



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**ANGÉLICA APARECIDA DE TOLEDO**

**OTIMIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DE SEMENTE DE  
JABUTICABA (*MYRCIARIA CAULIFLORA* BERG)**

**CAMPINAS**

**2024**

**ANGÉLICA APARECIDA DE TOLEDO**

**OTIMIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DE SEMENTE DE  
JABUTICABA (*MYRCIARIA CAULIFLORA* BERG)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Alimentos e Nutrição.

Orientador: Mário Roberto Maróstica Júnior

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À  
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO  
DEFENDIDA PELA ALUNA ANGÉLICA  
APARECIDA DE TOLEDO, E  
ORIENTADA PELO PROF. DR. MÁRIO  
ROBERTO MARÓSTICA JÚNIOR

**CAMPINAS**

**2024**

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)  
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos  
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

T575o Toledo, Angélica Aparecida de, 1996-  
Otimização e caracterização do extrato da semente da jaboticaba (*Myrciaria  
Cauliflora* Berg.) / Angélica Aparecida de Toledo. – Campinas, SP : [s.n.], 2024.

Orientador: Mário Roberto Maróstica Junior.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),  
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Jaboticaba. 2. Sementes. 3. Otimização. I. Maróstica Junior, Mário  
Roberto. II. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Faculdade de  
Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações Complementares

**Título em outro idioma:** Optimization and chacracterization of jaboticaba seed extract  
(*Myrciari Cauliflora* Berg.)

**Palavras-chave em inglês:**

Jaboticaba

Optimization

Seeds

**Área de concentração:** Nutrição Experimental e Aplicada à Tecnologia de Alimentos

**Titulação:** Mestra em Alimentos e Nutrição

**Banca examinadora:**

Mário Roberto Maróstica Junior [Orientador]

Marcelo Alexandre Prado

Sabrina Alves Lenquiste

**Data de defesa:** 25-06-2024

**Programa de Pós-Graduação:** Alimentos e Nutrição

**Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)**

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-2145-316X>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/4135640639686102>

## COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Mário Roberto Maróstica Júnior.  
Presidente

Prof. Dr. Marcelo Alexandre Prado  
Membro Titular  
Universidade Estadual de Campinas

Profa. Dra. Sabrina Alves Lenquiste  
Membro Titular  
Universidade do Oeste Paulista

*A Ata de Defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertações/Teses e na Secretaria do Programa de Pós-Graduação*

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho primeiramente aos meus pais, Lourdes Aparecida de Godoi de Toledo e Sebastião José de Toledo que sempre estiveram ao meu lado me apoiando em seguir estudando.

Dedico também ao meu marido Marco Antônio Ferreira Júnior, que me deu apoio incondicional neste trabalho.

Dedico especialmente aos meus filhos, Álvaro e Daniel, que são a razão da minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade, capacidade e saúde para realização deste trabalho.

Dedico um agradecimento especial ao Prof. Mário Roberto Maróstica Júnior, por ter aceitado o desafio de me orientar, com minhas restrições de horário para desenvolvimento dos ensaios laboratoriais devido a maternidade; sem isso eu não teria ao menos começado. Agradeço principalmente por todos os ensinamentos, paciência, carinho, dedicação e atenção despendidos a mim durante todo esse período.

Agradeço também a minha família pelo apoio e amor, respeitando meus momentos difíceis provocados pela dupla jornada, e me proporcionando momentos de alegria e descontração sempre que possível. Vocês são a motivação para eu continuar minha jornada.

Por fim, agradeço a todos os colegas de laboratório com quem tive o privilégio de trabalhar durante o desenvolvimento deste trabalho, em especial à Lívia Reguengo, que me ajudou com o desenvolvimento e entendimento de algumas análises, e ao Henrique Silvano Arruda, que dedicou seu tempo para me ensinar sobre o delineamento composto central rotacional e pelo auxílio nas análises estatísticas.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## RESUMO

A jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) é um fruto brasileiro, nativo da Mata Atlântica. Sua composição apresenta alto valor nutricional, compostos fenólicos, capacidade antioxidante, além outras propriedades benéficas. Na indústria, a fruta possui diversas aplicações, entretanto a semente geralmente torna-se resíduo. Entretanto, estudos tem comprovado que extratos da semente apresentam uma rica composição fenólicas e elevada capacidade antioxidante 'in vitro', quando comparado com a casca. Com crescente interesse das indústrias na utilização de fontes ricas em compostos bioativos, a utilização da semente de jaboticaba torna-se uma alternativa viável. Considerando-se a extração hidroalcolica e otimizando-a, pode-se apresentar para as indústrias potencial econômico e de sustentabilidade, tendo em vista a baixa toxicidade do etanol, quando comparado a outros solventes. Com os efeitos já relatados dos potenciais benefícios e aplicações dos extratos de semente de jaboticaba, o objetivo deste trabalho foi otimizar a extração hidroalcolica com um delineamento do composto central rotacional (DCCR) com 11 ensaios tendo por variáveis a concentração de etanol (x1) e o tempo de extração (x2), em relação as análises espectrofotométricas de compostos fenólicos totais (mg AGE.100 g<sup>-1</sup>), flavonoides totais (mg CE.100 g<sup>-1</sup>), tanino condensado (mg CE.100 g<sup>-1</sup>), antocianinas monoméricas (mg C3G. g<sup>-1</sup>) e capacidade antioxidante pelos métodos FRAP (μM SF. g<sup>-1</sup>), ABTS (μmol TE.100 g<sup>-1</sup>) e ORAC (μmol TE.100 g<sup>-1</sup>). Foram realizadas ainda a composição centesimal (g.100 g<sup>-1</sup>) da semente de jaboticaba in natura e análise em um sistema de "Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Q Exactive Plus Orbitrap Mass Spectrometer" (UPLCQE-MS/MS). A composição centesimal apresentou elevados teores de proteínas (11,1 ± 3,19 g.100 g<sup>-1</sup>) e fibras (7,2 ± 0,50 g.100 g<sup>-1</sup>), sendo então a semente "in natura" uma fonte em potencial de fibras. A análise de UPLCQE-MS/MS identificou tentativamente 42 compostos, sendo 4 antociânicos, 2 taninos e 3 flavonoides. A otimização apresentou elevada influência na concentração de etanol nos resultados, observando-se maiores teores de compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas monoméricas e capacidade antioxidante em concentração até 50%, enquanto que para tanino condensado a concentração de 78,37% de etanol apresentou maiores resultados. A variável tempo apresentou menor influência nas análises, somente nos taninos condensados a extração em 52,73 minutos apresentou maiores teores. Os resultados indicam que o extrato otimizado de semente de jaboticaba utilizando etanol pode ser uma alternativa de aplicação pelas indústrias alimentícias e farmacêuticas.

**Palavras chave:** Jaboticaba; Semente; Otimização de extração

## ABSTRACT

The jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) is a Brazilian fruit native to the Atlantic Forest. Its composition presents high nutritional value, phenolic compounds, antioxidant capacity, and other beneficial properties. In the industry, the fruit has various applications; however, the seed generally becomes waste. Studies have shown that seed extracts present a rich composition of phenolic compounds and high in vitro antioxidant capacity compared to the peel. With the growing interest of industries in utilizing sources rich in bioactive compounds, the use of jaboticaba seed becomes a viable alternative. Considering the hydroalcoholic extraction and optimizing it, it can offer industries economic potential and sustainability, given the low toxicity of ethanol compared to other solvents. With the reported effects of the potential benefits and applications of jaboticaba seed extracts, the objective of this work was to optimize the hydroalcoholic extraction using a central composite rotational design (CCRD) with 11 trials having ethanol concentration (x1) and extraction time (x2) as variables, in relation to the spectrophotometric analyses of total phenolic compounds (mg GAE.100 g<sup>-1</sup>), total flavonoids (mg CE.100 g<sup>-1</sup>), condensed tannins (mg CE.100 g<sup>-1</sup>), monomeric anthocyanins (mg C3G.g<sup>-1</sup>), and antioxidant capacity by FRAP (μM FS.g<sup>-1</sup>), ABTS (μmol TE.100 g<sup>-1</sup>), and ORAC (μmol TE.100 g<sup>-1</sup>) methods. Proximate composition (g.100 g<sup>-1</sup>) of the fresh jaboticaba seed and analysis using an Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Q Exactive Plus Orbitrap Mass Spectrometer (UPLC-QE-MS/MS) were also performed. The proximate composition showed high levels of proteins (11.1 ± 3.19 g.100 g<sup>-1</sup>) and fibers (7.2 ± 0.50 g.100 g<sup>-1</sup>), indicating that the fresh seed is a potential source of fibers. The UPLC-QE-MS/MS analysis tentatively identified 42 compounds, including 4 anthocyanins, 2 tannins, and 3 flavonoids. The optimization showed a significant influence of ethanol concentration on the results, with higher levels of phenolic compounds, flavonoids, monomeric anthocyanins, and antioxidant capacity at concentrations up to 50%, while for condensed tannins, the concentration of 78.37% ethanol showed higher results. The variable extraction time had less influence on the analyses, with only condensed tannins showing higher levels at 52.73 minutes of extraction. The results indicate that the optimized jaboticaba seed extract using ethanol can be an alternative for application in the food and pharmaceutical industries.

**Key words :** Jaboticaba; Seed; Optimization of extraction

## LISTA DE TABELAS

|   |     |
|---|-----|
| <b>Tabela 1.</b> Composição química do extrato otimizado da semente de jabuticaba ( <i>Myrciaria cauliflora</i> ) a partir de 52% de água e 48% de propanona.....   | 144 |
| <b>Tabela 2.</b> Composição Nutricional por 100 g de jabuticaba.....  | 199 |
| <b>Tabela 3.</b> Síntese de pesquisas relevantes sobre os efeitos da suplementação de jabuticaba e suas frações.....  | 211 |
| <b>Tabela 4.</b> Compostos fenólicos presentes na jabuticaba e suas frações (mg.100 g <sup>-1</sup> de base seca).....  | 30  |
| <b>Tabela 5.</b> Estruturas e exemplos de classes de compostos fenólicos presentes na Jabuticaba.....   | 311 |
| <b>Tabela 6.</b> Delineamento do Composto Central Rotacional.....   | 422 |
| <b>Tabela 7.</b> Compostos identificados considerando modos de ionização positivo e negativo no extrato metanólico de semente de jabuticaba.....                    | 477 |
| <b>Tabela 8.</b> Composição centesimal da semente de jabuticaba <i>in natura</i> .....  | 544 |
| <b>Tabela 9.</b> Teor de compostos fenólicos totais dos extratos de semente de jabuticaba obtidos por diferentes concentrações de solvente e tempo de extração..... | 555 |
| <b>Tabela 10.</b> Teor de flavonoides totais de extratos de semente de jabuticaba obtidos por diferentes concentrações de solvente.....                             | 577 |
| <b>Tabela 11.</b> Dados de teor de taninos condensados do extrato de semente de jabuticaba.....   | 599 |
| <b>Tabela 12.</b> Teor de antocianinas totais dos extratos de semente de jabuticaba.....  | 61  |
| <b>Tabela 13.</b> Teor da atividade antioxidante em diferentes métodos, de acordo a concentração de solvente e tempo de extração.....                               | 622 |

## LISTA DE FIGURAS

|  |     |
|--|-----|
| <b>Figura 1.</b> Fases da jabuticabeira: A) floração, B) frutificação e C) frutas maduras.   | 133 |
| <b>Figura 2.</b> Classificação e subgrupos de compostos fenólicos.   | 299 |
| <b>Figura 3.</b> Mecanismo de ação antioxidante.   | 355 |
| <b>Figura 4.</b> Estabilização do radical ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.                     | 366 |
| <b>Figura 5.</b> Ação da fluoresceína na presença de AAPH durante a análise ORAC.  | 377 |
| <b>Figura 6.</b> Redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil) -1,3,5-triazina) com Fe <sup>3+</sup> .                            | 388 |
| <b>Figura 7.</b> Contorno dos efeitos da concentração de solvente e tempo de extração no teor de fenólicos totais (TPC).           | 566 |
| <b>Figura 8.</b> Contorno dos efeitos da concentração de solvente e tempo de extração no teor de flavonoides totais.               | 588 |
| <b>Figura 9.</b> Contorno dos efeitos da concentração de solvente e tempo de extração no teor de taninos condensados.              | 60  |
| <b>Figura 10.</b> Gráficos de contorno dos efeitos do tipo de solvente no teor de antocianinas monoméricas.                        | 611 |
| <b>Figura 11.</b> Contorno dos efeitos da concentração de solvente tempo de extração na atividade antioxidante pelo método ABTS.   | 633 |
| <b>Figura 12.</b> Contorno dos efeitos da concentração de solvente e tempo na extração na atividade antioxidante pelo método FRAP. | 644 |
| <b>Figura 13.</b> Contorno dos efeitos da concentração de solvente e tempo de extração na atividade antioxidante pelo método ORAC. | 644 |

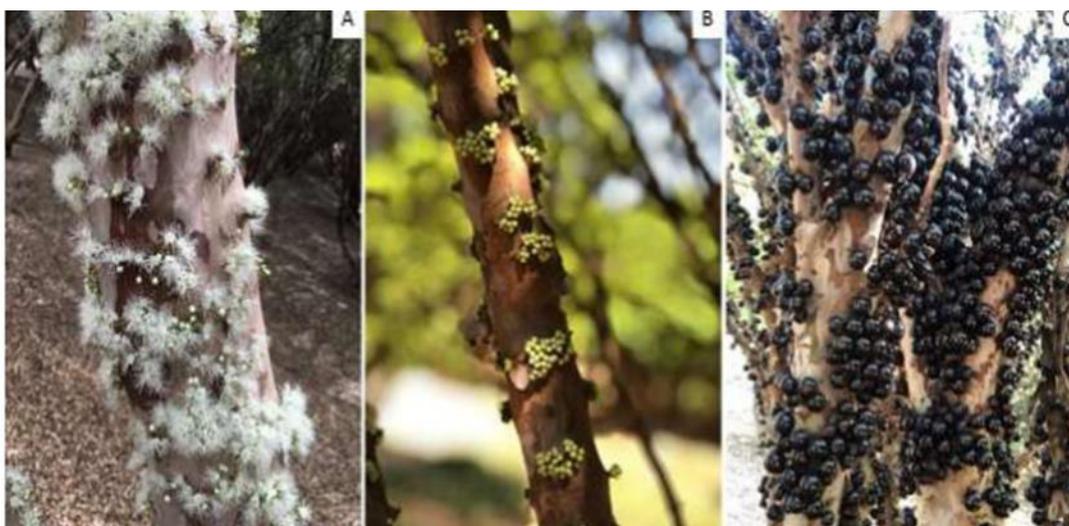
## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....   | <b>13</b> |
| <b>2 OBJETIVOS</b> .....  | <b>16</b> |
| <b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....  | <b>17</b> |
| <b>3.1 Taxonomia e informações botânicas da jabuticaba</b> .....  | <b>17</b> |
| <b>3.2 Mata Atlântica e sua importância para o Brasil</b> .....   | <b>17</b> |
| <b>3.3 Alimentos funcionais</b> .....   | <b>18</b> |
| <b>3.4 Jabuticaba: composição nutricional, fitoquímica e centesimal</b> .....   | <b>19</b> |
| <b>3.5 Casca da jabuticaba</b> .....  | <b>27</b> |
| <b>3.6 Semente da jabuticaba</b> .....  | <b>27</b> |
| <b>3.7 Compostos fenólicos da jabuticaba</b> .....  | <b>28</b> |
| <b>3.8 Antocianinas</b> .....   | <b>31</b> |
| <b>3.9 Taninos</b> .....  | <b>33</b> |
| <b>3.10 A importância do uso de metodologias de otimização para obtenção de extratos vegetais ricos em compostos bioativos.</b> ..... | <b>34</b> |
| <b>3.11 Mecanismo antioxidante</b> .....  | <b>35</b> |
| <b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....  | <b>39</b> |
| <b>4.1 Materiais</b> .....  | <b>39</b> |
| <b>4.2 Caracterização da amostra</b> .....  | <b>39</b> |
| <b>4.2.1 Extrato metanólico</b> .....   | <b>39</b> |
| <b>4.2.2 Método de análise em UPLC-Orbitrap-MS/MS</b> .....   | <b>39</b> |
| <b>4.2.3 Processamento de dados</b> .....   | <b>40</b> |
| <b>4.2.4 Análise da composição centesimal</b> .....   | <b>41</b> |
| <b>4.3 Extração</b> .....   | <b>41</b> |
| <b>4.3.1 Desenho experimental</b> .....   | <b>41</b> |
| <b>4.4 Determinação do conteúdo fenólico total (<i>Total Phenolic Content</i> - TPC)</b><br>.....                                     | <b>42</b> |
| <b>4.5 Determinação do teor de Flavonoides Totais (<i>Total Flavonoid Content</i> - TFC)</b> .....                                    | <b>42</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| 4.6 Determinação do teor de tanino condensado (TC).....                             | 43        |
| 4.7 Determinação do teor de antocianinas monoméricas.....                           | 43        |
| 4.8 Capacidade antioxidante.....  | 44        |
| 4.8.1 Método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....                          | 44        |
| 4.8.2 Método ORAC-FL (Oxygen Radical Absorbance Capacity using<br>Fluorescein)..... | 44        |
| 4.8.3 Método ABTS.....  | 45        |
| 4.9 Análise estatística do delineamento experimental .....                          | 45        |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>   | <b>46</b> |
| 5.1 Análise em UPLC-Orbitrap-MS/MS .....  | 46        |
| 5.2 Análise da composição centesimal .....  | 54        |
| 5.3 Teor de fenólicos totais ( <i>Total phenolic content</i> – TPC).....            | 54        |
| 5.4 Teor de Flavonoides Totais ( <i>Total flavonoids content</i> - TFC).....        | 56        |
| 5.5 Teor de tanino condensado (TC).....   | 58        |
| 5.6 Determinação do teor de antocianinas monoméricas.....                           | 60        |
| 5.7 Atividade Antioxidante .....  | 61        |
| 5.8 Eficiência da extração .....  | 64        |
| <b>6. Conclusão.....</b>  | <b>67</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>68</b> |
| <b>ANEXO .....</b>  | <b>76</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora* Berg) é uma árvore frutífera amplamente encontrada no Brasil, com as principais variedades sendo a jabuticaba Sabará (*Myrciaria jaboticaba*) e a jabuticaba Paulista (*Myrciaria cauliflora*) (LIMA *et al.*, 2008). A árvore de jabuticaba (Figura 1) apresenta uma característica única: possui um tronco liso, com folhas e frutos que nascem diretamente do caule. Esta espécie apresenta um desenvolvimento vigoroso em climas tropicais e subtropicais, levando em média de 10 a 15 anos para iniciar a frutificação. Os frutos são arredondados, com cascas arroxeadas e interior composto por polpa e de uma a quatro sementes. Muito apreciada pelos brasileiros, a jabuticaba pode ser consumida *in natura* ou transformada em suco, geleia, vinagre e bebidas alcoólicas. Entretanto, na indústria alimentícia, a casca e as sementes são usualmente descartadas após a utilização da polpa (INADA *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2021).



**Figura 1.** Fases da jabuticabeira: A) floração, B) frutificação e C) frutas maduras

Fonte: Miranda (2023).

A jabuticaba possui elevado valor nutricional, destacando-se pelo seu alto teor de fibras, carboidratos e vitaminas. Adicionalmente, são notáveis os compostos fenólicos presentes, como antocianinas e taninos (MARQUETTI, 2014). As sementes e cascas, resíduos da indústria alimentícia, são ricas em compostos bioativos, especialmente antocianinas (delfinidina e cianidina), derivados da quercetina e do ácido elágico (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020; INADA *et al.*, 2015).

As sementes constituem aproximadamente 15% do fruto, possuindo uma composição fenólica significativa e elevada atividade antioxidante. Hacke *et al.* (2016) demonstraram efeitos antioxidantes e antimicrobianos através de estudos com extrato

de semente de jabuticaba, utilizando ensaios micromoleculares in vivo em células de medula óssea murina combinadas com ciclofosfamida. Os elagitaninos (castalagina, vescalagina e pedunculagina) foram identificados como os principais compostos dos extratos de sementes de jabuticaba, os quais protegeram o DNA de danos e aceleraram sua reparação (CUNHA, 2016; HACKE *et al.*, 2016).

Diante da riqueza de compostos bioativos presentes nesses resíduos, diversas pesquisas têm sido realizadas. Fidelis *et al.* (2020) conduziram uma análise química das sementes da jabuticaba, identificando uma ampla variedade de compostos fenólicos, sendo a vescalgina, castalagina, ácidos elágico e gálico, e cianidina-3-glicosídeo os mais abundantes (Tabela 1). Por outro lado, Inada *et al.* (2020) identificaram, além dos mesmos compostos, a presença de proantocianidinas.

**Tabela 1.** Composição química do extrato otimizado da semente de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) a partir de 52% de água e 48% de propanona.

| <b>Compostos fenólicos</b>                                | <b>(mg.100 g<sup>-1</sup>)</b> |
|---|--------------------------------|
| Ácido gálico  | 4.26 ± 0.13                    |
| Ácido elágico   | 21.21 ± 0.51                   |
| Ácido cafeico   | 2.04 ± 0.07                    |
| Ácido rosmarínico   | 0.78 ± 0.00                    |
| 2,5- ácido dihidroxibenzoico                              | –                              |
| 2,4-ácido dihidroxibenzoico                               | 0.64 ± 0.06                    |
| Ácido ferúlico  | 0.35 ± 0.00                    |
| 2- ácido hidroxicinâmico                                  | –                              |
| p-ácido cumárico  | 2.94 ± 0.08                    |
| <b>Flavonoides</b>  | <b>(mg.100 g<sup>-1</sup>)</b> |
| Quercetina  | 0.25 ± 0.00                    |
| Quercetina-3-Rutinosideo                                  | 1.63 ± 0.13                    |
| Procianidina A2   | –                              |
| Malvidina-3,5-DiglucoSIDIO                                | 1.28 ± 0.08                    |
| Cianidina-3-GlucoSIDIO                                    | 3.98 ± 0.06                    |
| <b>Elagitaninos</b>                                       | <b>(mg.100 g<sup>-1</sup>)</b> |
| Vescalagina   | 1999 ± 24                      |
| Castalagina   | 1872 ± 18                      |
| <b>Total identificado (mg.100 g<sup>-1</sup> semente)</b> | <b>3910</b>                    |

Fonte: Adaptado de Fidelis *et al.*, 2020.

