT Int., **2010**,
167 9, 164.

168 4. Shahidi F., Naczki M, CRC Press, **2004**, 403-442.

169 5. Bravo L. Nutr. Rev. **1998**, 56, 317.

170 6. Del Rio D., Mateos A. M. R., Spencer J. P., Massimiliano T., Borges G., Crozier A.
171 A. Antiox. & Redox Signal., **2013**, 18.

172 7. Beckman C.H. Physiol. Mol. Plant Pathol. 57, **2000**, 101–110.

173 8. Scalzo, J.; Politi, A.; Pelegrini, N.; Mezetti, B. Battino, M, Nutrition, **2005**, 21, 207-
174 213.

175 9. Barbosa D.B. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Uberlândia, **2008**. 64p.

176 10. Harborne J.B, Academic Press, **1982**, New York, NY.

177 11. Imeh U & Khokhar S. J. Agric. Food Chem., **2002**, 50, 6301-6306.

178 12. Vinson, J. A.; Yong, H.; Xuhehui, S.; Ligia, Z.; Bose, P J. Agric. Food Chem.,
179 **2001**, 49, 5315-5321.

180 13. Hendrich, S; Wang GuiJuan; Lin HsiaoKuang; Xu Xia; Tew BeeYen; Wang
181 HueiJu; Murphy, P. A. *Isoflavone metabolism and bioavailability in Antioxidant Status,*
182 *Diet, Nutrition, and Health*. Papas, A. M. Ed., CRC Press, Boca Raton, FL, **1999**, p.
183 211-230.

- 184 14. Giovannucci, E., Ascherio, A., Rimm, E.B., Stampfer, M.J., Colditz, G.A. and
185 Willett, W.C, **1995**. J. N. Cancer Inst., 87, 1767-1776.
- 186 15. Knee, M. *Fruit Quality and its Biological Basis*. CRC Press, Columbus, Ohio,
187 USA, 2012, 274p.
- 188 16. Melo, E. A. Maciel, M.I.S., Lima, V.L.A.G.; Nascimento, R.J. Revista Bras. de
189 Ciências Farmacêuticas, **2008**, 44, 193-201.
- 190 17. Nijveldt RJ, Van Nood E, Van Hoorn DE, Boelens PG, VanNorren K, Van
191 Leeuwen PA. Am J Clin Nutr **2001**; 74, 418-2.
- 192 18. Scalbert, A; Williamson, G. J. Nutr., **2000**, 130: 2073–2085.
- 193 19. Beecher, G. J. Nutr., **2003**, 133, 10 3248S-3254S.
- 194 20. Fennema. *Química de Alimentos de Fennema*, 4ª edição, Editora Artmed, Porto
195 alegre, 2010, 900p.
- 196 21. Hertog et al. Dietary anti-oxidants flavonoids and risk of coronary heart disease: the
197 Zutphen Elderly Study., Lancet **1993**, 342, 1007-1011.
- 198 22. Manach et al. Am. J. Clin. Nutr., **2004**, 79: 727-741.
- 199 23. Pierpoint, W.S. Biol. Res., **1986** 213, p. 125-140.
- 200 24. Jaime C.P, Figueiredo I.C.R., Moura E.C., Malta D.C. Rev Saúde Pub. **2009**;
201 43(Supl 2):57-64.
- 202 25. Faller A. L.K, Fialho E. Rev Saúde Pub **2009**; 43(2):211-8.
- 203 26. Murota, K., Terao, J. Arch. Biochem. Bioph., **2003**, 417, 12-17.
- 204 27. Diplock, A.; Charleux, J.; Grozier-Willi, G.; et al. Brit. J. Nut., **1998**, 80, 77-8.
- 205 28. Prior, R.L., Gu L., Phytochemistry, **2005**, 66, 2264–2280.
- 206 29. Almeida S.P. de, Proença C.E.B., Sano S.M., Ribeiro, J.F., Embrapa-Cpac, **1998**,
207 464p.

- 208 30. Vieira, R. F. et al. *Frutas nativas da região Centro-Oeste*, Brasília: Embrapa
209 Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 320 p.
- 210 31. Franzon R. C., Razeira M.C.B. *Anais do XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura*,
211 2012.
- 212 32. Beardsell, D.V.; O'Brien, S.P.; Williams, E.G.; Knox, R.B.; Calder, D.M.
213 *Australian Journal of Botany*, Collingwood, 1993, 41, .511-526.
- 214 33. Donadio, L.C. *Acta Hort.*, **1997**, 452, 181-183
- 215 34. Manica, I. *Frutas nativas, silvestres e exóticas 2 – Técnicas de produção e*
216 *mercado: feijoa, figo-da-índia, fruta-pão, jaca, lichia, mangaba*. Porto Alegre: Cinco
217 Continentes, 2002. 541p.
- 218 35. Lorenzi, H. *Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas*
219 *arbóreas nativas do Brasil*, Nova Odessa, SP: Instituto Platarum, 352 p., 1992.
- 220 36. Cooper Cambucy da Serra. <http://www.coopercambucydaserra.com.br/page1.aspx>
221 em setembro de 2013.
- 222 37. Adati, R. Dissertação de Mestrado em Farmacognosia, Universidade de São Paulo,
223 Brasil, 2001.
- 224 38. Peana, A.T., Marzocco S., Popolo A., Pinto A., Epult, **2005**, 31.
- 225 39. Lis-Balchin M, Hart S. *Phytother Res.* **1999**, 13, 540-2.
- 226 40. Gonçalves, A.E.S.S., Lajolo, F.M., Genovese, M.I. *J. Food Agric. Food. Chem.*,
227 **2010**, 58, 4666-4674.
- 228 41. Gonçalves A.E.S.S. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São
229 Paulo, Brasil, 2008.
- 230 42. Vallilo M.I., Garbelotti M.L., Oliveira E., Lamardo L.D.A. *Rev. Bras. Fruticultura*,
231 **2005**, 27, 241-244.

- 232 43. Silva, I.G; Correia A.de F. K; Bigaran J.T.; Baptista C.P., do Carmo L. F.; Spoto M.
233 H. F. B.CEPPA, **2012**, 30, 83-90.
- 234 44. Adece- Agência de Desenvolvimento do Estado do Ceará S/A. Perfil da produção
235 de frutas Brasil-Ceará-2013.26p.
- 236 45. Brazilian Fruit . <http://www.brazilianfruit.org/Pbr/Fruticultura/Fruticultura.asp>
237 acesso em setembro de 2013.
- 238 46. Lopes, R.L.T. Dossie Técnico: Fabricação de geleias. Fundação Centro Tecnológico
239 de Minas Gerais – CETEC, maio, 2007.
- 240 47. Lago, E. S.; Gomes, E.; Silva, R. da. Ciência e Tecnol. de Alimentos, **2006**, 26, 847-
241 852.
- 242 48. Wicsenborn, D.P.; Wang, J.; Chang, K.C.; Schwarz, J.G. Industrial crops and
243 Prod. **1999**, 19, 171-181.
- 244 49. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.
245 12 do CNNPA. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, de 24 de
246 julho de 1978. 1978. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov> , acesso em setembro de
247 2013.
- 248 50. Oliveira R. G., Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas,
249 Campinas, Brasil, 2010.
- 250 51. Morelli L.L, dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Brasil,
251 2011.
- 252 52. Dai, J. and R.J. Mumper. Molecules, **2010**, 15, 7313-7352.
- 253 53. Araujo, J.M Química de Alimentos: teoria e prática, 3ª Ed., Editora UFV, 2004. 478
254 p.
- 255 54. Madhavi, D.L., Singhai, R.S, Kulkarni, P.R., in: Food Antioxidants, D.L. Madhavi,
256 S.S. Deshpande, D.K. Salunkhe (ed.), *Marcel Dekker*, New York 1996, p 159.

- 257 55. Rajalakhmi, D., Narasimham S., in: *Food Antioxidants*, D.L. Madhavi,
258 S.S.Deshpande, D.K. Salunkhe (ed.), *Marcel Dekker*, New York 1996, p 65.
- 259 56. Pietta, P. G. Flavonoids as antioxidants. *J. Natural Products*, **2000**, 63, 1035-1042.
- 260 57. Dávalos, A., Gómez-Cordovés, C., Bartolomé, B. J. *Agric. Food Chem.*, **2004**, 52,
261 48-54.
- 262 58. Kaur, C.; Kapoor, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium’s
263 health. *International Journal of Food Science & Technology*, 36, 703-725, 2001
- 264 59. Huang W., An Xue , Hai Niu, Zhen Jia, Jiawen Wanga. *Food Chem.*, **2009**.
- 265 60. Rosso, V.V. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP,
266 Brasil, 2006.
- 267 61. Cao, G.; Sofic, E.; Prior, R.L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids:
268 Structure-activity relations ships. *Free Rad. Biol. Med.*, 22, 749-760, 1997.
- 269 62. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga G. *Free Radical Biology & Medicine*, **1996**,
270 20, 7933-7956.
- 271 63. Vasconcelos, S. M. L.; Goulart, M. O. F.; Moura, J. B. F.; Manfredini, V.; Benfato,
272 M. S.; Kubota, L. T.; *Quim. Nova* 2007, 30, 1323.
- 273
- 274 64. Huang, D.; Ou, B.; Prior, R. L.; *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 1841.
- 275
- 276 65. Prior, R. L.; Wu, X. L.; Schaich, K.; *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 4290.
- 277
- 278 66. Prior, R. L.; Cao, G. *In vivo total antioxidant capacity: comparison of different*
279 *analytical methods*. v. 27 (11/12), p.1173-1181, 1999.
- 280 67. Apak, R., Gorinstein, S., Bohm, V., Schaich, K. M., Ozyurek, M., & Guclu, K. *Pure*
281 *Appl. Chem.*, **2013**, 85 (5), 957–998.
- 282
- 283 68. Wright S.J. , Johnson E.R., and Gino A. DiLabio G.A., *J. Am. Chem.*
284 *Soc.*, **2001**, 123, 1173–1183
- 285 69. Arena, E.; Fallico, B.; Maccarone, E., *E. Food Chem.* 74, p. 423-427, 2001.

286 70. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Food Sci. Tech., **1995**, 28, 25-30.
287 1995.

288 71. Genovese, M.I.; Silva M. P.; de Souza, A. E. S. g.; Lajolo, f. M. Food Sci. Tech, 14,
289 207-214, 2008.

290 72. Arnous, A., Markis, d.; Keafalas, P. J. Food Comp. Anal., 15, 655-665, 2002.

291 73. Yanishlieva, N.V.I., Marinova E. M. Food Chem., 54, p. 377-382, 1995.

292 74. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C.,
293 **1999**, 26,1231-1237.

294 75. Kuskoski, E. M.; Asuero, G.A.; Troncoso, A. M.; Mancini-Filho, J.; Rev. Cien.
295 Tecnol.Alim., **2005**, 25, .4,.726-732.

296 76. Huang, D.; Ou, B.; Hampsch-Woodill, M.; Flanagan, J. A.; Prior, R. L.J. Agric.
297 Food Chem. **2002**, 50, 4437– 4444.

298 77. Almeida I.F.; Fernandes E.; Lima J.L.F.C; P.C. Costa; Bahia M.F. Food Chemistry,
299 **2008** 106, 1014-1020.

300 78. Costa D.; Marques A. P.; Reis R. L.; Lima J. L. F. C. Fernandes E. Free Radical

301 79. Huang, D.; OU B.; Prior, R. I., 53, **2005**, 1981-1856.

302 80. Von Gadew, A.; Joubert, E.; Hansmann, C. F.; J. Agric. Food Chem. **1997**, 45, 632.

303 81. Alves, C. Q. et al. **2010**, 33, 10, 2202-2210.

304 82. Lima A. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2008.

305 83. Major, R.E. LC-GC, **1991**, 4, 10.

306 84. Waterman PG, Mole S. Analysis of phenolic plant metabolites. Oxford: Blackwell
307 Scientific Publications; 1994, 238p.

308 85. Keinänen M. J Agricultural Food Chem **1993**; 41, 1986-90.

309 86. Kalt W, McDonald JE, Donner H. J Food Sc **2000**; 65, 390-3.

310 87. Sargenti et al, Phyt. Analysis, **2000**, 11, 69-73.

311 88. Kylli,P. P 2011. dissertation. EKT-series 1502. University of Helsinki. Department
312 of Food and Environmental Sciences. 90+62 pp.

313
314 89. Andreo D., Jorge N. B. CEPPA, **2006**, 24, 319-336

315 90. Vinatoru M. Ultrason. Sonochemistry, **2001**, 8, 303-313.

316 91. Fang, C., Yangzhao, S., Guanghua, Z., Xiaojun, L., Xiaosong, H., Jihong, W.
317 Ultrason. Sonochemistry, 2007, 14, 767–778.

318 92. Vizzotto, Márcia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, **2008**, 79, 26p.

319 93. Lago-Vanzela, E. S., da-Silva, R., Gomes, E., García-Romero, E., Hermosín-
320 Gutierrez, I. J. Agric. Food Chem., **2011**, 59, 13136.

321 94. Rodriguez-Saona, L. E. Wrolstad, R.E. Curr. Prot. Food. Anal. Chem., **2001**,
322 F1.1.1..

323 95. Souza, M. M., Recart, V.M., Rocha, M. da, Cipolatti, E. P. & Badiale-Furlong E.
324 Revista do Inst. Adolfo Lutz, **2009**, 68, 192-200.

325 96. Monrad, J.K., Srinivas, K., Howard, L.R., & King, J. W. J. Agricult. Food Chem.,
326 **2012**, 60, 5571.

327 97. Alonso-Scalces, R.M., Barranco, A., Corta, E., Berrueta, L. A., Gallo, B., &
328 Vicente, F. Talanta, **2005**, 65, 3, 654.

329 98. Ferreira, S.L.C., Bruns, R.E., da Silva, E.G.P., dos Santos, W.N.L., Quintella, C.M.,
330 David, J.M., de Andrade, J.B.; Breitzkreitz, M.C.; Jardim, I.C.S.F.; Neto, B.B., J. Chrom.
331 A, **2007**, 1158, 1, 2-14.

332 99. Santos-Buelga, C.; Scalbert, A. J. Food Sci. Agric. **2000**, 80, 1094.

333 100. Singleton, V. L. & Rossi, J.A.J. Am. J. Enol. Vitic. **1965**, 16, 144–158.

334 101. Huang, D.; Ou B.; Prior, R. I.; J. Agric. Food. Chem. **2005**, 53, 1841-1856.

335 102. Prior R.L, Cao G, Martin A, Sofic E, McEwen J, O'Brien C, et al. J Agric Food
336 Chem, 46, 2686-93, **1998**.

- 337 103. Meyer AS, Yi OS, Pearson DA, Waterhouse AL, Frankel EN. J Agric Food Chem,
338 **1997**, 1638-43.
- 339 104. Martínez-Valverde, M.J. Periago, G. Provan, A. Chesson, J. Sci. Food Agric., **2002**,
340 82, 323.
- 341 105. M.F. Andreasen, L.P. Christensen, A.S. Meyer, A. Hansen, J. Food Chem., **2000**,
342 48, 2837.
- 343 106. Robards K. J. Chromatography A, **2003**, 1000, 657–691.
- 344 107. Wu, X., Prior, R.L. J. Agricul. Food Chem., **2005**, 53, 2589.
- 345 108. Garcia-Canas V.. Cifuentes A. Electrophoresis, **2008**, .29, 294–309.
- 346 109. Herrero M., Ibáñez E., Cifuentes A. Journal of Separation Science, **2005**, 28, 883-
347 897.

