

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Luciana Mouta de Oliveira

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DE
Myrciaria floribunda (H. West ex Willd) O. Berg**

Rio de Janeiro

2015

Luciana Mouta De Oliveira

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DE
Myrciaria floribunda (H. West ex Willd) O. Berg**

Dissertação de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, com requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.
Orientador: Prof. Dr. Alexandre Porte.
Coorientador: Dr. Ronoel Luiz de Oliveira Godoy

Rio de Janeiro

2015

O48 Oliveira, Luciana Mouta de.
Composição química e atividade antioxidante de frutos de
myrciaria floribunda (H. West ex Willd) O. Berg / Luciana Mouta de
Oliveira, 2015.
80 f. ; 30 cm

Orientador: Alexandre Porte.

Coorientador: Ronoel Luiz de Oliveira Godoy.

Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade
Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

1. Myrtaceae. 2. *Myrciaria floribunda*. 3. Compostos bioativos.
4. Antioxidantes. 5. Ácido ascórbico. 6. Carotenoides. 7. Flavonóides.
8. Compostos fenólicos. I. Porte, Alexandre. II. Godoy, Ronoel Luiz de
Oliveira. III. Universidade Federal do Estado do Rio Janeiro. Centro de
Ciências Biológicas e de Saúde. Curso de Mestrado em Alimentos e
Nutrição. IV. Título.

CDD – 613.28

Luciana Mouta De Oliveira

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DE
Myrciaria floribunda (H. West ex Willd) O. Berg**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós Graduação em Alimentos e
Nutrição da Universidade Federal do Estado do
Rio de Janeiro.

Aprovado em: 31/03/2015

BANCA EXAMINADORA



Dr. Alexandre Porte

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO



Dr. Ricardo Felipe Alves Moreira

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO



Dr. Roneel Luiz de Oliveira Godoy

Embrapa Agroindústria de Alimentos



Drª. Manuela Cristina Pessanha De Araújo Santiago

Embrapa Agroindústria de Alimentos

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Ana Lúcia e Luiz Ricardo, por todo amor, carinho, apoio e incentivo.

Aos meus irmãos, Jansen, Júlia e Maria Eduarda, por estarem sempre por perto.

Ao meu orientador, Dr. Alexandre Porte, por todo o tempo dedicado, pela orientação, amizade e incentivo.

Ao meu coorientador, Dr. Ronoel Luiz de Oliveira Godoy, pelas orientações desde a graduação, ter me incentivado a realização deste curso, por toda dedicação e amizade.

A toda equipe do Laboratório de Cromatografia Líquida da Embrapa Agroindústria de Alimentos, a Pesquisadora Renata Galhardo Borguini, os analistas Manuela Cristina P. de A. Santiago, Sidney Pacheco, Luzimar da S. de M. do Nascimento, e estagiários, por toda ajuda, atenção e esclarecimentos prestados.

Aos alunos de pós-graduação Carolina P. da Cunha, Joana de N. Pereira, e Amanda M. D. Martins, por dividirem o tempo no laboratório, toda contribuição, amizade e bons momentos.

A Ana Christina Miranda Senna Gouvêa, por me acompanhar desde a graduação como orientadora e amiga, sempre disposta a dedicar um pouco do seu tempo a minhas dúvidas e preocupações.

Ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da UNIRIO pela oportunidade de realização do mestrado.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desta dissertação.

RESUMO

Nos últimos anos o consumo de frutas e hortaliças passou a ser cada vez mais estimulado, não somente pelos benefícios nutricionais destes alimentos, mais por ser notória a presença de substâncias bioativas capazes de reduzir o risco do desenvolvimento de doenças degenerativas, como por exemplo, as substâncias antioxidantes. Neste contexto, torna-se interessante o estudo de substâncias bioativas em frutas e hortaliças a fim de estabelecer novas fontes destas substâncias. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi a avaliação de substâncias bioativas, a composição centesimal, de voláteis e atividade antioxidante em frutos de *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) O.Berg. Para tal, os frutos foram coletados na APA da Restinga de Maricá (Rio de Janeiro). As análises de umidade, cinzas e proteínas, da composição centesimal, foram realizadas segundo metodologias da AOAC, lipídios foram determinados segundo a metodologia da AOCS e carboidratos totais foram calculados por diferença. Os compostos bioativos (carotenoides, flavonoides, ácidos fenólicos e ácido ascórbico) e açúcares livres foram determinados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e os voláteis por Cromatografia Gasosa de alta resolução. Atividade antioxidante foi determinada pelos métodos ABTS^{•+} e DPPH[•]. O liofilizado de polpa com casca de camboim apresentou 52,22 mg.100g⁻¹ de carotenoides, dos quais 85,61% são carotenoides provitaminicos A. A análise de flavonoides revelou a presença de 78,56 mg.100g⁻¹ de rutina. Foram identificados e quantificados os ácidos gálico (5,45 mg.g⁻¹) e elágico (2,21 mg.g⁻¹). A atividade antioxidante apresentada de 550,14 μmol Trolox.g⁻¹ (ABTS^{•+}) e EC₅₀ de 85,68 g.g⁻¹ DPPH[•] mostrou-se superior a de diversos outros frutos da mesma família. A análise dos voláteis revelou o β-cis-Ocimeno como composto majoritário, representando 50,9% do total. As análises de composição centesimal revelaram um baixo teor de lipídeos e proteínas quando comparado a outros frutos da mesma família. A polpa com casca de camboim liofilizadas revelaram-se fontes de nutrientes, compostos bioativos e antioxidantes.

Palavras chave: Myrtaceae, *Myrciaria floribunda*, antioxidantes, substâncias bioativas, Ácido Ascórbico, Carotenoides, Flavonoides, Ácidos fenólicos, voláteis.

ABSTRACT

Last years the consumption of fruits and greenery began to be even more stimulated, not only because of their nutritional benefits, but also for it remarkable presence of bioactive compounds capable of decreasing the risk of degenerative disease development, for example antioxidant compounds. In this context, become interesting study bioactive compounds in fruits and greenery with the objective of setting new sources of these compounds. Thus, the aim of this work is to evaluate bioactive compounds, chemical composition, volatiles and antioxidant activity in fruits of *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) O.Berg. Therefore, fruits will be collected in Restinga de Maricá (RJ), splitted and sampled by size and maturity. Analysis of humidity, ashes, proteins of centesimal composition were made according to the methodology of AOAC, lipids were determined according to the methodology of AOCS, and total carbohydrates were calculated by difference. Bioactive compounds (carotenoids, flavonoids, phenolic acids and ascorbic acid) and free sugars were determined by high performance liquid chromatography and volatiles by high resolution gas chromatography. Antioxidant activity was determined by methods ABTS⁺ and DPPH. The freeze-dried of camboim's pulp and peel showed 52.22 mg.100g⁻¹ of carotenoids, of which 85.61% were pro-vitaminic A carotenoids. Analysis of flavonoids revealed presence of 78.56 mg.100g⁻¹ of rutin. Were identified and quantified gallic (5.45 mg.g⁻¹) and ellagic (2.21 mg.g⁻¹) acids. Antioxidant activity presented of 550.14 μmol Trolox.g⁻¹ (ABTS⁺) and EC₅₀ of 85.68 g.g⁻¹ DPPH showed itself superior of the one found in various fruits of the same family. Analysis of volatiles revealed as majority component β-cis-ocimene, that represents 50.9% of its total. Analysis of centesimal composition revealed low contents of lipids and proteins when compared to others fruits of the same family. Freeze-dried camboim's pulp and peel showed itself as source of nutrients, bioactive compounds and antioxidants.

Key words: Myrtaceae, *Myrciaria floribunda*, antioxidants, bioactive compounds, ascorbic acid, carotenoids, flavonoids, fenolic acids, volatiles.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVO	11
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3. REVISÃO DA LITERATURA	12
3.1. MYRTACEAS DO RIO DE JANEIRO	12
3.1.1. <i>Myrciaria floribunda</i> (H.West ex Willd) O.Berg	12
3.2. SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS	13
3.2.1. Antioxidantes	14
3.2.1.1. <i>Ácidos fenólicos</i>	15
3.2.1.2. <i>Flavonoides</i>	17
3.2.1.3. <i>Carotenoides</i>	18
3.2.1.4. <i>Ácido Ascórbico</i>	20
3.3. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA – CLAE	23
3.4. ÓLEOS ESSENCIAIS	24
3.5. CROMATOGRAFIA GASOSA - CG	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1. REAGENTES	26
4.2. AMOSTRA.....	27
4.3. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	28
4.3.1. Umidade.....	28
4.3.2. Análise de cinzas	28

4.3.3.	Análise de lipídeos.....	29
4.3.4.	Análise de proteínas.....	29
4.3.5.	Análise de Carboidratos totais	30
4.4.	ANÁLISE DE CAROTENÓIDES	31
4.4.1.	Extração de carotenoides	31
4.4.2.	Análise por CLAE de Carotenoides.....	32
4.4.3.	Quantificação dos carotenoides	33
4.4.3.1.	<i>Carotenoides totais</i>	33
4.4.3.2.	<i>Carotenoides individuais</i>	33
4.4.4.	Cálculo do potencial pró vitamínico A	34
4.5.	ANÁLISE DE ÁCIDO ASCÓRBICO	34
4.5.1.	Extração de Ácido Ascórbico	35
4.5.2.	Análise por CLAE de ácido ascórbico.....	35
4.5.3.	Construção da curva analítica	36
4.6.	ANÁLISE DE AÇÚCARES	36
4.6.1.	Extração de açúcares.....	36
4.6.2.	Análise por CLAE de açúcares	37
4.6.3.	Construção das curvas analíticas	37
4.7.	ANÁLISE DE FLAVONOIDES.....	38
4.7.1.	Extração de flavonoides.....	38
4.7.2.	Análise por CLAE de flavonóides	39
4.7.3.	Construção da curva analítica de rutina.....	40
4.8.	ANÁLISE DE ÁCIDOS FENÓLICOS	40

4.8.1.	Extração de ácidos fenólicos.....	41
4.8.2.	Análise por CLAE de ácidos fenólicos.....	41
4.8.3.	Construção das curvas analíticas	43
4.8.3.1.	<i>Construção da curva analítica do ácido elágico</i>	43
4.8.3.2.	<i>Construção da curva analítica do ácido gálico</i>	43
4.9.	ANÁLISE DE VOLÁTEIS DO ÓLEO ESSENCIAL	44
4.9.1.	Extração dos voláteis	44
4.9.2.	Análise por CG dos voláteis do óleo essencial	45
4.9.3.	Identificação e quantificação dos voláteis do óleo essencial	46
4.10.	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	46
4.10.1.	Extração dos antioxidantes.....	46
4.10.2.	Determinação da atividade antioxidante	47
4.10.2.1.	<i>Método ABTS^{·+}</i>	47
4.10.2.2.	<i>Método DPPH</i>	47
4.11.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1.	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	48
5.2.	AÇÚCARES LIVRES	49
5.3.	ÁCIDO ASCÓRBICO.....	51
5.4.	FLAVONÓIDES	54
5.5.	ÁCIDOS FENÓLICOS	55
5.6.	CAROTENOIDES	59
5.7.	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	62

5.8. COMPOSTOS VOLÁTEIS DO ÓLEO ESSENCIAL.....	63
6. CONCLUSÃO	66
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
ANEXO I: Myrtaceas encontradas no Rio de Janeiro	77

1. INTRODUÇÃO

A etiologia de diversas doenças degenerativas como cardiopatias, aterosclerose e certos tipos de câncer, tem sido associada a danos oxidativos causados por espécies reativas (radicais livres) geradas pelo metabolismo. Estudos epidemiológicos têm demonstrado uma relação benéfica entre o consumo de frutas e o risco de desenvolvimento destas doenças. Metabólitos secundários de ação antioxidante, presentes em frutas, são responsáveis pela estabilização destas espécies, reduzindo assim o risco de desenvolvimento destas patologias. Estas substâncias são conhecidas como substâncias bioativas, substâncias químicas dotadas de atividade biológica, ditas promotoras da saúde.

O Brasil possui um grande número de espécies frutíferas habitualmente consumidas pela população. Muitas espécies já tiveram sua composição química estudada e revelaram-se fontes de substâncias bioativas. No entanto, um grande número de espécies permanece com sua composição química desconhecida, permitindo que seu potencial siga inexplorado.