A utilização de subprodutos, como cascas e sementes, está se tornando uma importante fonte de obtenção de compostos bioativos, particularmente para as

indústrias alimentícia e farmacêutica (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020). Considerando ainda que um método de extração otimizado pode ser econômico e sustentável para a indústria, e que o etanol é um solvente com baixa toxicidade comparado a outros (PALUDO *et al.*, 2019), isso se mostra vantajoso.

As pesquisas apresentadas na literatura, com resultados positivos em capacidade antioxidante, efeito citotóxico e antimicrobiano, além da inibição das atividades de  $\alpha$ -amilase,  $\alpha$ -glicosidase e enzima conversora de angiotensina, indicam a possibilidade de o extrato de semente de jabuticaba ter diferentes aplicações industriais (FIDELIS *et al.*, 2020).

No entanto, a literatura ainda apresenta lacunas de estudos, especialmente focados nas sementes desses frutos, abordando sua composição química e os potenciais benefícios à saúde, desenvolvimento de produtos alimentícios e obtenção de ingredientes de alto valor agregado (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020).

Portanto, considerando o potencial socioeconômico e funcional da jabuticaba, a importância de novas fontes naturais de compostos bioativos e a necessidade de encontrar um uso sustentável para diferentes fluxos secundários de frutas, este trabalho teve como objetivo otimizar a extração de compostos fenólicos das sementes de jabuticaba e avaliar os efeitos antioxidantes e a composição fenólica do extrato.

## 2 OBJETIVOS

### Objetivo Geral

Otimizar a extração da semente da jabuticaba e estudar seu o potencial antioxidante e composição fenólica.

### Objetivos Específicos:

- Otimizar a extração da semente de jabuticaba por meio de Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR);
- Analisar os compostos fenólicos majoritários da semente de jabuticaba através de UPLCQE-MS/MS (*Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Q Exactive Plus Orbitrap Mass Spectrometer*);
- Determinar capacidade antioxidante dos extratos.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Taxonomia e informações botânicas da jabuticaba

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Mart. O. Berg), pertence à família Myrtaceae. Suas flores surgem diretamente nos troncos e galhos, uma característica distintiva da espécie *cauliflora*, e os frutos amadurecem entre 40 e 60 dias. Os frutos são redondos, com diâmetro entre 2,0 e 3,5 centímetros, e, quando maduros, apresentam coloração que varia do vermelho ao roxo escuro e preto. A polpa é branca e pode conter até 4 sementes. A árvore atinge entre 3 e 6 metros de altura, possui casca lisa e cinza, e suas folhas medem tipicamente 2 a 6 centímetros de comprimento, com nervura finamente reticuladas. Uma outra espécie semelhante, *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg, popularmente conhecida como jabuticaba Sabará ou jabuticaba grande, mede de 6 a 9 metros de comprimento, sendo esta última mais alta que a anterior, possui folhas bicoloradas medindo entre 2 e 4 centímetros de comprimento. Ambas as frutas são conhecidas como jabuticaba, e embora existam diversas espécies de jabuticaba distribuídas com o gênero *Myrciaria*, a *M. cauliflora* é a espécie mais amplamente difundida no Brasil (LIMA *et al.*, 2008; WU; LONG; KENNELLY, 2013).

No Brasil, a espécie mais prevalente é a *M. cauliflora*, com a variedade 'Sabará' sendo a mais apreciada e doce das jabuticabas, além de ser a mais intensamente cultivada. Essa variedade é caracterizada por seu pequeno tamanho e maturação precoce. Outra variedade importante é a jabuticaba 'Paulista', que possui porte maior, grande produção, frutos grandes e coriáceos, com maturação mais tardia (LIMA *et al.*, 2008).

As jabuticabeiras são predominantemente encontradas na Mata Atlântica, porém, há uma grande fragmentação desse bioma devido aos impactos ambientais provocados pelo homem. Portanto, a conservação e caracterização dessas espécies são fundamentais para compreender o potencial da fruta tanto para consumo quanto para comercialização (CITADIN; DANNER; SASSO, 2010).

#### 3.2 Mata Atlântica e sua importância para o Brasil

O território brasileiro apresenta uma grande diversidade de biomas, dentre os quais se destaca a Mata Atlântica, que abriga uma variedade de espécies frutíferas. A Mata Atlântica abrange uma área equivalente a 1.315.460 km<sup>2</sup> e estende-se originalmente entre 17 Estados (Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo,

Bahia, Alagoas, Sergipe, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Ceará e Piauí) (SILVA, 2018).

O Brasil está como o terceiro produtor mundial de frutas tradicionais, entre elas estão, laranja, banana, uva, abacaxi, maçã e mamão, que juntas, somam aproximadamente 73% da produção de 44 milhões de toneladas. Porém frutas nativas, como as que estão na Mata Atlântica, apesar de apresentarem características específicas, com aparência exuberante, sabores e aromas peculiares e propriedades nutricionais, são pouco exploradas comercialmente. Apesar disso, as pesquisas mostram que as frutas da família Myrtaceae possuem grande potencial econômico, com utilização para consumo, ornamentação e fins medicinais (SILVA, 2018).

### **3.3 Alimentos funcionais**

Os alimentos funcionais representam uma nova abordagem alimentar que enfatiza a ingestão regular de nutrientes essenciais, promovendo uma série de benefícios à saúde e reduzindo o risco de desenvolvimento de enfermidades crônicas. A expressão "alimento funcional" foi originada no Japão na década de 80 e desde então tem sido adotada globalmente pela população. No Brasil, a legislação se limita a definir as alegações de propriedades funcionais, oferecendo diretrizes para seu uso, mas não estabelece uma definição exata para o termo "alimento funcional". Qualquer alimento ou ingrediente que reivindique possuir propriedades funcionais deve passar por aprovação e protocolo pelo órgão competente (SILVA, 2021).

Segundo a Agencia Nacional de Vigilância Sanitária:

“Uma alegação de propriedade funcional é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano e poderá ser utilizada mediante demonstração de eficácia comprovada por evidências científicas.” (BRASIL, 1999).

É evidente o aumento na busca por alimentos com propriedades específicas, visando prevenir problemas de saúde, uma vez que muitas doenças estão ligadas a dietas carentes em nutrientes. Uma alimentação rica em diversos compostos beneficia o desempenho do organismo, intervindo no funcionamento fisiológico e na regulação do intestino, que desempenha funções vitais no corpo, entre outras melhorias (COSTA; ROSA, 2016).

Com uma ampla gama de vantagens comprovadas, como fonte de vitaminas, minerais e compostos bioativos, estudos comprovam que a jabuticaba é considerada um alimento com propriedades funcionais. Seus compostos antioxidantes

desempenham um papel crucial na melhoria da circulação sanguínea, no combate ao surgimento de rugas, na prevenção de doenças cardiovasculares, na proteção contra certos tipos de câncer, na redução de processos inflamatórios, além de muitos outros benefícios para a saúde (FERNANDES; SILVA, 2018).

### 3.4 Jabuticaba: composição nutricional, fitoquímica e centesimal

A composição nutricional da jabuticaba é apresentada segundo os autores Wu, Long e Kennelly, (2013), conforme Tabela 2. Os frutos de *M. cauliflora* são fonte de minerais como cálcio, ferro, potássio e fósforo. A jabuticaba também é fonte dos aminoácidos triptofano e lisina.

**Tabela 2.** Composição Nutricional por 100 g de jabuticaba.

| Composição nutricional | Valores        |
|------------------------|----------------|
| Calorias               | 45,7–51,7 kcal |
| Água                   | 87,1 g         |
| Proteína               | 0,11–0,32 g    |
| Gordura                | < 0,01 g       |
| Carboidrato            | 12,58 g        |
| Cinzas                 | 0,2 g          |
| Calcio                 | 6,3–7,6 mg     |
| Fósforo                | 9,2–34,6 mg    |
| Ferro                  | 0,49–0,87 mg   |
| Potássio               | 13,2 mg        |
| Fibra                  | 0,08 mg        |
| Riboflavina            | 0,02 mg        |
| Triptofano             | 1,0 mg         |
| Lisina                 | 7,0 mg         |

**Fonte:** Adaptado de Wu, Long e Kennelly (2013).

A jabuticaba apresenta alto valor nutricional devido ao seu elevado teor de fibras, carboidratos e vitaminas. Além disso, destacam-se os compostos fenólicos, como antocianinas e taninos (MARQUETTI, 2014). A semente e a casca, resíduos dessa fruta que geralmente são descartados, são ricos em compostos bioativos, em especial antocianinas (delfinidina e cianidina), derivados da quercetina, e derivados do ácido elágico (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020; INADA *et al.*, 2015).

Sendo assim, atualmente, existe um forte interesse na atividade biológica desses fitoquímicos presentes nas frutas, pois podem ter diversos benefícios no organismo humano. A jabuticaba tem sido relatada com um rico perfil fitoquímico, apresentando benefícios, da forma *in vitro* e *in vivo*, como anti-inflamatório, antimutagênico, antibacteriano, conforme descrito na tabela 3.

**Tabela 3.** Síntese de pesquisas relevantes sobre os efeitos da suplementação de jabuticaba e suas frações.

| Concentração dos principais compostos fenólicos na amostra utilizada  | Parte da planta | Modelo utilizado e duração do estudo  | Principais resultados   | Referência                      |
|---|-----------------|---|---|---------------------------------|
| Antocianinas totais (mg C3G/100g): 1737,1;<br>Polifenóis totais (mg GAE.g <sup>-1</sup> ): 113,8;<br>Ácido gálico (mg.100 g <sup>-1</sup> ): 4,03;<br>Ácido elágico (mg.100 g <sup>-1</sup> ): 348,0;<br>Quercetina (mg. 100 g <sup>-1</sup> ): 4,8;            | Casca           | <i>In vivo</i><br>Ratos machos<br><i>Sprague-Dawley</i><br>(n =30);               | ↓Estresse oxidativo em ratos obesos.<br>↓Redução da peroxidação lipídica em todo o cérebro.<br>↑Defesas antioxidantes do fígado.<br>↓Lipídios saturados séricos.  | Batista <i>et al.</i> , 2014b.  |
| Antocianinas (mg/kg/dieta) C3G:<br>1% = 196,4 g.kg <sup>-1</sup><br>2% = 392,8 g.kg <sup>-1</sup><br>4% = 785,6 g.kg <sup>-1</sup><br>D3G:<br>1% = 63,5 g.kg <sup>-1</sup><br>2% = 127 g.kg <sup>-1</sup><br>4% = 254 g.kg <sup>-1</sup>                        | Casca           | <i>In vivo</i><br>Ratos Machos<br><i>Sprague-Dawley</i> (n=35);<br>10 semanas     | ↓insulina sérica e ↓HOMA-IR;<br>- Melhora da resistência à insulina;<br>↑colesterol HDL → comparado a HF.   | Lenquiste <i>et al.</i> , 2012. |
| Dieta HFJ:<br>Cianidina-3- O -glicosídeo e Delfinidina-3- O -glicosídeo (mg/kg/dieta)<br>1% = 196,4 e 63,5<br>2% = 392,8 e 127 4% = 785,6 e 25<br>FDJPP- 20% de fibra insolúvel e 5% de fibra solúvel.  | Casca           | <i>In vivo</i><br>Camundongos Machos da Linhagem Consanguínea Suíça<br>10 semanas | ↑massa HFJ2% foi relação HFD;<br>FDJPP não impediu ganho de peso, mas foi eficaz para reduzir a resistência à insulina;<br>Leptina sérica ↑ com o peso corporal;<br>FDJPP preveniu a resistência à insulina induzida por dieta hiperlipídica  | Dragano <i>et al.</i> , 2013.   |
| Antocianinas totais: 1737.12 ± 13.60 mg<br>Cianidina-3-glicosídeo (C3G) 100g <sup>-1</sup> ;<br>Ácido gálico: 4.03 ± 0.07 mg.100 g <sup>-1</sup> ;<br>Ácido elágico: 348.08 ± 1.75 mg.100 g <sup>-1</sup> ;<br>Quercetina: 4.82 ± 0.03 mg.100 g <sup>-1</sup> ; | Casca           | <i>In vivo</i><br>(Ratos machos<br><i>Sprague-Dawley</i> ,<br>10 semanas)         | ↓ total de ácido graxo saturado sérico nos animais alimentados com J1 e J4 (6.91% e 8.25%, respectivamente) quando comparado com grupo C (↓inflamação);<br>↑ capacidade antioxidante plasmática nos grupos J2 e J4 em comparação com o grupo C (TEAC);<br>↑ defesas antioxidantes plasmáticas para grupos J2 e J4 em comparação com grupo C (CAT, SOD); | Batista <i>et al.</i> , 2014a.  |

**Tabela 3.** Síntese de pesquisas relevantes sobre os efeitos da suplementação de jabuticaba e suas frações. (Continuação).

| Concentração dos principais compostos fenólicos na amostra utilizada   | Parte da planta | Modelo utilizado e duração do estudo                                | Principais resultados  | Referência                      |
|--|-----------------|---|--|---------------------------------|
| <p>Ácido gálico: <math>36,92 \pm 2,28 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> ou <math>\text{ml}^{-1}</math><br/>           Ácido elágico: <math>3045,44 \pm 90,97 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> ou <math>\text{ml}^{-1}</math><br/>           Cianidina-3-O-glucosídeo: <math>32,945,24 \pm 347,80 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> ou <math>\text{ml}^{-1}</math> de cianidina equivalente</p> | Casca           | <i>In vivo</i> (Ratos Wistar Machos 12 semanas) e <i>in vitro</i> . | <p>FJP melhorou as defesas antioxidantes e os níveis de peroxidação lipídica no fígado (<math>\downarrow</math> TBARS);<br/>           -FJP melhorou peroxidação lipídica no cérebro;<br/>           - <math>\uparrow</math> capacidade antioxidante e <math>\uparrow</math> GSH dos rins.</p> <p>Maior potencial antioxidante <i>in vitro</i>;<br/>           - O potencial antioxidante <i>in vivo</i> do FJP e JE foi confirmado pelos marcadores TBARS, níveis de GSH e atividade da CAT, mas não pelo ensaio FRAP e enzimas SOD, GR e GPx, portanto mais estudos são necessários para confirmar seus efeitos <i>in vivo</i>;<br/>           - Processo danoso da peroxidação lipídica no plasma e fígados dos ratos foi revertido através da suplementação feita com FJP e JE;<br/>           - <math>\uparrow</math> dos níveis de GSH no fígado e plasma dos ratos, sendo um importante indicativo da melhora do sistema antioxidante;<br/>           - <math>\uparrow</math> os níveis de catalase no fígado destes animais.</p> | Lenquiste <i>et al.</i> , 2015. |
| <p>Flavonóides: <math>642,99 \text{ mg} \pm 25,75 \cdot 100 \text{ g}^{-1}</math><br/>           Antocianinas: <math>541,49 \text{ mg} \pm 7,42/100 \text{ g}</math><br/>           Cianidina-3-O-glucosídeo: <math>1113,38 \text{ mg} \pm 19,37 \cdot 100 \text{ g}^{-1}</math><br/>           Ácido elágico: <math>710,10 \text{ mg} \pm 33,77 \cdot 100 \text{ g}^{-1}</math></p>                     | Casca           | <i>In vivo</i> Camundongos Swiss machos (n=40); 10 semanas.         | <p>Composição MJP contribuem para uma grande capacidade antioxidante;<br/>           - Suplementação com MJP evitou o ganho de peso e reduziu a resistência periférica à insulina;<br/>           - <math>\downarrow</math> fosforilação de tau <math>\uparrow</math> desempenho de aprendizagem/ memória no teste do labirinto aquático de Morris;</p>  | Batista <i>et al.</i> 2017.     |

**Tabela 3.** Síntese de pesquisas relevantes sobre os efeitos da suplementação de jabuticaba e suas frações. (Continuação).

| Concentração dos principais compostos fenólicos na amostra utilizada  | Parte da planta | Modelo utilizado e duração do estudo  | Principais resultados  | Referência            |
|---|-----------------|---|--|-----------------------|
| Cianidina-3-O- glicosídeo (0,93 ± 0,03 mg.ml <sup>-1</sup> de FJE).<br>Delphinidina-3-O- glicosídeo (0,10 ± 0,00 mg .ml <sup>-1</sup> )   | Casca           | <i>In vivo</i><br>(Camundongos C57BL/6, Machos, 21 dias de idade)               | - ↓ estresse oxidativo, ↑ níveis séricos de adiponectina, protegeu o hipocampo contra a resistência à insulina, ↑ viabilidade neuronal (ou pelo menos mantida) para os animais, além de colaborar com a melhora do aprendizado e memória dos animais suplementados com MJP quando comparada ao grupo H.<br>↓ Beclin-1 e LC3BII;<br>-↑ SQSTM-p62;<br>-↓ tecido e peso corporal total;<br>-↓ triglicérides séricos totais e gotículas de gordura no fígado.                    | Baseggio et al. 2018. |
| Polifenóis: 3216,92 ± 124,24 (mg. 100 g <sup>-1</sup> );<br>Flavonóides: 642,99 ± 25,75 (mg. 100 g <sup>-1</sup> );<br>Antocianinas: 541,49 ± 7,42 (mg. 100 g <sup>-1</sup> );<br>Cianidina-3-O-glicosídeo: 1113,38 ± 19,37 (mg. 100 g <sup>-1</sup> );<br>Ácido elágico: 710,1 ± 33,77 (mg. 100 g <sup>-1</sup> );<br>Carotenóides: 2,87 ± 0,16 (mg. 100 g <sup>-1</sup> ) | Casca           | <i>In vivo</i><br>Camundongos Swiss (Mus musculus) machos (3 semanas de idade), | - ↓ das citocinas inflamatórias e da área de esteatose hepática no grupo com dieta hiperlipídica suplementada com jabuticaba;<br>- ↓ na atividade de enzimas hepáticas (ALP e ALT) nos grupos suplementados;<br>- ↓ triglicérides e lipídios séricos com a suplementação;<br>- ↑ no colesterol HDL e na excreção fecal de triglicérides;<br>- ↑ na produção de ácidos graxos de cadeia curta (acetato e butirato) no grupo com dieta hiperlipídica adicionada de jabuticaba. | Batista et al., 2018. |
| Compostos fenólicos totais: 121,0 ± 3,51 mg GAE g <sup>-1</sup><br>Antocianinas Monoméricas: 1381,0 ± 64,09 mg cyd 3-glu 100 g <sup>-1</sup><br>Flavonóides: 24,5 ± 0,26 mg CAT g <sup>-1</sup><br>Ácido elágico: 19,6 ± 0,02 mg. 100 g <sup>-1</sup>   | Casca           | <i>In vivo</i><br>Camundongos FVB   | PJE potente antioxidante e ↑ teor compostos bioativos;<br>- Ambas as doses de PJE = efeito anti-obesidade, ↓ ganho de peso corporal, dislipidemia, hiperglicemia, ↓ nível de COX-2 e ↑ níveis de colesterol HDL, pirs-1 e pparγ;   | Lamas et al., 2018.   |

**Tabela 3.** Síntese de pesquisas relevantes sobre os efeitos da suplementação de jabuticaba e suas frações. (Continuação).

| Concentração dos principais compostos fenólicos na amostra utilizada   | Parte da planta | Modelo utilizado e duração do estudo | Principais resultados   | Referência                      |
|--|-----------------|--------------------------------------|---|---------------------------------|
| Ácido gálico: $1,73 \pm 0,07 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ .  |                 |                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ↓ nível de TNF <math>\alpha</math>, resistência à insulina e intolerância à glicose;</li> <li>- PJE preveniu a dislipidemia e a hiperglicemia, ↓ o tnf<math>\alpha</math>, ↑ níveis de pirs-1 e ppar<math>\gamma</math>, e restaurar a estrutura hepática;</li> <li>- PJE antiinflamatório, hipoglicêmico e capacidade de modulação lipídica preveniu o pré-diabetes e a DHGNA;</li> <li>- Potencial terapia na prevenção de distúrbios hepáticos e metabólicos (obesidade,</li> </ul> |                                 |
| Compostos fenólicos totais: 0,022 – 0,33 mg/kg/d;<br>Flavonoides totais: 0,005 mg/kg/d;<br>Ácido elágico: 0,001–0,002 mg/kg/d;<br>Cianidina-3-O-glicosídeo: 0,022–0,0025 mg/kg/d.<br>A concentração variou nas diferentes dietas: P.FJP, P.JE, T.FJP e T.JE. | Casca           | <i>In vivo</i><br>(Wistar machos)    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- FJP e JE ↓ ganho de peso e adiposidade → melhora da sensibilidade à insulina;</li> <li>- Suplementação 6 semanas ↑ sensibilidade à insulina;</li> <li>- 12 semanas de suplementação: ↑ colesterol HDL e evitou esteatose hepática;</li> <li>- Modulação de parâmetros → obesidade e metabolismo da insulina.</li> <li>- FJP e JE (Cianidina-3-O-glicosídeo e ácido elágico) = alimentos funcionais → prevenção ou controle da obesidade.</li> </ul>                                    | Lenquiste <i>et al.</i> , 2019. |
| Compostos fenólicos solúveis → 569,6 mg elagitaninos (85%); ácido elágico (13%); Ácido gálico (2%).<br>Insolúveis → 923,1 mg   | Semente e casca | <i>In vivo</i> (humanos)             | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 63% dos voluntários → Diarreia com o aumento da dose;</li> <li>- Diarreia = ↓ excreção de urolitina;</li> <li>- Diarreia = ↓ contato de elagitanino</li> <li>- 13 metabólitos detectados na urina;</li> <li>- ↑ variabilidade interindividual (elagitanino) → metabolismo e excreção de urolitina</li> <li>- Prevalência de metabólito B → sobrepeso e obeso → comparado com eutrófico;</li> </ul>   | Inada <i>et al.</i> 2019.       |

**Tabela 3.** Síntese de pesquisas relevantes sobre os efeitos da suplementação de jabuticaba e suas frações. (Continuação).