CAPÍTULO 2: ARTIGO CIENTÍFICO

Phenolic compounds of cambuci fruit (*Campomanesia phaea* O. Berg.) and determination of antioxidant activity of cambuci jam

Enviado e formatado segundo as normas de submissão de artigos da revista Acta alimentaria, disponíveis em: <http://www.scielo.br/revistas/aa/pinstruc.htm>

Phenolic compounds of cambuci fruit (*Campomanesia phaea* O.Berg.) and
determination of antioxidant activity of cambuci jam

M. BAGETTI ^{a*}, M.A. PRADO ^a

^a : *Laboratory Food Analysis, Department Food Science, Faculty Food Engineering –
University of Campinas - UNICAMP, 80 , Monteiro Lobato St, Brazil*

Corresponding author:

Milena Bagetti

*Laboratory Food Analysis
Department Food Science
Faculty Food Engineering
UNICAMP
80, Monteiro Lobato, St
ZIP 13083-862*

Campinas - SP - Brasil
Phone: 55 (19) 3521-2152
Fax: 55 (19) 3521-2153

E-mail: milena.bagetti@gmail.com

* *To whom correspondence should be addressed:(E-mail:milena.bagetti@gmail.com)

33 **ABSTRACT**

34 The consumption of fruits and vegetables has several beneficial effects on our health
35 with respect to the prevention of chronic degenerative diseases such as arteriosclerosis
36 and cancer. However, little is known about the bioactive or phytochemical compounds
37 present in some Brazilian native fruits—for example, the cambuci fruit (*Campomanesia*
38 *phaea* O. Berg.)—and little data exist with regard to their antioxidant activities. The aim
39 of this work was to determine the phenolic compound content of the cambuci fruit by
40 means of two methods of extraction: ultrasonication and homogenization using the
41 Ultra-Turrax mixer by employing aqueous ethanol (80%) and acetone (80%) solvents.
42 Furthermore, phenolic compound content of cambuci jam was determined by using
43 response surface methodology, and the antioxidant activity of the cambuci jam was
44 measured. The extraction employing the Ultra-Turrax mixer with aqueous acetone
45 (80%) resulted in a larger amount of phenolic compounds (232.12 ± 10.4 mg gallic acid
46 equivalents (GAE)·100 g⁻¹ in dry basis). The highest content of phenolic compounds
47 extracted from cambuci jam was 322.5 mg GAE·100 g⁻¹ in dry basis. The cambuci jam
48 exhibited the best antioxidant activity as determined by the 1,1-diphenyl-2-
49 picrylhydrazyl (DPPH) radical assay method and the phenolic content of the cambuci
50 jam correlated positively with antioxidant activity for DDPH and 2,2'-azino-bis(3-
51 ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assays. The best result for the antioxidant
52 activity obtained using response surface methodology varied widely among the different
53 methodologies. The cambuci jam, and hence cambuci fruit, proved to be a rich source of
54 phenolic compounds, which showed positive correlations with antioxidant capacity. The
55 confirmation of antioxidant activity in cambuci fruit jam and the phenolic compounds of
56 fruit demonstrate the importance of the preservation and utilization of cambuci, a fruit
57 currently in danger of extinction.

58 **Key-words:** phenolic compound; *campomanesia phaea* Berg; jam.

59 RESUMO

60 O consumo de frutas e vegetais tem apresentado vários efeitos benéficos para nossa
61 saúde, relacionados com a prevenção de doenças crônicas degenerativas, entre elas,
62 arteriosclerose e câncer. Contudo, algumas frutas nativas brasileiras apresentam poucos
63 estudos na literatura sobre os compostos bioativos ou fitoquímicos bem como sua
64 atividade antioxidante, como por exemplo, o cambuci (*Campomanesia phaea* O.Berg.).
65 O objetivo deste trabalho foi determinar o conteúdo de compostos fenólicos da fruta
66 cambuci utilizando dois sistemas de extração: ultrassom e Ultra-Turrax, com o
67 emprego de etanol 80% e acetona 80%. Além disso, determinar o teor de compostos
68 fenólicos de geleia de Cambuci, com o uso de metodologia de superfície de resposta
69 medir a atividade antioxidante de geleia de cambuci, avaliando a influência das
70 variáveis tempo, temperatura e concentração de etanol. A extração que utilizou Ultra-
71 turrax com acetona 80% resultou em maior teor de compostos fenólicos ($232, 12 \pm 10,4$
72 mg de equivalentes de ácido gálico (GAE). $100g^{-1}$ em base seca). O maior teor de
73 compostos fenólicos encontrado em geleia de Cambuci foi de $322.5 \text{ mg GAE}.100g^{-1}$
74 em base seca. A geleia apresentou melhor atividade antioxidante com o método 1,1-
75 diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Os melhores resultados encontrados utilizando a
76 metodologia de superfície de resposta variaram amplamente entre as diferentes
77 metodologias antioxidantes utilizadas (ABTS e DPPH). Geleia de cambuci provou ser
78 uma boa fonte de compostos fenólicos, que apresenta correlação positiva com a
79 capacidade antioxidante. A confirmação da atividade antioxidante em extratos da geleia
80 e os compotos fenólicos presentes na fruta cambuci demonstram a importância da
81 preservação e utilização do Cambuci, uma fruta em risco de extinção.

82 **Palavras-chave:** compostos fenólicos, *campomanesia phaea* O. Berg, geleia

83

84 1. INTRODUCTION

85 Food and beverages rich in flavonoids and other phenolic compounds have been
86 associated with reducing the risk of disease in several epidemiological studies (Huxley
87 & Neil, 2003; Hertog et al., 1993; Lin et al., 2007). Investigations demonstrate that the
88 antioxidant activity of plant tissue is related to the defense against oxidative stress and
89 in other human disorders, including arteriosclerosis and aging processes (Manostroi,
90 1995; Stajner, 1998). There have also been reports of a correlation between the intake of
91 phenolic compounds, such as flavonoids, and the possibility of reduction of certain
92 types of cancer (Lopez-Otin & Diamandis, 1998; Middleton et al., 2000). Furthermore,
93 the concentration of these compounds has been positively correlated with antioxidant
94 activity (Meyers et al., 2003; Rekika et al, 2005).

95 The cambuci fruit (*Campomanesia phaea* O. Berg.) is a member of the Myrtaceae
96 family, which is one of the most important plant families (Donadio, 1997). However,
97 little information exists on the phenolic and flavonoid composition of the fruit and its
98 jam in the literature. The main ingredients used in jam preparation are fresh fruits (juice
99 or pulp), sugar, pectin, and citric acid. Although fruit processing may reduce the total
100 amount of anthocyanin and other antioxidant phenolic compounds, studies have shown
101 that a significant amount of these compounds were found in blackberry jam after three
102 months of storage at room temperature in the presence of light (Mota, 2006).

103 The optimization of extraction and specific analysis methodologies is
104 fundamental, because small details, such as time and temperature of extraction can
105 affect the reliability of the results. Despite the abundant literature about the phenolic
106 content in food, there is little work describing modifications in extraction procedures
107 employing specific matrices and/or critical sample preparation conditions for
108 quantification (Souza et al., 2009).

109 Ultrasonically assisted extraction (ultrasonication) is one of the non-conventional
110 extraction techniques that has increased in popularity, especially during the last 25
111 years, because of the development of ultrasound devices (Vinatoru, 2001). Some
112 authors have proposed that the efficacy of ultrasound extraction is attributed to the fact
113 that ultrasound waves promote better contact of the solvent with the analyte (Viro et
114 al., 2009; Wang et al., 2008; Wang & Weller, 2006). However, the effects of ultrasound
115 on the yield and kinetics of extraction can differ depending on the nature of the plant
116 material to be extracted (Wang & Weller, 2006). Ultrasound also has a mechanical
117 effect, allowing better penetration of the solvent in the sample, which increases the
118 contact surface area and improves solute diffusivity to the environment (Wang et al.,
119 2008; Viro et al., 2009; Rostagno, Palm, & Barroso, 2003).

120 Soluble phenolic compounds are found compartmentalized in the plant cells
121 within vacuoles (Beckamn, 2000) in free or conjugated form, while insoluble phenolics
122 are bound to cell wall structures, or esterified with arabinose or galactose residues of
123 pectin, or hemi-cellulosic components (Faulds & Williamson, 1999). However, with jam
124 processing, the liberation of compounds bound to these cell wall structures tends to
125 occur, because the process involves loss of water.

126 The Folin–Ciocalteu (FC) method has the advantage of being simple, fast, and
127 robust; it is easily automated (Huang & Prior, 2005) for the estimation of the phenolic
128 compound concentrations in food, despite its disadvantages, namely, interference from
129 other substances that react with the FC reagent, such as sugars, aromatic amines,
130 ascorbic acid, organic acids, and various inorganic substances. Amakura et al. (2000)
131 previously used the FC method to determine the influence of jam processing on the
132 radical scavenging activity of the phenolic content in berries.

133 The aim of this work was to determine the phenolic compound content of the
134 cambuci fruit undergoing two methods of extraction: ultrasound and Ultra-Turrax
135 mixing, using aqueous ethanol (80%) and acetone (80%) solvents. Furthermore, the
136 phenolic compound content in cambuci jam was determined by using response surface
137 methodology; in addition, measurements of the antioxidant activity of cambuci jam
138 were performed and correlated with phenolic compound concentrations.

139 2 MATERIAL AND METHODS

140

141

142

2.1 Material

143 The cambuci fruit (Figure 1) harvested in Rio Grande da Serra, São Paulo, (SP,
144 Brazil) consisted of a mix of completely ripe fruits from plants belonging to a
145 cooperative of cambuci and derivate producers (Cooper Cambucy, Rio Grande da Serra,
146 SP, Brazil). The sanitized samples were placed in cold storage and transported to the
147 State University of Campinas. Twenty kilograms of fresh cambuci fruit and twelve jars
148 of cambuci jam (40 g each) (Figure 2) were acquired from the same harvest (2011) as
149 prepared by Cooper Cambucy. The batches of fruits and jam were frozen at -38°C . The
150 peeled fruits and pulp were sanitized in a similar manner as in fruit jam formulation
151 processing.



152

153

154

Figure 1. Cambuci fruit (*Campomanesia phaea* O.Berg.)

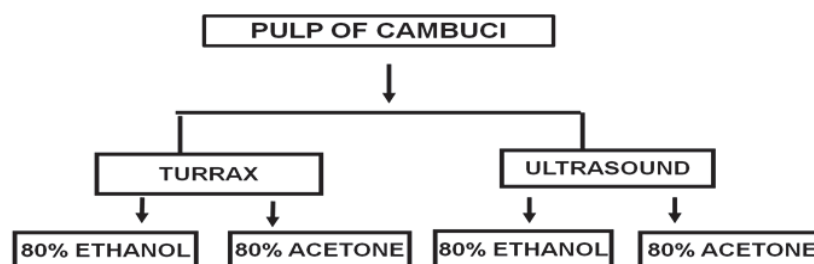
155

156 2.2. Reagents and standards

157 The reagents and standards used were Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-
158 tetramethylchroman-2-carboxylic acid), soda ash, FC reagent, 1,1-diphenyl-2-
159 picrylhydrazyl radical (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid
160 diammonium salt (ABTS), ethanol and acetone. All reagents were purchased from
161 Sigma-Aldrich, Synth, or Dinamica.

163 2.3. Extraction from the pulp cambuci

165 The fruit samples (10 g) were extracted using two different solvents: ethanol
166 (80% in water) and acetone (80% in water), using two different systems: Ultra-Turrax
167 (Turatec TE-102-TECNAL, 4000 rpm) and ultrasound according to the method of Shin
168 et al. (2008) (Figure 2). A quantity of sample (10 g) was mixed with solvent and
169 extracted at room temperature for 5 min; this process was repeated twice. After
170 extraction, the extracts were filtered through a Whatman No. 1 paper filter and the
171 volume was adjusted to 100 mL. The total phenolic compounds were measured using
172 the FC reagent (Singleton et al., 1999) and the calibration curve expressed in mg of
173 gallic acid equivalents (GAE).



176 **Figure 2.** Extraction from the pulp cambuci

179 **2.4. Determination of phenolic compounds in jam**

180 Response surface methodology was applied to determine the optimal conditions
181 for cambuci jam extraction via experimental planning of a rotatable central composite
182 design, totaling 17 extractions (Table 1). Jam samples (10 g) were placed in an
183 Erlenmeyer flask with 100 mL of extraction solvent and subjected to ultrasound (model
184 USC-1880, 40 KHz, Unique, Ind. e Co. Ltd., Brazil) under different conditions (Figure
185 3). Temperature, ethanol concentrations, and time were varied in accordance with the
186 studies of Morelli (2012).

187 The total phenolic compound was determined using the FC reagent (Singleton et
188 al., 1999). The constructed calibration curve was expressed in mg of GAE per 100 g of
189 the dry basis sample, using the extracting solution of the central point of a rotatable
190 central composite design (50% de ethanol).

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200

201

202

203

204 **Table 1.**Experimental parameters of the extraction model of extracts jam cambuci

Assays	Ethanol (%)	Temperature (°C)	Time (min)	205
				206
1	20,2	37	6	207
				208
2	20,2	37	6	209
				210
3	79,8	58	6	211
4	79,8	58	6	212
5	20,2	37	24	213
6	79,8	37	24	214
				215
7	20,2	58	24	216
				217
8	79,8	58	24	218
9	50	47	15	219
10	50	47	15	220
11	50	47	15	221
12	0	47	15	222
13	100	47	15	223
14	50	30	15	224
15	50	65	15	225
16	50	47	0	226
17	50	47	30	227

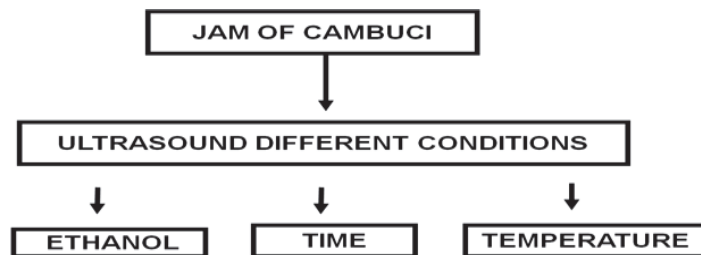


Figure 3. Cambuci jam extraction

2.5. Antioxidant activity of the cambuci jam

2.5.1 Determination of antioxidant activity through the DPPH• radical

The determination of antioxidant capacity of the sample by the reduction of the DPPH free radical was conducted according to Brand-Willians & Cuvelier (1995). The analyses were performed by adding 3.9 mL of a DPPH solution methanolic and 100 μ L of the sample extract in each test tube, or the same volume of solution used in extract samples to obtain a control solution. Absorbance readings were acquired at room temperature after a reaction time of 90 min in a dark environment. The analyses were repeated three times and expressed in (μ mol Trolox) ($100 \text{ g}^{-1} \text{ f.w.}$).