Myrtaceae é uma família de grande representatividade no Brasil, com uma alta diversidade de espécies distribuídas em diferentes biomas. A vegetação de restinga do Estado de Janeiro é rica em espécies desta família, com variedades de alto potencial alimentar. Estes frutos são amplamente conhecidos e consumidos pela população.

O município de Maricá, situado no litoral do estado do Rio de Janeiro, apresenta um extensão de restinga que constitui uma área de proteção ambiental (APA), a APA de Maricá. Estudos botânicos realizados em um trecho desta APA destacaram Myrtaceae como a família de maior variedade de espécies e maior número de indivíduos na região. Dentre as espécies identificadas desta família encontra-se a *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) O.Berg. Esta é conhecida na região pela utilização de seus frutos em bebida aguardente para atribuição de sabor a mesma. No entanto, as informações difundidas sobre esta espécie estão relacionadas à suas características botânicas, utilização popular, e a composição e atividade terapêutica do óleo essencial de suas folhas, flores e caule. Informações sobre o valor nutricional e funcional de seus frutos não são encontrados na literatura.

Neste contexto, o presente trabalho visou a caracterização dos frutos de *M. floribunda*, contribuindo para o conhecimento desta matriz pouco explorada cientificamente, com destaque para as substâncias com propriedades potencialmente benéficas a saúde.

2. OBJETIVO

Estabelecer a composição centesimal, atividade antioxidante, quantificação e identificação de substâncias bioativas, compostos voláteis do óleo essencial, e açúcares em frutos de *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) O.Berg.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar umidade, cinzas, lipídios, proteínas, e carboidratos totais
- Identificar e quantificar carotenoides
- Identificar e quantificar ácido ascórbico
- Identificar e quantificar açúcares
- Identificar e quantificar ácidos fenólicos
- Identificação e quantificação de flavonoides
- Identificar e quantificar voláteis presentes no óleo essencial
- Determinar atividade antioxidante (AAT)

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. MYRTACEAS DO RIO DE JANEIRO

A família Myrtaceae é composta por cerca de 130 gêneros e 5671 espécies (GOVAERTS *et al.*, 2008). No Brasil, Myrtaceae é uma das famílias mais importantes, sendo representada por aproximadamente 1000 espécies distribuídas em 24 gêneros. Muitas destas espécies possuem alto potencial alimentar e são comercializadas *in natura* para aplicação na produção de sorvetes, sucos, geleias e outros produtos manufaturados (PEREIRA *et al.*, 2012; SOBRAL *et al.*, 2013). É uma família de grande representatividade na flora do Rio de Janeiro, apresentando-se como a família de maior riqueza em diversos trechos de Mata Atlântica nas diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro (KUTZ & ARAÚJO, 2000; PEREIRA *et al.*, 2001; PEIXOTO *et al.*, 2004; SOUZA & MORIN, 2008; PEREIRA *et al.*, 2012). As espécies encontradas no Estado do Rio de Janeiro bem como sua localização dentro do Estado podem ser observadas no anexo I.

Muitas destas espécies são amplamente utilizadas pela medicina popular brasileira, algumas já foram estudadas e tiveram sua composição química e propriedades elucidadas (CRUZ & KAPLAN, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2012). Entretanto, ainda existem poucos estudos etnomedicinais, fitoquímicos e farmacológicos sobre esta importante família (CRUZ & KAPLAN, 2004).

3.1.1. *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) O.Berg

A *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) O.Berg (Figura 1A) é uma arvoreta de até 5 m de altura distribuída na América do Sul e América Central (SOUZA & MORIM, 2008). No Brasil, é conhecida popularmente como camu-camu arbustivo ou camboim, podendo ser encontrada desde o estado do Pará até o Rio Grande do Sul, na Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (SOUZA & MORIM, 2008; MOREIRA FILHO & FERREIRA, 2009;

LOURENÇO & BARBOSA, 2012). Possui inflorescências com até 6 flores brancas e de superfície glabra (sem pelos) (LOPÉZ *et al.*, 2006; SOUZA & MORIM, 2008; LOURENÇO & BARBOSA, 2012). Seus frutos (Figura 1B) globosos ácidos e suculentos de coloração alaranjada ao vermelho escuro quando maduros são consumidos *in natura*, em forma de doces ou geleias (LORENZI *et al.*, 2006; SOUZA & MORIM, 2008; LOURENÇO & BARBOSA, 2012).



Figura 1: *Myrciaria floribunda* (A) e seus frutos (B).

Segundo Apel *et al.* (2006), o óleo essencial das folhas de *M. floribunda* apresenta atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e efeito citotóxico em células de glioblastoma. Outro estudo, realizado por Tietbohl *et al.* (2012), revelou ainda que o óleo essencial das folhas, flores e caule possui atividade anticolinesterase, atividade esta atribuída a presença do monoterpene oxigenado 1,8-cineol.

3.2. SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS

Os alimentos de origem vegetal apresentam substâncias com atividade biológica, ditas promotoras da saúde, capazes de reduzir o risco do desenvolvimento ou auxiliar no tratamento de doenças cardiovasculares, câncer, acidentes vasculares, osteoporose, desordens imunológicas, e outras. Estas substâncias são comumente conhecidas como substâncias bioativas ou funcionais. Os mecanismos pelo qual estas substâncias proporcionam estes

benefícios estão relacionados a atividades como: antioxidante, desintoxicante, antimicrobiana, citotóxica, fungicida, hipocolesterolêmica, anticoagulante, antiinflamatória, etc (PENNINGTON, 2002). Os compostos bioativos compreendem inúmeras substâncias químicas com as mais variadas estruturas, dentre elas podemos citar os carotenoides, ácidos fenólicos, flavonóides e a ácido ascórbico, que atualmente têm sido amplamente estudados devido suas propriedades antioxidante (LUXIMON-RAMMA *et al.*, 2003; EINBOND *et al.*, 2004; KLOPOTEK *et al.*, 2005; CABRAL *et al.*, 2009; SHEN *et al.*, 2009; BRAGA *et al.*, 2010; COUTO & CANNIATTI-BRAZACA, 2010).

3.2.1. Antioxidantes

O conhecimento sobre radicais livres (RLO) tem despertado grande interesse nas últimas décadas, devido seu papel no desenvolvimento de diversas patologias causadas por estresse oxidativo, incluindo alguns tipos de câncer e cardiopatias (ANDRADE JUNIOR *et al.*, 2005).

O oxigênio molecular (O_2) é fundamental para organismos aeróbicos, contudo, durante os processos metabólicos, esta molécula pode formar espécies reativas capazes de realizar a oxidação de biomoléculas, modificando suas estruturas e comprometendo processos biológicos importantes. Os RLO são espécies em que o oxigênio encontra-se com um ou mais elétrons desemparelhados, tornando-se mais reativos sendo capazes de retirar elétrons de outras substâncias (ANDRADE JUNIOR *et al.*, 2005; CERQUEIRA *et al.*, 2007). Os principais RLO conhecidos são o singlete de O_2 , hidroxila ($\cdot OH$) e superóxido ($\cdot O_2^-$), estas espécies podem causar danos ao DNA, ou oxidar lipídeos e proteínas (GUTIÉRREZ, 2002).

Como um meio de se proteger destas espécies reativas, o organismo possui um sistema de defesa endógeno, capaz de neutralizar estas espécies, são as enzimas antioxidantes. No entanto, este sistema pode ser saturado, sendo então necessária a aquisição de compostos antioxidantes exógenos através da dieta (BIANCHI & ANTUNES, 1999; CERQUEIRA *et al.*, 2007). Antioxidantes são substâncias que reagem com os RLO formando espécies mais estáveis impedindo ou diminuindo o estresse oxidativo (FERREIRA & ABREU, 2007; ZAMORRA, 2007).

Os antioxidantes exógenos são obtidos da dieta principalmente através do consumo de frutas e hortaliças. Estes atuam protegendo os alimentos que os possuem e as células vivas de quem os consomem bloqueando a ação de RLO, formados pela oxidação química e, ou enzimática. Entre os antioxidantes mais conhecidos estão o α -tocoferol (Vitamina E), o ácido ascórbico, os carotenoides e os flavonoides (SOARES *et al.*, 2005; ZAMORRA, 2007).

O potencial de um antioxidante é dependente de diversos fatores, como sua própria estrutura, o radical a ser estabilizado e o local onde se encontra este radical. O ácido ascórbico, por exemplo, atua na fase aquosa como um excelente antioxidante sobre os RLO, mas não é capaz de agir nos compartimentos lipofílicos para inibir a peroxidação dos lipídeos. Além de tudo, o produto de oxidação do ácido ascórbico, o radical ascorbila, é de baixa reatividade e pode ser convertido novamente a ácido ascórbico por redutases encontradas no organismo (BIANCHI & ANTUNES, 1999; CERQUEIRA *et al.*, 2007). Por outro lado, os carotenoides tem uma maior afinidade por compartimentos lipofílicos, e reagem melhor com os radicais singleto de O_2 e peroxil (STAHL & SIES, 2003; EL-AGAMEY *et al.*, 2004). Já os flavonoides se unem a polímeros biológicos, tais como enzimas, transportadores de hormônios, e DNA, quelando íons metálicos transitórios, como Fe^{2+} , Co^{2+} e Zn^{2+} , catalizando transporte de elétrons e depurando radicais livres (MARTÍNEZ-FLÓREZ *et al.*, 2002).

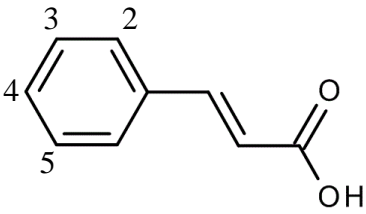
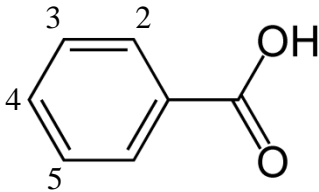
A maioria das substâncias bioativas possui capacidade antioxidante e o somatório desses potenciais confere a capacidade antioxidante total. Ainda, os antioxidantes presentes em frutas e hortaliças podem produzir sinergismo ou inibição entre si. Por isso, além de avaliar o potencial antioxidante de substâncias isoladamente, torna-se interessante, estudar o potencial no contexto mais complexo, ou seja, em extratos totais obtidos de frutas (ROMBALDI *et al.*, 2006).

3.2.1.1. Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos, quando referidos aos vegetais, são um grupo de metabólitos secundários aromáticos com a função ácido carboxílico. Estes ácidos são derivados hidroxilados dos ácidos benzoico e cinâmico (Tabela 1). Os derivados do ácido cinâmico,

como os ácidos *p*-cumárico, cafêico e ferúlico, são encontrados frequentemente em alimentos sob a forma de ésteres simples ligados ao ácido quínico ou glicosilados, enquanto os derivados do ácido benzóico, como os ácidos *p*-hidroxibenzoico e vanílico, são encontrados em alimentos sob a forma de glicosídeos. Nos vegetais, estes ácidos são importantes ao desempenho de diversas funções, estando envolvida na síntese de proteínas, atividades enzimáticas, fotossíntese, componentes estruturais, alelopatia e na captação de nutrientes. Nos alimentos estão associados a características organolépticas, qualidade nutricional e atividade antioxidante. O consumo de alimentos ricos nestas substâncias tem sido associado a diminuição do risco de desenvolvimento de diversas doenças, incluindo câncer, cardiopatias e patologias de origem microbiana (MATTILA & KUMPULAINEN, 2002; ROBBINS, 2003).

Tabela 1: Ácidos fenólicos derivados hidroxilados dos ácidos cinâmico e benzoico.