| Concentração dos principais compostos fenólicos na amostra utilizada   | Parte da planta | Modelo utilizado e duração do estudo                               | Principais resultados  | Referência                     |
|--|-----------------|--|--|--------------------------------|
| Compostos fenólicos totais (mg.100 g <sup>-1</sup> ): 3759;<br>Ácido gálico: 50;<br>Ácido elágico: 314;<br>Vescalagina: 740;<br>Castalagina: 898;<br>Cianidina-3-O-glicosídeo: 904;<br>Delfinidina-3-O-glicosídeo: 70.   | Semente e casca | <i>In vivo</i><br>Camundongos C57BL/6 machos (três meses de idade) | - Papel fundamental da microbiota intestinal na metabolização de elagitaninos.<br><br>↓ do ganho de peso com a suplementação;<br>↓ tamanho dos adipócitos nos grupos com 10 e 15% de PSCJ;<br>- Ausência de infiltração de mastócitos em todos os grupos que receberam PSCJ;<br>↓ de marcadores inflamatórios dose-dependente da suplementação;<br>↓ nos níveis de leptina e ↑ de adiponectina nos grupos suplementados;<br>- Melhora no metabolismo de glicose e sensibilidade à insulina com adição de PSCJ à dieta. | Trindade <i>et al.</i> , 2022. |
| Compostos fenólicos (mg. 100 g <sup>-1</sup> )<br>Castalagina 13349 ± 1494<br>Vescalagina 6875 ± 1240<br>Procianidina A2 451 ± 81<br>Ácido elágico 388 ± 49<br>Ácido gálico 230 ± 14<br>Ácido ferúlico 54,8 ± 1,9<br>Ácido siríngico 54,5 ± 0,2<br>P -Ácido cumárico 6,9 ± 1,7<br>Quercetina-3-Rutinosídeo 4,9 ± 0,5<br>Ácido 2-hidroxicinâmico 2,1 ± 0,5<br>Total 53944 ± 773 | Semente         | <i>In vivo</i>   | ↓ hemólise<br>Tóxico para células cancerígenas Caco-2, A549 e hepg2  | Fidelis <i>et al.</i> , 2021.  |
| Conteúdo fenólico total (mg. 100 g <sup>-1</sup> ) 57162 ± 2512<br>Conteúdo total de flavonoides 7670 ± 177<br>Orto-difenóis totais 21218 ± 688<br>Taninos condensados totais 4451 ± 113   | Semente         | <i>In vivo</i> (Ratos Wistar machos)                               | ↓ o início e a progressão do câncer de cólon, diminuindo os focos de criptas aberrantes, e beneficiou a recuperação do microbioma intestinal   | Carmo <i>et al.</i> , 2021.    |

**Tabela 3.** Síntese de pesquisas relevantes sobre os efeitos da suplementação de jabuticaba e suas frações. (Continuação).

| Concentração dos principais compostos fenólicos na amostra utilizada  | Parte da planta | Modelo utilizado e duração do estudo | Principais resultados          | Referência |
|---|-----------------|--------------------------------------|--------------------------------|------------|
| Proantocianidinas totais (PA) 3001 ± 41<br>Grau de polimerização do PA 51 ± 3<br>Proporção de prodelphinidinas em PA 63%<br>Proporção de procianidinas em PA 37%<br>Elagitaninos totais 10090 ± 760 |                 |                                      | Exerceu função anticancerígeno |            |

Abreviações: ACS-ACOD: Acyl-CoA synthetase-acyl-CoA oxidase; ALP: Alkaline phosphatase/ Fosfatase alcalina; ALT: Alanina transaminase; CAT: Catalase; COX-2: Ciclooxigenase-2; FJE: Jabuticaba seed extract/ Extrato de casca de jabuticaba; FJP: Casca de jabuticaba liofilizada; FRAP: Poder antioxidante redutor férrico; GAE: Equivalente de ácido gálico; GPx: Glutathione peroxidase; GR: Glutathione reductase; HDL: High Density Lipoproteins ou Lipoproteínas de alta densidade - colesterol; HF: Dieta rica em gordura e idosos ingerindo dose de PJE I grupo experimental; HFJ: Dieta rica em gorduras e idosos ingerindo PJE dose II do liofilizada HfJAGI: Dieta rica em gordura e idosos ingerindo dose de PJE I grupo experimental; HfJAGII: Dieta rica em gorduras e idosos ingerindo PJE dose II do grupo experimental I; HOMA-IR: Determinador da resistência à insulina; JE: Extrato aquoso de casca de jabuticaba; JPP: Pó de casca de jabuticaba; PEJ (I e II): Extrato rico em fenólicos de jabuticaba com variação de concentração; P. FJP: Dieta HFF suplementado com FJP; pIRS-1: Substrato 1 do receptor de insulina fosforilado; P.JE: Dieta HFF com a água substituída por JE; PPAR Receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma; PSCJ: Pó da semente e casca de jabuticaba; SOD: Superóxido dismutase; TBARS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; T.FJP: Dieta controle seguida por P.FJP; T.JE: Dieta controle seguida por P.FJP e P.JE; TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral.

### 3.5 Casca da jabuticaba

As investigações científicas têm concentrado atenção na casca da jabuticaba, revelando a presença de uma vasta quantidade de compostos bioativos. Entre os principais compostos, destacam-se as antocianinas, responsáveis pela pigmentação da fruta. Além disso, as antocianinas estão associadas a diversos benefícios para o metabolismo humano, incluindo propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimutagênicas e antimicrobianas (ALEZANDRO *et al.*, 2013; HACKE *et al.*, 2016).

Ademais das antocianinas, a casca da jabuticaba é composta por uma matriz polissacarídica que forma as paredes celulares vegetais. Esta matriz protege os compartimentos internos das células e desempenha inúmeras funções no desenvolvimento da planta (KLAASSEN; TRINDADE, 2020). Os polissacarídeos são constituídos principalmente por celulose, hemicelulose e pectinas, atraindo grande interesse industrial devido às suas propriedades tecnológicas. Estes compostos oferecem melhorias significativas aos produtos, tais como incremento da viscosidade, melhoria da textura e atividade emulsificante (KIENTEKA; CORRÊA-FERREIRA; OLIVEIRA-PETKOWICZ, 2018).

### 3.6 Semente da jabuticaba

As sementes representam cerca de 15% do peso do fruto da jabuticaba. Estudos comparativos entre a casca, a polpa, a semente e o fruto inteiro demonstraram que o extrato das sementes possui o maior teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante *in vitro*, independentemente da técnica utilizada (ALEZANDRO *et al.*, 2013). Os principais compostos responsáveis pelos efeitos antioxidantes incluem ácidos elágico, punicalagina, pedunculagina, castalagina e vescalagina (CUNHA, 2016; HACKE *et al.*, 2016).

Após o processamento do fruto, as sementes são descartadas, embora possam ser utilizadas como uma valiosa fonte de polissacarídeo, especificamente o amido. Diversas indústrias estão em busca de novas fontes de amido provenientes de alimentos funcionais, devido às suas propriedades químicas adicionais que aumentam o potencial de aplicação (HAMMAMI *et al.*, 2018). No entanto, a utilização industrial de polissacarídeos requer uma compreensão aprofundada da relação entre estrutura e funcionalidade, o que pode ser alcançado através de técnicas analíticas que fornecem informações simultâneas sobre ambos os parâmetros.

Embora promissora, a pesquisa existente ainda é insuficiente, especialmente no que diz respeito às sementes desses frutos. São necessários estudos mais

abrangentes para explorar os potenciais benefícios à saúde, o desenvolvimento de novos produtos alimentícios e a obtenção de ingredientes com valor agregado (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020).

### 3.7 Compostos fenólicos da jabuticaba

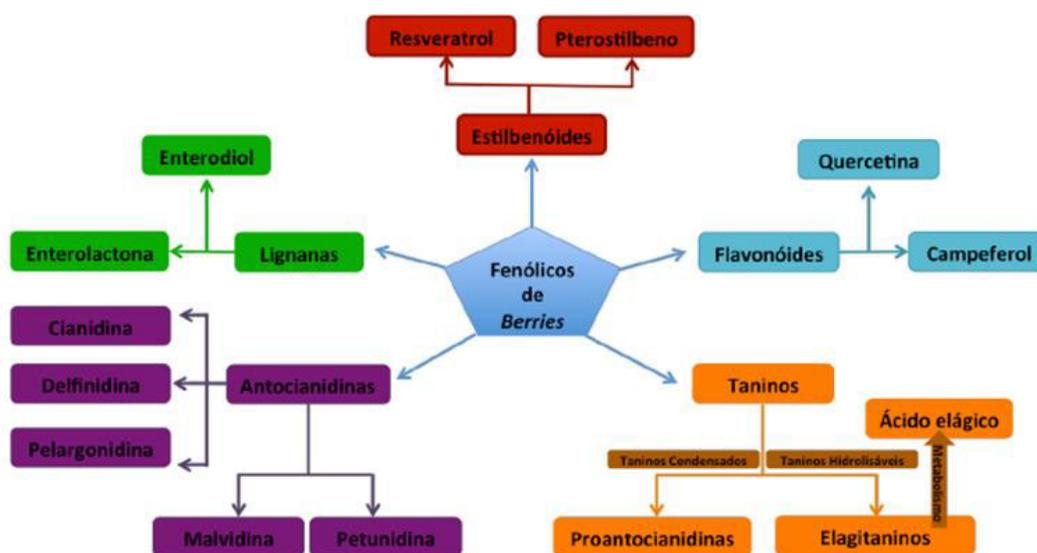
Os frutos são fontes excepcionais de compostos fenólicos, destacando-se algumas classes por seus efeitos benéficos à saúde e seu papel na conservação de alimentos. Os polifenóis, principais compostos encontrados nos frutos, são metabólitos secundários do metabolismo vegetal, produzidos pela interação com fatores intrínsecos e extrínsecos da planta. Alguns desses compostos contribuem para a formação das características visuais e sensoriais (coloração e adstringência) dos vegetais comestíveis. Em geral, essa categoria de compostos pode ser classificada em ácidos fenólicos (esqueleto C6-C1 e C6-C3 para os ácidos hidroxibenzoico e hidroxicinâmico, respectivamente), flavonoides (esqueleto C6-C3-C6), estilbenos (esqueleto C6-C2-C6), lignanas (esqueleto C6-C3) e outros polifenóis (MUNEKATA *et al.*, 2023).

A estrutura química dos compostos fenólicos é composta por um anel aromático ligado a uma ou mais hidroxilas, com mais de 8000 compostos já caracterizados. São classificados de acordo com o número e disposição dos átomos de carbono, podendo estar ligados ou não a açúcares, como glicose, galactose, ramnose, xilose ou ácidos orgânicos. Os compostos fenólicos são divididos em duas principais classes: flavonoides e não flavonoides (IGNAT; VOLFF; POPA, 2011; VELDERRAIN-RODRÍGUEZ *et al.*, 2014; RIBAS-AGUSTÍ *et al.*, 2018).

Os flavonoides constituem uma classe de compostos caracterizada por possuir quinze átomos de carbono organizados em uma estrutura C6-C3-C6. Esses compostos consistem em dois anéis aromáticos conectados por três átomos de carbono, formando um anel heterocíclico. Suas subclasses principais incluem flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas e flavanóis. A diversidade desses compostos resulta do grau de substituição que pode ocorrer no anel. Os flavonóis, por exemplo, são frequentemente encontrados na forma glicosilada, com uma porção de açúcar unida a uma glicose ou ramnose. Esses compostos são abundantes em frutas e vegetais, com exemplos como kaempferol, quercetina e miricetina. Já os flavanóis são uma subclassificação mais complexa dos flavonoides, abrangendo catequinas, epicatequinas e galocatequinas. As flavonas, menos comuns em frutas e vegetais, são compostas por glicosídeos de luteolina e apigenina. As flavanonas são glicosiladas por dissacarídeos, neoesperidose ou rutinose, sendo a

naringenina, hesperetina e eriodictiol encontradas em frutas cítricas. As isoflavonas, frequentemente presentes em leguminosas, possuem uma estrutura química semelhante aos estrogênios, com grupos hidroxila nas posições 7 e 4, assemelhando-se à molécula de estradiol. Entre as antocianidinas mais comuns estão pelargonidina, cianidina, delphinidina, petunidina e malvidina, que, quando ligadas a açúcares, são chamadas de antocianinas, responsáveis pela coloração (do azul ao vermelho) de plantas e frutas (SILVA, 2019).

Os ácidos fenólicos são encontrados nas plantas em sua forma livre ou conjugada. Estas substâncias contêm um grupo carboxílico vinculado à sua estrutura e são divididas em dois subgrupos: os derivados do ácido hidroxibenzoico e os derivados do ácido hidroxicinâmico. Os derivados do ácido hidroxicinâmico possuem uma estrutura C6-C3, como os ácidos cafeico, ferúlico e p-cumárico sendo os compostos mais reconhecidos nessa categoria. Por outro lado, os derivados do ácido hidroxibenzoico possuem uma estrutura C6-C1, englobando ácidos como gálico, elágico, p-hidroxibenzoico e vanílico (SILVA, 2019).



**Figura 2.** Classificação e subgrupos de compostos fenólicos.

Fonte: Adaptado (AIYER *et al.*, 2012).

A jabuticaba tem sido amplamente documentada na literatura como uma fruta com um perfil fitoquímico rico e diversificado, apresentando elevada atividade biológica tanto *in vitro* quanto *in vivo*, atribuída aos seus elevados teores de compostos voláteis, antocianinas, flavonoides, taninos e outros compostos fenólicos (FIDELIS *et al.*, 2019).

Os fitoquímicos mais estudados da jabuticaba são os polifenóis, e, conforme relatado na literatura, o perfil fenólico da jabuticaba é composto principalmente por

ácidos fenólicos, taninos e flavonoides, sendo as antocianinas o principal subgrupo deste último (MIRANDA, 2023).

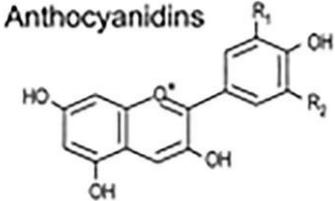
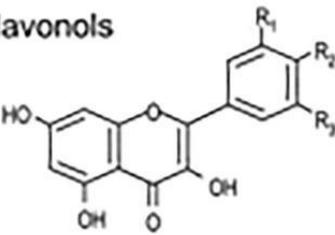
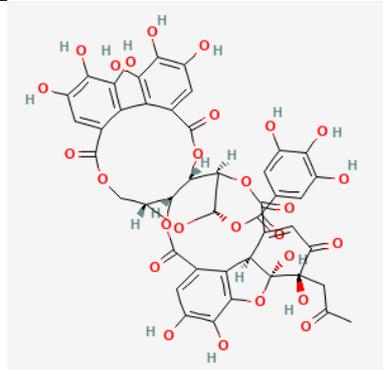
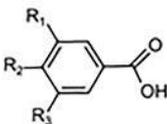
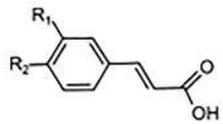
**Tabela 4.** Compostos fenólicos presentes na jabuticaba e suas frações (mg.100 g<sup>-1</sup> de base seca).

| Extrato            | Composto                             | Fruta inteira                | Polpa                        | Casca                       | Semente                      | Resíduo de despolpa     |
|--------------------|--------------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------|
| Fenólicos Solúveis | Ácido gálico                         | 7,9 ± 0,1 <sup>d</sup>       | 3,2 ± 0,0 <sup>d</sup>       | 21 ± 1 <sup>c</sup>         | 30 ± 1 <sup>b</sup>          | 40 ± 2 <sup>a</sup>     |
|                    | Cianidina-3- <i>o</i> -glucosídeo    | 280 ± 18 <sup>c</sup>        | 0,4 ± 0,0 <sup>e</sup>       | 1,261 ± 18 <sup>a</sup>     | 58 ± 4 <sup>d</sup>          | 707 ± 32 <sup>b</sup>   |
|                    | Delphinidina-3- <i>o</i> -glicosídeo | 48 ± 1 <sup>c</sup>          | ND                           | 269 ± 11 <sup>a</sup>       | 11,8 ± 0,4 <sup>d</sup>      | 157 ± 5 <sup>b</sup>    |
|                    | Rutina                               | 77 ± 2 <sup>c</sup>          | 7,1 ± 0,6 <sup>d</sup>       | 247 ± 5 <sup>a</sup>        | 241 ± 12 <sup>a</sup>        | 195 ± 5 <sup>b</sup>    |
|                    | Miricetina                           | 0,4 ± 0,0 <sup>c</sup>       | 0,2 ± 0,0 <sup>c</sup>       | 4,3 ± 0,2 <sup>a</sup>      | 2,0 ± 0,1 <sup>b</sup>       | 2,1 ± 0,0 <sup>b</sup>  |
|                    | Quercetina                           | 0,4 ± 0,0 <sup>c</sup>       | ND                           | 3,5 ± 0,0 <sup>a</sup>      | 0,4 ± 0,0 <sup>c</sup>       | 1,6 ± 0,0 <sup>b</sup>  |
|                    | Ácido <i>m</i> -cumárico             | 0,3 ± 0,0 <sup>c</sup>       | 0,6 ± 0,0 <sup>a</sup>       | 0,2 ± 0,0 <sup>d</sup>      | 0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>       | 0,4 ± 0,0 <sup>c</sup>  |
|                    | Miricitrina                          | 3,5 ± 0,1 <sup>b</sup>       | 0,7 ± 0,0 <sup>d</sup>       | 20 ± 0 <sup>a</sup>         | 1,8 ± 0,0 <sup>c</sup>       | 20 ± 1 <sup>a</sup>     |
|                    | Ácido elágico                        | 34 ± 1 <sup>d</sup>          | 5,3 ± 0,3 <sup>e</sup>       | 178 ± 5 <sup>a</sup>        | 83 ± 8 <sup>c</sup>          | 99 ± 4 <sup>b</sup>     |
| <b>Subtotal</b>    | <b>452 ± 22<sup>c</sup></b>          | <b>18 ± 1<sup>d</sup></b>    | <b>2004 ± 40<sup>a</sup></b> | <b>429 ± 26<sup>c</sup></b> | <b>1222 ± 49<sup>b</sup></b> |                         |
| Hidrólise Alcalina | Ácido gálico                         | 135 ± 1 <sup>c</sup>         | ND                           | 123 ± 16 <sup>c</sup>       | 345 ± 5 <sup>a</sup>         | 253 ± 21 <sup>b</sup>   |
|                    | Ácido 3,4-dihidroxibenzoico          | 4,4 ± 0,5 <sup>c</sup>       | ND                           | 16 ± 1 <sup>a</sup>         | ND                           | 8,4 ± 0,2 <sup>b</sup>  |
|                    | Miricetina                           | 0,4 ± 0,0 <sup>b</sup>       | 0,7 ± 0,3 <sup>b</sup>       | 0,2 ± 0,0 <sup>b</sup>      | 2,1 ± 0,2 <sup>a</sup>       | 0,4 ± 0,0 <sup>b</sup>  |
|                    | Ácido transcinâmico                  | 1,4 ± 0,2 <sup>a</sup>       | 0,4 ± 0,0 <sup>b</sup>       | 0,5 ± 0,1 <sup>b</sup>      | ND                           | 0,6 ± 0,0 <sup>b</sup>  |
|                    | Ácido elágico                        | 40 ± 1 <sup>b</sup>          | ND                           | 61 ± 7 <sup>a</sup>         | 41 ± 2 <sup>b</sup>          | 53 ± 4,0 <sup>ab</sup>  |
| <b>Subtotal</b>    | <b>181 ± 3<sup>c</sup></b>           | <b>1.1 ± 0.3<sup>d</sup></b> | <b>201 ± 24<sup>c</sup></b>  | <b>388 ± 7<sup>a</sup></b>  | <b>315 ± 25<sup>b</sup></b>  |                         |
| Hidrólise Ácida    | Ácido gálico                         | 63 ± 3 <sup>a</sup>          | 1,3 ± 0,1 <sup>e</sup>       | 9,2 ± 0,5 <sup>d</sup>      | 47 ± 1 <sup>b</sup>          | 14 ± 1 <sup>c</sup>     |
|                    | Miricetina                           | ND                           | ND                           | 0,6 ± 0,0 <sup>a</sup>      | 0,4 ± 0,1 <sup>b</sup>       | 0,4 ± 0,0 <sup>ab</sup> |
|                    | Ácido elágico                        | 119 ± 24 <sup>a</sup>        | ND                           | 37 ± 4 <sup>b</sup>         | 120 ± 13 <sup>a</sup>        | 106 ± 10 <sup>a</sup>   |
|                    | Miricitrina                          | ND                           | ND                           | ND                          | 1,7 ± 0,1 <sup>a</sup>       | ND                      |
| <b>Subtotal</b>    | <b>182 ± 27<sup>a</sup></b>          | <b>1.3 ± 0.1<sup>d</sup></b> | <b>47 ± 5<sup>c</sup></b>    | <b>169 ± 14<sup>a</sup></b> | <b>120 ± 11<sup>b</sup></b>  |                         |
| <b>Total</b>       | <b>815 ± 52<sup>d</sup></b>          | <b>20 ± 1<sup>e</sup></b>    | <b>2252 ± 69<sup>a</sup></b> | <b>986 ± 47<sup>c</sup></b> | <b>1658 ± 85<sup>b</sup></b> |                         |

ND – Não detectado. Resultados expressos como média ± desvio padrão para triplicatas. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa entre as frações (*one-way* ANOVA seguido pelo teste *post hoc de tukey*,  $p < 0,05$ ).

Fonte: Adaptado (INADA *et al.*, 2015)

**Tabela 5.** Estruturas e exemplos de classes de compostos fenólicos presentes na Jabuticaba.

| Classe         | Estrutura   |   |
|----------------|---|---|
| Antocianina    | <p><b>Anthocyanidins</b></p>  <p><math>R_1 = R_2 = H</math> : Pelargonidin<br/> <math>R_1 = OH, R_2 = H</math> : Cyanidin<br/> <math>R_1 = R_2 = OH</math> : Delphinidin<br/> <math>R_1 = OCH_3, R_2 = OH</math> : Petunidin<br/> <math>R_1 = R_2 = OCH_3</math> : Malvidin</p> |   |
| Flavonoides    | <p><b>Flavonols</b></p>  <p><math>R_1 = OH, R_2 = R_3 = H</math> : Kaempferol<br/> <math>R_1 = R_2 = OH, R_3 = H</math> : Quercetin<br/> <math>R_1 = R_2 = R_3 = OH</math> : Myricetin</p>   |   |
| Elagitanino    |   |   |
| Ácido Fenólico | <p><b>Hydroxybenzoic acids</b></p>  <p><math>R_1 = R_2 = OH, R_3 = H</math> : Protocatechuic acid<br/> <math>R_1 = R_2 = R_3 = OH</math> : Gallic acid</p>   | <p><b>Hydroxycinnamic acids</b></p>  <p><math>R_1 = OH</math> : Coumaric acid<br/> <math>R_1 = R_2 = OH</math> : Caffeic acid<br/> <math>R_1 = OCH_3, R_2 = OH</math> : Ferulic acid</p> |

Fonte: Manach *et al.*, (2004).

### 3.8 Antocianinas

As antocianinas, pertencentes à classe dos flavonoides, são compostos hidrossolúveis encontrados naturalmente em uma ampla variedade de flores, folhas, vegetais, frutas e grãos, conferindo tonalidades que variam do vermelho ao roxo (MEJIA *et al.*, 2020).