2.5.2 Determination of antioxidant activity through ABTS⁺⁺ (TEAC) assay

The determination of antioxidant capacity of the sample by the reduction of the ABTS⁺⁺ radical cation (Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay) was conducted according to the procedure described by Re et al. (1999). An aqueous stock solution of potassium persulfate ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$; 2.45 mM) and a stock solution of ABTS (7 mM) were prepared and used to dilute extracts such the assay results would be between 20 and 80% of the control absorbance. For 3 mL of the diluted ABTS solution, 30 μ L of

sample extract and standard solutions were added to build the Trolox calibration curve at concentrations of 0.4 to 1.5 μM .

2.6 Statistical analysis

Results were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) for cambuci fruit and experimental planning of the central rotatable composite design was realized for cambuci jam.

3. RESULTS AND DISCUSSION

In this study, the system employing the Ultra-Turrax mixer with aqueous acetone (80%) resulted in a larger amount of extracted phenolic compounds ($232.12 \pm 10.4 \text{ mg GAE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) (Figure 5). This amount was significantly different (more than double) from that obtained for the Ultra-Turrax/ultrasound systems using aqueous ethanol (80%); however, there were no significant differences within 5% error with the system using acetone and ultrasound. During extraction under agitation, as with Ultra-Turrax, bubble formation and cavitation occurred, resulting in an increase in yield. According to Gan and Latiff (2011), acetone promotes a larger yield in phenolic compounds than ethanol, methanol, or hexane/ethyl acetate systems. However, this solvent is also more toxic and can promote the extraction of non-phenolic compounds or tannins, possibly more than ethanol.

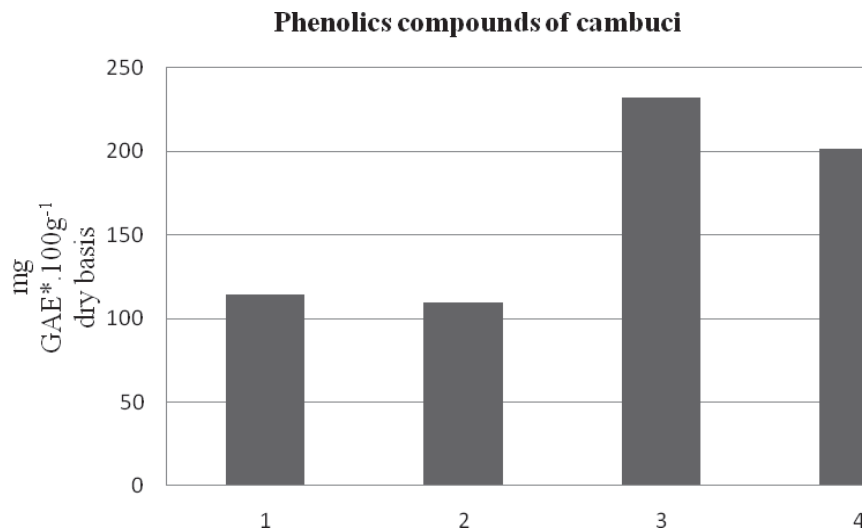


Figure 5. Content of phenolic compounds of the fruit under different solvents and extraction systems. 1: 80% Ethanol in ultra-turrax, 2: 80% Ethanol in ultrasound, 3: 80% Acetone in ultra-turrax, 4: 80% Acetone in ultrasound - *mg GAE.100g dry basis.

The phenolic content determined by the FC method was slightly lower than that previously found in cambuci by Genovese et al. (2008) (246 mg GAE · 100 g⁻¹ f.w.), and by Lima et al. (2002) in other fruits of the Myrtaceae family such as the purple pitanga (*Eugenia uniflora* L.; 325 mg catechin · 100 g⁻¹ f.w.) and red pitanga (257 mg catechin · 100 g⁻¹ f.w.). It must be considered that the fruits exhibit quantitative and qualitative variations in the content of these components due to intrinsic factors (cultivation, variety, phase of maturity) as well as non-intrinsic factors (climatic and edaphic conditions) (Melo et al., 2008), in addition to the extraction system and extracting solution employed. According to Gonçalves et al. (2010), the frozen pulp of cambuci presents a high content of quercetin glycosidic derivatives and is considered a rich source of ellagic acid.

The highest phenolic compound content obtained from cambuci jam was 322.5 mg GAE · 100 g⁻¹ in dry basis, under the following extraction parameters in ultrasound method: ethanol 20.2%, temperature 37 °C, and extraction time 24 min (Table 2).

290 The highest antioxidant activity as determined by the DPPH assay (44.50 ± 1.00
291 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ in dry basis) was obtained with the following extraction conditions: ethanol
292 50%, temperature 65 °C, and extraction time 15 min (Table 2). Best antioxidant activity
293 results for the ABTS assay ($0.034 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ in dry basis) were obtained under the
294 following conditions: ethanol 20.2%, temperature 37 °C, and extraction time 6 min
295 (Table 1). In this study, the antioxidant activities of cambuci jam using the DPPH
296 method were higher than that of ABTS. The best result for the DPPH method was
297 higher than found in the study by Falcão et al. (2007) using a jam wine model system
298 (*Vitis labrusca*) and Refosco (*Vitis vinifera* L.), while activities were less when the
299 ABTS methodology was used. The correlation coefficient found for phenolic compound
300 content of cambuci jam and antioxidant activities using DPPH and ABTS methods were
301 positive (0.82 and 0.80, respectively). Antioxidant methods (DPPH and ABTS) also
302 showed a positive correlation between them (0.80).

314 **Table 2.** Phenolic compounds and antioxidant activity of jam cambuci prepared
 315 extracted different conditions of concentration of ethanol, time and temperature.

Assays			Phenolics mgGAE*.100g ⁻¹ dry basis	DPPH μmol trolox.g ⁻¹ dry basis	TEAC** μmol trolox.g ⁻¹ dry basis
Ethanol %	Temperature °C	Time min.			
20.2	37	6	303.83± 3.75	34.85±1.10	0.034±0.18
20.2	37	6	280.41±13.80	33.13±1.10	0.030±0.01
79.8	58	6	322.03±2.16	34.74±0.60	0.033±0.04
79.8	58	6	276.74±1.34	32.45±2.40	0.030±0.03
20.2	37	24	322.56±0.28	36.62±0.90	0.029±0.04
79.8	37	24	292.88±3.43	31.65±2.10	0.028±0.01
20.2	58	24	286.07±0.57	31.92±2.60	0.038±0.04
79.8	58	24	312.59±1.91	21.15±1.40	0.028±0.04
50	47	15	295.24±2.68	31.10±2.40	0.026±0.06
50	47	15	314.79±1.23	33.15± 0.90	0.029±0.10
50	47	15	263.79±1.22	35.28±1.60	0.028±0.01
0	47	15	239.07±1.50	27.21±1.90	0.026±0.00
100	47	15	150.85±0,28	12.47± 1.10	0.019±0.04
50	30	15	316.99±2,34	41.78±4.20	0.030±0.06
50	65	15	319.96±1.65	44.50± 1.00	0.032±0.02
50	47	0	280.70±3.51	32.80±2.10	0.029±0.01
50	47	30	316.93±3.16	33.97±0.10	0.031±0.04
0	47	15	239.07±1.50	27.21±1.90	0.026±0.00
100	47	15	150.85±0,28	12.47± 1.10	0.019±0.04
50	30	15	316.99±2,34	41.78±4.20	0.030±0.06
50	65	15	319.96±1.65	44.50± 1.00	0.032±0.02
50	47	0	280.70±3.51	32.80±2.10	0.029±0.01
50	47	30	316.93±3.16	33.97±0.10	0.031±0.04

Table 3. Best results for jam cambuci extraction phenolic compounds and antioxidant activity

	ethanol (%)	temperature (°C)	time (min)
Phenolic*	20,2	37	24
DPPH**	50	65	15
ABTS**	20,2	37	6

*mgGAE.100g⁻¹dry basis

** μmol trolox.g⁻¹dry basis

The optimum parameters of ethanol concentration, time, and temperature for extracts of cambuci jam are shown in Table 3. Contrary to the results of Morelli (2012), the temperature variable made a more significant impact on the antioxidant capacity.

For both ABTS and DPPH methods, the interaction of ethanol concentration and time parameter with temperature had a positive influence in antioxidant activity jam cambuci. In DPPH method, when extraction time and temperature was reduced to less than 6 min and less than 37 °C, respectively, the DPPH assay showed higher antioxidant concentration at high ethanol concentration; however, it passed through the central point (50%). Nevertheless, the cambuci jam can generally be considered as a rich source of compounds with antioxidant activity; since jam has more shelf life than the fruit. Futhermore, the ultrasound methodology is a efficient alternative for the extraction of phenolic compounds, because it reduces time of analysis.

4. CONCLUSION

The results demonstrate the cambuci fruit as a source of phenolic compounds that needs to be better utilized. The cambuci jam presented as a source de phenolic compounds with best antioxidant activity by DPPH method. The highest result found

337 for content phenolic compounds of cambuci jam were with ethanol 20.2%, temperature
338 37°C and 24 minutes. Phenolic content of cambuci jam correlated positively with
339 antioxidant activity for DDPH and ABTS. The best result found using response surface
340 methodology for antioxidant activity ranged between antioxidant methodologies, being
341 for DPPPH : ethanol 50%, 65°C and 15 minutes and for ABTS with ethanol 20.2%,
342 37°C and 6 minutes and varied widely antioxidant activity found in the different
343 methodologies. The antioxidant activity verified in fruit jam and that the extraction by
344 ultrasound and ultra-turrax of fruit cambuci can be good alternatives.

345

346 **5. ACKNOWLEDGEMENTS**

347

348 This work was run using samples of fruits and jam from the Cooperative of Cambuci

349 and Derivates Producers (Cooper Cambucy) in Rio Grande da Serra - SP, Brazil

350

351

352

353

354

355

356

357

358

359

360

361

362

363 6. REFERENCES

- 364
365 ADATI, R. T. 2001. Biopharmacognosy study of *Campomanesia phaea* (O.Berg.)
366 Landrum Myrtaceae. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 367 AMAKURA, Y.; UMINO Y.; TSUJI S.; TONOGAI Y. 2000. Influence of jam processing
368 on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. *Journal of*
369 *Agricultural and Food Chemistry*, 48, 6292-6297.
- 370 BECKAMN, C. H. 2000. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 57, 101-110.
- 371 BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E.; BERSET, C. 1995. Use of a free radical
372 method to evaluate antioxidant activity, *LWT – Food Science and Technology*, 28, 25-
373 30.
- 374 DONADIO, L. C. 1997. Study of some Brazilian Myrtaceae in Jaboticabal-SP. *Acta*
375 *Horticultura*, 452, 181-183.
- 376 FALCAO, Ana Paula et al. 2007. Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade
377 antioxidante de um sistema modelo de geléia de uvas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2007,
378 27, 637-642.
- 379 FAULDS, C.B. & WILLIANSON, G. 1999. The role of hydroxycinnamates in the plant
380 cell wall. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 393-395.
- 381 GAN, C.; LATIFF, A. A. 2011. Optimization of the solvent extraction of bioactive
382 compounds from *Parkia speciosa* pod using response surface methodology. *Food*
383 *Chemistry*, 124, 1277–1283.
- 384 GENOVESE, M. I., DA SILVA, M. P., DE SOUZA, A. E. S. G. & LAJOLO, F. M.
385 2008. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial
386 frozen pulps from Brazil. *Food Science and Technology Internacional*, 14, 207-214.
- 387

388 GONÇALVES, A., LAJOLO, F.M., GENOVESE, M.I. 2010. Potential dietary sources
389 of ellagic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, p. 4666-4674.

390 HE, X., LIU, D. LIU, R.H. 2008. A novel sodium borohydride/chloranil-based assay
391 for quantifying total flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 56, 9337 – 9344.

392 HERTOGE, M.G.L. FESKENS, E.J.M., HOLLMAN, P. C.H., KATAN, M.B. &
393 KROMHOUT D. 1993. *Lancet* 342, Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary
394 heart disease: the Zutphen Elderly Study 1007-1011.

395 HUXLEY, R.R., NEIL, H.A. 2003. The relation between dietary flavonol intake and
396 coronary heart disease mortality: a meta-analysis of prospective cohort studies.
397 *European Journal of Clinical Nutrition*, 57, 904-8.

398 LIMA, G., MÉLO, E. A & LIMA, D. E. S. 2002. Fenólicos e carotenoides totais em
399 pitanga. *Sciencia Agricola* 59, 447-450.

400 LIN, J., REXRODE, K.M, HU, F., ALBERT, C.M., CHAE, C.U., RIMM, E.B.,
401 STAMPFER, M.J. & MANSON, J.E. 2007. Dietary Intakes of Flavonols and Flavones
402 and Coronary Heart Disease in US Women *American Journal Epidemiology*, 165, 1305-
403 1313.

404 LOPEZ-OTIN, C., DIAMANDIS, E.P. 1998. Breast and prostate cancer: an analysis of
405 common epidemiological, genetic and biochemical features. *Endocrine Reviews*, 19,
406 365-396.

407 MANOSTROI, A., MILLER, N.J., BOLWELL, P.G., BRAMLEY, P.M. & PRIDHAM,
408 J.B. 1995. The Relative Antioxidant Activities of Plant-Derived Polyphenolic
409 Flavonoids. *Free Radical Research*, 22, 375-383.

410 MELO, E. A., MACIEL, M.I.S., LIMA, V.L.A.G., NASCIMENTO R.J. 2008.
411 Capacidade antioxidante de frutas. *Brazilian Journal Pharmaceutical Science*, 44, 193-
412 201.

413 MEYERS K.J. , CHRISTOPHER B., WATKINS C. B. ,MARVIN P. PRITTS M.
414 P., RUI HAI LIU R.H. J. Agric., 2003. *Food Chemistry*, 51 (23), 6887–6892.

415 MIDDLETON, E., KANDASWAMI, C., THEOHARIDES, T.C. 2000. *Pharmacol. Rev.*
416 52, 673-751.

417 MORELLI, L.L. & PRADO M.A. 2012. *Ultrason Sonochemistry*. 1144-9.

418 MOTA, R.V. 2006. *Ciênc.Tecnol. Alimentos* 26, 539–543.

419 MUROTA, K.; TERAOKA, J. Antioxidative flavonoid quercetin: implications of its
420 intestinal absorption and metabolism. *Arch. Biochem. Biophys.*, New York, v. 417,
421 p. 12-17, 2003.

422 PRITTS, M.P., LIU, R.H. 2003. Antioxidant and Antiproliferative Activities of
423 Strawberries. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 51, 6887–6892.

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

427 REKIKA, D., KHANIZADEH, S., DESCHENES, M., LEVASSEUR, A., CHARLES,
428 M.T. TSAO, R. & YANG R. 2005. Antioxidant Capacity and Phenolic Content of
429 Selected Strawberry Genotypes. *HortScience* 40, 1777–1781.