Precursor	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Derivado
 Ácido Cinâmico	OH	H	H	H	Ác. <i>o</i> -cumárico
	H	H	OH	H	Ác. <i>p</i> -cumárico
	H	OH	H	H	Ác. <i>m</i> -cumárico
	H	OCH ₃	OH	H	Ác. Ferúlico
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Ác. Sináptico
	H	OH	OH	H	Ác. Cafêico
 Ácido Benzóico	OH	H	H	H	Ác. Salicílico
	H	H	OH	H	Ác. <i>p</i> -hidroxibenzoico
	H	OCH ₃	OH	H	Ác. Vanílico
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Ác. Siríngico
	H	OH	OH	H	Ác. Protocatecuico
	OH	H	H	OH	Ác. Gentísico
	OH	OH	OH	OH	Ác. Gálico
H	OCH ₃	OCH ₃	H	Ác. Verátrico	

3.2.1.2. Flavonoides

Os flavonoides são um grupo de compostos fenólicos facilmente encontrados em frutas, flores, vegetais e seus produtos de preparação (geleias, vinhos, chás, compotas, entre outros). A ingestão destes compostos está associada com a longevidade e redução na incidência de doenças cardiovasculares, devido suas propriedades benéficas à saúde humana, tais como atividade antioxidante, anti- inflamatória, anti-tumoral e anticoagulante (VOLP *et al.*, 2008). Os flavonoides são formados por uma estrutura de 15 átomos de carbono na formação C6-C3-C6, composta por dois anéis aromáticos ligados por três carbonos e um átomo de oxigênio formando um anel heterocíclico oxigenado, denominado anel C (BRAVO, 1998). Existem 13 subclasses de flavonoides, dentre as quais os 4 grupos mais encontrados em alimentos (Figura 2) são: as flavonas, flavanonas, catequinas e antocianinas (MARTÍNEZ-FLÓREZ, 2002; TRUEBA, 2003; VOLP *et al.*, 2008).

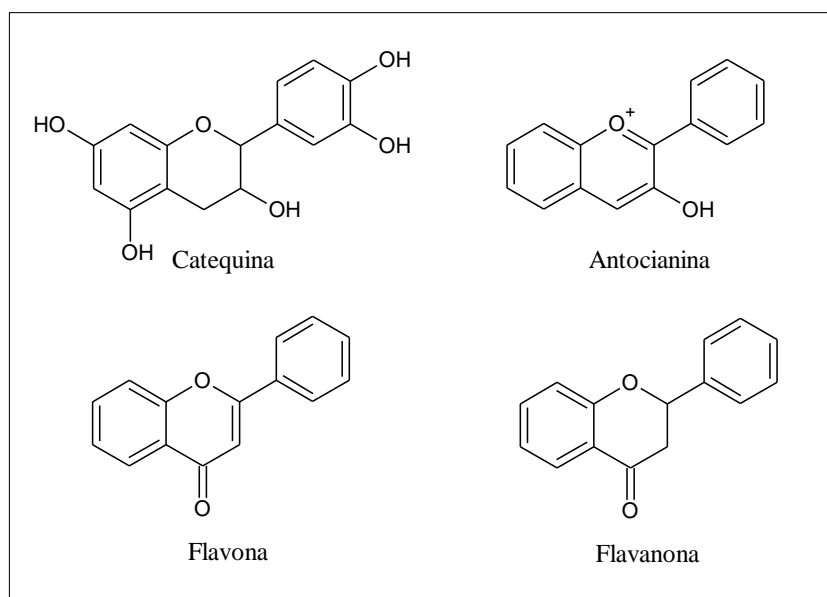


Figura 2: Flavonoides, Estrutura química básica dos quatro grupos mais encontrados em alimentos.

3.2.1.3. Carotenoides

Os carotenoides são uma família de pigmentos naturais responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha em diversos organismos. Podendo ser armazenado por organismos não fotossintetizantes, como fungos, bactérias e alguns animais, e produzido por organismos fotossintetizantes, como algas e plantas superiores. Estima-se que sejam produzidas por estes organismos cerca de 100 milhões de toneladas de carotenoides por ano (FRASER & BRAMLEY, 2004). Existem, aproximadamente, 700 carotenoides na natureza, destes apenas 40 podem ser absorvidos, metabolizados e utilizados pelo organismo humano, onde apenas 6 dentre os 40 são observados a nível plasmático, o β -caroteno, α -caroteno, licopeno, β -criptoxantina, zeaxantina e a luteína (Figura 3) (FERNÁNDEZ-GARCÍA *et al.*, 2012). Processos de ciclização, hidrogenação, desidrogenação, migração de duplas ligações, encurtamento ou alongamento de cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de funções com oxigênio ou a combinação destes processos resultam nesta grande diversidade de estrutura dos carotenoides (DIAS *et al.*, 2008).

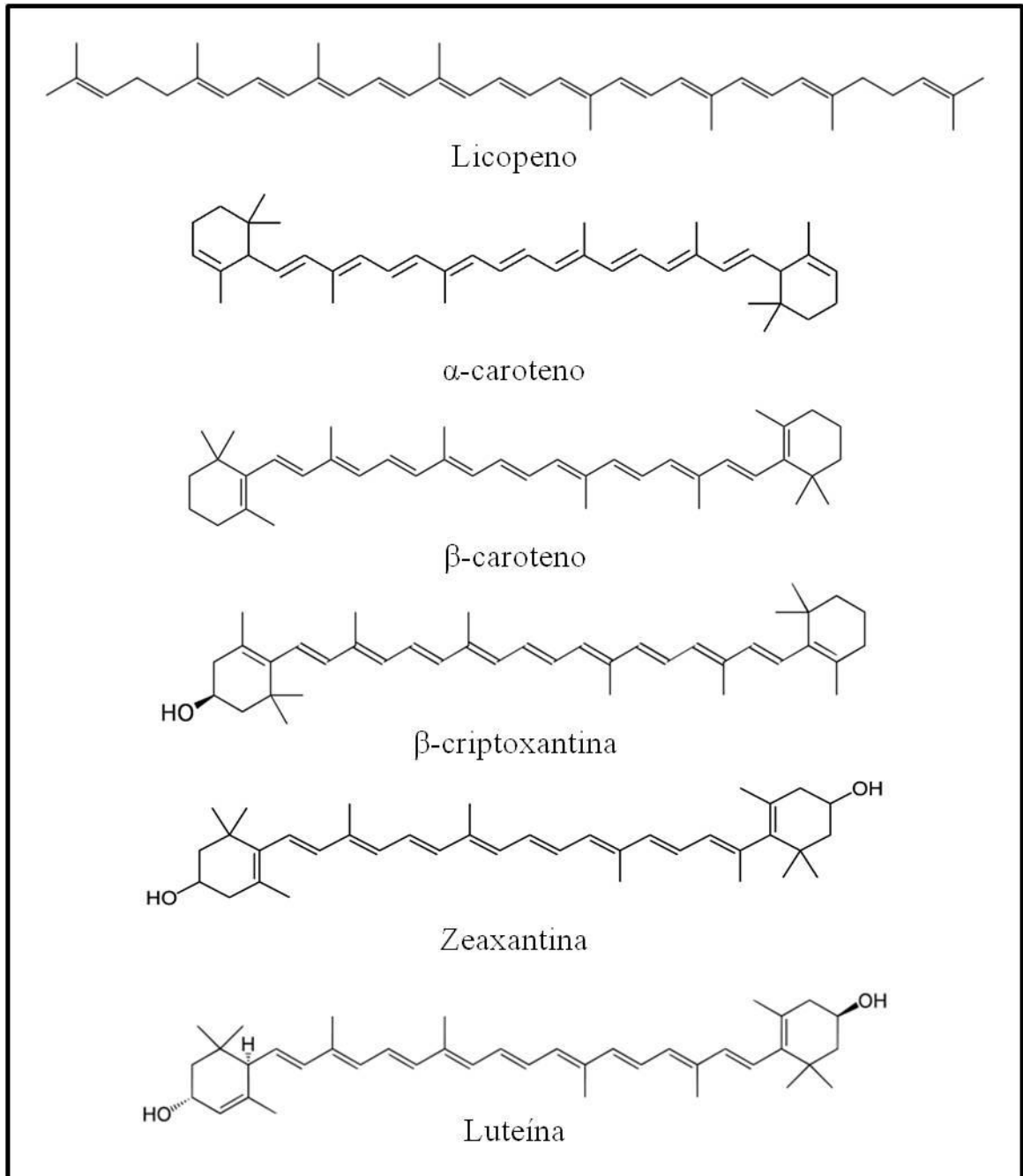


Figura 3: Carotenóides

Estruturalmente os carotenoides são tetraterpenóides de 40 carbonos unidos por unidades opostas no centro da molécula. Divido a sua estrutura, uma longa cadeia com ligações conjugadas, os carotenoides absorvem luz na região do UV/Vis. O espectro na região UV/Vis dos carotenoides é de grande importância para a identificação destes, pois estes espectros fornece informações sobre sua estrutura(MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007).

Os carotenoides podem ser classificados em dois grupos, os carotenos e as xantofilas. Os carotenos são carotenoides compostos apenas por carbono e hidrogênio, já as xantofilas apresentam grupos substituintes com oxigênio. β -caroteno, α -caroteno e licopeno são importantes membros do grupo dos carotenos, enquanto luteína, zeaxantina e, α e β -criptoxantina, são das xantofilas (STAHL & SIES, 2005).

Durante muitos anos o estudo de carotenoides focou-se na composição e identificação de carotenoides pró-vitâmicos A em alimentos, isto é, aqueles carotenoides que quando absorvidos pelo organismo humano são clivados em uma ou duas moléculas de vitamina A, com destaque para o β -caroteno, o carotenoide que possui maior atividade (KIMURA & RODRIGUEZ-AMAYA, 2008). Atualmente os estudos encontram-se direcionados para atividade antioxidante destes compostos, buscando avaliar e quantificar os compostos de maior atividade. Dentre os carotenoides mais amplamente estudados o que possui maior atividade antioxidante é o licopeno (UENOJO *et al.*, 2007; DIAS, CAMÕES E OLIVEIRA, 2008).

3.2.1.4. Ácido Ascórbico

O ácido-*L*-ascórbico (Ácido ascórbico), nomenclatura adotada oficialmente pela comissão de nomenclatura bioquímica da IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) a partir de 1965, é uma vitamina hidrossolúvel amplamente encontrada em frutas e vegetais (CARDOSO *et al.*, 2011).

Estruturalmente, o ácido ascórbico é formado por um anel γ lactona com dois centros quirais nas posições 4 e 5 (Figura 4), determinando dois pares de estereoisômeros: os ácidos L e D ascórbico, e os ácidos D e L isoascórbicos. O ácido *L*-ascórbico é o que possui maior

atividade vitamínica, o ácido *D*-ascórbico apresenta apenas 5% desta atividade, enquanto os ácidos *D* e *L* isoascórbicos não apresentam atividade vitamínica (ROSA *et al.*, 2007)

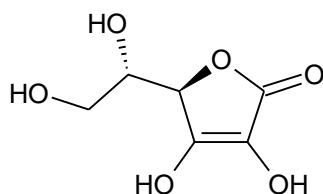


Figura 4: Estrutura do ácido ascórbico

O ácido ascórbico é um dos ácidos orgânicos mais importantes da dieta humana (MELÉNDEZ *et al.*, 2004). O nome ácido ascórbico designa sua atividade vitamínica antiescorbútica e deriva da antiga forma inglesa da palavra escorbuto (*scorby*). O escorbuto é uma doença causada pela deficiência nutricional de ácido ascórbico que pode levar à morte (ROSA *et al.*, 2007). Os efeitos benéficos da ácido ascórbico estão relacionados com a sua participação em diversos processos metabólicos, como a formação de colágeno e síntese de epinefrina, corticoesteróides e ácidos biliares. Além de atuar como cofator enzimático e participar de processos de óxido-redução, aumentado a absorção de ferro (ARANHA *et al.*, 2000), o ácido ascórbico age também como um potente antioxidante auxiliando assim no tratamento e redução do risco de desenvolvimento de varias patologias causadas por estresse oxidativo, tais como câncer, aterosclerose, cardiopatias e algumas doenças degenerativas (HEAD, 1998; MANELA-AZULAY *et al.*, 2003; PINNELL, 2003; VALDÉS, 2006). Os seres humanos não são capazes de sintetizar ácido ascórbico, devido à ausência da enzima *L*-gulonalactona oxidase, enzima a qual catalisa a etapa final da síntese deste ácido a partir da glicose do sangue (STONE, 1984). Sendo assim os seres humanos adquirem esta vitamina através de sua alimentação, pelo consumo de frutas e vegetais.

A determinação de ácido ascórbico em alimentos representa um desafio analítico, em vista da alta sensibilidade desta substância a fatores como aquecimento, luz, pHs extremos, presença de enzimas e exposição ao ar, e as baixas concentrações em que muitas vezes esta se encontra nas matrizes (ALMAGRO *et al.*, 2002). Existem diversas técnicas e métodos para determinação de ácido ascórbico em alimentos, a escolha de um método depende de vários fatores como a matriz ser analisada, as vantagens e desvantagens do método do ponto de vista econômico, e os recursos analíticos disponíveis.