As características distintivas das antocianinas estão associadas aos grupos ligantes presentes na molécula de açúcar, incluindo hidroxilas, metoxilas e ácidos orgânicos, bem como suas posições e quantidades na substância. Nos frutos, as antocianinas exibem grupos hidroxilas nas posições 3, 5 e 7, ligados ao açúcar juntamente com ácidos orgânicos, resultando em várias formas de antocianinas, cuja coloração está intrinsecamente ligada a esses grupos. A variedade de tonalidades das antocianinas pode depender dos grupos presentes em sua estrutura; por exemplo, a tonalidade azul do pigmento é mais pronunciada com maior presença de hidroxilas e grupos glicólicos, enquanto a cor vermelha é intensificada com uma quantidade maior de metoxilas (HENTZ, 2015).

O nível de acidez (pH) é um dos elementos que podem impactar tanto a coloração quanto a estabilidade das antocianinas. À medida que o pH aumenta, o cátion flavílico perde prótons, resultando na modificação de sua pigmentação. A tonalidade vermelha é mais proeminente em pH abaixo de 3. Em pH inferior a 6, forma-se um carbinol sem cor; em pH superior a 6, uma base quinoidal de tonalidade azul se desenvolve; e em pH acima de 12, converte-se em chalcona, adquirindo uma coloração amarela. Além do pH, outros fatores como temperatura, exposição ao oxigênio e luz também podem influenciar sua estabilidade (HENTZ, 2015).

Com a capacidade de mudar de cor em resposta ao pH, as antocianinas possuem um importante potencial de aplicação, podendo ser usadas em alimentos, cosméticos, tecidos e outras áreas. Recentemente, tem-se estudado o uso desses compostos em formulações de embalagens, pois podem servir como um método visual simples para detectar a deterioração dos alimentos, considerando que as mudanças no pH ocasionadas por ácidos orgânicos voláteis durante o armazenamento dos alimentos em resposta ao crescimento microbiano podem alterar a cor da embalagem (LUCHESE *et al.*, 2017).

Estudos evidenciam que a maneira mais eficaz de extrair as antocianinas é por meio de solventes polares, pois elas se solubilizam mais facilmente nesses compostos. O etanol é o solvente mais prevalente na indústria alimentícia devido à sua segurança e não toxicidade, apesar de o metanol ser mais eficaz na extração, mas ser considerado tóxico e inadequado para uso em alimentos. Quanto à quantificação das antocianinas, o método mais comum envolve a espectrofotometria

com variação de pH, sendo preferido por sua acessibilidade financeira e rapidez na obtenção dos resultados (PALUDO *et al.*, 2019).

### 3.9 Taninos

Os taninos são substâncias fenólicas complexas, caracterizadas por seu elevado peso molecular (500 a 3000 Dalton) e forma estrutural, que inclui entre 12 e 16 hidroxilas e de 5 a 7 anéis aromáticos. São solúveis em água e têm a capacidade de se ligar a uma variedade de compostos como proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos, alcaloides e saponinas. Sua capacidade de formar complexos com outros compostos é influenciada pelo pH, favorecendo a formação de proteína-tanino em meio ácido e, em ambiente básico, as hidroxilas são ionizadas, reduzindo as ligações de hidrogênio (ARAPITSAS, 2012; OLIVAS-AGUIRRE *et al.*, 2015; SMERIGLIO *et al.*, 2017).

Esses taninos podem ser divididos em duas classes principais: condensáveis ou hidrolisáveis. Os taninos condensáveis, também conhecidos como proantocianidinas, são compostos por unidades de flavanol, onde a catequina é o componente principal, unidas por uma ligação carbono-carbono entre o C4 de uma catequina e o C8 ou C6 da catequina subsequente, e não apresentam glicose em seu núcleo. Esses compostos são mais estáveis e menos suscetíveis à hidrólise por ácidos (SILVA, 2019). Por outro lado, os taninos hidrolisáveis consistem em diferentes combinações de ácido gálico, ácidos hexahidroxi-difenólicos e um núcleo de glicose. São facilmente degradados por hidrólise química, liberando seus componentes primários. Podem ser subdivididos em dois subgrupos: galotaninos e elagitaninos (LARROSA *et al.*, 2010).

Os galotaninos representam a categoria mais básica dos taninos hidrolisáveis, embora sejam extremamente escassos na natureza. Sua estrutura química é constituída por um ácido gálico ligado a um resíduo de poliol (D-glicose), sendo o anômero  $\beta$ -glicose a configuração mais comum. Parte de suas hidroxilas é substituída por grupos fenólicos, resultando inicialmente na formação de  $\beta$ -glucogalina (1-O-galoil- $\beta$ -D-glicopirranose), que representa a forma mais simples de galotanino. Esse composto tem a capacidade de ceder sua unidade de galoil, dando origem à síntese de outras estruturas mais complexas (SMERIGLIO *et al.*, 2017).

Por sua vez, os elagitaninos são compostos por duas unidades de galoil que formam um ácido hexahidroxi-difenólico (*Hexahydroxydiphenic acid* - HHDP), ligado a um monossacarídeo, geralmente uma glicose. Estão sujeitos à hidrólise espontânea, liberando HHDP, que sofre lactonização e é convertido em ácido elágico. Cerca de

500 moléculas de elagitaninos já foram descritas na natureza, e essa variedade se deve à sua capacidade de polimerização por esterificação na molécula de glicose ou no grupo HHDP. Esses compostos são encontrados em frutas (framboesas, ameixas, groselhas e morangos) e em oleaginosas (nozes, pistache e castanha de caju) (SMERIGLIO *et al.*, 2017).

A vescalagina, castalagina, peduncalagina, alnusina, strictinina e casuaricitina são alguns exemplos de elagitaninos que foram identificados na jabuticaba conforme documentado em diversas fontes (HACKE *et al.*, 2016; WU; LONG; KENNELLY, 2013). Além disso, a presença da cauliflorina foi relatada pela primeira vez na literatura, e foi observado que a quantidade de elagitaninos aumenta à medida que a fruta amadurece. Entre os elagitaninos predominantes encontrados na semente, destacam-se a castalagina (1750 mg.100 g<sup>-1</sup> base seca (bs)), vescalagina (950 mg.100 g<sup>-1</sup> bs) e peduncalagina (120 mg.100 g<sup>-1</sup> bs). Além desses, outros elagitaninos como sanguina H-6 e sanguina H-10 também foram identificados (ALEZANDRO *et al.*, 2013).

### **3.10 A importância do uso de metodologias de otimização para obtenção de extratos vegetais ricos em compostos bioativos.**

A extração é fundamental para obter resultados precisos em relação à matriz estudada. Para avaliar o teor de compostos fenólicos em sementes de jabuticaba, Paludo *et al.* (2019) comparou combinações de três solventes (água, etanol e metanol). A composição etanol e água (60:40 v/v) apresentou a maior eficiência de extração e comprovou a presença de altos teores de compostos fenólicos nas sementes de jabuticaba. No trabalho de Inada *et al.* (2015), onde se avaliou diferentes partes da fruta (casca, semente e polpa), determinou-se que existe uma correlação positiva entre os compostos fenólicos e a atividade antioxidante, independentemente do tipo de ensaio, indicando que os compostos bioativos são eficazes na ação antioxidante.

Em outro trabalho, foi realizada a extração e a caracterização química de compostos antioxidantes e antimicrobianos de sementes de jabuticaba, avaliando os efeitos de três solventes (água, álcool etílico e propanona). A combinação de água e propanona (60:40 v/v) obteve os melhores resultados na atividade antioxidante, através do método DPPH (HACKE *et al.*, 2016).

A otimização dos parâmetros de extração tem por objetivo aumentar o nível de compostos bioativos, compostos fenólicos e carotenoides, para produzir extratos ricos em compostos bioativos para consequentes aplicações em alimentos. Além disso,

técnicas convencionais de extração, como a maceração, são demoradas, o que pode limitar sua aplicabilidade no setor industrial (FIDELIS *et al.*, 2019).

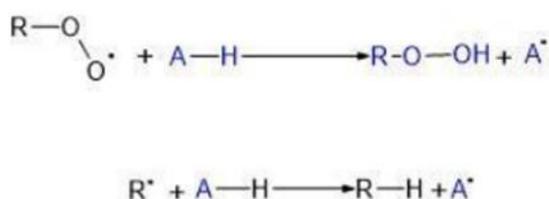
Para o desenvolvimento do processo tecnológico, é importante a escolha do procedimento de extração para a recuperação e purificação de compostos bioativos de matrizes vegetais, e deve ser baseada na simplicidade, versatilidade, custo e capacidade de extrair e preservar esses compostos. Além disso, os métodos convencionais utilizam solventes tóxicos, apresentam alto consumo de solvente e longo tempo de extração (ARRUDA *et al.*, 2019).

Box e Wilson (1951 e 1992) impulsionaram a análise de dados experimentais por meio da superfície de resposta, desenvolvendo métodos de determinação de condições ótimas em pesquisas industriais. Inicialmente, os autores introduziram a função polinomial com duas ou mais variáveis independentes (fatores), com o objetivo de encontrar a resposta ótima com o menor número possível de combinações entre os níveis de fatores (MENDONÇA, 2012).

A necessidade de otimização de produtos e processos, minimizando custos e tempos operacionais, tem levado a uma enorme busca por técnicas sistemáticas de planejamento de experimentos. A metodologia do delineamento do composto central rotacional (DCCR) consiste em um grupo de procedimentos, estatísticos e matemáticos, que podem ser usados no estudo das inter-relações entre uma ou mais respostas (variáveis dependentes) com inúmeros fatores (variáveis independentes). É uma técnica estatística baseada no emprego de planejamentos fatoriais, que tem sido usada com grande sucesso na modelagem de diversos processos industriais (MATTIETTO; MATTA, 2012).

### 3.11 Mecanismo antioxidante

Os antioxidantes agem na defesa das células, são capazes de inibir ou reduzir a ação dos radicais livres, podendo reduzir o estresse oxidativo, mutações no DNA e demais danos das células. A figura 3 representa o mecanismo de ação de um antioxidante (FONTOURA, 2021).



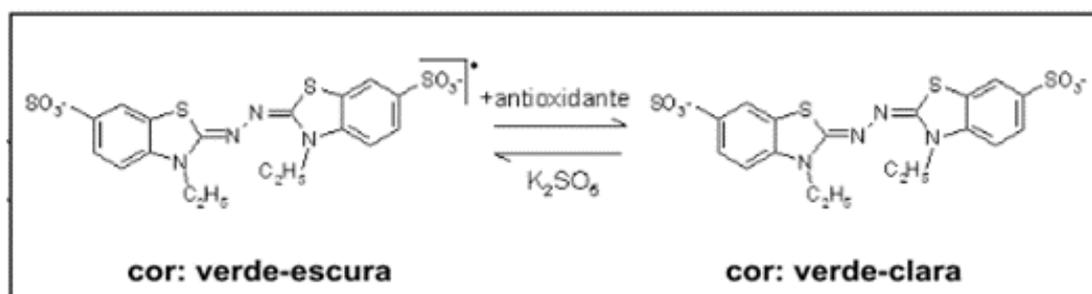
**Figura 3.** Mecanismo de ação antioxidante.

**Fonte:** Fontoura (2021).

Os compostos fenólicos são os antioxidantes mais ativos e frequentemente encontrados em vegetais, atuando no processo oxidativo, evitando o desenvolvimento da reação em cadeia decompondo os produtos da oxidação a compostos não reativos, e ainda podendo quelar íons metálicos ( $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{2+}$ ) que atuam como catalizadores da oxidação (INFANTE, 2013)

Para detalhar o potencial antioxidante, os métodos ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) e ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) podem fornecer resultados comparáveis (THAIPONG *et al.*, 2006)

O método ABTS permite a determinação da capacidade antioxidante através da captura do radical ABTS (radical 2,2-azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), ocorrendo através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática, conforme a figura 4, sendo seu mecanismo de reação a doação de uma molécula de hidrogênio pelo antioxidante, neutralizando o radical. (RUFINO *et al.*, 2007).

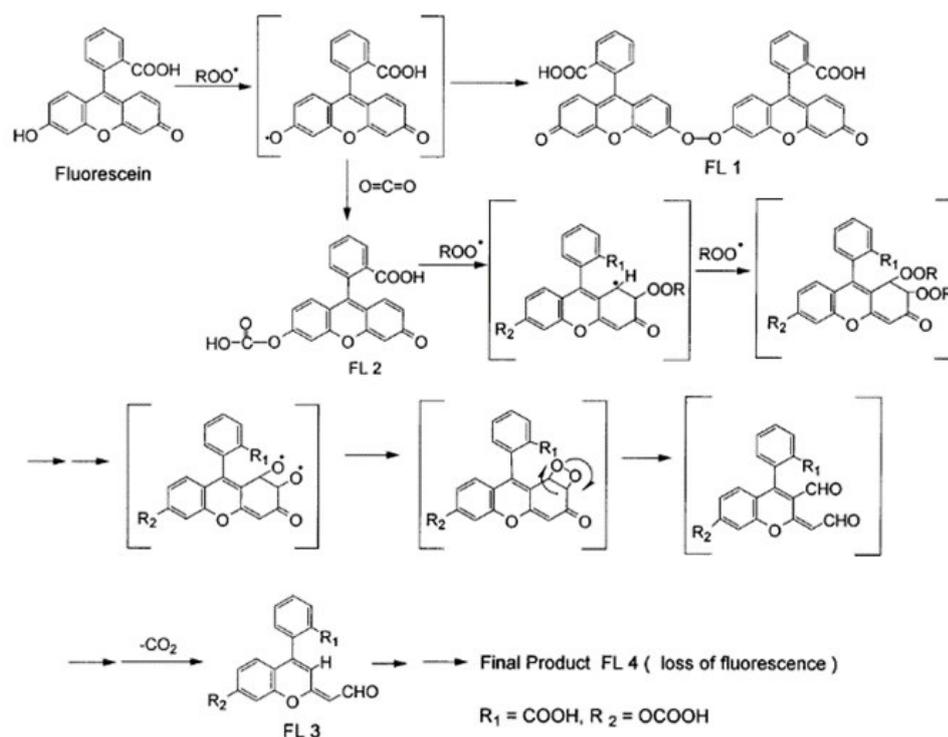


**Figura 4.** Estabilização do radical ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.

Fonte: RUFINO *et al.* (2007).

Entre os métodos para avaliar a atividade antioxidante, o ORAC (capacidade de absorção de radicais de oxigênio) é um dos poucos métodos que relaciona a porcentagem de inibição e o tempo de inibição da ação das espécies reativas por antioxidantes em uma única quantidade (DÁVALOS; GÓMEZ-CORDOVÉS; BARTOLOMÉ, 2004). Ou, Hampsch-Woodill e Prior (2011), desenvolveram e validaram um ensaio aprimorado de capacidade de absorção de radicais de oxigênio usando fluoresceína (FL) como sonda fluorescente (ORAC-FL). A fluoresceína não interage com antioxidantes, apresenta uma excelente fotoestabilidade e reduz o custo dos experimentos (OU; HAMPSCH-WOODILL; PRIOR, 2001). O mecanismo de reação é reconhecido como mecanismo clássico de transferência de átomo de

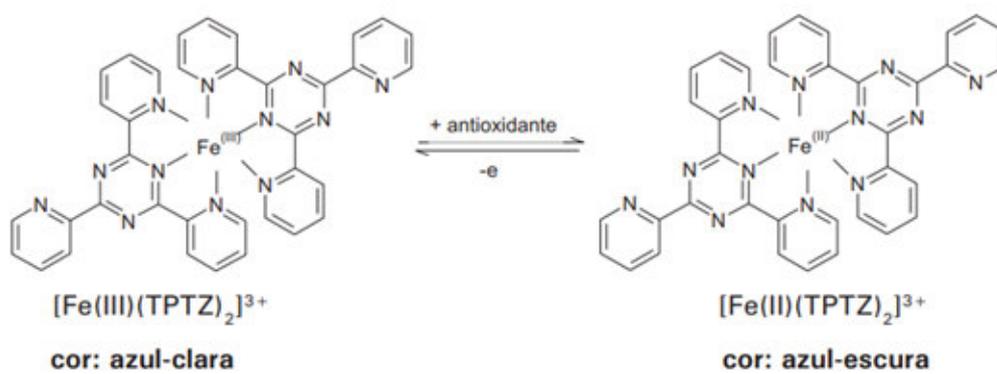
hidrogênio (HAT), como mostra a figura 05. Ao contrário de outros métodos populares de atividade antioxidante, o ensaio ORAC-FL fornece uma medida direta da capacidade antioxidante de quebra de cadeia hidrofílica contra o radical peroxil, e relaciona a porcentagem de inibição e o tempo de inibição da ação das espécies reativas de oxigênio (OU; HAMPSCH-WOODILL; PRIOR, 2001)



**Figura 5.** Ação da fluoresceína na presença de AAPH durante a análise ORAC.

Fonte: Ou; Hampsch-Woodill; Prior (2001).

Outra alternativa para analisar a eficiência antioxidante é através do método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), um teste simples, rápido, e com fácil reprodução, onde determina a redução do ferro em soluções aquosas e também em fluidos biológicos. Com o pH baixo, o excesso de Fe<sup>3+</sup> na solução é reduzido para forma ferrosa, gerando a formação de cor que está relacionada com a capacidade de redução da amostra, demonstrado na figura 06. (MONTEIRO; DIAMANTE; LIMA, 2017; RUFINO *et al.*, 2006).



**Figura 6.** Redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil) -1,3,5-triazina) com Fe<sup>3+</sup>.

Fonte: Rufino *et al.* (2006).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

Três quilos de sementes da espécie de Jabuticaba 'Paulista' (*Myrciaria cauliflora*) foram adquiridos da empresa Valdir Jordão Fagan em maio de 2022. Os frutos são cultivados na mesma estação em Casa Branca, estado de São Paulo, Brasil, nas coordenadas geográficas -21.889532917194487, -47.04591656214877. As sementes foram de frutas totalmente maduras. As sementes foram higienizadas com água destilada e extraídas manualmente. Em seguida, as sementes foram congeladas, liofilizadas (35 °C/31 horas até ~10% de umidade) e moídas para uniformizar o tamanho das partículas.

Este projeto foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen) do Ministério do Meio Ambiente - [www.sisgen.gov.br](http://www.sisgen.gov.br) (registro nº A705D92).

### 4.2 Caracterização da amostra

#### 4.2.1 Extrato metanólico

Para a identificação de compostos fenólicos, o extrato da semente de jabuticaba (*Jabuticaba seed extract* – JSE) foi extraído com 6 g da amostra liofilizada e moída, e misturado à 15 mL de uma solução metanol 1% ácido fórmico, da forma de extração exaustiva com maceração. Após, o extrato ficou por 10 minutos em ultrassom banho maria, e 5 minutos na centrífuga a 3000 rpm. Esse procedimento foi repetido duas vezes para esse solvente, e duas vezes com a solução metanol 50%.

#### 4.2.2 Método de análise em UPLC-Orbitrap-MS/MS

A análise foi realizada em um sistema de *Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Q Exactive Plus Orbitrap Mass Spectrometer* (UPLCQE-MS/MS) (Thermo, Milford, MA, USA). O sistema UPLC mencionado é equipado com uma fonte de ionização por electrospray (ESI), e a detecção de massas foi realizada tanto no modo positivo quanto no negativo com os seguintes parâmetros: fluxo do gás de revestimento, 35 Arb; fluxo do gás auxiliar, 10 Arb; módulo da voltagem do capilar (spray), 3,50 (ESI+) ou 3,20 (ESI-); temperatura do capilar, 300 °C. Os procedimentos

da análise foram realizados com uma coluna Acquity UPLC BEH C18 (2.1 mm × 50 mm, 1.7 µm) a temperatura constante (40 °C). As fases móveis utilizadas foram selecionadas como solvente A (1% de ácido fórmico em água) e solvente B (acetonitrila). O programa do gradiente de eluição se deu do seguinte modo: 0-7% B, 0-4 min; 7-11% B, 4-6 min; 15% B, 6-11 min; 25% B 11-12 min; 35% B, 12-13 min; 45% B 13-16 min; 55% B 16-18 min; 65% B, 18-19 min; 75% B, 19-21 min; 85% B 21-25 min; 95% B, 25-35 min; 100% B, 35-36 min; 100% A, 36-39 min. O volume de injeção foi de 10 µL e o quociente de vazão foi de 0,25 mL/min. O modo de full MS-ddMS<sup>2</sup> foi utilizado dentro da faixa de massas de 100–1000 m/z, janela de isolamento 1,0 m/z, tempo de exclusão do íon precursor de 10,0 segundos, faixa de energias de colisão (CE): 20, 35 e 45, com resolução de 70000 para MS e 17500 para dd-MS<sup>2</sup>.

#### 4.2.3 Processamento de dados

Os dados DDA adquiridos para amostras no formato de dados brutos (.raw) foram primeiro convertidos no formato de troca MS mzML no modo centróide usando o conversor ProteoWizard MS (Adusumilli e Mallick, 2017). O software MS-DIAL ver 4.9 (Tsugawa *et al.*, 2020) (<https://systemsomicslab.github.io/compms/msdial/main.html>) foi utilizado para a detecção de características, anotação de espécies de íons, extração de espectros de compostos e alinhamento de picos entre amostras e análise espectral, resultando na lista de transição que contém informações sobre cada característica detectada, como tempo de retenção, m/z do precursor e íons MS<sup>2</sup>. A recolha de dados foi considerada de 0 a 39 minutos, numa gama de massas de 0-2000 Da. Foram utilizados os seguintes parâmetros de detecção de picos: uma altura mínima de pico de 10 000 (Orbitrap), método de suavização (média móvel ponderada linear), nível de suavização (3) e largura mínima do pico (5). A identificação utilizou a biblioteca *LC-MS-MS-Spectra do MassBank of North America* (MoNA), que incluía os modos positivo e negativo de MS/MS (<http://prime.psc.riken.jp/compms/msdial/main.html#MSP>), considerando uma tolerância de massa exata de 0,005 Da em MS<sup>1</sup> e 0,01 Da em MS<sup>2</sup>, com um corte de pontuação de 70%. Além disso, no modo positivo, foi incluído um ficheiro de texto com dados padrão como base de dados, considerando uma tolerância de tempo de retenção de 0,25 minutos, uma tolerância de massa exata de 0,005 Da e uma pontuação de identificação de 70%. As amostras em branco foram consideradas para os parâmetros de alinhamento. A curadoria dos dados foi efetuada num ficheiro Excel,

tendo em conta os seguintes critérios de filtragem: (i) intensidade dos picos superior a 10× em relação às amostras em branco; (ii) exclusão de fragmentos prováveis da fonte de íons; (iii) valor do erro de massa < 5 ppm; (iv) relevância biológica.