430 SINGLETON, V.L., ORTHOFER, R. & LAMUELA-RAVENTOS, R.M. 1999.
431 Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means
432 of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.

433 SHIN, Y., RYU, J., LIU, R., NOCK, R. J & WATKINS C. 2008. Harvest maturity,
434 storage temperature and relative humidity affect fruit quality, antioxidant contents and
435 activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit. *Postharvest Biology and*
436 *Technology*, 49, 201–209.

437 STAJNER, D., MILIĆ, N., MIMICA-DUKIV. N., LAZIC, B. & IGIC R.1998.
438 Antioxidant abilities of cultivated and wild species of garlic. *Phytotherapy Research*,
439 12, 513-514.

- 440 SOUZA, M. M., RECARTE, V.M., ROCHA, M. DA, CIPOLATTI, E. P. & BADIALE-
441 FURLONG E. 2009. Estudo das condições de extração de compostos fenólicos de
442 cebola (*Allium cepa* L.) *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 68, 192-200.
- 443 VALLILO, M. I., GARBELOTTI, M. L. OLIVEIRA E. DE & LAMARDO,
444 L.D.A.2005. Características físicas e químicas dos frutos de cambucizeiro
445 (*Campomanesia phaea*). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 27, 241-244.
- 446 VINATORU, M. 2001. *Ultrason. Sonochem.* 8, 303-313.
- 447 VIROT, M. TOMAO, V., BOURVELLEC, C. LE., RENARD, C. M.C.G & CHEMAT.
448 F. 2009. *Ultrason. Sonochem.* 17, 1066-1074.
- 449 WANG, J., SUN, B CAO, Y., TIAN, Y. & LI, X. 2008. *Food Chem.* 106, 804-810.
- 450 WANG, L. & WELLER C.L. 2006. *Trends Food Sci. Tech.* 17, 300 – 312.

CAPÍTULO 3: ARTIGO CIENTÍFICO

451 Constituintes nutricionais, atributos da polpa, casca, geleia de cambuci (*Campomanesia*
452 *phaea* O. Berg.) e compostos fenólicos de frutas brasileiras
453

Artigo a ser submetido para Revista

1 Constituintes nutricionais, atributos da polpa, casca, geleia de cambuci (*Campomanesia*
2 *phaea* O. Berg.) e compostos fenólicos de frutas brasileiras

3
4 Physicochemical characterization of pulp fresh, skin and jam of cambuci
5 (*Campomanesia phaea* O.Berg.) phenolic compound of Brazilian fruit

6
7 Milena Bagetti ^{1*}, Marcelo Alexandre Prado ¹

8
9 1. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas
10 (UNICAMP), CEP 13083-862, Campinas, SP, Brasil.

11

12

13

14

15

16

17

18 Autor correspondente*:

19 *Milena Bagetti*

20 ¹.Laboratório de Análise de Alimentos

21 Departamento de Ciência de Alimentos

22 Faculdade de Engenharia de Alimentos

23 UNICAMP

24 Monteiro Lobato, 80

25 CEP 13083-862

26 Campinas

27 Tel: 55 (19) 3521-2152

28 Fax: 55 (19) 3521-2153

29 E-mail para correspondência*: milena.bagetti@gmail.

RESUMO

31 Este trabalho teve como objetivo contribuir com dados de constituintes nutricionais da
32 polpa, geleia e casca de Cambuci (*Campomanesia phaea* O.Berg.), características do
33 fruto e verificar a possibilidade de aproveitamento máximo da fruta. Além disso,
34 comparar os teores de compostos fenólicos do Cambuci com outras frutas brasileiras. A
35 fruta cambuci apresentou elevado rendimento em polpa, teor de sólidos solúveis dentro
36 dos valores médios encontrados para frutas, em geral. Polpa, casca e geleia
37 apresentaram valores razoáveis de vitamina C (14,76; 13,04 e 34,21 mg ácido
38 ascórbico.100g⁻¹, respectivamente). A casca do cambuci é uma parte da fruta possível
39 de ser utilizada, por apresentar bons teores de lipídios, minerais e açúcares redutores
40 (0,72g%; 0,44 g% e 12,96% respectivamente), além dos teores de vitamina C. O
41 cambuci apresentou teores de compostos fenólicos e flavonoides superiores
42 significativamente ($p < 0,5$) ao maná-cubiu e jambo-vermelho . A casca, a polpa de
43 cambuci e a geleia apresentaram características nutricionais adequadas e com isso um
44 aumento no consumo destas pode ser indicado.

45

46

47

48

49

50

51

52

53

54

55

56 **Palavras-chave:** polpa, casca, geleia, composição físico-química.

ABSTRACT

This work has been focused on the contribution of data with respect to the nutritional constituents of the pulp, skin, and jam of the cambuci fruit. The cambuci fruit gave high yields of pulp and soluble solids within the mean values obtained for fruits in general. The skin, pulp, and jam presented reasonable values of vitamin C: 13.04, 14.76, and 34.21 mg ascorbic acid/100 g of fruit, respectively, which differed significantly (at the 5% level), comparing the levels of vitamin C with jam and fresh pulp, and the levels of jam and skin of cambuci. The skin of cambuci, an important component of the fruit in terms of chemical content, showed a good content of lipids, minerals, and reducing sugars (0.72 g%; 0.44 g%, and 12.96 g%, respectively). Fresh cambuci pulp showed higher contents of phenolic and flavonoids compounds than mana-cubiu and malay red-apple ($p < 0.5$). The skin, fresh pulp, and jam derived from the cambuci fruit showed adequate nutritional characteristics; thus, an increase in the consumption of these can be foreseen.

Key-words: skin, fresh pulp, jam, physicochemical characterization

INTRODUÇÃO

74 A literatura científica vem demonstrando correlação entre o consumo de dietas
75 ricas em frutas e hortaliças e a redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis
76 – DCNT ^{1,23}. Em 2008 foram estimados que mais de 1,4 bilhão de adultos estão em
77 situação de sobrepeso no mundo ⁴. No Brasil, dados do IBGE ⁵ apontam que entre
78 adultos acima de 20 anos, 48,0% das mulheres e 50,1% dos homens estão com excesso
79 de peso, enquanto 16,9% das mulheres e 12,4% dos homens são obesos. O sobrepeso
80 ultrapassa a desnutrição em 28 vezes no sexo masculino e em 13 vezes no feminino ⁶.

81 Existem poucos dados de frutíferas pertencentes ao bioma da Mata Atlântica como
82 o cambuci (*Campomanesia phaea* O.Berg), jambo-vermelho (*Syzygium malaccense*
83 (*L.*) Merr & Perr), comumente encontrando nas regiões norte e nordeste e o maná-cubiu
84 (*Solanum Sessiliflorum*) encontrado especialmente na região Amazônica.

85 A fruta do cambuci é uma das mais eficientes na inibição de α -amilase e α -
86 glicosidase, enzimas relacionadas com a incidência de diabetes mellitus tipo 2,
87 comparada com outras frutas brasileiras ⁷. E a polpa congelada de cambuci apresenta
88 altos teores de derivados glicosilados de quercetina, considerada também uma rica fonte
89 de ácido elágico ⁸.

90 As frutas amazônicas também precisam de uma atenção especial por apresentar
91 ótimas características de adaptação em diversas condições edafoclimáticas e por seu
92 valor nutritivo. Porém somente os agricultores regionais (índios e ribeirinhos) são os
93 que sempre as cultivam e consomem tendo a oportunidade de usufruir de seus
94 benefícios (Silva Filho, 1998) ⁹. O maná-cubiu (*Solanum Sessiliflorum*), pertencente à
95 família Solanaecea, é um fruto exótico com sabor característico e agradável, no qual
96 identificou-se o ácido 5-cafeoilquínico como composto fenólico principal e grande

97 eficiência na desativação do H_2O_2 e o $HOCl$ ¹⁰. Sua polpa foi capaz de proteger o DNA
98 de danos induzidos por doxorubicina em células hepáticas, cardíacas e sanguíneas de
99 ratos wistar ¹¹. Já o jambeiro-vermelho (*Syzygium malaccense* (L.) Merr & Perr), de
100 origem asiática, é encontrado nos estados da região norte, nordeste e nas regiões quentes
101 do sudeste do Brasil, comumente consumido ao natural ¹². Seu fruto pertence à família
102 Mirtaceae, cor vermelha a roxa e às vezes rosa quando em estágio final de maturação ¹²
103 e apresenta características adequadas para o consumo ao natural e industrialização ¹³.

104 No Brasil há um grande desperdício de alimentos, sendo importante a utilização
105 de cascas, talos e folhas para aproveitamento integral ¹⁴. Alguns estudos apontam que a
106 presença de compostos antioxidantes na casca do fruto aumenta a atividade
107 antioxidante. Em um deles, a adição de casca a uma formulação de geleia de uva
108 promoveu aumento no conteúdo de fenólicos totais em aproximadamente 170% ¹⁵.

109 O processamento industrial ou doméstico pode tornar os alimentos mais atraentes
110 ao paladar, aumentar sua vida-de-prateleira. Com isso a elaboração de geleia se mostra
111 uma valiosa opção por ter boa aceitação sensorial e não exigir o mesmo padrão de
112 qualidade imposto para comercialização do fruto. A adição de açúcar, junto com a
113 concentração a elevadas temperaturas no processamento da geleia, promovem
114 considerável estabilidade microbiológica, reduzindo a carga microbiana e a atividade de
115 água do produto ¹⁶.

116 Sabe-se que o teor de compostos fenólicos e antocianinas dos extratos de frutas
117 podem variar conforme o sistema solvente utilizado. Extratos de etanol e metanol de
118 groselha resultaram duas vezes mais polifenóis do que extratos aquosos ¹⁷. Os solventes
119 alcoólicos têm sido comumente empregados, pois resultam em alto rendimento de
120 extrato total mesmo que eles não sejam altamente seletivos para fenóis ^{18,19}.

121 A recuperação dos polifenóis a partir de materiais de plantas é também
 122 influenciada pelo tempo de extração e fatores relacionados. Tempos de extração mais
 123 longos aumentam a chance de oxidação de compostos fenólicos, a menos que agentes
 124 redutores sejam adicionados ao sistema solvente ²⁰. Diversos fatores ambientais, como
 125 sazonalidade, radiação, temperatura, altitude e umidade podem modificar o
 126 metabolismo secundário vegetal, interferindo na produção de compostos ²¹. Em
 127 situações de estresse (hídrico ou oxidativo, por exemplo) o vegetal pode modificar sua
 128 rota biossintética e produzir substâncias de defesa como resposta às mudanças de seu
 129 habitat ²². Acetona 80%, etanol e metanol em diferentes concentrações foram os
 130 solventes mais encontrados encontrados para extração de compostos fenólicos na
 131 literatura (Tabela 1).
 132

Tabela 1. Sistemas solventes utilizados para extração de compostos fenólicos

Solvente utilizado	Relação massa/volume	Referência
Acetona 80%	1:2	Chu, Sun, Wu & Liu (2002) ²³
Acetona 80%	1:8	Yang, Liu & Halim (2009) ²⁴
Etanol 51%	1/6	Yang, Liu & Gao (2009) ²⁵
Etanol 55,4% e 40,4% -		Karacabey & Mazza (2010) ²⁶
Acetona 80%	1:2	Yang, Martinson & Liu (2009) ²⁷
Acetona 80%	1:50	Okarter, Liu , Sorrells & Liu (2010) ²⁸

133
 134 Este trabalho teve o objetivo determinar a composição físico-química da polpa,
 135 geleia, casca de cambuci. Além disso, determinar o sistema solvente mais apropriado
 136 para extração de compostos fenólicos e flavonoides da polpa do Cambuci e o teor de
 137 destes compostos bioativos, comparando com outras frutas brasileiras pouco estudadas.

138 MATERIAL E MÉTODOS

139

140 1. Material Vegetal

141 As amostras de fruto de *C. phaea* (Figura 1) foram coletadas em Rio Grande da
142 Serra, interior de São Paulo, na região que compreende a região da Mata Atlântica e
143 disponibilizada pela Cooper Cambucy da Serra, cooperativa de produtores. Frutos
144 inteiros de *C. phaea*, correspondendo a um total de 20 Kg, provenientes de 5 plantas
145 produtivas, recebendo parcialmente a luz solar, foram coletados em março de 2011,
146 higienizados com bastante água, acondicionados em sacos de polietileno e guardados
147 sob congelamento à temperatura de $-37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, para posterior análise no laboratório. .
148 As amostras de fruto de jambo-vermelho (Figura 2) e de maná-cubiu (Figura 3) foram
149 coletadas na região Amazônica em março de 2011, higienizados com bastante água,
150 acondicionados em sacos de polietileno e guardados sob congelamento à temperatura de
151 $-37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, para posterior análise no laboratório.

152 As amostras foram separadas aleatoriamente (30 frutos) trituradas e
153 homogeneizadas em multiprocessador doméstico, constituindo-se de uma amostra
154 composta dos vários frutos.

155



156

157 Figura 1. Cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg.)

158



159

160

Figura 2. Jambo vermelho

161



162

163

Figura 3. Frutos de maná-cubiu (*solanum sessiflorum*)

164

165

166

Análises da polpa, casca e geleia de cambuci

167

168

2.1. Características físicas dos frutos

169

170

171

172

173

Para as determinações das características físicas, separaram-se, aleatoriamente, 20 frutos de cambuci. O rendimento em polpa, casca e sementes foi obtido pela relação percentual entre o peso do fruto inteiro e de suas respectivas estruturas, foram realizadas também análises de sólidos solúveis (°Brix) tamanho e peso dos frutos.

174 **2.2. Análises de composição físico-química**

175 As análises de composição tais como: umidade, cinzas, lipídios, proteínas em
176 triplicata, foram determinadas segundo a "Association of Official Analytical Chemists"
177 – AOAC (1995)²⁹ e o ácido ascórbico (vitamina C), em triplicata de acordo com os
178 métodos preconizados pela AOAC, pelo método de Tillmans que segue também a
179 indicação da AOAC, sendo que os carboidratos foram calculados por diferença. Os
180 açúcares redutores foram determinados pela metodologia de Lane-Eynon ³⁰.

181

182 **2.3. Obtenção e análises da geleia do cambuci**

183 Para o processamento da geleia de cambuci pela Cooperativa Cooper Cambucy,
184 que cedeu as amostras de geleia para esse trabalho as etapas foram as seguintes:
185 recepção da fruta, seleção, limpeza e lavagem, corte e desintegração, adição de
186 sacarose, concentração em tacho, adição de ácido, aquecimento até 85°C, envase e
187 fechamento, esterilização, resfriamento, limpeza e secagem, rotulagem e
188 armazenamento ³¹.

189 Não se acrescentou açúcar invertido, não houve descascamento nem adição de
190 pectina, pois a casca da fruta e a polpa proporcionam a característica de geleificação,
191 segundo o procedimento da Cooperativa. Foram realizadas na geleia determinações de
192 pH, acidez titulável (em ácido cítrico), vitamina C, açúcares redutores, umidade, cinzas,
193 lipídios, proteínas em triplicata, assim como na polpa e na casca.