Dentre os métodos disponíveis para determinação de ácido ascórbico encontram-se os métodos titulométricos, espectrofotométricos, com derivatização, enzimáticos, eletroquímicos, cromatográficos, entre outros. Muitos deste métodos são muito laboriosos por necessitarem, por exemplo, de etapas para eliminação de interferentes. O método adotado oficialmente pela AOAC é o método titulométrico baseado na redução do corante 2,6-diclorofenol-indofenol. Este método apresenta a vantagem de ser de baixo custo, no entanto seus resultados podem ser afetados pela presença de outros redutores da matriz, como taninos, fenóis, entre outros (ROSA, 2005).

Devido a sua alta sensibilidade e capacidade de separação de interferentes, os métodos cromatográficos são os mais utilizados na determinação de ácido ascórbico atualmente. Não necessitando de preparos laboriosos estes métodos reduzem a exposição do ácido ascórbico e assim sua degradação. A análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é a técnica cromatográfica mais utilizada na determinação de ácido ascórbico. A análise por CLAE é mais utilizada devido a maior simplicidade no preparo da amostra, não necessitando de uma etapa de derivatização, como nas análises por cromatografia gasosa (CG), ou uso de padrões internos, como na eletrocromatografia ou eletroforese capilar (ROSA, 2005).

A maioria dos métodos de determinação de ácido ascórbico por CLAE utiliza colunas de fase reversa C₁₈. Nestes métodos um dos maiores problemas consiste na estabilização do ácido ascórbico após sua extração da matriz, havendo uma necessidade de controle rígido de pH para que não haja equilíbrio entre suas formas iônica e molecular (PENTEADO, 2003). No entanto, a utilização de uma coluna de troca iônica torna a determinação de ácido ascórbico bastante seletiva em função da combinação de técnicas que este tipo de coluna permite. Um método desenvolvido por Rosa *et al.* (2007) utilizando solução aquosa de ácido sulfúrico 0,05M como solução extratora e fase móvel, e coluna de troca iônica forma H⁺ mostrou-se vantajoso sobre outros métodos que utilizam coluna de fase reversa C₁₈, sendo um método mais rápido e que produz menores perdas do ácido ascórbico.

3.3. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA – CLAE

A cromatografia líquida é um método de separação de espécies químicas que ocupa um lugar de destaque entre os métodos analíticos modernos, sendo possível através deste método separar, assim como identificar e quantificar espécies quando há a presença de padrões externos (RUTZ, 2009). Este método físico-químico fundamenta-se na migração diferencial dos componentes de uma mistura, o que ocorre devido a diferentes interações entre uma fase estacionária, que tem uma grande área superficial de contato, e um fluido, que se move através da fase estacionária, chamada de fase móvel (DEGANI *et al.*, 1998).

Nos últimos 40 anos, a CLAE foi a técnica analítica mais desenvolvida, difundida e empregada em laboratórios de análise de indústrias químicas e farmacêuticas, em áreas médicas e em muitos outros campos da ciência e até em órgãos governamentais (MALDANER & JARDIM, 2009). Seu diferencial está na utilização de colunas com um reduzido diâmetro partícula (2-10 μ m), o que promove uma maior eficiência de análise e permite a diminuição do tamanho da coluna levando a um menor tempo de análise, além de um sistema de bombeamento de alta pressão, responsável por bombear a fase móvel líquida que elui sobre a fase estacionária que está no interior da coluna, assim, os solutos com maior afinidade com a fase móvel serão eluídos primeiro e posteriormente os que têm maior afinidade com a fase estacionária. Partículas menores que 2 μ m promovem uma maior eficiência, porém elevam a pressão do sistema a níveis não suportados pela CLAE, permitindo que este tamanho de partícula seja utilizado apenas na Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (MALDANER & JARDIM, 2009; RUTZ, 2009).

A separação de espécies por CLAE pode ser realizada por diferentes mecanismos, podendo esta ser por partição, adsorção, troca iônica ou exclusão de tamanho. Modificações ainda podem ser realizadas em relação ao tipo de fase utilizada, podendo a separação ser efetuada em fase normal, fase estacionária polar e fase móvel apolar, ou em fase reversa, fase estacionária apolar e fase móvel polar. Um sistema de CLAE é dotado de um sistema de abastecimento e programadores da fase móvel, bombas de alta pressão; injetor; coluna; e detectores, sendo o registro dos dados feito por um registrador, integrador ou mesmo um microcomputador, que também é utilizado na programação de todas as etapas do processo (RUTZ, 2009).

3.4. ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleo essencial é o óleo volátil de plantas obtido por destilação ou outros meios, como ação enzimática seguida de destilação ou por um simples pressionamento (GUENTHER, 1952 a,b). Os óleos essenciais são conhecidos e estudados pelo homem há séculos, são de uso religioso, médico e comumente aplicados em alimentos, bebidas e perfumes. No Brasil, o uso de óleos essenciais é regulamentado pela Anvisa, pela qual é considerado um aditivo aromatizante (BRASIL, 2007).

Os óleos essenciais são misturas complexas onde os principais constituintes pertencem a série terpênica. Terpenos são produtos da fusão de duas ou mais unidades de isopreno ou isopentadieno (C_5H_8). Os terpenos são classificados de acordo com o número de unidades de isoprenos que o formam (n), seguindo a fórmula $(C_5H_8)_n$. As classes de terpenos estão demonstradas na tabela 2. Estes terpenos podem ainda conter enxofre e nitrogênio, contudo em sua maioria são hidrocarbonetos aromáticos, alifáticos, cíclicos e seus derivados oxigenados, como alcoóis, ésteres, aldeídos e cetonas (GUENTHER, 1952 a,b).

Tabela 2: Classes de terpenos.

Classe	Nº de unidades de isopreno (n)
Monoterpenos	2
Sesquiterpenos	3
Diterpenos	4
Triterpenos*	6
Tetraterpenos*	8
Politerpenos*	>8

*Não estão presentes nos óleos voláteis devido ao seu alto peso molecular.

As características de odor e sabor de um vegetal estão atribuídas principalmente a seu óleo essencial. Sendo misturas complexas, um óleo essencial pode ser formado por uma centena de componentes. A composição de um óleo essencial é determinada pela genética do vegetal,

como sua espécie e variedade, por fatores ambientais, como clima e o solo, e pelas condições agronômicas, como o tempo de colheita e o tipo de processamento. As características organolépticas de cada óleo estará associada a sua composição (PORTE, 2000).

As técnicas mais comuns para obtenção de óleos essenciais ocorrem por prensagem ou espremedura das partes vegetais, ou por destilação com água destas partes. O processo de destilação possui maior aplicabilidade industrial, no entanto esta técnica de extração pode distorcer a composição do óleo essencial. A cromatografia gasosa a técnica utiliza para determinar a composição destes óleos essenciais e monitorar sua qualidade (PORTE, 2000).

3.5. CROMATOGRAFIA GASOSA - CG

A cromatografia gasosa (CG) é um dos métodos de separação mais utilizado atualmente, sendo notavelmente sensível ela permite separar e detectar inúmeros compostos simultaneamente (CECCHI, 2003). A separação dos componentes de uma mistura é realizada através da distribuição destes componentes entre duas fases, uma fase estacionária, onde os componentes da mistura estão seletivamente retidos, e a outra fase que move-se através dela carreando os componentes, resultando em migrações diferenciais (COLLINS, 1993).

Num sistema de CG a amostra injetada é eluída pela fase móvel, um gás, através da coluna e as substâncias presentes na mistura analisada são separadas ao interagirem com a fase estacionária, que pode ser um sólido ou um líquido, por um processo de absorção ou partição. Ou seja, a separação se baseia nas diferentes solubilidades dos componentes da amostra na fase estacionária e o retorno destes mesmos componentes dependendo de sua volatilidade. Após eluídas pela fase móvel as substâncias são carreadas até um detector onde será emitido um sinal, registrado na forma de pico conforme sua ordem de eluição e concentração (COLLINS, 1993).

A cromatografia gasosa pode ser classificada em convencional (CG) e cromatografia gasosa de alta resolução (CGAR). A diferença entre estas está no comprimento, no diâmetro das colunas e na vazão do gás de arraste. Por utilizar colunas de menor diâmetro (0,15-0,75

mm) e maior comprimento (10-100 m) a CGAR realiza uma separação mais eficiente com uma vazão do gás de arraste (0,5-15 mL/min) reduzida e um menor volume de amostra (DEGANI, CASS & VIEIRA, 1998). A CGAR é atualmente a técnica mais indicada para análise de misturas complexas, como os óleos essenciais. Ela permite determinar, qualitativamente e quantitativamente, a composição destas misturas. A CGAR é utilizada nas mais diversas áreas (indústria química, farmacêutica, análise de alimentos, entre outras), e tem contribuído notavelmente para determinação, quantificação e caracterização de substâncias presentes em óleos essenciais (APEL *et al.*, 2006; TIETBOHL *et al.*, 2012).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. REAGENTES

Acetona, éter de petróleo, álcool metílico, éter metil-terc-butilico, acetonitrila, ácido fórmico, éter etílico, acetato de etila (Tedia®, Ohio, EUA, pureza grau HPLC). Álcool etílico (Tedia®, Ohio, EUA, pureza grau ACS), celite 545 e sulfato de sódio anidro (Tedia®, Ohio, EUA), ácido sulfúrico (H₂SO₄) e ácido clorídrico (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha), ácido acético glacial e ácido bórico (Vetec Química Fina Ltda, Rio de Janeiro, Brasil, pureza grau HPLC), hidróxido de sódio (NaOH) (Sigma-Aldrich®, Missouri, EUA), ácido fosfórico (Spectrum Chemical Manufacturing, California & Nova Jersey, EUA, pureza de 85%), persulfato de potássio (Sigma-Aldrich®, Missouri, EUA, pureza grau ACS). ABTS (2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico), sal diamônio), Trolox (ácido carboxílico 2,5,7,8-tetrametilcromano-(±)-6-hidroxi) e DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazina) (Sigma-Aldrich®, Missouri, EUA). Padrões analíticos de ácido ascórbico, ácido gálico, ácido elágico, ácido vanílico, ácido clorogênico, ácidocaféico, ácido p-cumárico, ácido ferúrico, ácido sinápico, ácido o-cumárico, rutina, glicose, frutose e sacarose obtidos da Sigma-Aldrich® (Missouri, EUA). Toda água purificada utilizada nas análises foi obtida pelo

sistema de purificação de água Milli-Q® Gradient 10A (Millipore Corporation, Massachusetts, EUA).

4.2. AMOSTRA

Os frutos de *Myrciaria floribunda* (Figura 5A), camboim, foram coletados na APA da Restinga de Maricá (22°56'57,35229''S, 42°53'14,2337''W), em novembro de 2013. Uma exsicata foi depositada no herbário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (35924 RBR). Foram coletados 1,8 quilogramas de frutos maduros (Figura 5B). Após coletados, os frutos foram lavados e descaroçados manualmente. A polpa obtida foi armazenada em freezer a -18°C. Após o congelamento, a polpa com casca foi liofilizada (Figura 5C) à temperatura de -40°C em liofilizador Liotop modelo L 101 por um período de 24 horas, e não até peso constante, por este motivo foi realizada análise de umidade do liofilizado. Da amostra liofilizada foi obtido um pó (Figura 5D) utilizando-se o moinho IKA modelo A11, armazenado em freezer a -18°C até o momento das análises.

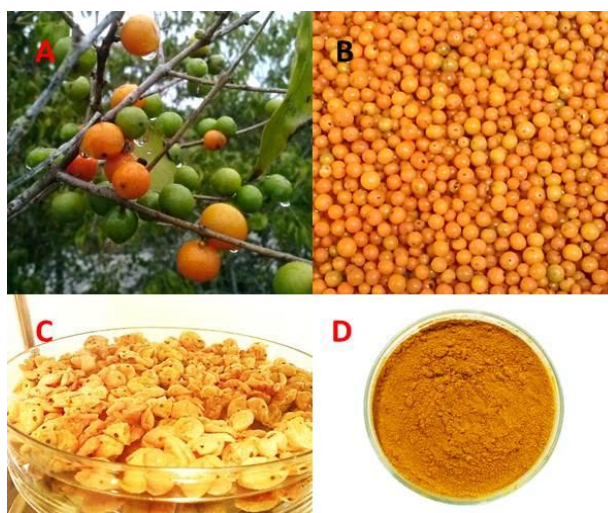


Figura 5: *M. floribunda*. (A) Frutos de *M. floribunda*, camboim. (B) Frutos coletados. (C) Frutos desencaroçados liofilizados. (D) Liofilizado de polpa com casca de camboim.