Os dados processados de UPLC-QE-MS/MS (valores de área de pico) foram analisados usando MetaboAnalyst 5.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/>) para análise de dados multivariados (XIA; WISHART, 2016). Além disso, foi gerado um mapa de calor da análise de agrupamento hierárquico para apresentar os resultados dos compostos putativamente identificados nas amostras de semente de jabuticaba, considerando medidas de distância euclidiana, padronização de autoescala e método de agrupamento Ward.

#### **4.2.4 Análise da composição centesimal**

O teor de umidade da semente de jabuticaba foi determinado de acordo com a metodologia da AOAC (2010). O teor de proteína foi determinado de acordo com o método Kjeldahl (AOAC, 2010). O conteúdo lipídico foi determinado de acordo com o método descrito por Bligh e Dyer (1959). O teor de fibras totais foi determinado segundo as normas do Instituto Adolfo Lutz (2008). O teor total de cinzas foi determinado de acordo com a AOAC (2010). O teor de carboidratos foi determinado pela diferença entre a amostra total (100%) e os valores médios de umidade, proteínas, lipídios, fibras totais e cinzas (AOAC, 2010). Os resultados foram expressos em g.100 g<sup>-1</sup> de sementes em base seca.

### **4.3 Extração**

#### **4.3.1 Desenho experimental**

O extrato da semente de jabuticaba (JSE) foi extraído com 3 g da amostra e misturado à 30 ml de uma solução hidroetanólica. A partir de um delineamento composto central rotacional, foi definido a variação na concentração de etanol (x1) (10-50%) e a variação no tempo (x2) (10-60 minutos), totalizando 11 amostras com concentrações diferentes de solventes, conforme tabela 06. Subsequentemente, as amostras foram agitadas em banho ultrassônico e ao final de cada agitação foi aferida a temperatura de cada mistura. As amostras foram centrifugadas e congeladas a -80° C para as próximas análises. (ARRUDA *et al.*, 2019).

**Tabela 6.** Delineamento do Composto Central Rotacional.

| Ensaio | x1        | x2    | Solvente<br>(%<br>etanol) | Tempo<br>de<br>extração<br>(min) | Amostra<br>(g) | Solvente<br>(mL) | Concentração<br>extrato (g/mL) | Tempo<br>(min:seg) |
|--------|-----------|-------|---------------------------|----------------------------------|----------------|------------------|--------------------------------|--------------------|
| 1      | -<br>1,00 | -1,00 | 21,63                     | 17,26                            | 3              | 30               | 0,10                           | 17min<br>16seg     |
| 2      | 1,00      | -1,00 | 78,36                     | 17,26                            | 3              | 30               | 0,10                           | 17min<br>16seg     |
| 3      | -<br>1,00 | 1,00  | 21,63                     | 52,73                            | 3              | 30               | 0,10                           | 52min<br>44seg     |
| 4      | 1,00      | 1,00  | 78,36                     | 52,73                            | 3              | 30               | 0,10                           | 52min<br>44seg     |
| 5      | -<br>1,41 | 0,00  | 10,00                     | 35,00                            | 3              | 30               | 0,10                           | 35min              |
| 6      | 1,41      | 0,00  | 90,00                     | 35,00                            | 3              | 30               | 0,10                           | 35min              |
| 7      | 0,00      | -1,41 | 50,00                     | 10,00                            | 3              | 30               | 0,10                           | 10min              |
| 8      | 0,00      | 1,41  | 50,00                     | 60,00                            | 3              | 30               | 0,10                           | 60min              |
| 9      | 0,00      | 0,00  | 50,00                     | 35,00                            | 3              | 30               | 0,10                           | 35min              |
| 10     | 0,00      | 0,00  | 50,00                     | 35,00                            | 3              | 30               | 0,10                           | 35min              |
| 11     | 0,00      | 0,00  | 50,00                     | 35,00                            | 3              | 30               | 0,10                           | 35min              |

#### 4.4 Determinação do conteúdo fenólico total (*Total Phenolic Content* - TPC)

A partir do método Folin-Ciocalteu, com utilização de microplacas, foi determinado o conteúdo fenólico total – *Total Phenolic Content* (TPC) – das amostras. Foram utilizados 50 µL de cada amostra e adicionados 50 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 800 µL de água destilada. Após 3 min, 100 µL de solução saturada de carbonato de sódio foram adicionados e a mistura permaneceu em repouso por 120 minutos em ambiente escuro. A reação foi realizada em triplicata na microplaca para cada amostra (n=11). A curva de calibração foi obtida utilizando ácido gálico (15- 300 µg.ml<sup>-1</sup>). A leitura foi realizada usando  $\lambda=725$  nm em leitor de microplacas Biotek Synergy HT (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; SWAIN; HILLIS, 1959).

#### 4.5 Determinação do teor de Flavonoides Totais (*Total Flavonoid Content* - TFC)

O conteúdo total de flavonoides foi determinado usando o ensaio colorimétrico de cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>) conforme descrito por Zhishen, Mengcheng e Jianming (1999). Em um microtubo, 100 µL de extrato diluído foram misturados a 500 µL de

água ultrapura, e 30 µL de nitrito de sódio (NaNO<sub>2</sub>) 5% (p/v) foram adicionados a cada microtubo. Após 5 minutos, 30 µL de AlCl<sub>3</sub> foram adicionados à mistura de reação e deixados em repouso por 6 minutos. Finalmente, 200 µL de hidróxido de sódio o NaOH 1 M e 310 µL de água ultrapura foram adicionados e misturados, e a absorbância foi medida a 510 nm contra um branco em um espectrofotômetro. O conteúdo total de flavonoides foi calculado usando uma curva padrão preparada para catequina e os resultados foram expressos em mg equivalentes de catequina por 100 gramas de material vegetal liofilizado (mg EC.100 g<sup>-1</sup> m/v - material vegetal liofilizado).

#### 4.6 Determinação do teor de tanino condensado (TC)

O teor de tanino condensado foi determinado de acordo com o método descrito por Julkunen-Tiitto (1985), com pequenas modificações. Resumidamente, 30 µL de extrato diluído, 900 µL de 4% (p/v) de vanilina preparada em metanol e 450 µL de HCl concentrado foram misturados e incubados à temperatura ambiente por 20 minutos. Em seguida, a absorbância foi medida a 500 nm contra um branco em um espectrofotômetro leitor de microplacas Biotek Synergy HT. A catequina foi usada para fazer a curva padrão e os resultados foram expressos em mg equivalentes de catequina por grama de material vegetal liofilizado (mg.CE g<sup>-1</sup> m/v).

#### 4.7 Determinação do teor de antocianinas monoméricas

O conteúdo de antocianinas monoméricas foi determinado pelo método do pH diferencial (AOAC, 2010) utilizando-se espectrofotômetro leitor de microplacas Biotek Synergy HT para as medidas de absorbâncias das amostras. Após a diluição da amostra em tampão solução de cloreto de potássio 0,025 M (pH 1,0) e solução de acetato de sódio 0,4M (pH 4,5), a leitura da absorbância foi realizada em 520 nm e 700 nm. O conteúdo total de antocianinas monoméricas (CTAM) foi calculado como mg equivalente de cianidina -3-glicosídeo/g da amostra, seguindo a fórmula da Equação 1:

$$\text{Antocianinas Monoméricas (mg de C3G. g}^{-1}\text{)} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times l} \quad (1)$$

Onde A = (A<sub>520nm</sub> – A<sub>700nm</sub>) em pH 1.0 – (A<sub>520nm</sub> – A<sub>700nm</sub>) em pH 4.5; MW (molecular weight) = 449.2 g/mol para cianidina-3-glicosídeo; DF = fator de diluição estabelecido; 0,71 = caminho ótico percorrido (microplaca do espectrofotômetro); ε =

26900, coeficiente molar, para cianidina-3-glicosídeo;  $10^3$  = fator de conversão de g para mg.

## 4.8 Capacidade antioxidante

### 4.8.1 Método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Conforme protocolo da EMBRAPA (RUFINO *et al.*, 2006), a partir do JSE, foi preparado em tubos de eppendorf. Em ambiente escuro, foi transferido uma alíquota de 30  $\mu\text{L}$  de cada diluição do extrato para tubos de eppendorf, em seguida foi acrescentado 90  $\mu\text{L}$  de água Mili-Q, misturado com 900  $\mu\text{L}$  do reagente FRAP (20 ml do tampão acetato 0,3 M, 2 mL de uma solução de TPTZ 40 mM e 2 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM), foi homogeneizado em vórtex e incubado a 37° C por 30 minutos. Em seguida, foi realizada a leitura (595 nM) e utilizado o reagente FRAP como branco para calibrar o espectrofotômetro. A partir das absorbâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, foi plotado a absorbância no eixo Y e a diluição ( $\mu\text{mol. L}^{-1}$ ) no eixo X. Em seguida, foi determinado a equação da reta. Para calcular a atividade antioxidante, foi substituído na equação da reta a absorbância equivalente a 1.000  $\mu\text{M}$  do padrão sulfato ferroso. A partir do resultado encontrado (x) na equação, foi feita a divisão por 1.000 para ter o valor em gramas. O resultado final foi calculado pela divisão de 1.000 ( $\mu\text{M}$ ) pelo valor de X (g) e multiplicado por 1 (g) para encontrar o valor final (Z) que é expresso em  $\mu\text{M}$  sulfato ferroso.  $\text{g}^{-1}$  de extrato (RUFINO *et al.*, 2006).

### 4.8.2 Método ORAC-FL (*Oxygen Radical Absorbance Capacity using Fluorescein*)

Nessa etapa, foi realizado uma reação com tampão fosfato 75 mM (pH 7,4). 150  $\mu\text{L}$  de soluções de antioxidante (tampão e fluoresceína) foram colocadas no poço da microplaca, junto com 25  $\mu\text{L}$  da amostra. A mistura foi pré-incubada durante 10 minutos a 37°C. A solução de AAPH (25  $\mu\text{L}$ ; 12 mM, concentração final) foi adicionada rapidamente usando uma pipeta multicanal. A microplaca foi imediatamente colocada no leitor e a fluorescência registrada a cada minuto por 80 minutos. A microplaca foi agitada automaticamente antes de cada leitura. Um branco usando tampão fosfato em vez do extrato e sete soluções de calibração usando Trolox com diferentes concentrações como antioxidante também foi analisado na microplaca. Todas as misturas foram preparadas em triplicata.

Os dados brutos foram avaliados em uma planilha Excel para cálculos adicionais. Os valores ORAC – FL serão expressos como equivalentes de Trolox usando a curva padrão calculada para cada ensaio. Os resultados finais serão em  $\mu\text{mol}$  de equivalente de Trolox. $\mu\text{mol}^{-1}$  de composto puro para padrões fenólicos (DÁVALOS; GÓMEZ-CORDOVÉS; BARTOLOMÉ, 2004).

#### **4.8.3 Método ABTS**

A atividade antioxidante também foi avaliada pelo método ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) conforme descrito pela EMBRAPA (RUFINO *et al.*, 2007). O radical ABTS foi preparado pela reação da solução ABTS com a solução de persulfato de potássio 140 nm, incubados a temperatura de 25°C e no escuro, durante 12-16 h. Após, o radical foi diluído com etanol, até obtenção do valor de absorvância de  $0,700 \pm 0,020$  a 734 nm. O extrato da semente foi preparado em triplicata para cada amostra (n=11). Em ambiente escuro foi transferido uma alíquota de 20  $\mu\text{L}$  de cada solução de Trolox/ amostra para tubos de eppendorf e foi misturado com 2,4 mL da solução do radical ABTS. Foram incubados por 20 minutos em temperatura ambiente e protegidos da luz, após foram homogeneizados em vórtex. A leitura foi feita (734 nm) e utilizado álcool etílico como branco para calibrar o espectrofotômetro.

#### **4.9 Análise estatística do delineamento experimental**

A análise de dados para a otimização foi feita em software PROTIMIZA. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e todos os valores foram relatados como valores médios  $\pm$  desvio padrão. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) unidirecional. Análises de correlação entre compostos fenólicos e atividade antioxidante foram realizadas usando a correlação padrão de Pearson.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análise em UPLC-Orbitrap-MS/MS

Os resultados do alinhamento MSDIAL, após filtragem em branco, mostraram 67 compostos correspondentes no modo de ionização negativo e 42 compostos correspondentes no modo de ionização positivo com a base de dados MoNA utilizada. Após a curadoria dos dados e a aplicação dos critérios de filtragem, 42 compostos, considerando os modos de ionização positivo e negativo, foram identificados (Tabela 7). A maioria dos compostos identificados nos extratos, após filtragem, continuou apresentando ionização no modo negativo, como os compostos fenólicos que possuem grupos hidroxilas e/ou ácidos carboxílicos adequados para a desprotonação.

De acordo com a classificação de compostos fenólicos, foram encontrados dois taninos (ácido gálico [28] e ácido elágico [35]), quatro antocianidinas (Delfinidina-3-glucosídeo [31], Cianidina-3-O-galactosídeo [32], Cianidina-3-glucosídeo [33] e Pelargonidina-3-glucosídeo [34]), sendo estes os compostos antociânicos encontrados (todos os demais são não antociânicos), e três flavonoides (Hexosídeo de quercetina [36], Quercitrina [37] e Quercetina [38]).

Os ácidos orgânicos, como o cítrico e o gálico, assim como outros metabólitos primários (carboidratos, lipídios, aminoácidos e nucleotídeos), desempenham um importante papel nas reações metabólicas (ex: fotossíntese) e outros processos biossintéticos durante o desenvolvimento do fruto, sendo utilizado para estimar o grau de maturação, à medida que o fruto se desenvolve a concentração dos ácidos diminui). Estes metabólitos também possuem importante papel contra agentes bióticos, bem como influenciam nas propriedades sensoriais da fruta, contribuindo para o seu sabor ácido (STAFUSSA *et al.*, 2021).

**Tabela 7.** Compostos identificados considerando modos de ionização positivo e negativo no extrato metanólico de semente de jabuticaba.

| Nº | Evidência de Anotação              | Composto   | TR    | Fórmula  | Tipo de Aduto | Teórico (m/z) | Medido (m/z) | Erro (ppm) | ASC        |
|----|------------------------------------|--|-------|--|---------------|---------------|--------------|------------|------------|
| 01 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | Arginina   | 0,844 | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> | [M-H]-        | 173,10387     | 173,10428    | 2,369      | 16342719   |
|    |                                    |  | 0,841 |  | [M+H]+        | 175,11896     | 175,11916    | 1,142      | 311913546  |
| 02 | m/z, MSMS                          | Trietanolamina<br>(2,2',2"-<br>Nitrilotrietanoamina) | 0,865 | C <sub>6</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>               | [M+H]+        | 150,11299     | 150,11258    | -2,731     | 6876048    |
| 03 | m/z, MSMS                          | Ácido 4-aminobutírico                                | 0,897 | C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>                | [M+H]+        | 104,07088     | 104,07111    | 2,210      | 91905,5    |
| 04 | m/z, MSMS                          | Serina   | 0,923 | C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>                | [M-H]-        | 104,03532     | 104,03541    | 0,865      | 2329985    |
| 05 | m/z, MSMS                          | Ácido aspártico                                      | 0,940 | C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>4</sub>                | [M+H]+        | 134,04478     | 134,04497    | 1,417      | 91905,5    |
| 06 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | Ácido glutâmico ou<br>ácido metilaspártico           | 0,946 | C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>                | [M-H]-        | 146,04588     | 146,04579    | -0,616     | 9124613    |
| 07 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | 9-Fluorenona ou hexose                               | 0,986 | C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> O                             | [M-H]-        | 179,05550     | 179,05605    | 3,072      | 1733110942 |

**Tabela 7.** Compostos identificados considerando modos de ionização positivo e negativo no extrato metanólico de semente de jabuticaba (Continuação).

| Nº | Evidência de Anotação              | Composto  | TR    | Fórmula  | Tipo de Adueto   | Teórico (m/z) | Medido (m/z) | Erro (ppm) | ASC         |
|----|------------------------------------|---|-------|--|--|---------------|--------------|------------|-------------|
| 08 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | Ácido murâmico  | 0,989 | C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>7</sub>   | [M+H] <sup>+</sup>                                       | 252,10760     | 252,10783    | 0,912      | 3800309     |
| 09 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | 1,6-Anidro-B-glucose ou 1,5-Anidro-D-glucitol ou meglutol | 0,996 | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>    | [M+H] <sup>+</sup>                                       | 163,06010     | 163,06023    | 0,797      | 37046983    |
| 10 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | Volemitol ou perseitol                                    | 0,999 | C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>    | [M-H] <sup>-</sup>                                       | 211,08200     | 211,08223    | 1,090      | 12757007,5  |
| 11 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | Ácido D-glucônico   | 1,011 | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>    | [M-H] <sup>-</sup>                                       | 195,05051     | 195,05090    | 1,999      | 860187569,5 |
| 12 | m/z, MSMS                          | Di-hexose   | 1,03  | C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>  | [M+Na] <sup>+</sup><br>[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 365,10544     | 365,10559    | 0,411      | 21864076    |
| 13 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | Trigonelina ou ácido 4-aminobenzoico                      | 1,044 | C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>    | [M+H] <sup>+</sup>                                       | 138,05499     | 138,05519    | 1,449      | 165346082   |
| 14 | m/z, MSMS                          | Sn-glicerol-3-fosfolina                                   | 1,057 | C <sub>8</sub> H <sub>20</sub> NO <sub>6</sub> P | [M+H] <sup>+</sup>                                       | 258,11011     | 258,11041    | 1,162      | 22721032    |

**Tabela 7.** Compostos identificados considerando modos de ionização positivo e negativo no extrato metanólico de semente de jabuticaba (Continuação).

| Nº | Evidência de Anotação              | Composto   | TR    | Fórmula   | Tipo de Adueto     | Teórico (m/z) | Medido (m/z) | Erro (ppm) | ASC        |
|----|------------------------------------|--|-------|---|--------------------|---------------|--------------|------------|------------|
| 15 | m/z, MSMS                          | Isômero de L-valina  | 1,063 | C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>  | [M+H] <sup>+</sup> | 118,08621     | 118,08661    | 3,387      | 118947956  |
| 16 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | Ácido quínico ou quebrachitol ou metil-galactosídeo                                | 1,069 | C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>   | [M+H] <sup>+</sup> | 193,07066     | 193,07091    | 1,295      | 34808096   |
| 17 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | Palatinose ou celobiose ou maltose ou melibiose ou sacarose (Di-glicopiranosídeos) | 1,066 | C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> | [M-H] <sup>-</sup> | 341,10883     | 341,10864    | -0,557     | 120090280  |
| 18 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | Ácido múcico ou ácido galactárico ou ácido sacarídeo                               | 1,081 | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>   | [M-H] <sup>-</sup> | 209,03029     | 209,03009    | -0,957     | 12952587,5 |
| 19 | m/z, MSMS                          | Hexosídeo de ácido graxo 6:3+6O  | 1,093 | C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub> | [M-H] <sup>-</sup> | 353,07169     | 353,07236    | 1,898      | 6594796,5  |

**Tabela 7.** Compostos identificados considerando modos de ionização positivo e negativo no extrato metanólico de semente de jabuticaba (Continuação).

| Nº | Evidência de Anotação              | Composto   | TR    | Fórmula   | Tipo de Aduto | Teórico (m/z) | Medido (m/z) | Erro (ppm) | ASC         |
|----|------------------------------------|--|-------|---|---------------|---------------|--------------|------------|-------------|
| 20 | m/z, MSMS                          | Ácido cítrico  | 1,109 | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>    | [M-H]-        | 191,01973     | 191,01976    | 0,157      | 1144891617  |
| 21 | m/z, MSMS                          | (1R,21S,23R)-<br>6,7,8,11,12,13,22,<br>23-octahidroxi-3,16-<br>dioxo-2,17,20-<br>trioxatetraciclo<br>[17.3.1.0.0] tricoso-<br>4(9),5,7,10(15),11,1<br>3-hexen-21-yl 3,4,5-<br>trihidroxibenzoato | 1,119 | C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>18</sub> | [M-H]-        | 633,07336     | 633,07324    | -0,190     | 8395639     |
| 22 | m/z, MSMS                          | Ácido málico   | 1,142 | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>    | [M-H]-        | 133,01425     | 133,01419    | -0,451     | 339481970,5 |
| 23 | m/z, MSMS                          | Isômero de leucina   | 1,143 | C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>  | [M+H]+        | 132,10181     | 132,10217    | 2,725      | 26835409,5  |
| 24 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | Glucono-1,5-lactona<br>ou mio-inositol   | 1,212 | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>   | [M+H]+        | 179,05501     | 179,05519    | 1,005      | 19830875    |

**Tabela 7.** Compostos identificados considerando modos de ionização positivo e negativo no extrato metanólico de semente de jabuticaba (Continuação).

| Nº | Evidência de Anotação              | Composto                           | TR           | Fórmula   | Tipo de Aduto                            | Teórico (m/z)          | Medido (m/z)           | Erro (ppm)     | ASC                    |
|----|------------------------------------|------------------------------------|--------------|---|--|------------------------|------------------------|----------------|------------------------|
| 25 | m/z, MSMS                          | Fosfato de hexose                  | 1,219        | C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> O <sub>9</sub> P | [M+H] <sup>+</sup>                       | 261,03699              | 261,03720              | 0,804          | 33672748               |
|    |                                    |                                    | 1,225        | C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> O <sub>9</sub> P | [M-H] <sup>-</sup>                       | 259,02246              | 259,02237              | -0,347         | 63698776,5             |
| 26 | m/z, MSMS                          | Hexosídeo de ácido graxo 6:3+6O    | 1,26         | C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub> | [M-H] <sup>-</sup>                       | 353,07169              | 353,07239              | 1,983          | 2205147                |
| 27 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | Ácido cítrico ou ácido glucurônico | 1,5<br>1,605 | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>    | [M+H] <sup>+</sup><br>[M-H] <sup>-</sup> | 193,03427<br>191,01973 | 193,03456<br>191,01973 | 1,502<br>0,000 | 41191564<br>2802506382 |
| 28 | m/z, MSMS                          | Ácido gálico                       | 2,508        | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>    | [M-H] <sup>-</sup>                       | 169,01425              | 169,01419              | -0,355         | 20768618,5             |
| 29 | m/z, MSMS                          | L-fenilalanina                     | 3,529        | C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>  | [M+H] <sup>+</sup>                       | 166,08626              | 166,08643              | 1,024          | 42012884               |
| 30 | m/z, MSMS                          | Ácido 3,5-diidroxibenzoico         | 4,538        | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>    | [M-H] <sup>-</sup>                       | 153,01933              | 153,01930              | -0,196         | 737533,5               |
| 31 | m/z, RT standard                   | Delfinidina-3-glicosídeo           | 7,229        | C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub> | [M+H] <sup>+</sup>                       | 465,10330              | 465,10309              | -0,452         | 68357                  |