194 Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram verificados
195 por análise de variância (ANOVA), determinado o desvio padrão. Foram considerados
196 significativos quando $p < 0,05$, utilizando-se o software Statsoft 9.0.

197

198

199 3. Análises de cambuci, jambo e maná-cubiu

200

201 3.1. Extração de compostos fenólicos e flavonoides

202 A extração de cada fruta foi realizada pesando-se 10 g de amostra, extraíndo-se
203 em ultra-turrax com acetona 80% por 5 minutos e repetindo-se o processo por mais duas
204 vezes, filtrando em funil de buchner, misturando-se os filtrados em balão e
205 concentrando no rotaevaporador, após a evaporação do solvente, conforme o
206 fluxograma 1, segundo Shin et al (2008) ³² com algumas modificações. No método de
207 Shin et al (2008) o tempo consistia de um tempo de três minutos, sem repetições.

208 Foram realizados testes preliminares para escolher o melhor sistema solvente para
209 extração de compostos fenólicos e flavonoides comparando-se acetona 80% e metanol
210 80% (tabela 2), com a mesma metodologia utilizada para os extratos analisados: Shin et
211 al (2008) com algumas modificações. O morango foi escolhido por se tratar de uma
212 pequena fruta com alto volume de consumo mundialmente, cerca de 1.739.970 ton/ano
213 ³³.

214

215

216

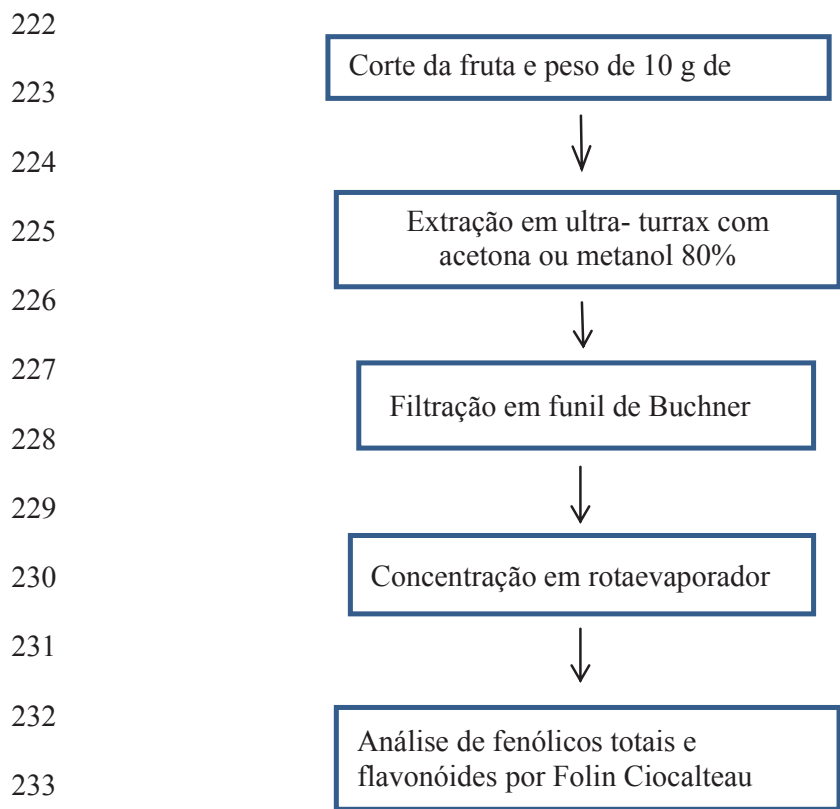
217

218

219

220

221 **Fluxograma 1.** Extração de compostos fenólicos e flavonoides



235 **Determinação de compostos fenólicos**

236 O teor de compostos fenólicos totais foi determinado através da metodologia de
237 Singleton et al (1999)³⁴, através do reagente de Folin & Ciocalteu. A quantificação foi
238 realizada com base em curva de calibração de ácido gálico, sendo os resultados
239 expressos em mg equivalente de ácido gálico (GAE)/100 g amostra (base úmida). A
240 leitura dos resultados foi através do leitor de microplacas Synergy Mx Monochromator-
241 Based Multi-Mode Microplate Reader.

242 **Determinação de flavonoides totais**

243 O conteúdo de flavonoides no extrato da fruta foi determinado, segundo Zhishen
244 et al. (1999)³⁵, por meio de reação com AlCl_3 22,5 mmol/L (concentração final) na

245 presença de NaNO_2 21,7 mmol/L (concentração final), seguido de leitura da
246 absorbância em 510 nm. A quantificação foi realizada utilizando curva de calibração de
247 catequina (5,0-20,0 mg/L), sendo os resultados expressos em mg equivalente de
248 catequina (CE)/100 g amostra. A análise dos compostos foi através do equipamento
249 com leitura de microplacas Synergy Mx Monochromator-Based Multi-Mode Microplate
250 Reader. Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram
251 verificados por análise de variância (ANOVA). Foram considerados significativos
252 quando $p < 0,05$, com o uso do software Statsoft 9.0.

253 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

254 A tabela 1 apresenta algumas características dos frutos de cambuci, que
255 apresentou elevado rendimento em polpa, no entanto o tamanho dos frutos foi inferior
256 ao encontrado por Vallilo et al (2005)³⁶, que foi de 55,81 g. Silva et al (2012)¹⁶
257 verificaram variações no peso do fruto de $22,84 \pm 5,85$ a $47,56 \pm 2,59$, o que não foi
258 verificado neste estudo, cujos frutos não apresentaram variações significativas.

259 O teor de sólidos solúveis é utilizado como uma medida indireta do teor de
260 açúcares, uma vez que aumenta de valor à medida que esses teores vão se acumulando
261 na fruta. Os teores são muito variados com espécies, cultivares, estágios de maturação e
262 clima, situando-se entre 2% e 25%, com valores médios entre 8% e 14%¹⁸. O cambuci
263 situou-se dentro dos valores médios (8,4), conforme a tabela 1. O resultado encontrado
264 neste estudo foi levemente inferior ao encontrado por Silva et al (2012)¹⁶, que variou de
265 8,68 a 13,06.

266

267

268

269

270

271 **TABELA 1-** Características dos frutos de cambuci

Análises	Média	Desvio padrão	CV%
Rendimento casca/polpa (%)	80,83	$\pm 3,40$	4,2
Sólidos solúveis (°Brix)	8,4	$\pm 0,1$	1,3
Peso fruta (g)	43,18	$\pm 10,83$	26,0
Tamanho fruta (cm)	4,98	$\pm 0,47$	9,4

272

273 A obtenção da geleia pode afetar o conteúdo de alguns compostos presentes na
 274 fruta. Neste estudo, observou-se um aumento do teor de vitamina C na geleia de
 275 cambuci, comparando-se com a polpa e com a casca da fruta (Tabela 2), possivelmente
 276 devido ao fato de que o processo de aquecimento leve a desidratação e com isso,
 277 observa-se um aumento da concentração dos compostos quando relacionada a um
 278 determinado volume de amostra. A geleia de cambuci apresentou um teor de vitamina C
 279 mais que o dobro do que sua casca ou polpa e levemente superior a somatória de ambas.
 280 Para o consumo humano, o Ministério da Saúde recomenda a ingestão diária de 60 mg
 281 de vitamina C para adultos, embora a Vigilância Sanitária recomenda-se um teor de
 282 45mg como IDR. A gabioba apesar de ser do mesmo gênero que o cambuci, apresenta
 283 um teor de ácido ascórbico superior no estudo de Vallilo (2006) ³⁷. Porém o teor de
 284 vitamina C da polpa, da casca e da geleia de cambuci são considerado razoáveis se

comparados à ingestão média diária recomendada de 60mg do Ministério da Saúde ou de 45mg da Vigilância Sanitária.

TABELA 2 – Características da polpa, casca e geleia de cambuci

Amostra	Vitamina C (mg ácido ascórbico por 100g)	Acidez (g de ácido cítrico por 100g)	Açúcares redutores (%)	pH
Polpa	14,76±1,91 ^b	2,26±0,19 ^b	4,37±0,53 ^c	2,61±0,07 ^a
Casca	13,04±1,18 ^b	4,10±0,35 ^a	12,96±0,00 ^b	2,65±0,01 ^a
Geleia	34,21±1,86 ^a	1,13±0,05 ^c	32,56±5,18 ^a	2,79±0,01 ^a

Médias seguidas de letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferenças significativas ao nível de 5% (tukey HSD $p < 0,05$).

Em outro estudo, a geleia de laranja apresentou redução de 24,86% no teor de ácido ascórbico em relação aos teores de ácido ascórbico em bolos e pudins³⁸. O conteúdo de vitamina C da polpa de goiaba diminuiu de 67,86 para 10,07 em 18 semanas de armazenamento³⁹. Os teores de vitamina C de frutas cítricas podem variar de 21,47 a 84,03 mg ácido ascórbico.100 mL e esse teor nos alimentos é variável de acordo com a região de cultivo, clima, época de colheita, mesmo sendo a mesma

295 variedade⁴⁰. Na geleia de cambuci, a acidez encontrada foi significativamente menor
296 que a polpa e casca, mesmo com a adição de ácido cítrico no processamento,
297 possivelmente pelo processo de combinação dos ácidos com açúcar e pectina na
298 formação do gel.

299 A acidez titulável de frutas cítricas pode apresentar variações de 0,23 a 1,48g de
300 ácido cítrico.100g⁻¹⁴⁰. Mas os teores de acidez, em geral, não excedem 1,5 a 2,0%, com
301 raras exceções, como em limão e espinafre⁴¹. A polpa e a casca do cambuci deste
302 estudo tiveram teores maiores de acidez que o encontrado por Couto & Caniatti-Brazaca
303⁴⁰ em frutas cítricas. Neste estudo, a acidez da casca foi maior que a da polpa,
304 diferentemente do que ocorre com as frutas cítricas. Em bananas, os ácidos são mais
305 abundantes na casca. Pelas evidências, verifica-se que os ácidos orgânicos são
306 translocados, em parte, das folhas ou raízes para as frutas⁴¹.

307 Neste estudo a acidez da geleia excedeu um pouco o valor indicado de 0,8%,
308 possivelmente devido a elevada acidez da própria polpa. Através da tabela 2, verifica-se
309 que a geleia obtida apresenta um valor inferior ao máximo de pH recomendado.
310 Sugere-se um pH máximo de 3,4, sendo que abaixo de 3,0 ocorre uma tendência à
311 sinérese, o que poderia ocorrer com a geleia de cambuci analisada, mas não foi
312 observado. O intervalo de pH ideal para a formação do gel depende do teor de sólidos
313 solúveis presentes na geleia podendo variar entre 60 e 64 %¹⁶.

314 O conteúdo de açúcares redutores da casca foi superior ao da polpa com
315 diferenças significativas, porém inferior ao da geleia, a qual possui adição de sacarose
316 na sua formulação, durante a cocção.

317 A polpa do cambuci apresentou um alto teor de umidade 88,12 g de água.100 g⁻¹
318 de polpa (Tabela 3), diferindo significativamente da geleia, provavelmente pelo
319 processo de cocção e desidratação durante a formulação da geleia. Vallilo et al (2005)³⁶

determinaram características da polpa de cambuci, as quais resultaram valores baixos de proteína (0,44%), o teor de carboidratos totais foi de 5,00%, de lipídios 1,53% e valores razoáveis de ácido ascórbico de 33,37 mg.100 g⁻¹.

323

TABELA 3 – Características físico-químicas de polpa, casca e geleia de Cambuci (g%)

Amostra	Umidade	Lipídios	Cinzas	Proteínas	Carboidratos
Polpa	88,12±0,07 ^a	0,21±0,05 ^c	0,15±0,00 ^b	ND	11,52±0,01 ^c
Casca	67,17±0,12 ^b	0,72±0,10 ^a	0,44±0,01 ^a	ND	31,67±0,01 ^b
Geleia	23,86±0,09 ^c	0,51±0,03 ^b	0,15±0,01 ^b	ND	75,48±0,01 ^a

— Médias seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas ao nível de 5%

325

Os teores de lipídios na polpa de cambuci encontrados por Vallilo et al (2005)³⁶ foram bem maiores que os encontrados neste estudo, sendo que a proporção lipídica de frutas, em geral, é muito baixa, da ordem de 0,1-0,5% do peso fresco²⁹. Ao somar casca e polpa de Cambuci neste estudo resulta-se 0,93 %, quase o dobro, já no estudo de Vallilo et al (2005)³⁶ teremos o triplo do teor proposto por Belitz (1988)⁴², respectivamente.

Além disso, o teor de lipídios e de cinzas foi mais elevado para casca de cambuci, do que suas respectivas polpa e geleia, com diferenças significativas a nível de 5%. O teor de cinzas ou de minerais de polpa e geleia foi o mesmo, demonstrando que os minerais da fruta, mesmo que em pequena proporção continuam presentes na geleia, sem perdas. Para alguns pesquisadores frutas não podem ser consideradas fontes de

minerais ⁴³. Contudo, em termos da definição da USFDA (1993) que considera que uma porção de fruta poderia proporcionar 10-20% do valor diário destes nutrientes, frutas podem ser consideradas boas fontes ⁴⁴. A composição de carboidratos da polpa de cambuci se mostrou semelhante à espécie do mesmo gênero *C. adamantium* (gabirola) (11,6%), encontrada em regiões típicas do cerrado, determinado por Vallilo et al (2006) ³⁷, porém teores menores de outros nutrientes, tais como proteínas (1,6%) e, principalmente, ácido ascórbico (234 mg.100 g⁻¹). O teor de carboidratos, no entanto foi bem maior do que o encontrado por Vallilo et al (2005) ³⁶. Casca e geleia também apresentaram valores elevados de carboidratos, diferindo-se significativamente entre si e com a polpa.

A comparação entre o teor de compostos fenólicos dos diferentes sistemas solventes está apresentada na tabela 4. O sistema solvente com acetona (8:2) demonstrou-se melhor que o sistema com metanol (8:2), pois extraiu uma maior quantidade de compostos fenólicos.

TABELA 4. Sistemas solventes testados nos extratos de morango

Extrato de morango	Fenólicos totais (mg GAE/g)	
Acetona:água (8:2)	1,32±0,09 ^a	353
Metanol:água (8:2)	1,09±0,31 ^b	354
		355

Os resultados do teor de compostos fenólicos e flavonoides dos extratos em acetona 80% do cambuci, maná-cubiu e jambo vermelho podem ser visualizados na tabela 5. O extrato de cambuci apresentou resultados superiores e com diferenças significativas do maná-cubiu e do jambo vermelho, que entre si também diferiram significativamente (5% de significância), tanto para fenólicos quanto para flavonoides. Barreto (2008)⁴⁵ encontrou 76 mg EAG/100 g para compostos fenólicos e 54,4

CE/100g (flavonóides) em maná-cubiu, com teores próximos ao encontrados neste estudo. Os teores de compostos fenólicos encontrados em maná-cubiu foram 0,96 mg GA/g (96mg/100g) (Lizcano et al 2010)⁴⁶ levemente superior ao encontrado neste estudo (82,14 mg/100g), no entanto o de flavonoides foi bem acima 0,07 mg/g (7 mg C/100g).