4.3. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

4.3.1. Umidade

A análise de umidade foi realizada segundo a metodologia da AOAC (1996) descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). O método utilizado foi o de secagem em estufa ($105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$), baseado na remoção da água por aquecimento. Foi pesado, em balança analítica de precisão, 1 g da amostra em cápsula de massa previamente determinada. O cadinho contendo a amostra foi levado à estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$, e retirado após a secagem da amostra, foi então resfriado, à temperatura ambiente, em dessecador, e teve sua massa novamente determinada. Logo após, os cadinhos retornaram à estufa e o procedimento foi repetido até a obtenção de massa constante (por aproximadamente 5 h). Utilizando-se os valores da massa inicial e massa final, foi então calculada a porcentagem de umidade nas amostras. A análise foi realizada em triplicata.

4.3.2. Análise de cinzas

A análise de cinzas foi realizada segundo a metodologia da AOAC (1996) descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). O método empregado foi o de incineração em mufla, no qual toda a matéria orgânica foi queimada. A amostra foi pesada (1g), em balança analítica de precisão, em cadinho de porcelana de massa previamente determinada. A amostra foi carbonizada no bico de bunsen e depois permaneceu na mufla ($550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) até total queima da matéria orgânica obtendo-se peso constante. A diferença entre a massa da amostra mais cadinho e a massa do cadinho forneceu a massa das cinzas da amostra. A análise foi realizada em triplicata.

4.3.3. Análise de lipídeos

A análise de lipídeos foi realizada segundo a metodologia de determinação rápida de lipídeos utilizando solvente a alta temperatura (Am 5-04) da AOCS – American Oil Chemists’ Society (2009). Utilizando balança analítica de precisão, pesou-se em saquinhos Akon[®] XT4 1g da amostra (P₁). Os saquinhos foram vedados em seladora. As amostras foram então secas em estufa a 102 ± 2°C por 3 horas, em uma peneira com malha de 4mm. Após este período a amostra foi deixada em dessecador até chegar à temperatura ambiente e pesar (P₂). As amostras foram então acomodadas no Extrator de Gordura Akon[®] modelo XT10 e, com o auxílio de uma proveta, foram adicionados 200 mL de éter de petróleo no compartimento de extração e 150 mL de éter de petróleo no tubo de teflon. Em seguida, o equipamento foi ligado, selecionado o tempo de extração de 60 minutos e a temperatura de extração de 90°C. Após completo o processo de extração, as amostras foram retiradas do extrator com uma pinça, acomodadas em peneira de malha de 4mm e secas em estufa a uma temperatura de 102 ± 2°C por 30 minutos. As amostras foram resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e então pesadas (P₃). O resultado quantitativo será calculado através da fórmula:

$$\% \text{ Lipídeos} = \frac{100 \times (P_2 - P_3)}{P_1}$$

P₁ = peso original da amostra / P₂ = peso da amostra seca mais o saquinho de filtração antes da extração / P₃ = peso da amostra seca mais o saquinho de filtração após a extração.

4.3.4. Análise de proteínas

A análise de proteínas foi realizada segundo o método de Kjeldahl Clássico descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). O procedimento do método baseia-se na digestão da amostra com ácido sulfúrico e mistura catalisadora contendo sulfato de cobre e sulfato de potássio para acelerar a reação. Assim, todo o carbono e hidrogênio serão oxidados a gás carbônico e água. Pesou-se 1 g da amostra em papel de seda. Transferiu-se para o balão de Kjeldahl

(papel+amostra). Adicionaram-se 25 mL de ácido sulfúrico e cerca de 6 g da mistura catalítica. Levando em seguida ao aquecimento em chapa elétrica, na capela, até que a solução se tornou azul-esverdeada e livre do material não digerido (pontos pretos). Aqueceu-se por mais uma hora seguido de resfriamento a temperatura ambiente. Em seguida, transferiu-se quantitativamente o material do balão para o frasco de destilação. Foram adicionadas 10 gotas do indicador fenolftaleína e 1 g de zinco em pó (para ajudar a clivagem das moléculas grandes de protídios). Ligou-se imediatamente o balão ao conjunto de destilação mergulhando a extremidade afilada do refrigerante em 25 mL de ácido sulfúrico 0,05 M, contido em frasco Erlenmeyer de 500 mL com 3 gotas do indicador vermelho de metila. Ao frasco que contém a amostra digerida adicionou-se, por meio de um funil com torneira, solução de hidróxido de sódio a 30% até que se garantisse um ligeiro excesso de base. Foi realizado aquecimento até a ebulição e destilado até obter cerca de (250-300) mL do destilado. O excesso de ácido sulfúrico 0,05 M foi titulado com solução de hidróxido de sódio 0,1 M, usando vermelho de metila. O resultado quantitativo foi calculado através da fórmula:

$$\frac{V \times 0,14 \times f}{P} = \text{protídeos por cento, m/m}$$

V = diferença entre o nº de mL de ácido sulfúrico 0,05 M e o nº de mL de hidróxido de sódio 0,1 M gastos na titulação / P = nº de g da amostra/ f = fator de conversão (6,25)

4.3.5. Análise de Carboidratos totais

O conteúdo de carboidratos totais, que incluem monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos (amido, celulose e fibras dietéticas), foi determinado por diferença: descontando-se os valores de umidade, cinzas, lipídeos e proteína de 100g, o restante foi considerado carboidrato.

4.4. ANÁLISE DE CAROTENÓIDES

A extração dos carotenoides foi realizada segundo a metodologia de Rodríguez-Amaya (2001). A análise cromatográfica procedeu segundo a metodologia proposta por Pacheco (2014). A identificação dos carotenoides individuais foi realizada utilizando um mix de padrões previamente isolados no laboratório e quantificação dos carotenoides totais por espectrofotometria e carotenoides individuais pelo método de normalização.

4.4.1. Extração de carotenoides

Aproximadamente 0,1 g da amostra foi pesado em balança analítica, e então macerado em um gral de porcelana com ± 3 g de Celite e cerca de 50 mL de acetona. Em seguida, filtrou-se o macerado em um funil de vidro sinterizado sob vácuo, esta extração foi repetida três vezes, até a amostra não apresentar mais coloração característica. Transferiu-se a solução filtrada, quantitativamente, para um funil de separação de 500 mL, colocando aproximadamente 40 mL de éter de petróleo, seguido da adição de 300 mL de água ultrapurificada para extração dos carotenoides para a fase etérea por partição, esta extração foi realizada três vezes. Transferiu-se então a solução etérea para balão volumétrico de 25 mL passando através de um funil com sulfato de sódio anidro, avoluma-se o balão com éter de petróleo. Uma alíquota de 5 mL deste extrato foi saponificada com 5 mL de uma solução metanólica de KOH 10% (m/v) por 16 horas ao abrigo da luz e oxigênio, sendo então particionada com éter de petróleo e transferida para um balão volumétrico (25 mL). Logo após, retirou-se uma alíquota de 2 mL da solução obtida e secou-se em frasco âmbar sob fluxo de nitrogênio. Após seco, dissolveu-se em 100 μ L de acetona e transferiu-se para *vial* âmbar com redutor a fim de se realizar a análise por CLAE. Para quantificação de carotenoides totais, uma alíquota da solução etérea foi lida em espectrofotômetro. A análise foi realizada em triplicata.

4.4.2. Análise por CLAE de Carotenoides

A análise cromatográfica foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Waters® Modular composto por bomba 600, injetor automático 717 plus, com detector de arranjo de fotodiodos (DAD) Waters® modelo 996 (243,8nm), software Empower®, coluna YCM Carotenoid S-3 (4,6 x 250 mm). Condições cromatográficas utilizadas estão demonstradas na tabela 3.

Tabela 3: Condições cromatográficas da análise de carotenoides

Condições Cromatográficas	
Temperatura da coluna	33°C
Modo de eluição	Gradiente
Fase Móvel A	Metanol
Fase Móvel B	Éter metil- <i>terc</i> -butílico
Fluxo	0,8 mL/min
Volume de injeção	15µL
Tempo de corrida	28 min.
Temperatura do vial	15°C

A tabela 4 apresenta o gradiente de fase móvel utilizado.

Tabela 4: Gradiente de fase móvel utilizado para análise de carotenoides

Tempo (min)	Fluxo	Fase Móvel (%)	
		Metanol	Éter metil- <i>terc</i> -butílico
0	0,8	80	20
0,50	0,8	75	25
15,00	0,8	15	85
15,05	0,8	10	90
16,50	0,8	10	90
16,55	0,8	80	20
28,00	0,8	80	20

4.4.3. Quantificação dos carotenoides

4.4.3.1. *Carotenoides totais*

Para determinação dos carotenoides totais uma alíquota da solução etérea obtida de acordo com o item 4.4.1 foi lida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 450 nm. Foi utilizado éter de petróleo como branco.

O valor de leitura da absorvância deveria estar dentro da faixa de linearidade do espectrofotômetro, que é entre 0,2 e 0,8. Caso o valor da absorvância apresentado pela leitura da solução fosse superior a faixa de linearidade seria necessária diluição desta em éter de petróleo, caso fosse inferior seria necessária nova extração com menor massa.

Obtido o valor da absorvância do extrato etéreo os carotenoides totais foram quantificados segundo a fórmula:

$$\text{Concentração}(\mu\text{g}/100\text{g}) = \frac{\text{Abs.} \times \text{Vol.} \times \text{Dil.} \times 10000}{2592 \times \text{ma.}}$$

Abs. = valor da leitura da absorvância / Vol. = volume do balão volumétrico utilizado (mL) / Dil. = diluição do extrato (quando usada para a faixa de linearidade) / 2592 = valor da absorvância do β -caroteno / ma. = massa da amostra (g)

4.4.3.2. *Carotenoides individuais*

O método de quantificação por normalização consiste em quantificar o teor do composto em porcentagem. Para quantificação dos carotenoides individuais após a análise cromatográfica foi realizada a medição da área dos picos de todos os carotenoides identificados. O cálculo do percentual de cada carotenoide identificado foi realizado segundo a fórmula:

$$\% \text{ do carotenoide} = \frac{\text{área do carotenoide}}{\sum \text{das áreas de todos os carotenoides identificados}} \times 100$$

Em seguida, o teor de cada carotenoide foi calculado baseado no teor de carotenoides totais, mensurado anteriormente de acordo com o item 4.4.3.1, de acordo com a fórmula:

$$\text{Teor do carotenoide } (\mu\text{g}/100\text{g}) = \frac{\% \text{ do carotenoide}}{100} \times \text{teor de carotenoides totais}$$

4.4.4. Cálculo do potencial pró vitamínico A

O potencial pró vitamínico A, em retinol equivalente (RE) dos carotenoides foi calculado em acordo com a RDC n° 269 de 2005 da Anvisa, seguindo a fórmula:

$$\text{Potencial pró vitamínico A } (\mu\text{g RE}/100\text{g}) = (A \times 0,167) + \left(\sum A' \times 0,084 \right)$$

A = Teor de β -caroteno ($\mu\text{g}/100\text{g}$) / A' = Teor dos demais carotenoides pró vitamínicos A ($\mu\text{g}/100\text{g}$)

4.5. ANÁLISE DE ÁCIDO ASCÓRBICO

A análise de ácido ascórbico foi realizada segundo metodologia de Rosa *et al.* (2007). O método baseia-se na separação cromatográfica da amostra em coluna de troca iônica e conseqüente identificação e quantificação do ácido ascórbico presente em alimentos por padronização externa.

4.5.1. Extração de Ácido Ascórbico

Pesou-se 0,5 g de amostra em balão volumétrico de 25 mL, ao qual foram adicionados 10 mL de solução de ácido sulfúrico 0,5M em água ultrapurificada, seguido de extração em banho ultrassom por 10 min. Passada a extração, o balão volumétrico foi avolumado com solução de ácido sulfúrico 0,5M em água ultrapurificada e o extrato filtrado (filtro de papel qualitativo 80 g 150mm; Unifil) diretamente para o *vial* de injetor automático. A análise foi realizada em triplicata.