**Tabela 7.** Compostos identificados considerando modos de ionização positivo e negativo no extrato metanólico de semente de jabuticaba (Continuação).

| Nº | Evidência de Anotação  | Composto                   | TR     | Fórmula   | Tipo de Aduto                       | Teórico (m/z) | Medido (m/z) | Erro (ppm) | ASC       |
|----|------------------------|----------------------------|--------|---|-------------------------------------|---------------|--------------|------------|-----------|
| 32 | m/z, MSMS              | Cianidina-3-O-galactosídeo | 7,488  | C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub> | [M] <sup>+</sup>                    | 449,10730     | 449,10806    | 1,692      | 3913126   |
| 33 | m/z, MSMS, RT standard | Cianidina-3-glicosídeo     | 7,901  | C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub> | [M-H <sub>2</sub> O-H] <sup>-</sup> | 447,09277     | 447,09332    | 1,230      | 4376471   |
| 34 | m/z, RT standard       | Pelargonidina-3-glicosídeo | 8,636  | C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub> | [M+H] <sup>+</sup>                  | 433,11349     | 433,11307    | -0,970     | 0         |
| 35 | m/z, MSMS              | Ácido elágico              | 12,988 | C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub>   | [M-H] <sup>-</sup>                  | 300,99899     | 300,99905    | 0,199      | 356311202 |
| 36 | m/z, MSMS              | Hexosídeo de quercetina    | 13,555 | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub> | [M-H] <sup>-</sup>                  | 463,08801     | 463,08847    | 0,993      | 853771    |
| 37 | m/z, MSMS              | Quercitrina                | 14,166 | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub> | [M-H] <sup>-</sup>                  | 447,09329     | 447,09357    | 0,626      | 5928298   |
|    |                        |                            | 14,163 |   | [M+H] <sup>+</sup>                  | 449,10852     | 449,10809    | -0,957     | 4241277   |

**Tabela 7.** Compostos identificados considerando modos de ionização positivo e negativo no extrato metanólico de semente de jabuticaba (Continuação).

| Nº | Evidência de Anotação              | Composto  | TR      | Fórmula   | Tipo de Aduito | Teórico (m/z) | Medido (m/z) | Erro (ppm) | ASC       |
|----|------------------------------------|---|---------|---|----------------|---------------|--------------|------------|-----------|
| 38 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | Quercetina  | 15,2705 | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>    | [M-H]-         | 301,03510     | 301,03543    | 1,096      | 662596,5  |
| 39 | m/z, MSMS                          | Lisofosfatidilcolina<br>18:2 (LPC 18:2)                                 | 21,645  | C <sub>26</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>7</sub> P | [M+H]+         | 520,34082     | 520,34039    | -0,826     | 7462598,5 |
| 40 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | 1-(9Z,12Z-<br>Octadecadienoil-2-<br>hidroxi-sn-glicero-<br>3-fosfolina) | 21,752  | C <sub>26</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>7</sub> P | [M-H]-         | 564,32898     | 564,33020    | 2,162      | 1852838,5 |
| 41 | m/z, MSMS<br>( <i>non unique</i> ) | Lisofosfatidiletanol<br>amina LPE 16:0<br>(+)                           | 22,2765 | C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> NO <sub>7</sub> P | [M-H]-         | 452,27661     | 452,27826    | 3,648      | 6761365   |
| 42 | m/z, MSMS                          | Lisofosfatidilcolina<br>16:0 (LPC<br>(16:0/0:0))                        | 22,289  | C <sub>24</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>7</sub> P | [M+H]+         | 496,33981     | 496,34036    | 1,108      | 9199100   |

TR – Tempo de Retenção em minutos. ASC – Área sob a Curva. m/z - *mass-to-charge ratio* (Razão massa/carga de íons detectados. Ppm – Partes por Milhão.

Para efeito de comparação, Alezandro *et al.* (2013) e Hacke *et al.* (2016) também detectaram a presença de elagitaninos em sementes de jaboticaba. Albuquerque *et al.* (2019) analisaram o epicarpo de jaboticaba e apresentou um perfil fenólico constituído por 14 compostos fenólicos não antociânicos e dois antociânicos, sendo a cianidina-3-O-glucósido o composto mais abundante. Embora a polpa e a casca das frutas de jaboticaba sejam fontes ricas desses compostos, as sementes apresentam as maiores concentrações de ácido elágico (ALEZANDRO *et al.*, 2013).

## 5.2 Análise da composição centesimal

A semente de jaboticaba apresentou um teor de proteína de cerca de 11,19 g.100 g<sup>-1</sup>, superior ao encontrado por Paula (2016) para a casca de jaboticaba cv. Sabará (*Myrciaria jaboticaba* [Vell] Berg), com resultados de 9,82 ± 0,120 g.100 g<sup>-1</sup> de proteína. Obteve-se também cerca de 7,20 g.100 g<sup>-1</sup> de fibra bruta, sendo uma fonte potencial e econômica de fibras e proteínas, pois as sementes geralmente são descartadas pelas empresas alimentícias. Todos esses dados corroboram com os resultados anteriores obtidos para as sementes de jaboticaba cv. Sabará e Paulista (HACKE *et al.*, 2016; INADA *et al.*, 2015).

**Tabela 8.** Composição centesimal da semente de jaboticaba *in natura*.

| <b>Composição Centesimal (g.100 g<sup>-1</sup>) semente <i>in natura</i></b> |             |
|--|-------------|
| <b>Umidade</b>   | 73,8 ± 2,27 |
| <b>Lipídeos</b>  | 2,4 ± 0,48  |
| <b>Cinzas</b>  | 3,0 ± 0,20  |
| <b>Fibras</b>  | 7,2 ± 0,50  |
| <b>Proteína</b>  | 11,1 ± 3,19 |
| <b>Carboidratos</b>  | 2,3 ± 1,3   |

Resultados expressos em média ± desvio padrão para triplicatas.

## 5.3 Teor de fenólicos totais (*Total phenolic contente – TPC*)

Através do delineamento composto central rotacional utilizado para obter a melhor condição de extração, considerando concentração de solvente (x1) e tempo de extração (x2), obteve-se os rendimentos de compostos extraídos de sementes de jabuticaba. A Tabela 9 mostra os dados de compostos fenólicos totais dos extratos de semente de jabuticaba.

**Tabela 9.** Teor de compostos fenólicos totais dos extratos de semente de jabuticaba obtidos por diferentes concentrações de solvente e tempo de extração.

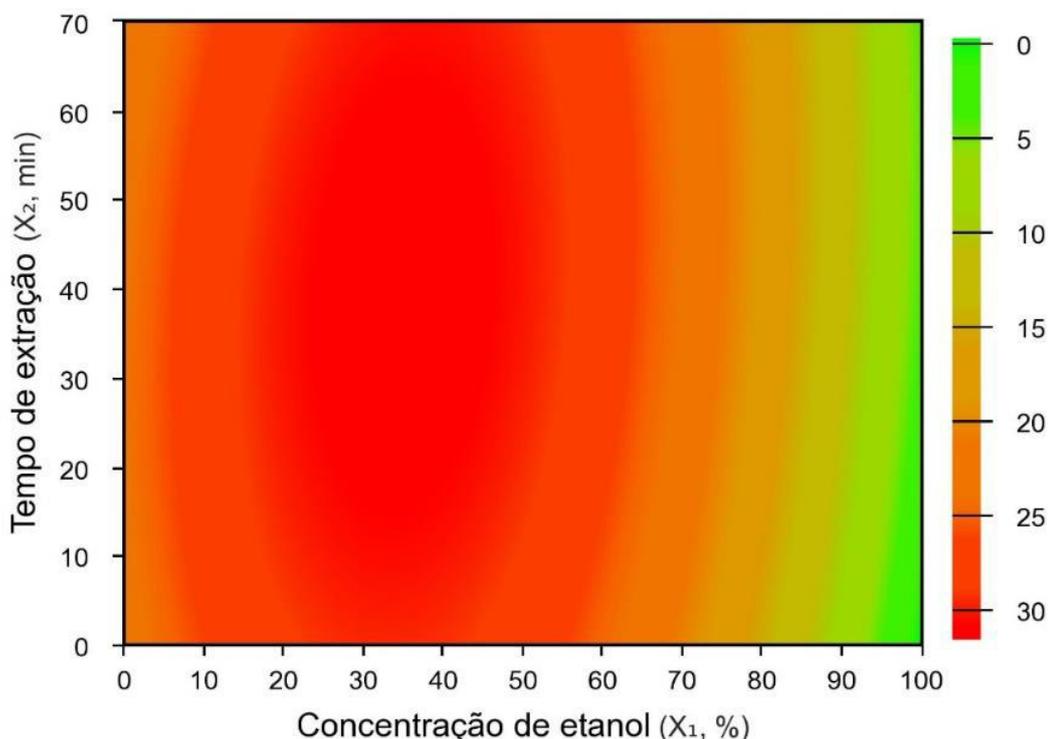
| Ensaio               | x1    | x2    | Solvente<br>(% etanol) | Tempo de extração<br>(min) | Fenólicos totais mg<br>AGE.100 g <sup>-1</sup> |
|----------------------|-------|-------|------------------------|----------------------------|--|
| 1                    | -1,00 | -1,00 | 21,63                  | 17,16                      | 2907,7   |
| 2                    | 1,00  | -1,00 | 78,37                  | 17,16                      | 1204,9   |
| 3                    | -1,00 | 1,00  | 21,63                  | 52,44                      | 2957,5   |
| 4                    | 1,00  | 1,00  | 78,37                  | 52,44                      | 1408,9   |
| 5                    | -1,41 | 0,00  | 10,00                  | 35,00                      | 2724,1   |
| 6                    | 1,41  | 0,00  | 90,00                  | 35,00                      | 1797,5   |
| 7                    | 0,00  | -1,41 | 50,00                  | 10,00                      | 3205,5   |
| 8                    | 0,00  | 1,41  | 50,00                  | 60,00                      | 3259,2   |
| 9                    | 0,00  | 0,00  | 50,00                  | 35,00                      | 2880,4   |
| 10                   | 0,00  | 0,00  | 50,00                  | 35,00                      | 3111,8   |
| 11                   | 0,00  | 0,00  | 50,00                  | 35,00                      | 3022,9   |
| <b>Dados ANOVA</b>   |       |       |                        |                            |  |
| <b>P&lt;0,10</b>     |       |       |                        | 0,03                       |  |
| <b>R<sup>2</sup></b> |       |       |                        | 76,85%                     |  |

Os dados de composição fenólica variaram de 1204,9 a 3259,2 mg AGE.100 g<sup>-1</sup> de semente, indicando uma eficácia significativa do sistema solvente. Comparativamente, Hacke *et al.* (2016) relataram maior teor, 8650 mg AGE.100 g<sup>-1</sup>, para o extrato de semente de jabuticaba. No entanto, teores semelhantes foram encontrados no trabalho de Fidelis *et al.* (2020), que variou de 2048 a 6551 mg AGE.100 g<sup>-1</sup> de semente de jabuticaba, onde avaliou diferentes solventes (água, etanol e propanona) em proporção 1:20 de amostra: solvente.

Os resultados corroboram com os dados obtidos por Paludo *et al.*, (2019), onde a melhor mistura de solventes para a extração de TPC de sementes de jabuticaba foi 60% etanol, e no presente resultado, o ensaio 8 (50% de etanol por 50 minutos de extração) apresentou maior teor de compostos fenólicos totais.

Pela análise estatística pode-se observar que a concentração de solvente apresentou efeito significativo (P<0,10) na extração de TPC dos extratos de semente

de jabuticaba. Extrato com 50% de etanol apresentou maior TPC, quando comparado aos demais ensaios. Com essa diferença pode-se inferir a influência da concentração de etanol no processo. A Figura 7 apresenta o gráfico de superfície de resposta, onde pode-se melhor observar os resultados.



**Figura 7.** Contorno dos efeitos da concentração de solvente e tempo de extração no teor de fenólicos totais (TPC).

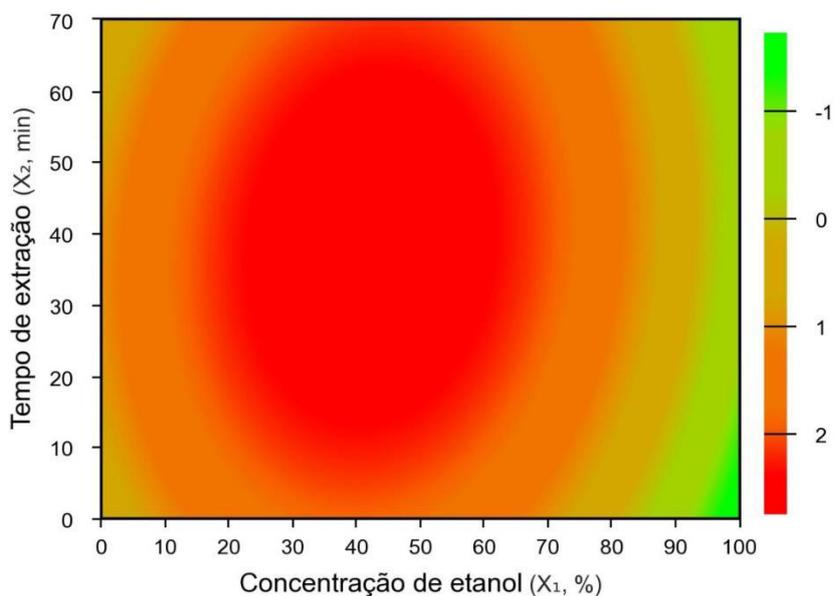
#### 5.4 Teor de Flavonoides Totais (*Total flavonoids content* - TFC)

A Tabela 10 mostra os dados de TFC dos extratos de semente de jabuticaba. O teor de flavonoides variou de 61,91 a 282,86 mg CE.100 g<sup>-1</sup> da amostra, indicando uma eficácia significativa do solvente. Fidelis *et al.* (2020) relataram teores maiores, 278 a 2314 mg CE.100 g<sup>-1</sup> de semente, para o extrato de semente de jabuticaba utilizando solventes diferentes (água, etanol e propanona) e indicaram que o extrato possui comportamento hidrofílico, com perfil fenólico. Segundo Inada *et al.* (2015), os principais flavonoides detectados na semente de jabuticaba são as antocianinas (delfinidina, cianidina) e derivados da quercetina. Dentre os flavonoides identificados no extrato, o hexosídeo de quercetina (Tabela 7), por conter ligação com um açúcar (hexose), aumentaria sua capacidade hidrofílica, devido a capacidade dos grupos hidroxilas dos açúcares formar pontes de hidrogênio, tendo maior afinidade pela fase aquosa do etanol 50%.

Os dados estatísticos mostram que a concentração de solvente apresentou efeito significativo ( $P < 0,10$ ) na extração de flavonoides dos extratos de semente de jabuticaba. Os ensaios com 50% de etanol e apresentaram maior TFC. Com isso, a diferença entre os valores determinados pode ser atribuída à concentração de etanol utilizada para a extração, pois a diferença do tempo não foi significativa. A Figura 8 mostra os gráficos de superfície de resposta para as variáveis de resposta.

**Tabela 10.** Teor de flavonoides totais de extratos de semente de jabuticaba obtidos por diferentes concentrações de solvente.

| Ensaio               | x1    | x2    | Solvente<br>(% etanol) | Tempo de<br>extração (min) | Flavonoides totais mg<br>CE.100 g <sup>-1</sup> |
|----------------------|-------|-------|------------------------|----------------------------|---|
| 1                    | -1,00 | -1,00 | 21,63                  | 17,27                      | 192,82  |
| 2                    | 1,00  | -1,00 | 78,37                  | 17,27                      | 61,91   |
| 3                    | -1,00 | 1,00  | 21,63                  | 52,73                      | 199,69  |
| 4                    | 1,00  | 1,00  | 78,37                  | 52,73                      | 97,19   |
| 5                    | -1,41 | 0,00  | 10,00                  | 35,00                      | 185,58  |
| 6                    | 1,41  | 0,00  | 90,00                  | 35,00                      | 100,00  |
| 7                    | 0,00  | -1,41 | 50,00                  | 10,00                      | 254,63  |
| 8                    | 0,00  | 1,41  | 50,00                  | 60,00                      | 273,63  |
| 9                    | 0,00  | 0,00  | 50,00                  | 35,00                      | 256,80  |
| 10                   | 0,00  | 0,00  | 50,00                  | 35,00                      | 269,29  |
| 11                   | 0,00  | 0,00  | 50,00                  | 35,00                      | 282,86  |
| <b>Dados ANOVA</b>   |       |       |                        |                            |   |
| <b>P&lt;0,10</b>     |       |       |                        | 0,04                       |   |
| <b>R<sup>2</sup></b> |       |       |                        | 83,25%                     |   |



**Figura 8.** Contorno dos efeitos da concentração de solvente e tempo de extração no teor de flavonoides totais.

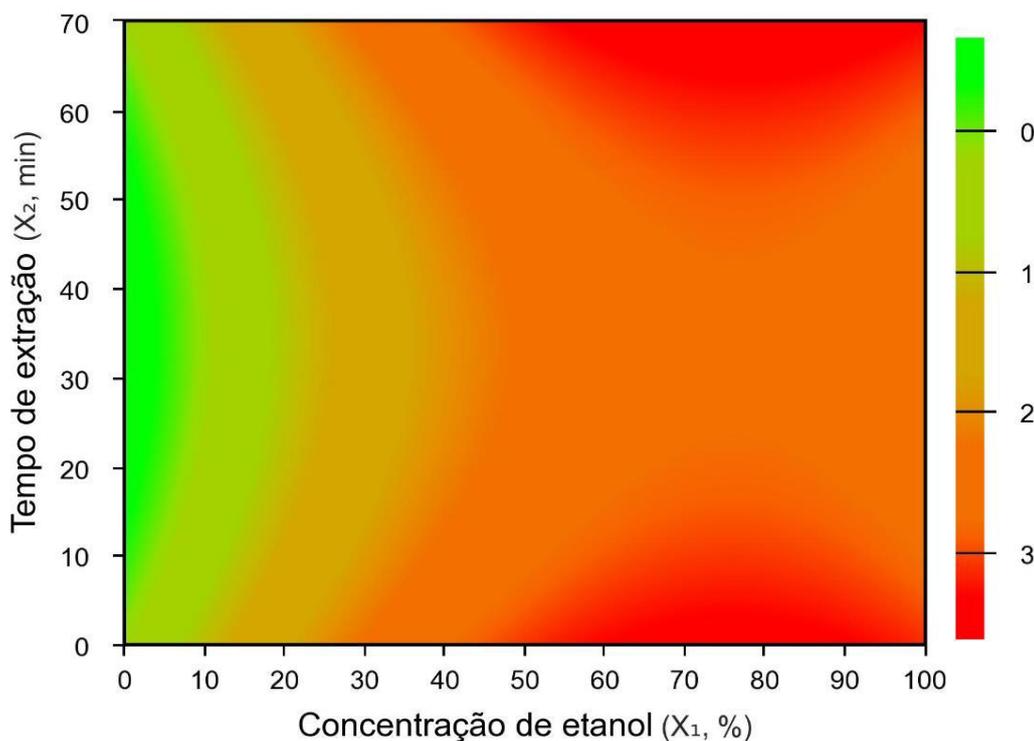
### 5.5 Teor de tanino condensado (TC)

O TC variou de 43,44 a 326,88 mg CE.100 g<sup>-1</sup> de semente (Tabela 11). A extração máxima foi obtida com solvente a 78,37% etanol e 52,73 minutos de extração (ensaio 4), sugerindo que o solvente com maior teor etanólico e em um maior tempo de extração atingiu os maiores valores de compostos. Alezandro *et al.* (2013) relataram valores até 10 vezes menores em sementes de jaboticaba (*M. cauliflora* cv. Paulista e *M. jaboticaba* cv. Sabará), 10 mg CE.100 g<sup>-1</sup> e 15 mg CE.100 g<sup>-1</sup>, respectivamente. Apesar disso, Fidelis *et al.*, (2020) relatou que solventes orgânicos aquosos com diferentes polaridades aumentam a eficiência do processo de extração, pois podem extrair diferentes classes de compostos.

**Tabela 11.** Dados de teor de taninos condensados do extrato de semente de jabuticaba.

| Ensaio               | x1    | x2    | Solvente<br>(% etanol) | Tempo de<br>extração (min) | Teor de taninos<br>mg CE.100 g <sup>-1</sup> amostra |
|----------------------|-------|-------|------------------------|----------------------------|--|
| 1                    | -1,00 | -1,00 | 21,63                  | 17,27                      | 84,6   |
| 2                    | 1,00  | -1,00 | 78,37                  | 17,27                      | 292,9  |
| 3                    | -1,00 | 1,00  | 21,63                  | 52,73                      | 79,9   |
| 4                    | 1,00  | 1,00  | 78,37                  | 52,73                      | 326,8  |
| 5                    | -1,41 | 0,00  | 10,00                  | 35,00                      | 43,4   |
| 6                    | 1,41  | 0,00  | 90,00                  | 35,00                      | 231,2  |
| 7                    | 0,00  | -1,41 | 50,00                  | 10,00                      | 285,7  |
| 8                    | 0,00  | 1,41  | 50,00                  | 60,00                      | 257,8  |
| 9                    | 0,00  | 0,00  | 50,00                  | 35,00                      | 226,3  |
| 10                   | 0,00  | 0,00  | 50,00                  | 35,00                      | 238,7  |
| 11                   | 0,00  | 0,00  | 50,00                  | 35,00                      | 221,2  |
| <b>Dados ANOVA</b>   |       |       |                        |                            |  |
| <b>P&lt;0,10</b>     |       |       |                        | 0,003                      |  |
| <b>R<sup>2</sup></b> |       |       |                        | 94,58%                     |  |

A concentração de solvente para a extração de taninos condensados apresentou grande efeito significativo ( $p < 0,10$ ), considerando que os solventes mais aquosos apresentaram os menores valores como o ensaio 5 (solvente com 10% etanol e 35 minutos de extração). Nesta análise a diferença no tempo também foi significativa, observando que o maior tempo obteve também o maior valor encontrado, conforme a Figura 9.