367

368 **TABELA 5.** Compostos fenólicos e flavonoides dos extratos das frutas

Extrato	Fenólicos totais (mg GAE/100 g)*	Flavonoides (mg CE/100 g)*
Jambo vermelho	31,69 ± 0,98 ^c	10,83 ± 0,51 ^c
Maná-cubiu	82,14± 1,98 ^b	62,03 ± 1,51 ^b
Cambuci	230,12 ± 10,50 ^a	72,07±1,84 ^a

Médias seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas ao nível de 5%

*GAE = Equivalentes de ácido gálico *CE = Equivalentes de catequina

369

Os teores encontrados para jambo-vermelho são considerados baixos se os comparados ao teor de compostos fenólicos totais encontrados nas cultivares de mirtilo (*Vaccinium sp*), cujos teores foram de 343,32 - 688,20 mg. 100 g⁻¹ (Souza, 2009)⁴⁷ e considerando e a casca da fruta é vermelha e com isso apresenta um conteúdo antociânico. Estes resultados podem expressar fontes antioxidantes em frutas brasileiras, pois muitos autores sugerem uma correlação positiva entre o teor de compostos fenólicos e flavonoides e a capacidade antioxidante em extratos de frutas.

377 No entanto, frutas com baixos teores também podem ser boas fontes, pois alguns
378 compostos fenólicos ou flavonoides, mesmo estando em pequena quantidade podem
379 apresentar potenciais antioxidantes elevados.

380

381 **CONCLUSÃO**

382 A fruta cambuci apresentou elevado rendimento em polpa, teor de sólidos
383 solúveis dentro dos valores médios encontrados para frutas, em geral. Polpa, casca e
384 geleia apresentaram valores razoáveis de vitamina C (14,76; 13,04 e 34,21 (mg ácido
385 ascórbico.100g⁻¹, respectivamente). A casca do cambuci apresentou-se como uma parte
386 da fruta que pode ser utilizada, por apresentar bons teores de lipídios, minerais e
387 açúcares redutores (0,72g%; 0,44 g% e 12,96% respectivamente), em boas quantidades
388 e até superiores ao encontrado na própria polpa, além de valores razoáveis de vitamina
389 C. A geleia apresentou-se como uma forma de preservação de alguns nutrientes da fruta
390 por mais tempo, em especial a vitamina C.

391 O sistema-solvente com proporção acetona 80% foi o que melhor extraiu os
392 compostos fenólicos e flavonoides, sendo o escolhido neste estudo. Cambuci, jambo
393 vermelho e maná-cubiu apresentaram grandes variações quanto aos teores de compostos
394 fenólicos e flavonoides extraídos com o mesmo sistema-solvente, confirmando a
395 influência das condições climáticas, edáficas e dos biomas no teor de compostos
396 fenólicos e flavonoides.

397

398

399

400

401

402

403

404 **BIBLIOGRAFIA**

405

406 1. Chen C-C, Liu L-K, Hsu JD, Huang, HP, Yang M.Y, Wang, C.J. Mulberry extract
407 inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. Food Chemistry
408 2005, 91, 601-607.

409

410 2. Middleton E.J.; Kandaswami C.; Theoharides C.T. The effects of plants flavonoids
411 on mammalian cells: implication for inflammation, heart disease and cancer.
412 Pharmacol.Rev. 2000, 52: 673-751.

413

414 3. Zhang, Y.; Vareed, S.K.; Nair, M.G. Human tumor cell growth inhibition by
415 nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables, Life Sciences 2005, 76,
416 1465- 1472, 2005.

417

418 4. WHO. World Health Organization. Obesity and overweight. Disponível em :
419 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> . Acesso em julho de 2013.

420

421 5. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério da Saúde. Ministério
422 do Planejamento, Orçamento e Gestão. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008 –
423 2009: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil.
424 Rio de Janeiro: IBGE, 2010.

425

426 6. Pêgo-Fernandes PM, Bibas BJ, Deboni M. Obesity: the greatest epidemic of the 21st
427 century. Sao Paulo Med J. 2011; 129 (5):283-4.

428

- 429 7. Gonçalves, A.E.S.S., Lajolo, F.M., Genovese, M.I. Chemical composition and
430 antioxidant/antidiabetic potential of Brazilian native fruits and commercial frozen pulps
431 J. Food Agric. Food. Chem. 2010, 58, 4666-4674.
432
- 433 8. Gonçalves A.E.S.S. Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas
434 nativas e determinação dos teores de flavonoides e de vitamina C. Dissertação de
435 mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2008.
436
- 437 9. Silva Filho, D. F. Cocona. 1998. (*Solanum sessiflorum* Dunal): cultivo y utilizacion.
438 2. ed. Caracas: Secretaria Pro-Tempore, v. 1, 114 p.
439
- 440 10. Rodrigues, E.; Mariutti, L.R.B, Mercadante, A.Z. Carotenoids and phenolic
441 compounds from *Solanum sessiflorum* an unexploited Amazonian fruit, and their
442 scavenging capacity against reactive oxygen and nitrogen species. 2013. *J. Agr. Food*
443 *Chem.*, 61(12):3022-9.
444
- 445 11. Hernandez, Livia Cristina. *Avaliação da citotoxicidade, genotoxicidade,*
446 *antigenotoxicidade e expressão dos genes inos e COX-2 em ratos tratados com polpa do*
447 *fruto de Solanum Sessiliflorum Dunal*. Dissertação de mestrado, USP, Ribeirão Preto
448
- 449 12. Donadio, L.C.; Nachtigal, J.C.; Sacramento, C.K. Frutas exóticas. Jaboticabal:
450 Funep, 1998. 279p.
451
- 452 13. Augusta I. M., Resende J. M., Borges S.V., Maia M. C.A., Couto M. A.P. G.
453 Caracterização física e química da casca e polpa de jambo vermelho (*Syzygium*

454 *malaccensis*, (L.) Merryl & Perry). 2010. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas*, 30(4):
 455 928-932 out.-dez. 2010.

456

457 14. Beltrão Filho, E. M; Silva, M. L. P. Processamento de doce em massa de banana
 458 (*Musa sp*) - cultivar nanicão. In: Jornada Nacional da Agroindústria 2006, Bananeiras.
 459 Anais. Bananeiras: UFPB, 2006. 6 p.

460

461 15. Morelli L.L. Avaliação de compostos fenólicos em geléia de uva produzida com a
 462 variedade IAC-138-22 (máximo). Campinas, 2011. Dissertação (mestrado em Ciência
 463 de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP.

464

465 16. Silva I. G., Correia A.F.K, Bigaran J.T, Baptista C.P, Carmo L.F.C., Spoto M.H.F.
 466 Estudo de Caracterização do fruto Cambuci [*Campomanesia phaea* (O. Berg.)
 467 Landrum] e sua aplicação no processamento de geleia. B.CEPPA, Curitiba, v. 30, n. 1,
 468 p. 83-90, jan./jun. 2012.

469

470 17. Lapornik, B.; Prosek, M.; Wondra, A.G. 2005. Comparisons of extracts prepared
 471 from plant by-products using different solvents and extraction time *J. Food Eng.*,
 472 London, 71:214- 222.

473

474 18. Yilmaz, Y. & Toledo, R. T. 2006. Oxygen radical absorbance capacities of
 475 grape/wine industry by products and effect of solvent type on extraction of grape seed
 476 polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 41–44.

477

- 478 19. Pinelo, M., Del Fabbro, P., Marzocco, L., Nunez, M. J., & Vicoli, M. C. 2005.
479 Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* byproducts. *Food*
480 *Chemistry*, 92: 109–117.
- 481
- 482 20. Naczek M., Shahidi F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence,
483 extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1523–
484 1542.
- 485 21. Gobbo-Neto L, Lopes NP. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no
486 conteúdo de metabólitos secundários. *Quim Nova*, 30: 374-381.
- 487 , 2013. 96p.
- 488 22. Dicke M, Hilker M.c. 2003. Induced plant defences: from molecular biology to
489 evolutionary ecology. *Basic Appl Ecol*, 4: 3-14.
- 490
- 491 23. Chu Y., Sun J., Wu X., Liu R. Antioxidant and antiproliferative activities of
492 common vegetables. 2002. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (23): 6910–
493 9616.
- 494 24. Yang J., Liu R.H., Halim L. 2009. Antioxidant and antiproliferative activities of
495 common edible nut seeds. *LWT - Food Science and Technology*, 42:1-8.
- 496
- 497 25. Yang B., Liu X., Gao Y. 2009. Extraction optimization of bioactive compounds
498 (crocin, geniposide and total phenolic compounds) from *Gardenia* (*Gardenia*
499 *jasminoides* Ellis) fruits with response surface methodology. *Innovative Food Science &*
500 *Emerging Technologies*, 10: 610–615.
- 501

- 502 26. Karacabey E., Mazza G. Optimisation of antioxidant activity of grape cane extracts
503 using response surface methodology. 2010. *Food Chemistry*, 119, 1343–1348.
504
- 505 27. Yang J. Martinson T. E., Liu R.H. 2009. Phytochemical profiles and antioxidant
506 activities of wine grapes. *Food Chemistry*, v. 116, 332–339.
507
- 508 28. Okarter N., Liu C-S, Sorrells M.E., Liu R.H. 2010. Phytochemical content and
509 antioxidant activity of six diverse varieties of whole wheat. *Food Chemistry*, 249-257.
- 510 29. AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official of methods of analysis
511 of association of the official analysis chemists. 16 th ed. Arlington, 1995.
512
- 513 30. Lane, J. H.; Eynon, L. Determination of reducing sugars by Fehling's solution with
514 methylene blue indicator, Normam Rodge, London, 8p., 1934
515
- 516 31. Lopes, R.L.T. Dossie Técnico: Fabricação de geleias. Fundação Centro Tecnológico
517 de Minas Gerais – CETEC, maio, 2007.
- 518 32. Shin, Y., Ryu, J., Liu, R., Nock, R. J & Watkins C. 2008. Harvest maturity, storage
519 temperature and relative humidity affect fruit quality, antioxidant contents and activity,
520 and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit. *Postharvest Biology and*
521 *Technology*, 49, 201–209.
522
- 523 33. AGRIANUAL 2008. Morango. In: Anuário da Agricultura Brasileira (Ed.). 13. ed.
524 São Paulo: FNP Consultoria e AgroInformativos, 2008. p. 419.
525

- 526 34. Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R.M. 1999. *Methods Enzimol.*,
527 299: 152-178.
- 528 35. Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. 1999. The determination of flavonoid
529 contents in mulberry and the scavenging effects on superoxide radicals. *Food*
530 *Chemistry*, 64: 555-559.
- 531
- 532 36. Vallilo, M. I., Garbelotti, M. L. Oliveira E. de & Lamardo, L.D.A.2005.
533 Características físicas e químicas dos frutos de cambucizeiro (*Campomanesia phaea*).
534 *Revista Brasileira de Fruticultura*, 27, 241-244. 2005
- 535
- 536 37. Vallilo M. I, Lamardo L.C.A., Gaberlotti M. L. de Oliveira E., Moreno P. R. H.
537 Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O.Berg.
538 Ciênc. Tecnol. Alimentos. 2006, 26, nº.4.
- 539
- 540 38. Silva, P.T., Lopes, M.L.M.; Valente-Mesquita, V.L. Efeito de diferentes
541 processamentos sobre o teor de ácido ascórbico em suco de laranja utilizado na
542 elaboração de bolo, pudim e geléia. Cien. Tecnol. Alimentos, 2006, 26, 678-682, 2006.
- 543
- 544 39. Brunini M. A., Oliveira A.L., Varanda D.B, Avaliação da qualidade de polpa de
545 goiaba Paluma armazenada a -20°C. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal – SP 2003, v. 25, n.
546 3, p. 394-396.
- 547 40. Couto, M. A. L.; Caniatti-Brazaca, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade
548 antioxidante de variedades cítricas. Ciênc. Tecnol. de Alimentos, 2010, Campinas,
549 V.30, n.1, p. 15-19.
- 550

- 551 41. Chitarra, M.I.F.; Chitarra, A.B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e
552 manuseio. 2ª ed. rev. e ampl. Lavras: Ed. UFLA, 2005. 783 p.
553
- 554 42. Belitz, H. D., Grosch W. Química de los Alimentos. Zaragoza, Espanha: Ed.
555 Acribia S. A.,1988. 813p.
556
- 557 43. Fairweather-tait, S., Hurrell, R.F. Bioavailability of minerals and trace elements.
558 *Nutrit. Res. Rev.* 1996, 9, 295-324.
559
- 560 44. Miller-Ilhi, N.J. Atomic absorption and atomic emission spectrometry for the
561 determination of the trace element content of the select fruits consumed in the United
562 States. *J. Comp. Anal.*, 9, 301-311, 1996.
563
- 564 45. Barreto G.P. Carotenóides e compostos bioativos: relação com propriedades anti -
565 radical livre e corante em frutas tropicais. Barreto, GPM, 2008. Tese de doutorado,
566 UNICAMP/FEA/DCA.
567
- 568 46. Lizcano L.L., Bakkali, M.F. Ruiz-Larrea B., Ruiz-Sanz J. I. Antioxidant activity
569 and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with
570 medicinal use. *Food Chemistry*, 119, 4, 1566-1570, 2010.
571
- 572 47. Souza G.Z. Avaliação do teor de antocianinas e potencial antioxidante dos frutos de
573 mirtilo (*Vaccinium* sp.): um estudo com cultivares da região oeste de Santa Catarina.
574 Dissertação de mestrado. Unochapecó, Santa Catarina, 2009.
575

CAPÍTULO 4: ARTIGO CIENTÍFICO

**Perfil de compostos fenólicos dos extratos e polpa da casca de Cambuci
(*Campomanesia phaea* O. Berg.) e de geleias de frutas**

Artigo a ser enviado para Revista

1 Perfil de compostos fenólicos dos extratos da polpa e da casca de cambuci
2 (Campomanesia phaea O. Berg.) e de geleias de frutas

3

4 Profile of phenolic compounds of extract from pulp and skin of cambuci
5 (Campomanesia phaea O. Berg.) and of fruits jam

6

7 Milena Bagetti ^{I*}, Marcelo Alexandre Prado ^{II}

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19 ^I Aluna de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da
20 Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas
21 (UNICAMP), CEP 13083-862, Campinas, SP, Brasil, milena.bagetti@gmail.com

^{II} Prof^o.Dr, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de
Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), CEP
13083-862, Campinas, SP, Brasil, mprado@fea.unicamp.br

RESUMO

Apesar das limitações dos estudos existentes em humanos que comprovem o potencial preventivo dos compostos fenólicos e flavonoides frente a desordens crônicas, estes têm sido identificados em vários extratos de frutas e de geleias. Este trabalho teve por objetivo identificar os compostos fenólicos presentes na polpa e na casca de cambuci e em geleias (cambuci e morango) por cromatografia líquida de alta eficiência. Na polpa de cambuci, verificou-se o ácido vanílico e kaempferol, na casca: ácido elágico ácido p-coumárico, kaempferol. Na geleia de cambuci encontrou-se ácido elágico e kaempferol. Estes dados da fruta e da geleia de Cambuci podem reduzir as limitações de estudos sobre ações benéficas dos compostos fenólicos *in vivo*, quando associados a mais estudos sobre os extratos de frutas e geleias.