4.5.2. Análise por CLAE de ácido ascórbico

A análise cromatográfica foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Waters[®] Alliance modelo 2690/5, com DAD Waters[®] modelo 2996 (243,8nm), software Empower[®], coluna HPX 87 H BIO RAD (7,8 x 300mm). As condições cromatográficas estão demonstradas na tabela 5.

Tabela 5: Condições cromatográficas da análise de ácido ascórbico

Condições Cromatográficas	
Temperatura da coluna	Ambiente
Modo de eluição	Isocrático
Fase Móvel	Solução de Acido Sulfúrico 0,5M em água ultrapurificada
Fluxo	0,7mL/min.
Volume de injeção	20µL
Tempo de corrida	10 min.
Temperatura do injetor	10°C

4.5.3. Construção da curva analítica

Para construção da curva analítica foi preparada, em balões volumétricos de 25 mL, um soluções de 1,03 mg/mL de padrão de ácido ascórbico em ácido sulfúrico 0,5M. Em seguida, foram realizadas análises cromatográficas utilizando 4 diferentes volumes de injeção onde cada um representava um ponto da curva. A concentração de cada ponto foi calculada considerando-se o volume de injeção e a concentração da solução de padrão. A tabela 6 apresenta a concentração calculada dos pontos da curva de acordo com o volume de injeção.

Tabela 6: Pontos da curva analítica com seus respectivos volume de injeção e concentração calculada

Ponto	Volume de injeção (μL)	Concentração calculada (mg/mL)
1	1	0,0010
2	3	0,0031
3	5	0,0051
4	10	0,0103

4.6. ANÁLISE DE AÇÚCARES

A análise de açúcares foi realizada segundo metodologia de Macrae (1998). O método baseia-se na separação cromatográfica da amostra em coluna de Fase Reversa e com identificação e quantificação dos açúcares utilizando método de padronização externa.

4.6.1. Extração de açúcares

Aproximadamente 0,3 g de amostra foram pesados em balão volumétrico de 25 mL, ao qual foram adicionados 10 mL de água ultrapurificada, com posterior extração em banho ultrassom por 20 minutos. Em seguida, adicionaram-se 5 mL de acetonitrila e avolumou-se o

balão volumétrico com água ultrapurificada. O extrato foi então filtrado (filtro de papel qualitativo 80 g 150mm; Unifil) diretamente para o *vial* de injetor automático. A análise foi realizada em triplicata.

4.6.2. Análise por CLAE de açúcares

A análise cromatográfica foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Waters® Alliance modelo 2690/5, com detector de índice de refração Waters® modelo W2410, software Empower®, coluna Amino 30 cm x 4,6 mm (High Performance Carbohydrate). As condições cromatográficas estão demonstradas na tabela 7.

Tabela 7: Condições cromatográficas da análise de açúcares

Condições Cromatográficas	
Temperatura da coluna	Ambiente
Modo de eluição	Isocrático
Fase Móvel	75% de acetonitrila em água
Fluxo	1,4mL/min.
Temperatura interna do detector	45°C
Volume de injeção	20µL
Tempo de corrida	20 min.
Temperatura do injetor	10°C

4.6.3. Construção das curvas analíticas

Para construção das curvas analíticas foram preparadas, em balões volumétricos de 25 mL, soluções de concentração conhecida com os padrões analíticos comerciais de frutose, glicose e sacarose (Ponto 5). Em seguida, foram realizadas análises cromatográficas utilizando 6 diferentes volumes de injeção onde cada um representava um ponto da curva. A concentração de cada ponto foi calculada considerando-se o volume de injeção e a concentração da solução de padrão. A tabela 8 apresenta a concentração calculada dos pontos da curva de acordo com o volume de injeção.

Tabela 8: Pontos da curva analítica com seus respectivos volume de injeção e concentração calculada para cada padrão analítico

Ponto	Volume de injeção (µL)	Concentração calculada (mg/mL)		
		Frutose	Glicose	Sacarose
1	1	0,25	0,27	0,25
2	5	1,24	1,36	1,27
3	12	2,48	2,73	2,54
4	15	3,72	4,09	3,81
5*	20	4,97	5,46	5,08
6	25	6,21	6,82	6,35

* Concentração obtida pelo preparo da solução com padrões analíticos.

4.7. ANÁLISE DE FLAVONOIDES

A análise de flavonoides foi realizada segundo metodologia adaptada de Klump *et al.* (2001). O método baseia-se na separação cromatográfica da amostra em coluna de fase reversa, identificação e quantificação por padronização externa.

4.7.1. Extração de flavonoides

Foram pesados, em balança analítica de precisão, em frasco de vidro âmbar (50 mL) 0,3g da amostra. Adicionaram-se 10 mL de MeOH:Água (80:20). O frasco foi tampado e mantido em estufa por 2,5 horas a 65 °C. Retirado da estufa a amostra foi mantida em repouso até atingir a temperatura ambiente. Foram adicionados 600 µL de NaOH 0,1N, seguido de agitação e então repouso à temperatura ambiente por 10 min. Em seguida, adicionaram-se 200 µL de Ácido Acético Glacial seguido de agitação. Foi aguardada a decantação da amostra e o sobrenadante filtrado (filtro de papel qualitativo 80 g 150mm; Unifil) e transferido para vial de injetor automático. A análise foi realizada em triplicata.

4.7.2. Análise por CLAE de flavonóides

A análise cromatográfica foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Waters® Alliance modelo 2690/5, com DAD Waters® modelo 2996 (varredura 210 a 600 nm com quantificação em 260nm), software Empower®, coluna Thermo BDS HYPERSIL C₁₈ (100x4,6mm; 2,4µm). As condições cromatográficas estão demonstradas na tabela 9.

Tabela 9: Condições cromatográficas da análise de flavonoides

Condições Cromatográficas	
Coluna	Thermo BDS HYPERSIL C18 (100x4,6mm; 2,4µm)
Temp. da Coluna	45°C
Temp. do Injetor	15°C
Detector	DAD (260nm)
Fluxo	1 mL/min.
Vol. De Injeção	10 µL
Tempo de corrida	28 min.
Fase Móvel A	Ác. Fórmico 1%
Fase Móvel B	Acetonitrila

A tabela 10 apresenta o gradiente de fase móvel utilizado.

Tabela 10: Gradiente de fase móvel utilizado para análise de flavonoides

Tempo (min)	Fluxo	Fase Móvel (%)	
		Ác. Fórmico 1%	Acetonitrila
0	1,0	95	5
15	1,0	70	30
23	1,0	40	60
24	1,0	95	5
28	1,0	95	5

4.7.3. Construção da curva analítica de rutina

Para construção da curva analítica de rutina foi preparada em balão volumétrico de 50 mL uma solução de 300 µg/mL de padrão analítico de rutina em metanol 80%. Os pontos da curva foram preparados a partir de 6 diferentes diluições da solução padrão em metanol 80% (tabela 11). A análise cromatográfica dos pontos foi realizada nas condições descritas no item 4.7.2.

Tabela 11: Pontos da curva analítica de rutina e suas concentrações

Ponto	Concentração (µg/mL)
1	40
2	100
3	150
4	200
5	250
6	300

4.8. ANÁLISE DE ÁCIDOS FENÓLICOS

A análise de ácidos fenólicos será realizada segundo metodologia de Mattila & Kumpulainen (2002). O método baseia-se na separação cromatográfica da amostra em coluna de fase reversa, identificação e quantificação por padronização externa.

4.8.1. Extração de ácidos fenólicos

Foram pesados, em balança analítica de precisão, em frasco de vidro âmbar (50 mL) 0,3g da amostra ao qual adicionaram-se 10 mL da mistura: MeOH (contendo BHT 2g/L) / Ác. Acético 10 % (85:15). O frasco foi tampado, agitado vigorosamente e levado ao ultrassom por 30 minutos. Foi então aguardada a decantação da amostra e uma alíquota de 100µL do sobrenadante foi transferida para redutor de volume em vial de injetor automático. Foi realizada a análise cromatográfica para determinação dos ácidos fenólicos livres. Ao frasco, foram adicionados 17 mL de NaOH 3M, e borbulhado N₂ durante 1 minuto, seguido de agitação mecânica por 16 horas. O frasco então foi deixado em repouso, e o sobrenadante transferido para béquer de 100 mL, seguido de ajuste do pH para 2,0 com HCl 3N (aproximadamente 7 mL). Reservou-se o resíduo sólido no frasco original. Transferiu-se o conteúdo do béquer para funil de separação e foi realizada 3 vezes a extração dos ácidos fenólicos com 15mL de Éter Etílico / Acetato de Etila (1:1). Combinadas as fases etéreas (superior) das 3 extrações em balão volumétrico de 50mL, este foi avolumado com a mistura Éter Etílico / Acetato de Etila (1:1). Sob fluxo de N₂ uma alíquota de 1 mL do extrato foi seco, então dissolvido em 100µL de Metanol e realizada a análise cromatográfica. Em seguida, retornou-se a fase aquosa para o frasco original contendo o resíduo sólido e adicionaram-se 2,5mL de HCl concentrado. O frasco foi tampado e levado a estufa a 85°C durante 35 minutos. Após o resfriamento até temperatura ambiente, o conteúdo foi transferido para béquer de 100 mL e ajustado o pH para 2,0 com NaOH 1,5N (aproximadamente 5 mL) Procedeu-se nova extração, evaporação e análise cromatográfica conforme realizado anteriormente. Após a quantificação foram somados os resultados das três análises cromatográficas para se obter os ácidos fenólicos totais.

4.8.2. Análise por CLAE de ácidos fenólicos

A análise cromatográfica foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Waters® Alliance modelo 2690/5, com DAD Waters® modelo 2996 (varredura 210 a 400nm -

Extrair cromatogramas em 270 e 310nm), software Empower[®], coluna Thermo BDS HYPERSIL C₁₈ (100x4,6mm; 2,4µm). As condições cromatográficas estão demonstradas na tabela 12.

Tabela 12: Condições cromatográficas da análise de ácidos fenólicos

Condições Cromatográficas	
Coluna	Thermo BDS HYPERSIL C ₁₈ (100x4,6mm; 2,4µm)
Temp. da Coluna	30°C
Temp. do Injetor	20°C
Detector	DAD (270 e 310nm)
Fluxo	1 a 1,2 mL/min.
Vol. De Injeção	10 µL
Tempo de corrida	28 min.
Fase Móvel A	Ácido Fosfórico 1,5mL/L em Água
Fase Móvel B	Acetonitrila

A tabela 13 apresenta o gradiente de fase móvel utilizado.

Tabela 13: Gradiente de fase móvel utilizado para análise de ácidos fenólicos

Tempo (min)	Fluxo	Fase Móvel (%)	
		Ác. Fosfórico 1,5 mL em água	Acetonitrila
0	1,0	95	5
6	1,0	95	5
12	1,2	88	12
18	1,2	80	20
20	1,2	50	50
24	1,2	50	50
25	1,2	95	5
28	1,0	95	5

4.8.3. Construção das curvas analíticas

4.8.3.1. Construção da curva analítica do ácido elágico

Para construção da curva analítica do ácido elágico foi preparada em balão volumétrico de 100 mL uma solução de 1000 µg/mL de padrão analítico de ácido elágico em metanol 80%. Os pontos da curva foram preparados a partir de 6 diferentes diluições da solução padrão em metanol 80% (tabela 14). A análise cromatográfica dos pontos foi realizada nas condições descritas no item 4.8.2.

Tabela 14: Pontos da curva analítica de ácido elágico e suas concentrações.

Ponto	Concentração (µg/mL)
1	5
2	10
3	15
4	20
5	25
6	30

4.8.3.2. Construção da curva analítica do ácido gálico

Para construção da curva analítica do ácido gálico foi preparada uma solução de concentração conhecida com padrão analítico de ácido gálico em metanol 80%. Os pontos da curva foram preparados a partir de 7 diferentes diluições da solução padrão em metanol 80% (tabela 15). A análise cromatográfica dos pontos foi realizada nas condições descritas no item 4.8.2.