**Figura 9.** Contorno dos efeitos da concentração de solvente e tempo de extração no teor de taninos condensados.

### 5.6 Determinação do teor de antocianinas monoméricas

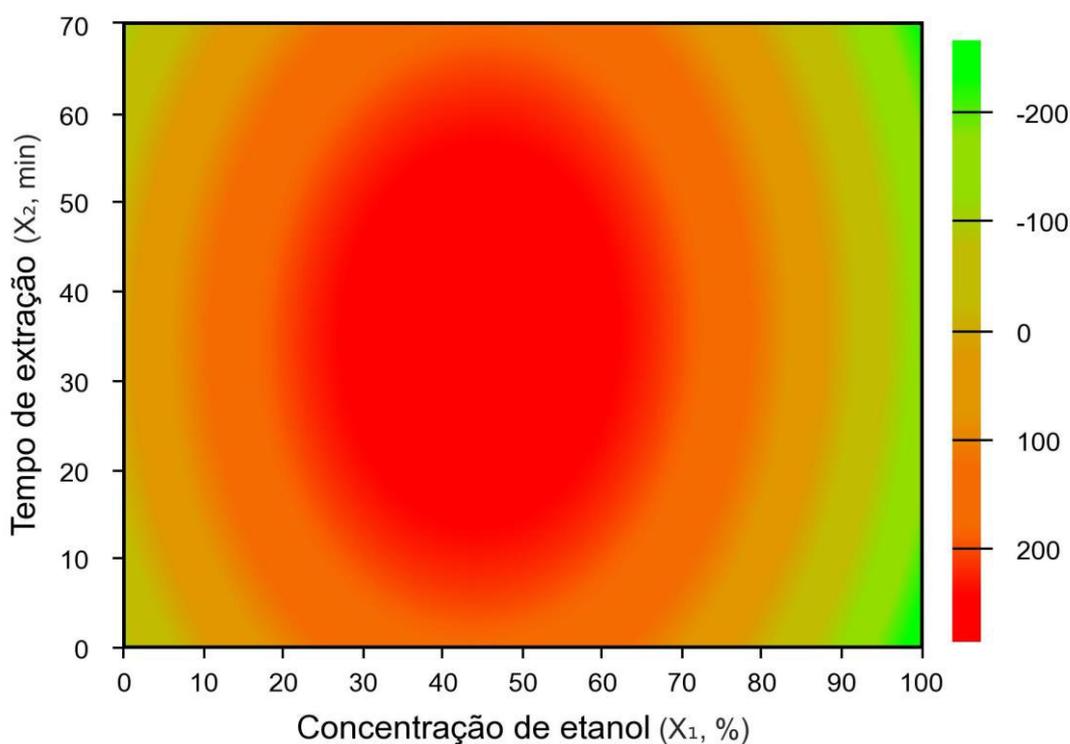
O teor de antocianinas teve uma variação de 4,47 a 289,45 mg cianidina-3-glicosídeo (C3G).  $\text{g}^{-1}$  de amostra. A melhor condição para a extração desse composto bioativo foi com solvente a 50 % de etanol e 35 minutos de extração. Porém, quando a condição foi a concentração maior de etanol, obteve-se resultados inferiores, como por exemplo, no ensaio 2, com 78,37% de etanol e 17 minutos de extração. Sugerindo que o solvente com teor etanólico de 50% e podendo variar o tempo de 17 a 60 minutos de extração, pode obter bons resultados para esta análise.

A Tabela 12 mostra os dados de teor de antocianinas totais em extratos de semente de jabuticaba, seguido pela Figura 10 com o gráfico da superfície de resposta.

Silva (2010), analisando a casca de jabuticaba obteve 48,06  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  de amostra. Cipriano (2011) comparando a casca de jabuticaba e a polpa do açaí, encontrou os valores de 80,17  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  e 74,28  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  de amostra fresca, respectivamente, utilizando solvente hidroetanólico com diferentes concentrações. Quando comparado com outros resíduos de frutas brasileiras, o teor de antocianinas na casca de uva e resíduo de juçara foi de 7,9 e 11,54  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  de extrato (GARCIA *et al.*, 2019; PEIXOTO *et al.*, 2018).

**Tabela 12.** Teor de antocianinas totais dos extratos de semente de jabuticaba.

| Ensaio               | x1    | x2    | Solvente<br>(% etanol) | Tempo de<br>extração (min) | Antocianinas mg C3G. g <sup>-1</sup><br>de amostra |  |
|----------------------|-------|-------|------------------------|----------------------------|--|--|
| 1                    | -1,00 | -1,00 | 21,63                  | 17,27                      | 162,9  |  |
| 2                    | 1,00  | -1,00 | 78,37                  | 17,27                      | 4,7  |  |
| 3                    | -1,00 | 1,00  | 21,63                  | 52,73                      | 163,   |  |
| 4                    | 1,00  | 1,00  | 78,37                  | 52,73                      | 18,6   |  |
| 5                    | -1.41 | 0,00  | 10,00                  | 35,00                      | 125,1  |  |
| 6                    | 1.41  | 0,00  | 90,00                  | 35,00                      | 96,4   |  |
| 7                    | 0,00  | -1,41 | 50,00                  | 10,00                      | 281,5  |  |
| 8                    | 0,00  | 1,41  | 50,00                  | 60,00                      | 276,1  |  |
| 9                    | 0,00  | 0,00  | 50,00                  | 35,00                      | 275,8  |  |
| 10                   | 0,00  | 0,00  | 50,00                  | 35,00                      | 289,4  |  |
| 11                   | 0,00  | 0,00  | 50,00                  | 35,00                      | 281,7  |  |
| <b>Dados ANOVA</b>   |       |       |                        |                            |  |  |
| <b>P&lt;0,10</b>     |       |       |                        | 0,14                       |  |  |
| <b>R<sup>2</sup></b> |       |       |                        | 73,22 %                    |  |  |

**Figura 10.** Gráficos de contorno dos efeitos do tipo de solvente no teor de antocianinas monoméricas.

### 5.7 Atividade Antioxidante

A Tabela 13 mostra os dados de teor da atividade antioxidante de acordo com as variáveis propostas, concentração de solvente e tempo de extração, e as Figuras 11, 12 e 13 mostram os gráficos de superfícies de resposta para esta análise pelos diferentes métodos.

**Tabela 13.** Teor da atividade antioxidante em diferentes métodos, de acordo a concentração de solvente e tempo de extração.

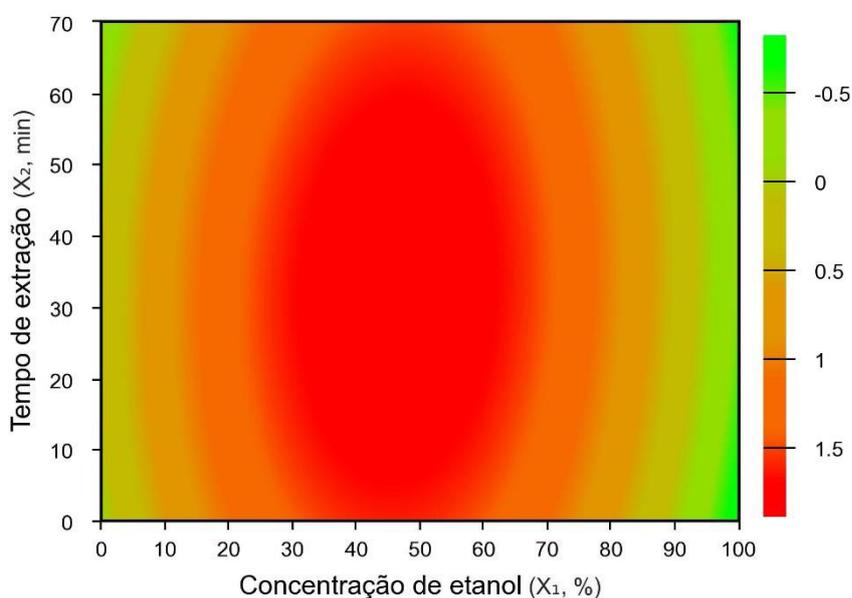
| Ensaio               | x1        | x2        | Solvente<br>(% etanol) | Tempo de<br>extração (min) | FRAP                     | ABTS                          | ORAC    |
|----------------------|-----------|-----------|------------------------|----------------------------|--------------------------|-------------------------------|---------|
|                      |           |           |                        |                            | $\mu\text{M SF. g}^{-1}$ | $\mu\text{mol TE.100 g}^{-1}$ |         |
| 1                    | -100      | -<br>1,00 | 21,63                  | 17,27                      | 42838,39                 | 142,47                        | 14581,3 |
| 2                    | 1,00      | -<br>1,00 | 78,37                  | 17,27                      | 16167,86                 | 52,62                         | 4750,1  |
| 3                    | -<br>1,00 | 1,00      | 21,63                  | 52,73                      | 9885,77                  | 140,82                        | 19174,8 |
| 4                    | 1,00      | 1,00      | 78,37                  | 52,73                      | 14606,43                 | 62,77                         | 9640,0  |
| 5                    | -<br>1,41 | 0,00      | 10,00                  | 35,00                      | 82910,33                 | 58,14                         | 14372,8 |
| 6                    | 1,41      | 0,00      | 90,00                  | 35,00                      | 22813,93                 | 85,76                         | 9066,1  |
| 7                    | 0,00      | -<br>1,41 | 50,00                  | 10,00                      | 9402,97                  | 196,34                        | 3971,0  |
| 8                    | 0,00      | 1,41      | 50,00                  | 60,00                      | 12004,70                 | 177,38                        | 16438,5 |
| 9                    | 0,00      | 0,00      | 50,00                  | 35,00                      | 23833,16                 | 188,14                        | 20402,2 |
| 10                   | 0,00      | 0,00      | 50,00                  | 35,00                      | 23269,90                 | 186,48                        | 20352,6 |
| 11                   | 0,00      | 0,00      | 50,00                  | 35,00                      | 24235,49                 | 191,60                        | 20622,0 |
| <b>Dados ANOVA</b>   |           |           |                        |                            |                          |                               |         |
| <b>P&lt;0,010</b>    |           |           |                        |                            | 0,08                     | 0,03                          | 0,007   |
| <b>R<sup>2</sup></b> |           |           |                        |                            | 79,63                    | 78,95                         | 92,72   |

As melhores condições de extração mediante as respostas de capacidade antioxidante foram os ensaios 5 (10% de etanol com 35 minutos de extração) para o método FRAP, ensaio 7 (50% de etanol com 10 minutos de extração) para o método ABTS e as condições centrais (ensaios 9, 10 e 11) com 50% de etanol e 35 minutos de extração para o método ORAC.

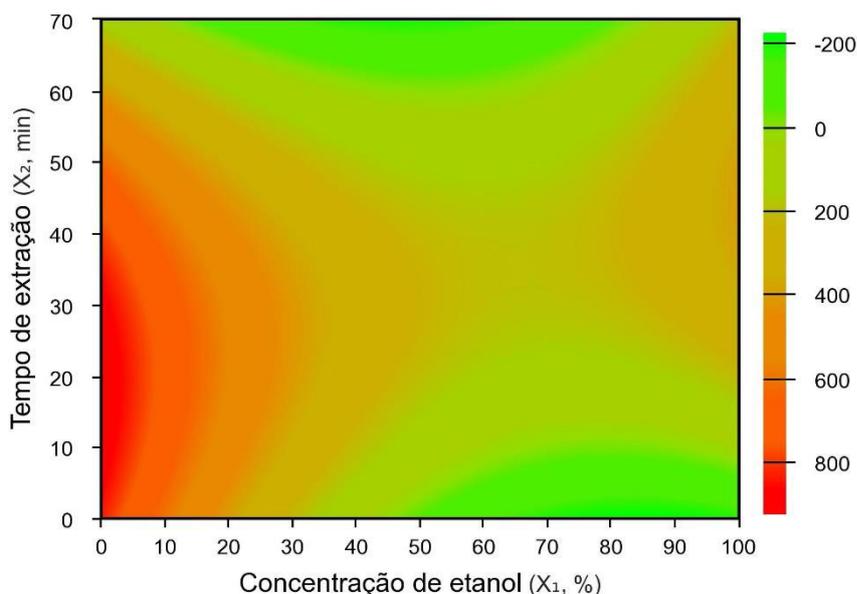
Fidelis *et al.* (2020) encontraram pelo método de ORAC valor de  $41632 \pm 71$  mg CE.100 g<sup>-1</sup> amostra de extrato otimizado de sementes de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* [Mart.] O.Berg) liofilizado. Inada *et al.* (2015) encontram valores pelo método ORAC de 65,4, 82,7, 5,6 e 36,3  $\mu\text{mol TE.100 g}^{-1}$  para sementes, casca, polpa e fruta

inteira de jabuticaba, respectivamente. Valores inferior ao encontrado na presente pesquisa (Tabela 13).

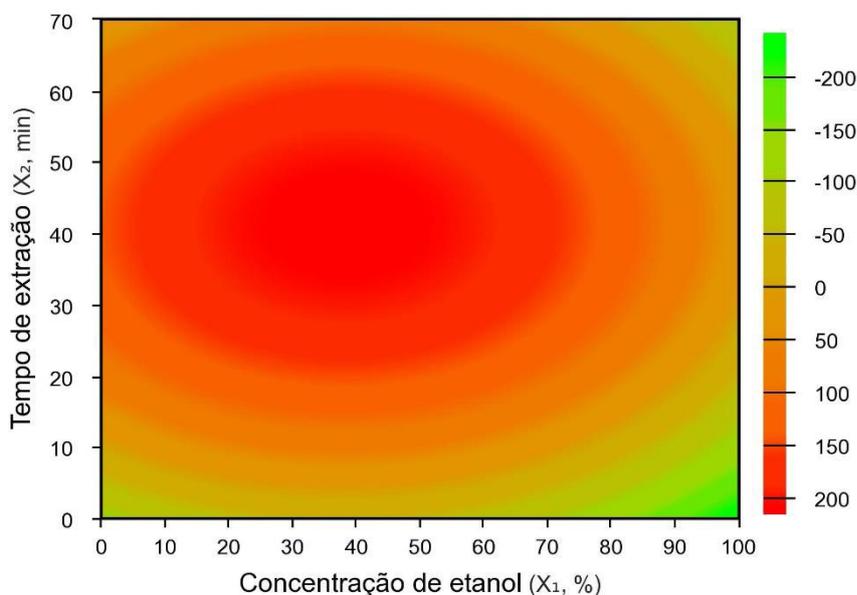
A atividade antioxidante também pode variar de acordo com o estágio de maturação. Alezandro *et al.* (2013) mostra que a amadurecimento completo da jabuticaba resultou em queda de 67% na capacidade redutora do Folin–Ciocalteu de frutas verdes. Segundo Alezandro *et al.* (2013) as sementes possuem maior atividade antioxidante quando comparado com a casca e a polpa, independentemente do método utilizado. Esses resultados possuem elevada importância já que as sementes são resíduos descartados, e como demonstrado, seu potencial antioxidante é relevante para estudos com sua aplicação e utilização.



**Figura 11.** Contorno dos efeitos da concentração de solvente tempo de extração na atividade antioxidante pelo método ABTS.



**Figura 12.** Contorno dos efeitos da concentração de solvente e tempo na extração na atividade antioxidante pelo método FRAP.



**Figura 13.** Contorno dos efeitos da concentração de solvente e tempo de extração na atividade antioxidante pelo método ORAC.

### 5.8 Eficiência da extração

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que a eficiência da extração depende significativamente da concentração do solvente utilizado. O conteúdo fenólico apresentou os maiores valores no ensaio 8 (Tabela 9) com 50% de etanol e 60 minutos de extração, enquanto os menores valores foram observados no ensaio 2 (Tabela 9) com 78,37% de etanol e 17,16 minutos de extração. Isso indica que concentrações de etanol entre de 50% e 78,37% com tempos de extração inferiores a 35 minutos podem reduzir a eficiência da extração de compostos fenólicos.

Similarmente, na análise do teor de flavonoides totais, verificou-se que o aumento da concentração de etanol diminui os valores de flavonoides, conforme observado nos ensaios 2, 4 e 6 (Tabela 10) com 78,37% e 90% de etanol.

No contexto da literatura, Barbosa, Paes e Pereira (2016) discutem que a polaridade do composto na matriz é o fator mais determinante na escolha do solvente, juntamente com a afinidade molecular entre solvente e soluto, transferência de massa, segurança ambiental, toxicidade para humanos e viabilidade financeira. Oliveira (2014) complementa que metanol, acetona, etanol e água são frequentemente utilizados devido à sua polaridade, resultando em maior afinidade com compostos fenólicos. Fidelis *et al.* (2020) indicaram que o maior teor de flavonoides totais obtidos em seus experimentos com concentrações diferentes de três solventes (água, etanol e propanona), foi na mistura ternária, indicando, portanto, um comportamento hidrofílico dos compostos fenólicos, sendo em seus estudos as antocianinas (delfinidinas e cianidinas) e os derivados de quercetina, os principais flavonoides detectados na semente de jabuticaba. A polaridade do solvente é essencial para determinar o teor de compostos na matriz vegetal (WOLFF; SILVEIRA, LAZZAROTTO, 2019).

A literatura ainda indica que a temperatura pode ser um fator importante a ser estudado, pois favorece a extração de fenólicos, aumentando sua solubilidade e difusão dos compostos e diminuindo a viscosidade dos solventes (TOLFO, 2019). Tabaraki, Heidarizadi e Benvidi (2012) demonstraram que temperaturas entre 52 °C e 67 °C podem aumentar a porosidade na parede celular, facilitando a permeabilidade do solvente e a liberação do conteúdo intracelular. No entanto, temperaturas muito elevadas podem degradar compostos fenólicos.

Quanto a eficiência de extração dos taninos condensados, teores maiores de etanol (50%, 78,37% e 90%) apresentaram melhores resultados (Tabela 11), ao contrário as análises de TPC e TFC. Isso sugere então uma afinidade maior dos taninos pela fase alcóolica da solução de etanol. Diferente deste estudo, Hacke *et al.* (2016), observaram maior eficiência de extração de taninos utilizando-se por extrato a propanona.

Na análise de antocianinas monoméricas, os ensaios (7 a 11) com 50% de etanol (Tabela 12) apresentaram maiores teores, similarmente aos fenólicos e flavonoides. Santos *et al.* (2010) indicam que solventes acidificados podem melhorar a extração de antocianinas e estabilizá-las, prevenindo degradação e oxidação.

Na análise de capacidade antioxidante pelos ensaios FRAP, ABTS e ORAC, semelhante aos resultados dos fenólicos e flavonoides, os ensaios 9, 10 e 11 com

50% de etanol e 35 minutos de extração (Tabela 13) apresentaram os maiores valores, sendo o tempo uma variável que fez diferença nesta análise. Podendo-se então inferir uma relação entre a capacidade antioxidante e os compostos fenólicos presentes na matriz (PIOVESAN, 2016).

Quanto a variável tempo de extração, outros estudos apresentaram sua influência, como Oliveira *et al.* (2015), em sua otimização encontrando 20 minutos como o ideal para a extração de polifenóis em folhas de mandioca com ultrassom. Porto, Porretto e Decorti (2013), alcançaram melhores rendimentos em semente de uva após 15 minutos de ultrassom. He *et al.* (2016), apresentaram melhores resultados na extração de antocianinas e compostos fenólicos em 23,67 minutos com ultrassom assistido. Corroborando com a literatura, os resultados do presente estudo indicaram 35 minutos como o melhor tempo de extração etanólica em sementes de jabuticaba para fenólicos, flavonoides, antocianinas e atividade antioxidante.

## 6. CONCLUSÃO

As sementes de jabuticaba são potencial fonte de compostos bioativos, tendo a extração de seus compostos como potencial aplicação pelas indústrias alimentícias e farmacêuticas.

O perfil fenólico avaliado por UPLC-Orbitrap-MS/MS apresentaram presença de taninos (ácido gálico e ácido elágico), compostos antociânicos, as antocianidinas (Delfidina-3-glucosídeo, Cianidina-3-O-galactosídeo, Cianidina-3-glucosídeo e Perlagonidina-3-glucosídeo) e flavonoides (Hexosídeo de quercertina, Quercitrina e Quercetina), dentre os 42 compostos identificados, além de uma maior frequência de identificação do ácido elágico, condizente com o reportado na literatura.

O delineamento do composto central rotacional (DCCR) utilizado indicou uma potencial otimização do extrato de semente de jabuticaba em relação as variáveis tempo de extração e concentração de etanol, com relação aos y repostas de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, antocianinas monoméricas, taninos condensáveis e capacidade antioxidante por três métodos (FRAP, ABTS e ORAC), sendo os ensaios com concentração de etanol de 50% os que obtiveram maiores teores na recuperação de compostos fenólicos e potencial antioxidante, sendo que a maioria das análises não apresentaram diferença significativa em relação ao tempo de extração nos ensaios. Somente a análise do teor de taninos condensados obteve-se maiores teores nos ensaios com solvente a 78,37% e 52,73 minutos de extração.

Os extratos de semente de jabuticaba otimizado possuem elevado potencial de aplicação com seu rico perfil fenólico podendo agregar nas indústrias alimentícias e farmacêuticas devido aos seus benefícios à saúde descritos na literatura. O uso do etanol possui vantagens por ser extração mais sustentável, com solvente não tóxico e que consome menos energia, apresentando alternativas econômicas, inovadoras e ecológicas para as indústrias, protegendo não somente os consumidores como o meio ambiente.