Termos para indexação: cambuci, geleia, compostos fenólicos

ABSTRACT

Despite existing limitations on studies in humans that proves the preventive potential of phenolic compounds and flavonoids front the chronic disorders, these have been identified in various fruit extracts and jam. This work has the objective of identify the phenol compounds presents in pulp and skin of cambuci and jam for high chromatography liquid of high efficiency. The following phenolic compounds were obtained from cambuci: cambuci pulp: vanillic acid; skin: elagic acid, p-coumárico acid and kaempferol. Cambuci jam presented ellagic acid and kaempferol. The jam cambuci may be indicate for a better use of a fruit in extinction. These dates of fruit and jam cambuci can reduce the limitations of the studies on the beneficial actions of phenolic compounds *in vivo*, when associated with most studies of extracts of fruits and jam.

Index terms: cambuci, jam, phenolic compounds

INTRODUÇÃO

Ensaio em humanos forneceram evidências de efeitos protetores de vários alimentos ricos em compostos fenólicos contra desordens crônicas, incluindo doenças cardiovasculares, neurodegeneração e câncer (figura 1) (DEL RIO et al, 2013; AGGARWAL BB & SUNG B, 2011). Este efeito é atribuído, por hipótese, à capacidade destes compostos de atenuarem reações oxidativas e/ou nitrosativas que são induzidas por espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS). Além destes, há estudos epidemiológicos que evidenciaram ação protetora de compostos fenólicos sobre doenças crônicas (KURODA & HARA, 1999; MACKAY & BLUMBERG, 2002).

Existem dados que sugerem benefícios de ingestão de compostos fenólicos presentes em frutas e vegetais, mas conclusões definitivas relativas ao seu potencial preventivo permanecem obscuras devido a várias limitações nos estudos existentes em humanos. Estes estudos não evidenciam, por exemplo, o teor de compostos fenólicos e a análise da composição do alimento ou bebida, criando problemas significativos ao comparar os diferentes estudos com o mesmo alimento ou bebida (DEL RIO, 2013).

No entanto, apesar das limitações dos estudos existentes que comprovem seu potencial preventivo, os compostos fenólicos e flavonoides têm sido quantificados e identificados em vários extratos de frutas. Em morangos, fruta da família Myrtaceae vários compostos já foram encontrados: quercetina, kaempferol, (+)-catequina e (-)-epicatequina (CORDENUNSI et al., 2002).

O conteúdo de fenólicos decresce do estágio mais jovem para o mais maduro no fruto de Cambuci (*Campomanesia phaea Berg*) (SANCHES, 2013) e os compostos fenólicos e flavonoides de algumas frutas podem não estar presentes nas suas respectivas geleias. Em um método de cromatografia líquida de alta eficiência

92 desenvolvido (CLAE) foi possível identificar e quantificar sete flavonóides em geleia de
93 morango com acerola: (+)-catequina, (-)-epicatequina, rutina, narirutina, miricetina,
94 quercetina e kaempferol (OLIVEIRA, 2011).

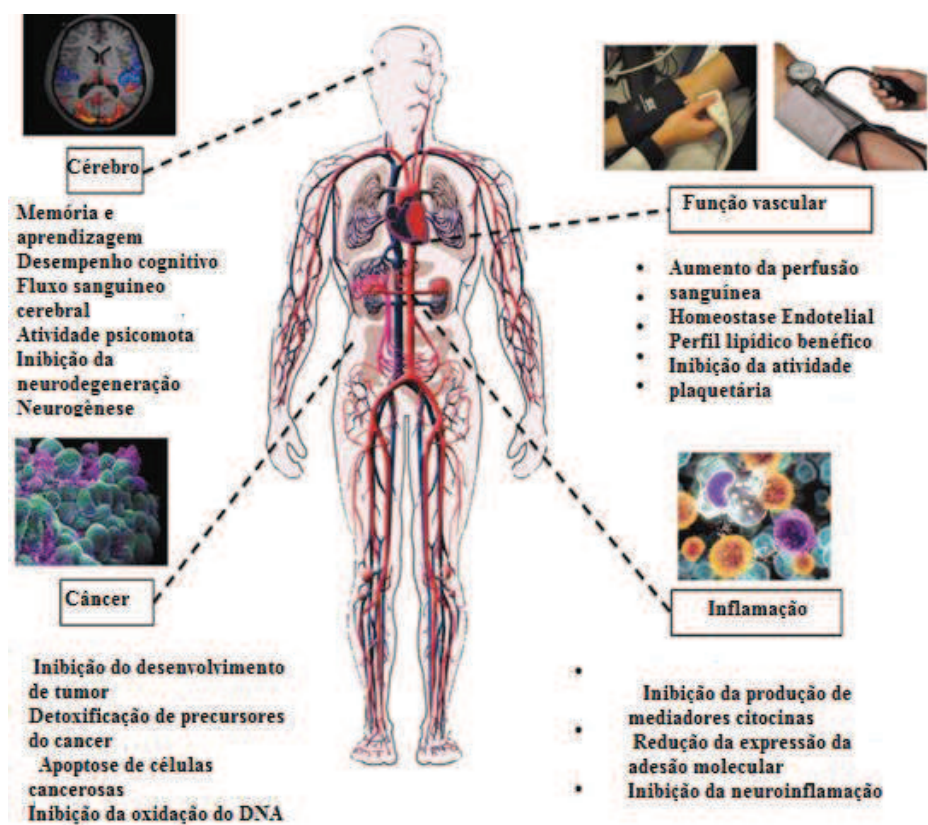
95 Entre os compostos fenólicos pesquisados neste estudo está o ácido elágico, um
96 bifenol pertencente ao grupo dos taninos hidrolisáveis (elagitaninos), molécula planar
97 que possui 4 grupos hidroxila e dois grupos lactona (Barch et al, 1996), este ácido
98 fenólico possui efeito anticarcinogênico e antimutagênico contra uma variedade de
99 carcinógenos, incluindo nitrosaminas, micotoxinas e hidrocarbonetos aromáticos
100 policíclicos (Szaefer et al, 2003).

101 Este trabalho teve por objetivo identificar os compostos fenólicos e flavonoides
102 existentes na polpa, na casca de cambuci (*Campomaneisa phaea Berg*) e em geleias por
103 cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

104

105

106



107

108 **Figura 1:** Ações promotoras de saúde dos compostos fenólicos e flavonoides (Adaptada

109 de Del Rio et al (2013)).

110

111

112

113

114

115

116

117

118

119

120 MATERIAL E MÉTODOS

121

122 **Material:** As amostras de fruto de *C. phaea* foram coletadas em Rio Grande da
123 Serra, interior de São Paulo, na região que compreende a região da Mata Atlântica e
124 foram disponibilizadas pela Cooper Cambucy da Serra, cooperativa de produtores.
125 Frutos inteiros de *C. phaea*, correspondendo um total de 20 Kg, provenientes de cinco
126 plantas produtivas, recebendo parcialmente a luz solar, foram coletados em março de
127 2012, higienizados com água, acondicionados em sacos de polietileno e guardados sob
128 congelamento à temperatura de $-37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, por aproximadamente uma semana, para
129 posterior análise no laboratório. As cascas foram retiradas e as polpas foram trituradas
130 em multiprocessador.

131 As geleias de cambuci também foram provenientes da Cooper Cambucy da
132 Serra, sendo estas preparadas com frutas de uma mesma safra/frutada da amostra de
133 fruta de cambuci (2011). Para o processamento da geleia de cambuci as etapas foram as
134 seguintes: recepção da fruta, seleção, limpeza e lavagem, corte e desintegração, adição
135 de sacarose, concentração em tacho, adição de ácido, aquecimento até 85°C , envase e
136 fechamento, esterilização, resfriamento, limpeza, secagem, rotulagem e armazenamento,
137 as amostras foram então armazenadas a temperatura de $-37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior
138 extração e análise no laboratório. A geleia de morango foi adquirida em comércio local
139 da cidade de Campinas-SP, armazenadas $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior extração e análise.

140

141 **Padrões e Reagentes:** Os solventes: etanol e acetonitrila, todos com grau
142 cromatográfico foram adquiridos da marca J.T.Baker ®. O ácido orto-fosfórico foi
143 utilizado da marca MERCK®. Os padrões cromatográficos: ácido gálico, catequina,
144 epicatequina, ácido vanílico, rutina, ácido elágico, ácido p-coumárico, ácido ferrúlico,

145 kaempferol, resveratrol e quercetina foram adquiridos da Sigma –Aldrich do Brasil®.
146 Foi utilizada água purificada pelo sistema Mili-Q e filtro de politetrafluoretileno 0,22
147 micrometros (Millipore®, Eua) para posterior injeção.

148

149 **Métodos**

150

151 **Extração de compostos fenólicos e flavonoides :** Uma amostra de 10g (fruta ou
152 geleia) foi adicionada em béquer em triplicata, adicionou-se etanol 80%, condições de
153 extração determinadas através de ensaios anteriormente realizados. Após a extração, os
154 extratos foram filtrados em papel-filtro Wathman® 1 e o volume ajustado para 100 ml.
155 Para realização da hidrólise foi seguida a metodologia descrita por Toyoda et al (1997)
156 onde primeiramente: uma alíquota de 15 mL dos extratos metanólicos foram
157 adicionados de 13 mL de metanol grau HPLC (com 1 g.L de BHA) mais 12 ml de água
158 destilada a esta mistura e em seguida uma alíquota de 10 ml HCl 6M, obtendo-se assim
159 uma solução final resultante, de metanol aquoso 50% (v/v) e 1,2 mol.L de HCl. A
160 hidrólise foi realizada em banho sob-refluxo a 90 °C por 30 minutos. Após este período,
161 o extrato foi resfriado em banho de gelo e aferiu-se o volume com metanol em balão de
162 50 ml. Aproximadamente 3 ml do hidrolisado foi filtrado em filtro de
163 politetrafluoretileno 0,22 micrometros (Millipore, Eua) para posterior injeção em
164 HPLC.

165

166 **Equipamento e Condições Cromatográficas:** As análises foram realizadas por
167 cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em um equipamento marca Varian
168 1050 com injetor manual Hewlett Packard Series 1050, alça de amostragem de 20 µL e
169 bomba ternária, acoplado a um detector de arranjo de diodos (UV-vis) DAD Agilent

170 1100 G1315B. A coluna cromatográfica utilizada foi Eclipse XDB-C18; 5 μ m; 4,6 x
171 250mm, Marca Agilent e o software foi o ChemStation for LC 3D - Rev. A.10.02
172 [1757] - Copyright (R) Agilent Technologies 1990-2003. O método cromatográfico foi
173 baseado em Bravo et al (2006). A fase móvel A foi uma solução de ácido ortofosfórico
174 1% em água purificada em sistema Milli-Q e a fase móvel B de acetonitrila grau HPLC.

175 A fase móvel constituiu-se em ácido orto-fosfórico a 1% em água (A) e
176 acetonitrila (B). O gradiente de eluição iniciou-se com 95% de “A” em fluxo de 0,70
177 mL.min⁻¹. Essa condição foi mantida por 5 minutos. Entre 5 e 18 minutos a
178 concentração de “A” passou para 75%. Entre 18 e 25 minutos a concentração de A
179 passou para 60%. Entre 25 a 30 minutos a concentração de A retornou para 95%, houve
180 o aumento da porcentagem de “A” para 90% e essa condição foi mantida até 50
181 minutos. Os compostos foram identificados com base no tempo de retenção e no
182 espectro do comprimento de onda (λ) dos padrões em comparação com o espectro dos
183 compostos das amostras. .

184

185 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

186

187 No extrato da polpa de cambuci foram encontrados o ácido vanílico e kaempferol
188 e no extrato da casca: ácido elágico ácido p-coumárico e kaempferol. No extrato da
189 geleia de cambuci encontrou-se ácido elágico, kaempferol e na geleia de morango,
190 nenhum composto foi identificado (Tabela 1).

191

192

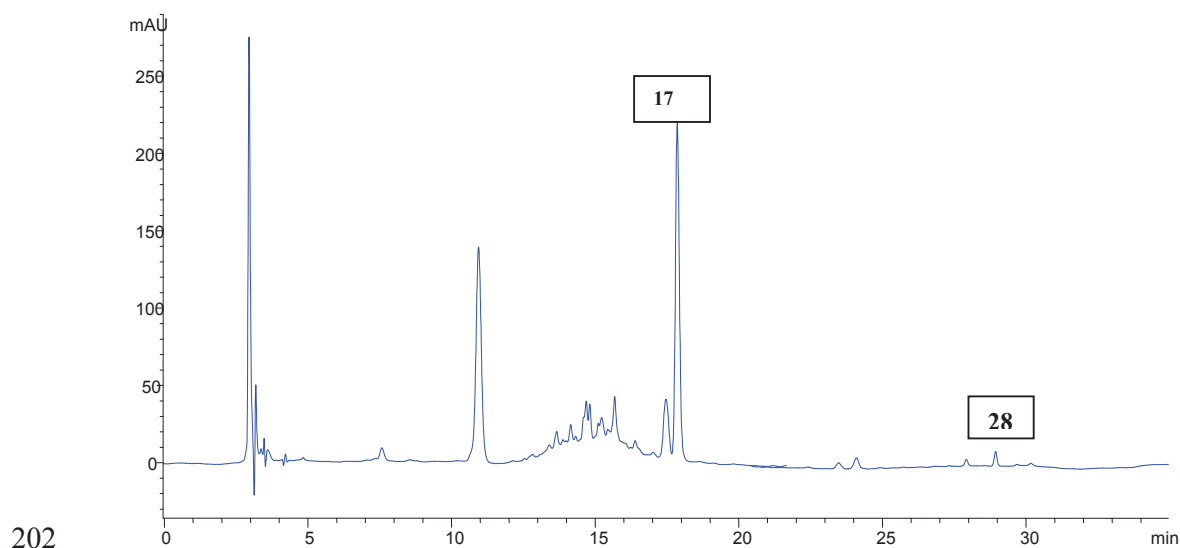
193

194 **TABELA 1:** Compostos fenólicos e flavonoides presentes nos extratos de polpa, casca
 195 e geleia de Cambuci e em extratos de geleia de morango.

Extratos	Compostos fenólicos e flavonóis
Polpa cambuci	ácido vanílico kaempferol
Casca cambuci	ácido elágico ácido p-coumárico e kaempferol
Geleia cambuci	ácido elágico, kaempferol
Geleia morango	—

196

197 Os compostos encontrados na polpa de cambuci diferiram de estudos anteriores
 198 (Gonçalves et al, 2010) e em relação as diferentes partes da fruta e a geleia de cambuci.
 199 Segundo Gonçalves et al, 2010, a polpa congelada de cambuci apresenta altos teores de
 200 derivados glicosilados de quercetina, considerada também uma rica fonte de ácido
 201 elágico, assim como camu-camu, araçá, umbu e cagaita.