Tabela 15: Pontos da curva analítica de ácido gálico e suas concentrações

Ponto	Concentração (µg/mL)
1	125
2	144
3	170
4	208
5	267
6	374
7	623

4.9. ANÁLISE DE VOLÁTEIS DO ÓLEO ESSENCIAL

A análise de voláteis foi realizada por cromatografia gasosa (CG) utilizando os detectores de ionização de chamas (DIC) e espectrômetro de massa (MS).

4.9.1. Extração dos voláteis

A análise dos voláteis foi realizada segundo a metodologia descrita por Godoy *et al.* (2013). A extração dos voláteis para análise por cromatografia gasosa foi realizada por SPME (Solid Phase Microextraction). Durante 60 min, a temperatura ambiente, os voláteis foram extraídos de 0,3 g da amostra e adsorvidos, no headspace, por uma fibra de adsorção Supelco® CAR/DVB/PDMS (Carboxen/divinylbenzene/poly(dimethylsiloxane)) (Sigma-Aldrich®). A fibra de adsorção passou por um condicionamento de 1 hora á 270 °C.

4.9.2. Análise por CG dos voláteis do óleo essencial

A análise com detector de ionização de chamas ocorreu em cromatógrafo de gás Agilent® 7890A e coluna HP (55 % Difenil / 95% Dimetilpolisiloxano). A análise com detector MS Agilent® 5973N ocorreu em Cromatógrafo de Gás Agilent® 6890S e mesma coluna. Foi realizada análise de uma série de n-alcenos (C₅-C₂₃) em Cromatógrafo de Gás Agilent® 7890A com detector de ionização de chamas, mesma coluna e mesmas condições das demais análises para identificação dos voláteis pelo índice de retenção (IR). As condições cromatográficas são demonstradas na tabela 16.

Tabela 16: Condições cromatográficas da análise de voláteis

Condições Cromatográficas	
Coluna	5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano (HP-5, Agilent Technologies)
Fluxo na Coluna (H2)	1,5 mL/min a 40 graus
Temperatura Inicial	40°C
Temperatura Final	240°C
Taxa de aquecimento	3°C/min.
Temperatura do Injetor	250°C
Tempo Inicial	3 min.
Tempo Final	10 min.
Taxa de divisão	splitless
Temperatura Detetor	280°C

A dessorção foi realizada a temperatura do injetor e a injeção em modo splitless durante 3 min. A fibra foi mantida no injetor por 30 min após a abertura da válvula split. Para análise por cromatografia gasosa com detector seletivo de massas (quadrupolo) foram mantidas as mesmas condições descritas acima sendo o gás de arraste Hélio. A ionização foi realizada a 70 eV.

4.9.3. Identificação e quantificação dos voláteis do óleo essencial

Os voláteis foram identificados por comparação de seus espectros de massa com os espectros de massa da biblioteca NIST (National Institute of Standards and Technology). Para o cálculo do índice de retenção linear (IRL) foi realizada análise de uma série de n-alcenos (C₅-C₂₃) utilizando o detector FID, mesma coluna e condições de análise da amostra. O cálculo do IRL foi realizado segundo a fórmula:

$$IRL = \left(\frac{\log t_{R'} \text{ subst} - \log t_{R'} n}{\log t_{R'}(n+1) - \log t_{R'}(n)} + n \right) \times 100$$

$T_{R'} \text{ subst}$ = tempo de retenção corrigido da substância / $t_{R'} n$ = tempo de retenção corrigido do n-alceno imediatamente inferior ao tempo de retenção da amostra / $T_{R'} n+1$ = tempo de retenção corrigido do n-alceno imediatamente superior ao tempo de retenção da amostra / n = número de carbonos do n-alceno imediatamente inferior ao tempo de retenção da amostra

4.10. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A análise da atividade antioxidante será realizada segundo a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2007).

4.10.1. Extração dos antioxidantes

Em balança analítica de precisão, pesaram-se 0,5 g da amostra em um béquer de 100 mL, seguido da adição de 40 mL de metanol 50 %, homogeneização e repouso de 60 minutos à temperatura ambiente. Em seguida a amostra foi centrifugada a 15.000 rpm durante 15 min e então transferido o sobrenadante para um balão volumétrico de 100 mL. A partir do resíduo da primeira extração, adicionaram-se 40 mL de acetona 70%, seguido de homogeneização e repouso por 60 min à temperatura ambiente. Em seguida a amostra foi centrifugada

novamente a 15.000 rpm durante 15 min, e transferido o sobrenadante para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante. O balão volumétrico foi completado com água destilada.

4.10.2. Determinação da atividade antioxidante

4.10.2.1. Método ABTS^{•+}

O radical ABTS^{•+} foi obtido pela reação da solução estoque de ABTS 7 mM com a solução persulfato de potássio 140 mM por 16 horas em ambiente escuro. O radical ABTS^{•+} foi diluído com etanol até se obter uma absorbância de 0,7 nm ± 0,05 nm a 734 nm. Alíquotas de 30 µL dos extratos obtidos no item 4.10.1 reagiram com 3 ml do radical ABTS^{•+} por 6 min e então foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 734 nm. A curva padrão foi obtida a partir da reação de soluções de diferentes concentrações de padrão de Trolox (100, 500, 1000, 1500 e 2000 µM) com o radical ABTS^{•+}. Os resultados foram expressos em µM de trolox/g do pó. A análise foi realizada em triplicata.

4.10.2.2. Método DPPH[•]

Uma solução de DPPH[•] 0,06 mM foi preparada com metanol. Alíquotas de 0,1 ml dos extratos obtidos no item 2.9.1 reagiram com 3,9 ml da solução de DPPH[•], então, se realizou a leitura em espectrofotômetro a 515 nm até a estabilização da absorbância (70 min para este extrato). A curva padrão foi obtida a partir da absorbância de diferentes concentrações da solução de DPPH[•] (10, 20, 30 40, 50 e 60 µM). A capacidade antioxidante foi calculada pela concentração de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial de radical DPPH[•] em 50% (EC₅₀). Os resultados foram expressos em g do pó/g de DPPH[•]. A análise foi realizada em triplicata.

4.11. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises foram realizadas em triplicata, resultados expressos em média \pm desvio padrão. Admitiram-se resultados com coeficiente de variação abaixo de 10%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a liofilização e moagem da polpa com casca de camboim obteve-se um pó de coloração amarela, similar a coloração dos frutos, e com agradável aroma cítrico. A liofilização da amostra levou a preservação dos compostos permitindo a realização de um grande volume de análises em um extenso espaço de tempo (aproximadamente 1 ano), bem como a obtenção de uma amostra homogênea resultando em um baixo desvio padrão nos resultados.

5.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

Os valores médios da composição centesimal do liofilizado de polpa com casca de camboim são demonstrados na tabela 9, assim como resultados da literatura acerca de outros frutos em nível de comparação. O liofilizado de polpa com casca de camboim apresentou uma umidade de 12,39%. A constatação deste percentual possibilitou que os resultados das demais análises pudessem ser expressos em base seca, permitindo uma comparação entre os resultados do liofilizado com resultados anteriores da literatura a respeito de frutos *in natura*.

Os carboidratos totais representaram 90,89% da porção de 100 g do liofilizado de polpa com casca de camboim. Na composição centesimal, as proteínas foram o segundo

componente encontrado em maior quantidade (4,78 g/100g, base seca), no entanto este conteúdo mostrou-se inferior ao de outros frutos de Mirtáceas comumente consumidos, como a goiaba, o jambo e a pitanga, como observado na tabela 9. De acordo com a RDC n°54 de 2012 da Anvisa, o liofilizado de polpa com casca de camboim apresenta um baixo conteúdo de lipídeos (2,43 g/100g, base seca), ou seja, menos de 3g por porção. Este conteúdo mostrou-se ainda inferior ao apresentado por outros frutos da mesma família (tabela 17).

Tabela 17: Valores médios da composição centesimal, em porcentagem ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de amostra), do liofilizado de polpa com casca de camboim comparados à composição centesimal de outros frutos (goiaba, jambo e pitanga).

Parâmetro	Camboim*	Goiaba	Jambo	Pitanga
Umidade	12,39 ± 0,16	80,8	93	90,81
Cinzas**	1,89 ± 0,07	7,24	5,71	5,44
Lipídios**	2,43 ± 0,10	4,95	4,29	4,35
Proteínas**	4,78 ± 0,38	13,28	8,57	8,71
Carboidratos**	90,89	74,58	81,43	81,50

Os valores são a média dos resultados da análise da amostra em triplicata, com os respectivos desvios padrão. *Liofilizado da polpa com casca de camboim. **Valores expressos em base seca. Fonte: USDA-National Nutrient Database for Standard Reference, 2013.

5.2. AÇÚCARES LIVRES

O cromatograma da análise de açúcares livres apresentou três picos. Estes foram identificados por correspondência entre seu t_R e o t_R de padrões analíticos injetados nas mesmas condições, como pode ser observado na figura 6. Estes picos foram identificados como os açúcares frutose, glicose e traços sacarose.

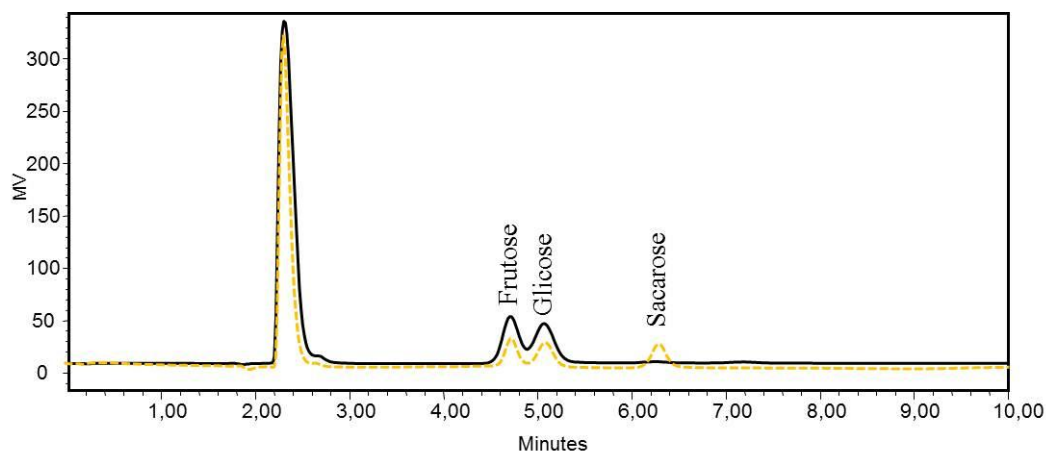


Figura 6: Cromatograma do extrato de açúcares do liofilizado de polpa com casca de camboim, em amarelo o cromatograma da análise dos padrões analíticos de frutose, glicose e sacarose.

Os açúcares identificados foram quantificados utilizando a equação da reta obtida pela construção da curva analítica com cada padrão analítico, o resultado da curva assim como o teor dos açúcares identificados no liofilizado de polpa com casca de camboim podem ser observados na tabela 18.

Tabela 18: Equação da reta e R^2 das curvas analíticas construídas com padrões analíticos de cada açúcar e teor destes açúcares no liofilizado de polpa com casca de camboim

Açúcares	Equação da Reta	R^2	Teor \pm DP*
Frutose	$Y = 8,64 \times 10^4 X - 1,70 \times 10^4$	0,9996	$22,89 \pm 2,10$
Glicose	$Y = 8,99 \times 10^4 X - 1,86 \times 10^4$	0,9999	$22,12 \pm 2,27$
Sacarose	$Y = 8,67 \times 10^4 X - 1,70 \times 10^4$	0,9998	$1,66 \pm 0,03$

*Resultado expresso em g/100g em base seca.

A literatura dispõe de poucos estudos sobre a identificação de açúcares livres em frutos de Mirtáceas. No entanto, estudos realizados por Kubola *et al.* (2011), identificaram a presença de 18,6 g/100g (base seca) de frutose e 21 g/100g (base seca) de glicose em frutos de jamelão (*Syzygium cumini* (L) Skeels), concentração similar a encontrada no liofilizado de polpa com casca de camboim.