## REFERÊNCIAS

- AIYER, H. S.; WARRI, A. M.; WOOD, D. R.; HILAKIVI-CLARKE, L.; CLARKE, R. Influence of berry polyphenols on receptor signaling and cell-death pathways: Implications for breast cancer prevention. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 23, p. 5693–5708, 2012. <https://doi.org/10.1021/jf204084f>
- ALBUQUERQUE, B. R.; CALHELHA, R. C.; PEREIRA, C.; PIRES, T. C. S.; BARROS, L.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; FERREIRA, I. C. F. R. Perfil fenólico e propriedades bioativas do epicarpo de jaboticaba. **Anais. XXV Encontro Galego Português de Química**, 2019. <http://hdl.handle.net/10198/24055>
- ALBUQUERQUE, B. R.; PEREIRA, C.; CALHELHA, R. C.; ALVES, M. J.; ABREU, R. M. V.; BARROS, L.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; FERREIRA, I. C. F. R. Jaboticaba residues (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) are rich sources of valuable compounds with bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 309, p. 125735, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125735>
- ALEZANDRO, M. R.; DUBÉ, P.; DESJARDINS, Y.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 468–477, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.018>
- AOAC - Association Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18th ed., rev.3, Gaithersburg: AOAC, 2010.
- ARAPITSAS, P. Hydrolyzable tannin analysis in food. **Food Chemistry**, v.135, n.3, p.1708-1717, dez. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.096>
- ARRUDA, H. S.; SILVA, E. K.; PEREIRA, G. A.; ANGOLINI, C. F. F.; EBERLIN, M. N.; MEIRELES, M. A. A.; PASTORE, G. M. Effects of high-intensity ultrasound process parameters on the phenolic compounds recovery from araticum peel. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 50, p. 82–95, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.09.002>
- BARBOSA, N. A.; PAES, M. C. D.; PEREIRA, J. Influência da temperatura e do solvente na obtenção de extrato de milho de grãos pretos. **Anais. XXXI Congresso Nacional de Milho e sorgo**, v. 1, n. 1, p. 1841–1845, Bento Gonçalves – RS, 2016.
- BASEGGIO, A. M.; NUÑEZ, C. E. C.; DRAGANO, N. R. V.; LAMAS, C. A.; BRAGA, P. A. C.; LENQUISTE, S. A.; REYES, F. G. R.; CAGNON, V. H. A.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Jaboticaba peel extract decrease autophagy in white adipose tissue and prevents metabolic disorders in mice fed with a high-fat diet. **PharmaNutrition**, v. 6, n. 4, p. 147-156, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2018.06.006>
- BATISTA, Â. G.; LEITE-LEGATTI, A. V.; LIMA, M. C. G.; PRADO, M. A.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Effects of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel on blood glucose and cholesterol levels in healthy rats. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 37, 2014a. <https://doi.org/10.5897/AJB2014.14013>
- BATISTA, Â. G.; LENQUISTE, S. A.; CEZARIN, C. B. B.; SILVA, J. K.; LUIZ-FERREIRA, A.; BOGUSZ JÚNIOR, S.; HANTAO, L. W.; SOUZA, R. N.; AUGUSTO, F.; PRADO, M. A.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Intake of jaboticaba peel attenuates oxidative stress in tissues and reduces circulating saturated lipids of rats with high-fat diet-induced obesity. **Journal of Functional Foods**, v. 6, n. 1, 2014b. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.11.011>
- BATISTA, Â. G.; SILVA-MAIA, J. K.; MENDONÇA, M. C. P.; SOARES, E. S.; LIMA, G. C.; BOGUSZ JÚNIOR, S.; CRUZ-HÖFLING, M. A.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Jaboticaba berry peel intake increases short chain fatty acids production and prevent

- hepatic steatosis in mice fed high-fat diet. **Journal of Functional Foods**, v. 48, p. 266–274, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.07.020>
- BATISTA, Â. G.; SOARES, E. S.; MENDONÇA, M. C.; DA SILVA, J. K.; DIONÍSIO, A. P., SARTORI, C. R.; MAROSTICA JUNIOR, M. R. Jaboticaba berry peel intake prevents insulin-resistance-induced tau phosphorylation in mice. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 61, n. 10, 2017. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600952>
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v.37, n.8, p.911-917. 1959.
- BOX, G. E. P.; WILSON, K. B. On the experimental attainment of optimum conditions. In: KOTZ, S.; JOHNSON, N. L. (Eds.) **Breakthroughs in statistics: methodology and distribution**. New York, NY: Springer New York, 1992. p. 270-310. [https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4380-9\\_23](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4380-9_23)
- BOX, G. E. P.; WILSON, K. B. On the experimental attainment of optimum conditions. **Journal of the Royal Statistical Society**, v. 13, p. 1-45, 1951.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº. 398, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da União**, 03 de maio de 1999.
- CARMO, M. A. V. FIDELIS, M.; OLIVEIRA, P. F.; FEITOZA, L. Q.; MARQUES, M. J.; FERREIRA, E. B.; OH, W. Y.; SHAHIDI, F.; HELLSTRÖM, J.; ALMEIDA, L. A.; NOVAES, R. D.; GRANATO, D.; AZEVEDO, L. Ellagitannins from jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) seeds attenuated inflammation, oxidative stress, aberrant crypt foci, and modulated gut microbiota in rats with 1,2 dimethyl hydrazine-induced colon carcinogenesis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 154, p. 112287, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112287>
- CIPRIANO, P. **Antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea* mart.) e casca de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) na formulação de bebidas isotônicas**. 2011. 131f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2011.
- CITADIN, I.; DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z. Jaboticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010000200001>
- COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais: Componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. 2° ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2016. 504 p.
- CUNHA, M. G. DA. **Avaliação do efeito de extratos de compostos fenólicos da jaboticaba Sabará (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg) administrados a camundongos C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica com alto teor de sacarose**. 2016. 51p. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2016. <https://doi.org/10.11606/D.9.2016.tde-26092016-124429>
- DÁVALOS, A.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Extending Applicability of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC–Fluorescein) Assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 48–54, 2004. <https://doi.org/10.1021/jf0305231>
- DRAGANO, N. R. V.; MARQUES, A. C.; CINTRA, D. E. C.; SOLON, C.; MORARI, J.; LEITE-LEGATTI, A. V.; VELLOSO, L. A.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Freeze-dried jaboticaba peel powder improves insulin sensitivity in high-fat-fed mice. **British**

**Journal of Nutrition**, v. 110, n. 3, p. 447–455, 2013.

<https://doi.org/10.1017/S0007114512005090>

FERNANDES, L. L.; SILVA, B. M. Alimento funcional: Propriedades da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Revista Farol**, v. 6, n. 6, p. 49-60, 2018.

<https://revista.farol.edu.br/index.php/farol/article/view/93/0>

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Medica Brasileira**, 43: 61-68, 1997.

FIDELIS, M. MOURA, C.; KABBAS JÚNIOR, T.; PAP, N.; MATTILA, P, MÄKINEN, S.; PUTNIK, P.; KOVAČEVIĆ, D. B.; TIAN, Y.; YANG, B.; GRANATO, D. Fruit seeds as sources of bioactive compounds: Sustainable production of high value-added ingredients from by-products within circular economy. **Molecules**, v. 24, n. 21, p. 1–54, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24213854>

FIDELIS, M.; CARMO, M. A. V.; AZEVEDO, L.; CRUZ, T. M.; MARQUES, M. B.; MYODA, T.; SANT'ANA, A. S.; FURTADO, M. M.; WEN, M.; ZHANG, L.; ROSSO, N. D.; GENOVESE, M. I.; OH, W. Y.; SHAHIDI, F.; PAP, N.; GRANATO, D. Response surface optimization of phenolic compounds from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* [Mart.] O.Berg) seeds: Antioxidant, antimicrobial, antihyperglycemic, antihypertensive and cytotoxic assessments. **Food and Chemical Toxicology**, v. 142, p. 111439, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111439>

FIDELIS, M.; SANTOS, J. S.; ESCHER, G. B.; ROCHA, R. S.; CRUZ, A. G.; CRUZ, T. M.; MARQUES, M. B.; NUNES, J. B.; CARMO, M. A. V.; ALMEIDA, L. A.; KANESHIMA, T.; AZEVEDO, L.; GRANATO, D. Polyphenols of jabuticaba [*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O.Berg] seeds incorporated in a yogurt model exert antioxidant activity and modulate gut microbiota of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in rats. **Food Chemistry**, v. 334, p. 127565, 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127565>

FONTOURA, B. H. **Determinação rápida e de baixo custo do potencial antioxidante em cascas de castanheira utilizando imagens digitais e modelo de regressão multivariada**. 2021. 65f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Pato Branco, 2021. <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/27839>

GARCIA, J. A. A.; CORRÊA, R. C. G.; BARROS, L. PEREIRA, C.; ABREU, R. M. V.; ALVES, M. J. CALHELHA, R. C.; BRANCHT, A.; PERALTA, R. M.; FERREIRA, I. C. F. R. Chemical composition and biological activities of Juçara (*Euterpe edulis* Martius) fruit by-products, a promising underexploited source of high-added value compounds. **Journal of Functional Foods**, v. 55, p. 325–332, 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.037>

HACKE, A. C. M.; GRANATO, D.; MACIEL, L. G.; WEINERT, P. L.; PRADO-SILVA, L.; ALVARENGA, V. O.; SANT'ANA, A. S.; BATAGLION, G. A.; EBERLIN, M. N.; ROSSO, N. D. Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seeds: Chemical Characterization and Extraction of Antioxidant and Antimicrobial Compounds. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 9, p. C2206–C2217, 2016. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13405>

HAMMAMI, N., GARA, A. B., BARGOUGUI, K., AYEDI, H., ABDALLEH, F. B., BELGHITH, K. Improved *in vitro* antioxidant and antimicrobial capacities of polysaccharides isolated from *Salicornia arabica*. **International Journal of Biological Macromolecules**, 120, 2123-2130, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.052>

- HE, B.; ZHANG, L-L. YUE, X-Y.; LIANG, J.; JIANG, J.; GAO, X-L.; YUE, P-X. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. **Food Chemistry**, v. 204, p. 70–76, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.094>
- HENTZ, R. **Otimização da extração de antocianinas da casca da jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) e avaliação da capacidade antioxidante**. 2015. 79f. Dissertação De Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, RS, Brasil, 2015.
- IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821–1835, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>
- INADA, K. O. P.; NUNES, S.; MARTÍNEZ-BLÁZQUEZ, J. A.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; PERRONE, D.; MONTEIRO, M. Effect of high hydrostatic pressure and drying methods on phenolic compounds profile of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel and seed. **Food Chemistry**, v. 309, p. 125794, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125794>
- INADA, K. O. P.; OLIVEIRA, A. A.; REVORÊDO, T. B.; MARTINS, A. B. N.; LACERDA, E. C. Q.; FREIRE, A. S.; BRAZ, B. F.; SANTELLI, R. E.; TORRES, A. G.; PERRONE, D.; MONTEIRO, M. C. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 422–433, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.002>
- INADA, K. O. P.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; PERRONE, D.; MONTEIRO, M. Metabolism of ellagitannins from jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) in normoweight, overweight and obese Brazilians: Unexpected laxative effects influence urolithins urinary excretion and metabotype distribution. **Journal of Functional Foods**, v. 57, p. 299-308, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.025>
- INFANTE, J. **Composição fenólica e atividade antioxidante de polpa, casca, semente e folha de espécies frutíferas nativas do Brasil**. 2013. 113p. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2013.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. In: ZENEBON, O.; PASCUERT, N. S.; TIGLEA, P. (Org). São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p.1020.
- JULKUNEN-TIITTO, R. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 33, n. 2, p. 213-217, 1985.
- KIENTEKA, S. S.; CORRÊA-FERREIRA, M. L.; OLIVEIRA-PETKOWICZ, C. L. Characterization of cell wall polysaccharides from *Sicana odorifera* fruit and structural analysis of a galactan-rich fraction pectins as side chains. **Carbohydrate Polymers**, v. 197, p. 395-402, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.022>
- KLAASSEN, M. T.; TRINDADE, L. M. RG-I galactan side-chains are involved in the regulation of the water-binding capacity of potato cell walls. **Carbohydrate Polymers**, v. 227, p. 115353, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115353>
- LAMAS, C. A.; LENQUISTE, S. A.; BASEGGIO, A. M.; CUQUETTO-LEITE, L.; KIDO, L. A.; AGUIAR, A. C.; ERBELIN, M. N.; COLLARES-BUZATO, C. B.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R.; CAGNON, V. H. A. Jaboticaba extract prevents prediabetes and liver

- steatosis in high-fat-fed aging mice. **Journal of Functional Foods**, v. 47, p. 434–446, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.06.005>
- LARROSA, M.; GARCÍA-CONESA, M. T.; ESPÍN, J. C.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Ellagitannins, ellagic acid and vascular health. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 31, n. 6, p. 513-539, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2010.09.005>
- LENQUISTE, S. A.; BATISTA, Â. G.; MARINELI, R. S.; DRAGANO, N. R. V.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v. 49, n. 1, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.052>
- LENQUISTE, S. A.; LAMAS, C. A.; MARINELI, R. S.; MORAES, E. A.; BORCK, P. C.; CAMARGO, R. L.; QUITETE, V. H. A. C.; CARNEIRO, E. M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Jaboticaba peel powder and jaboticaba peel aqueous extract reduces obesity, insulin resistance and hepatic fat accumulation in rats. **Food Research International**, v. 120, p. 880–887, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.053>
- LENQUISTE, S. A.; MARINELI, R. S.; MORAES, E. A.; DIONÍSIO, A. P.; BRITO, E. S.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Jaboticaba peel and jaboticaba peel aqueous extract shows *in vitro* and *in vivo* antioxidant properties in obesity model. **Food Research International**, v. 77, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.023>
- LIMA, A. J. B.; CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C.; ABREU, C. M. P.; DANTAS-BARROS, A. M. Caracterização química do fruto jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 58, n. 4, p. 416–421, 2008. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222008000400015&lng=es&nrm=iso](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222008000400015&lng=es&nrm=iso)
- LUCHESE, C. L.; SPEROTTO, N.; SPADA, J. C.; TESSARO, I. C. Effect of blueberry agro-industrial waste addition to corn starch-based films for the production of a pH-indicator film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 11-18, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.149>
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: Food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727–747, 2004. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>
- MARQUETTI, C. **Obtenção e caracterização de farinha de casca de jaboticaba (*Plinia cauliflora*) para adição em biscoito tipo cookie**. 2014. 117f. Dissertação de Mestrado. Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2014.
- MATTIETTO, R. A.; MATTA, V. M. Utilização de um delineamento composto central rotacional para avaliação microbiológica de polpas de açaí pasteurizadas. *In*: XIX Congresso Brasileiro De Engenharia Química, Búzios. **Anais**. São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Química, 2012.
- MEJIA, E. G.; ZHANG, Q.; PENTA, K.; EROGLU, A.; LILA, M. A. The Colors of Health: Chemistry, Bioactivity, and Market Demand for Colorful Foods and Natural Food Sources of Colorants. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 11, p. 145–182, 2020. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051729>
- MENDONÇA, L. A. **Desempenho do Delineamento Composto Central em experimentos com alto coeficiente de variação**. 2012. 68 f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Estatística Aplicada e Biometria. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2012. <http://locus.ufv.br/handle/123456789/4052>

- MIRANDA, B. M. **Aproveitamento integral dos resíduos da jabuticaba**. 2023. 64f. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2023.
- MONTEIRO, G. C.; DIAMANTE, M. S.; LIMA, G. P. P. FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). **Laboratório de Química e Bioquímica Vegetal - LQBV**, v. 3, p. 2–4, 2017. Disponível em: <https://www.ibb.unesp.br/Home/ensino/departamentos/quimicaebioquimica/metodo-de-atividade-antioxidante-frac---gean.pdf>
- MUNEKATA, P. E. S.; PATEIRO, M.; DOMÍNGUEZ, R.; NIETO, G.; KUMAR, M.; DHAMA, K.; LORENZO, J. M. Bioactive Compounds from Fruits as Preservatives. **Foods**, v. 12, n. 2, p. 343, 2023. <https://doi.org/10.3390/foods12020343>
- OLIVAS-AGUIRRE, F. J.; WALL-MEDRANO, A.; GONZÁLEZAGUILAR, G. A.; LÓPEZ-DÍAZ, J. A.; ÁLVAREZ-PARRILLA, E.; DE LA ROSA, L.; RAMOS-JUMENEZ, A. Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. **Nutrición Hospitalaria**, v.31, n.1, p.55-66, 2015. <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7699>.
- OLIVEIRA, D. S. **Nova metodologia para extração de compostos fenólicos de vinho tinto e avaliação da estabilidade dos extratos obtidos**. 2014. 138f. Tese De Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2014.
- OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 10, p. 4619–4626, 2001. <https://doi.org/10.1021/jf010586o>
- PALUDO, M. C.; COLOMBO, R. C.; TEIXEIRA FILHO, J.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; BALLUS, C. A.; GODOY, H. T. Optimizing the Extraction of Anthocyanins from the Skin and Phenolic Compounds from the Seed of Jabuticaba Fruits (*Myrciaria jabuticaba* (Vell.) O. Berg) with Ternary Mixture Experimental Designs. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 7, p. 1506–1514, 2019. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190047>
- PAULA, L. F. **Caracterização físico-química e hidrólise enzimática da casca da *Myrciaria jabuticaba* (Vell) Berg (Jabuticaba Sabará)**. 2016. 75f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Ciências Moleculares. Universidade Estadual de Goiás. Anápolis, 2016.
- PEIXOTO, C. M.; DIAS, M. I.; ALVES, M. J.; CALHELHA, R. C.; BARROS, L.; PINHO, S. P.; FERREIRA, I. C. F.R. Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 253, p. 132–138, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.163>
- PIOVESAN, N. **Influência de diferentes parâmetros em métodos de extração de compostos bioativos de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) e atividade antioxidante e antimicrobiana**. 2016. 120p. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2016.
- PORTO, C.; PORRETTO, E.; DECORTI, D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 4, p. 1076-1080, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.12.002>
- RIBAS-AGUSTÍ, A.; MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R.; ELEZ-MARTÍNEZ, P. Food processing strategies to enhance phenolic compounds

bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 15, p. 2531–2548, 2018.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1331200>

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica**: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +. Comunicado Técnico. EMBRAPA Agroindústria Tropical, Fortaleza, julho de 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica**: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). Comunicado Técnico. EMBRAPA Agroindústria Tropical, Fortaleza, julho de 2006.

SANTOS, D. T.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of antioxidant compounds from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 101, n. 1, p. 23-31, 2010.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.06.005>

SILVA, A. P. G. **Composição química e propriedades funcionais de cambucá, jabuticaba e uvaia, frutas nativas da Mata Atlântica**. 2018. 103p. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2018.

SILVA, B. S. G. **Hidrólise ácida como estratégia para a despolimerização dos elagitaninos da casca e semente da jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*)**. 2019. 86f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Nutrição. Centro de Ciências da Saúde. Instituto de Nutrição Josué de Castro. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2019.

SILVA, G. J. F.; CONSTANT, P. B. L.; FIGUEIREDO, R. W.; MOURA, S. M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jabuticaba (*Myrciaria* spp.). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 3, p. 429–436, 2010.

SILVA, P. A. P. **Farinha de casca de jabuticaba na formulação de produtos alimentícios: uma revisão bibliográfica**. 2021. 45f. Trabalho de Conclusão de Curso. Química Industrial. Centro de Tecnologia. Departamento de Engenharia Química. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2021.

SMERIGLIO, A.; BARRECA, D.; BELLOCCO, E.; TROMBETTA, D. Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. **British Journal of Pharmacology**, v.174, n.11, p.1244-1262, 2016. <https://doi.org/10.1111/bph.13630>

SOUZA, P. H. M. GOMES, F. R.; OLIVEIRA, J. A. A.; RAGAGNIN, A. L. S. L.; BARBOSA, M. A.; SOUZA, L. K. F.; SILVEIRA NETO, A. N.; SILVA, D. F. P. Caracterização De Frutos De Jabuticaba “Sabará” Provenientes Da Região De Jataí-Go. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 11, n. 1, p. 78-85, 2021. <https://doi.org/10.21206/rbas.v11i1.10087>

STAFUSSA, A.P.; MACIEL, G. M.; BORTOLINI, D. G.; MAROLDI, W. V.; RIBEIRO, V. R.; FACHI, M. M.; PONTAROLO, R.; BACH, F.; PEDRO, A. C.; HAMINIUK, C. W. I. Bioactivity and bioaccessibility of phenolic compounds from Brazilian fruit purees. **Future Foods**, v. 4, p. 100066, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100066>

SWAIN, T.; HILLS, W. E. The phenolic constituents of *Punus domestica* L. – The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 19: 63-68, 1959. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>

TABARAKI, R.; HEIDARIZADI, E.; BENVIDI, A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. **Separation and Purification Technology**, v. 98, p. 16-23, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.06.038>

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D. H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6–7, p. 669–675, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>

TOLFO, M. F. **Otimização da extração de compostos bioativos em camu-camu (*Myrciaria dubia*) utilizando variados solventes**. 2019. 62f. Trabalho de Conclusão de Curso. Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos (COPEQ) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Toledo, 2019.

TRINDADE, P. L.; SOARES, E. R.; INADA, K. O. P.; MARTINS, F. F.; RUDNICKI, M.; PERRONE, D.; MONTEIRO, M.; SOUZA-MELLO, V.; DALEPRANE, J. B. Consumption of phenolic-rich jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) powder ameliorates obesity-related disorders in mice. **British Journal of Nutrition**, v. 127, n. 3, p. 344–352, 2022. <https://doi.org/10.1017/S0007114521001136>

VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, G. R.; PELAFOX-CARLOS, H.; WALL-MEDRANO, A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; CHEN, C. Y. O.; ROBLES-SÁNCHEZ, M.; ASTIAZARAN-GARCÍA, H.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GOZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Phenolic compounds: their journey after intake. **Food & Function**, v. 5, n. 2, p. 189–197, 2014. <https://doi.org/10.1039/C3FO60361J>

WOLFF, S. M.; SILVEIRA, A. C. DA; LAZZAROTTO, M. Metodologia para extração de fenólicos totais e antioxidantes da erva-mate. **Iniciação Científica CESUMAR**, v. 21, n. 1, p. 45, 2019. DOI: 10.17765/1518-1243.2019v21n1p45-54

WU, S. B.; LONG, C.; KENNELLY, E. J. Phytochemistry and health benefits of jaboticaba, an emerging fruit crop from Brazil. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 148–159, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.021>

XIA, J.; WISHART, D. S. Using metaboanalyst 3.0 for comprehensive metabolomics data analysis. **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 55, n. 14, p. 14.10.1-14.10.91, 2016. <https://doi.org/10.1002/cpbi.11>

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

## ANEXO



Ministério do Meio Ambiente  
**CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

**Comprovante de Cadastro de Acesso**

**Cadastro nº A705D92**

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A705D92**  
Usuário: **UNICAMP**  
CPF/CNPJ: **46.068.425/0001-33**  
Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**  
Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

**Espécie**

**Myrciaria jaboticaba**

Título da Atividade: **Otimização da extração de compostos fenólicos das sementes de jaboticaba avaliando a composição fenólica e perfil antioxidante.**

**Equipe**

**Mario Roberto Marostica Junior UNICAMP**

**Parceiras Nacionais**

**46.068.425/0001-33 / Universidade Estadual de Campinas**

Data do Cadastro: **31/05/2023 15:08:05**  
Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **0:23 de 22/01/2024.**



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO  
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO  
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL  
ASSOCIADO - **SISGEN**