202

Figura 2. Extrato da casca de Cambuci – 17: ácido elágico, 28: kaempferol

203

204

205

206

207

208

209

210

211

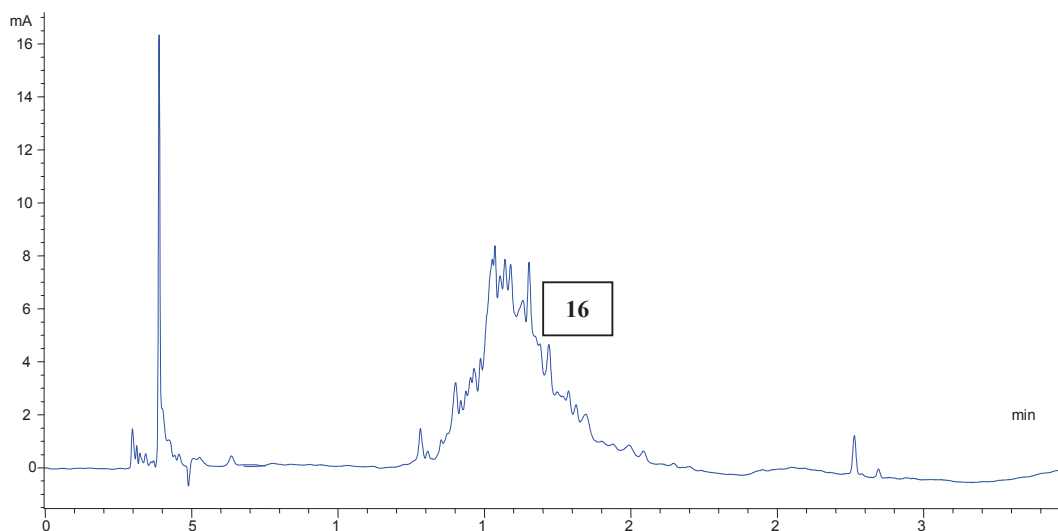
212

213

214

215

216



217

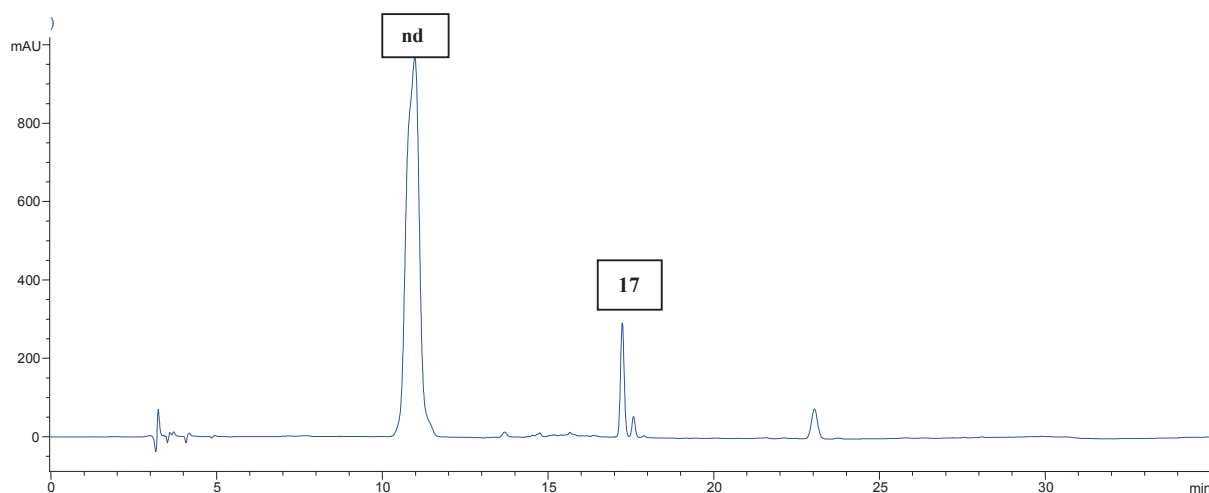
218 **Figura 3:** Extrato de polpa de Cambuci – 16: ácido vanílico

219

220 Nas geleias analisadas foram encontrados poucos compostos, diferentemente do
221 encontrando por Grando (2011) em geléia de morango com acerola. Isso pode ter
222 ocorrido porque durante a produção de geleias de frutas, diferentes operações, como
223 trituração, homogeneização, concentração até o nível de sólidos solúveis aceitáveis e
224 tratamentos de calor, como pasteurização, são realizados (Baker et al., 2005).
225 Degradações de compostos como flavonoides podem ocorrer nestas etapas e com isso
226 alguns compostos fenólicos e flavonoides não seriam detectados pela metodologia. O
227 calor, a maceração, a longa exposição ao oxigênio e reações enzimáticas causam perdas
228 nutricionais.

229

230



231

232 **Figura 4:** Extrato de geleia de Cambuci – 17: ácido elágico

233

234 A extração de forma exaustiva pode ter levado a oxidações destes, sabe-se que
235 algumas etapas do processamento da fruta também podem levar a perdas de
236 flavonoides, como corte, no despulpamento e o aquecimento. O emprego do ácido
237 cítrico que é considerado um aliado importante na conservação de frutas (Santos et al,
238 2012) inibe enzimas polifenoloxidase. Ao ser adicionado na formulação da geleia, esse
239 ingrediente poderia evitar a perda de compostos fenólicos que ocorre no processamento
240 e consequentemente uma possível não detecção destes.

241 Em outro estudo realizado com geleia de uva relacionado com o teor de
242 compostos fenólicos e capacidade antioxidante dos extratos, a metodologia de superfície
243 de resposta utilizada na extração se mostrou um excelente método para aumentar a
244 eficácia da extração com a otimização das variáveis do processo (concentração de etanol
245 a 60%, a temperatura de extração a 50 °C e o tempo de 20 minutos) (Morelli, 2011).
246 Estudos que utilizassem espectrometria de massas com detector de arranjo de diodos e
247 eletrospray poderiam ser mais eficientes no que diz respeito à identificação dos
248 compostos do que somente HPLC, mesmo este sendo uma técnica muito utilizada.

249 Em estudos realizados em 6 polpas congeladas e 16 frutas nativas brasileiras por
250 Gonçalves (2008), o ácido elágico foi detectado apenas em umbu, camu-camu, cagaita,
251 araçá e cambuci e o teor variou de 218 a 512 mg/100g de amostra seca e os flavonoides
252 de maior incidência foram quercetina e kaempferol. Neste estudo, encontrou-se alguns
253 compostos fenólicos nas diferentes partes da fruta cambuci e de sua geleia. Entre eles, o
254 ácido elágico, o qual possui atividade antimutagênica, anticarcinogênica e antioxidante
255 *in vivo e in vitro* (Takagi et al, 1995, Khanduja et al, 1999).

256 Há estudos da atividade anti-inflamatória do ácido elágico, através da inibição
257 da expressão de proteínas iNOS e RNAm, assim como outros sete compostos fenólicos:
258 flavona, as isoflavonas daidzeína e genisteína, o isorhamnetin e os flavonóis:
259 kaempferol, quercetina, naringenin, a flavanone: pelargonidina (Hämäläinen et al,
260 2007).

261 A atividade antioxidante de frutas e vegetais é principalmente correlacionada com
262 seus teores de compostos fenólicos e flavonoides, carotenoides e vitaminas C e E
263 (Benzie, 2003; Cadenas & Paker). Neste estudo foi detectada a presença de compostos
264 fenólicos, o que sugere atividade antioxidante.

265

266 CONCLUSÕES

267 A polpa e a casca do cambuci diferiram quanto aos tipos de compostos fenólicos
268 encontrados e dos estudos anteriores de cambuci . Neste estudo na polpa de cambuci,
269 encontrou-se ácido vanílico e o kaempferol, na casca: ácido elágico, ácido p-
270 coumárico, kaempferol. A geleia de cambuci pode ser indicada para um melhor
271 aproveitamento de uma fruta de baixa comercialização, pois os compostos estão
272 relacionados a atividades promotoras da saúde. Estes dados também podem auxiliar na

273 redução das limitações de estudos sobre ações benéficas dos compostos fenólicos *in*
274 *vivo*.
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297

298 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

299

300 AGGARWAL BB AND SUNG B. The relationship between in-flammation and cancer
301 is analogous to that between fuel and fire. **Oncology** 25: 414–418, 2011.

302

303 BARCH, D. H.; RUNDHAUGEN, L.M., STONER, G.D., PILLAY, N.S., ROSCHE,
304 W.A. Structure – function relationships of the dietary anticarcinogen ellagic acid.
305 **Carcinogenesis** 17 (2): 265-269, 1996.

306

307 BERK, Z. Braverman’s introduction to the biochemistry of foods. Elsevier: Amsterdam,
308 1976.

309 BRAVO, M.N.; SILVA, S.; COELHO, A.V.; VILAS BOAS, L. & BRONZE, M.R.
310 Analysis of phenolic compounds in Muscatel wines produced in Portugal. **Analytica**
311 **Chimica Acta**, 563, 84-92, 2006.

312

313 CORDENUNSI, B. R.; NASCIMENTO, J. R. O.; GENOVESE, M. I. & LAJOLO, F.
314 M. Influence of Cultivar on Quality Parameters and Chemical Composition of
315 Strawberry Fruits Grown in Brazil. **Journal of Agricultural Food Chemistry**,50,
316 2581-2586, 2002.

317

318 DEL RIO D., ANA RODRIGUEZ-MATEOS, JEREMY P.E. SPENCER,
319 MASSIMILIANO TOGNOLINI, GINA BORGES, AND ALAN CROZIER. Dietary
320 (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of
321 Protective Effects Against Chronic Diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, 18,
322 2013.

323 FACCO, E M P. 2006 **Compostos funcionais no processamento de vinhos**. 2006. Tese
 324 (Doutor em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos,
 325 Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

326

327 GONÇALVES A.E.S.S. 2008, 88p. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e**
 328 **polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonoides e vitamina C**.
 329 Dissertação (Mestre em Ciência de Alimentos), Universidade de São Paulo, São Paulo,
 330 2008.

331

332 GONÇALVES, A., LAJOLO, F.M., GENOVESE, M.I. Potential dietary sources
 333 of ellagic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58, 4666-4674, 2010.

334

335 HÄMÄLÄINEN M, NIEMINEN R, VUORELA P, HEINONEN M, MOILANEN E.
 336 Anti-inflammatory effects of flavonoids: genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein
 337 inhibit STAT-1 and NF-kappaB activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin,
 338 and pelargonidin inhibit only NF-kappaB activation along with their inhibitory effect on
 339 iNOS expression and NO production in activated macrophages. **Mediators**
 340 **Inflamm.**, 45673, 2007.

341

342 KURODA, Y., HARA, Y. Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea
 343 polyphenols. **Mutation Research**, 436: 69-97, 1999.

344

345 MACKAY, L.D.; BLUMBERG, J.B. The role of tea in human Health: An Uptade.
 346 **Journal of the American College of Nutrition**, 21 (1): 1-13, 2002.

347 OLIVEIRA, R. G. 2010. **Identificação, quantificação, e caracterização antioxidante**
 348 **de flavonóides e vitamina C em geleias de frutas.** Tese (Doutor em Ciência de
 349 Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de
 350 Campinas, Campinas, SP, 2010.

351

352 PAZOUREK, J.; GONZALEZ, G.; REVILLA, A.L. & HAVEL, J. Separation of
 353 polyphenols in Canary Islands wine by capillary zone q electrophoresis without
 354 preconcentration. **Journal of Chromatography A**, 874, 111-119, 2000.

355

356 SANCHES M.C. R. **Caracterização do fruto de cambuci (*Campomanesia phaea* O.**
 357 **Berg.) e efeito da destanização sobre o potencial funcional *in vitro*.** Dissertação de
 358 mestrado. Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo, 2013.

359

360 SANTOS V., ARAÚJO W. TEIXEIRA R., NASCIMENTO J., BITTENCOURT C.,
 361 BOULLOSA C. **Escurecimento Enzimático em Frutas.** Anais do VII CONNEPI
 362 (Congresso norte nordeste de pesquisa e inovação), 2012.

363

364 SZAEFER, H.; JODYNIS-LIEBERT, J.; CICHOCKI, M., MATUSZEWSKA, A.;
 365 BAER-DUBOWSKA, W. Effect of naturally occurring plant phenolics on the
 366 induction of drug metabolizing enzymes by o-toluidine. **Toxicology** 186: 67-77, 2003.

367

368 TAKAGI, A.; SAI, K.; UMEMURA, T.; HASEGAWA, R.; KUROKAWA, Y.
 369 Inhibitory effects of vitamin E and ellagic acid on 8-hydroxy-deoxyguanosine formation
 370 in liver nuclear DNA of rats treated with 2-nitropropane. **Cancer Letters** 91:139-144,
 371 1995.

372 TOYODA M., TANAKA K., HOSHINO K., AKIYANA H., AKIO T., SAITO Y.
373 Profiles of Potentially Antiallergic Flavonoids in 27 Kinds of Health Tea and Green Tea
374 Infusions. **J. Agric. Food Chem.**, 45, 2561–2564, 1997.
375
376 YUYAMA L. K. O., PANTOJA L., MAEDA R. N., AGUIAR J. P. L., SILVA S. B.
377 Desenvolvimento e aceitabilidade de geléia dietética de cubiu (*Solanum sessiliflorum*
378 *Dunal*). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 28, 929-934, 2008
379

CONCLUSÕES GERAIS

A fruta cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg.) apresentou elevado rendimento em polpa, teor de sólidos solúveis dentro dos valores médios encontrados para frutas, em geral. Casca, polpa e geleia apresentaram valores razoáveis de vitamina C, diferindo-se significativamente ao nível de 5% entre geleia, polpa e casca. Na polpa de cambuci encontrou-se ácido vanílico e o kaempferol, na casca: ácido elágico, ácido p-coumárico, kaempferol. Na geleia de cambuci encontrou-se ácido elágico e kaempferol. Os dados encontrados divergem de estudos anteriores, quanto aos compostos encontrados, no entanto foi verificada a presença de compostos com importante ação antioxidante relatada na literatura. No entanto são dados que contribuem com a redução das limitações dos estudos existentes de compostos fenólicos em frutas, em relação às ações benéficas promotoras da saúde *in vivo*.

Compostos fenólicos da geleia de cambuci podem apresentar valores maiores de atividade antioxidante em diferentes combinações de tempo, de temperatura e concentração de solvente. A polpa de cambuci apresentou resultados superiores tanto para fenólicos quanto para flavonoides em relação às demais frutas nativas brasileiras como maná-cubiu e jambo vermelho ($p < 0,5$), as quais também diferiram significativamente ao nível de 5% de significância entre si. Para além dos atributos da polpa que a direcionam ao consumo sob a forma de produto processado, sugerindo um melhor aproveitamento de uma fruta proveniente de planta em extinção. A geleia de cambuci provou ser uma boa fonte de compostos fenólicos que se correlacionam positivamente com atividade antioxidante, demonstrando o potencial da geleia como uma boa alternativa de utilização da fruta em períodos em que ela não está disponível para consumo. No entanto se fazem necessários estudos que determinem os compostos

fenólicos não identificados, através de metodologias antioxidantes com o uso de radicais de relevância biológica.