O conteúdo total de açúcares (46,67%, base seca) mostrou-se próximo ao comumente observado em frutas tropicais, entre 50 e 80%, em base seca (ROGEZ *et al.*, 2004). Os monossacarídeos e dissacarídeos podem ser considerados as principais substâncias em frutas, pois se encontram em maior concentração dentre os carboidratos. Sendo assim, o teor de açúcares livres do liofilizado de polpa com casca de camboim refletiu o resultado esperado a ser encontrado em frutos frescos desta mesma espécie, já que estes representam 51,23% (base seca) dos carboidratos totais.

O teor de açúcares livres contribui para o sabor adocicado do liofilizado de polpa com casca de camboim, e poderia ser útil no melhoramento da palatabilidade de outros produtos aos qual este liofilizado fosse adicionado.

5.3. ÁCIDO ASCÓRBICO

A *Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, espécie pertencente ao mesmo gênero que a *M. floribunda*, é popular por apresentar um teor de ácido ascórbico superior ao observado em frutos conhecidos (RUFINO *et al.*, 2010). Esperando-se encontrar teor similar nos frutos de *M. floribunda* foi realizada análise do liofilizado de polpa com casca de frutos de camboim e, posteriormente, do fruto fresco, utilizando-se da mesma metodologia.

O ácido ascórbico foi identificado em polpa com casca de camboim *in natura* por correspondência do tempo de retenção (figura 7A) e espectro na região do visível entre o pico apresentado (figura 7C) com o padrão analítico de ácido ascórbico (figura 7B).

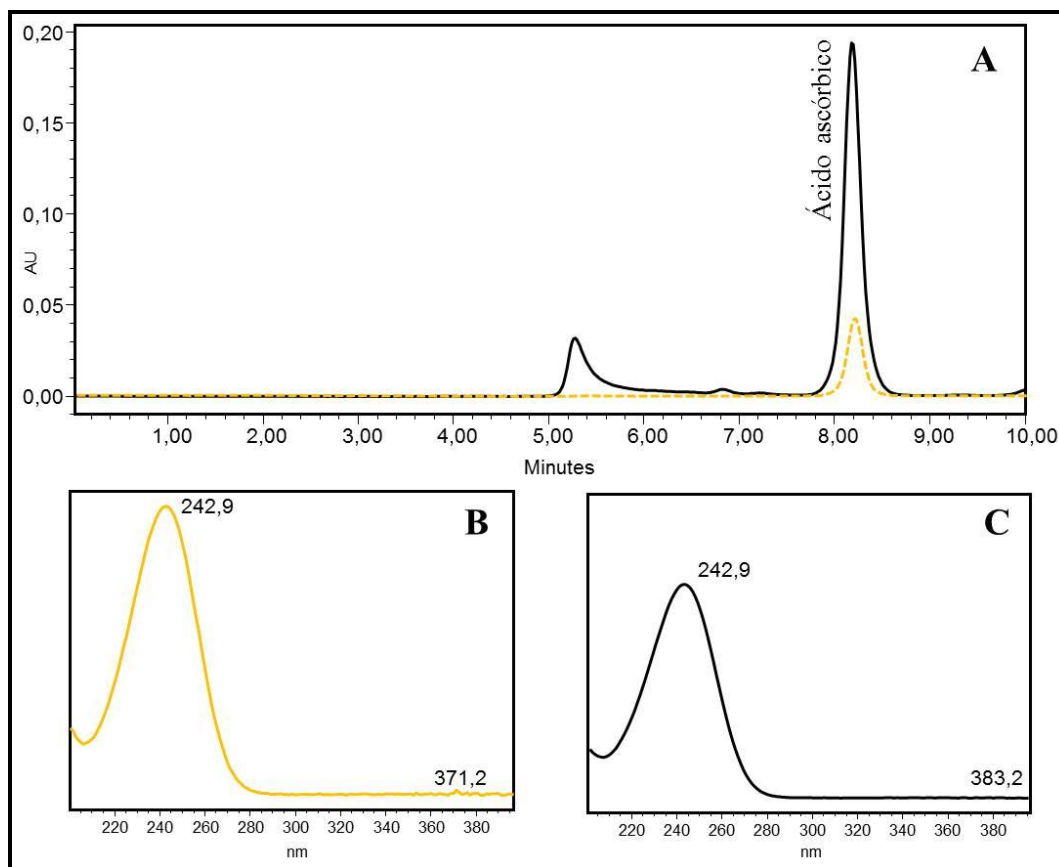


Figura 7: (A) Cromatogramas do extrato de ácido ascórbico de polpa com casca de camboim *in natura* e do padrão analítico de ácido ascórbico (amarelo) a 243,8 nm. (B) Espectro na região do visível do padrão analítico de ácido ascórbico. (C) Espectro na região do visível do pico identificado como ácido ascórbico no extrato de polpa com casca de camboim *in natura*.

Utilizando a equação da reta ($Y = 5,51 \times 10^7 X - 2,64 \times 10^4$; $R^2 = 0,9996$) obtida pela construção da curva analítica, se constatou um teor de $46,88 \pm 11,70$ mg de ácido ascórbico/100g em polpa com casca de camboim *in natura*. A tabela 19 apresenta o teor de ácido ascórbico determinado e o teor encontrado em outros frutos disponível na literatura.

Tabela 19: Teor de ácido ascórbico determinado para o fruto de camboim *in natura* e o teor encontrado em outros frutos disponível na literatura

Fruto	Teor (mg/100g)	Referência
Camboim	46,88	Experimental
Laranja	62,50*	Couto & Canniatti-
Tangerina	32,47*	Brazaca, 2010
Jamelão	112	Rufino <i>et al.</i> , 2010
Camu-camu	1882	Rufino <i>et al.</i> , 2010

*Resultados expressos em mg/mL.

O teor de ácido ascórbico em camboim *in natura* foi inferior ao encontrado em frutos de *Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh (1882 mg/100g fruto fresco), o camu-camu e outros frutos da família Myrtacea, como por exemplo o jamelão. Este teor foi ainda superior ao encontrado em tangerina, e próximo a laranja, reconhecidas fontes de ácido ascórbico. O teor de ácido ascórbico encontrado em uma porção (100 g) de camboim fornece a IDR (ingestão diária recomendada) preconizada pela RDC nº269 de 2005 da Anvisa (45 mg). Ainda, segundo a RDC nº54 de 2012 da Anvisa o camboim pode ser considerado um fruto rico em ácido ascórbico, pois oferece em uma porção. Apesar de baixo, o teor de ácido ascórbico encontrado em uma porção mais de 30% da IDR.

Não foi detectado Ácido ascórbico no liofilizado de polpa com casca de camboim. Estudos realizados por Marques *et al.*(2011) demonstraram uma variação entre 3-37 % de perda no teor de ácido ascórbico pelo processo de liofilização de frutos tropicais, esta perda ainda é considerada baixa se comparada a perda gerada por outros processos de desidratação. As diferentes propriedades químicas e físicas das suas estruturas morfológicas, e os diferentes íons metálicos encontrados em cada fruta, podem favorecer a oxidação do ácido ascórbico durante o processo de desidratação, o que poderia explicar o diferente comportamento das frutas liofilizadas em relação a perda de ácido ascórbico (Lee & Kader, 2000).

A identificação de ácido ascórbico no fruto fresco confirma a degradação desta durante o processo de liofilização, assim o liofilizado de polpa com casca de camboim não pode ser considerado uma fonte de ácido ascórbico a partir deste fruto.

5.4. FLAVONÓIDES

A análise do extrato de flavonoides gerou o cromatograma apresentado na figura 8A. Dos flavonoides observados foi identificada a rutina por comparação com t_R do padrão analítico e análise do espectro na região do visível, 260 nm (figura 8B e C). A quantificação foi realizada utilizando os dados da curva analítica do padrão analítico de rutina (Equação da reta: $Y = 1,80 \times 10^4 X - 9,24 \times 10^4$; $R^2 = 0,9996$), mensurando-se um teor de 78,56 mg/100g desta no liofilizado de polpa com casca de camboim.

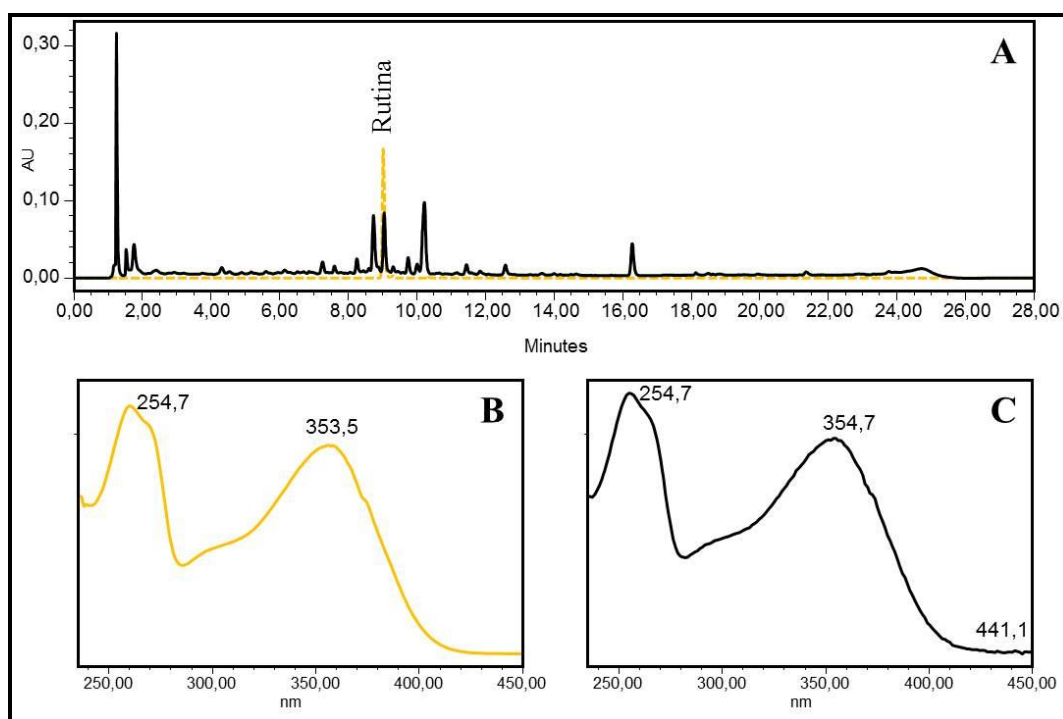


Figura 8: (A) Cromatogramas do extrato de flavonoides do liofilizado polpa com casca de camboim e do padrão analítico de rutina (amarelo) a 260 nm. (B) Espectro na região do visível do padrão analítico de rutina. (C) Espectro na região do visível do pico identificado como rutina no extrato do liofilizado de polpa com casca de camboim.

A rutina (quecirtina-3-O-ramnosídeo) é um flavonóide amplamente distribuído entre as frutas, hortaliças, chás e vinhos. Seus efeitos farmacológicos, tais como antialérgico (PARK

et al., 2008), antiinflamatório, antitumoral (AKIHISA *et al.*, 2007), antimicrobiana e ativiral (TADIC *et al.*, 2008), acarretam na sua utilização para o tratamento de diversas patologias. Outra atividade apresentada pela rutina, comum aos flavonoides, é a atividade antioxidante. Em estudos recentes a rutina apresentou alta capacidade antioxidante em variados sistemas *in vitro* (YANG, GUO & YUAM, 2008). Em um estudo realizado por Reynertson *et al.* (2008) a *Eugenia aggregata* (Vell.) Kiaersk. apresentou-se como a mirtácea de maior teor de rutina, com 0,048% (base seca), quase a metade do teor apresentado no liofilizado de polpa com casca de camboim, de 0,089% (base seca). O teor de rutina apresentado mostrou-se ainda superior ao encontrado em grãos de trigo sarraceno (0,018%, base seca), conhecido como a maior fonte alimentar de rutina (JIANG *et al.*, 2007). Sendo assim, a elaboração de um liofilizado de polpa com casca de camboim, mostrou-se benéfica para obtenção de um produto com alta concentração de rutina. O alto teor desta substância no liofilizado de polpa com casca de camboim proporciona a este produto a possibilidade de vir a ser utilizado como uma fonte para extração desta substância ou mesmo a utilização deste como aditivo em preparações.

5.5. ÁCIDOS FENÓLICOS

Como resultado da análise cromatográfica de cada fração do extrato de ácidos fenólicos do liofilizado de polpa com casca de camboim obtiveram-se os cromatogramas apresentados na figura 9. A fração 1 apresenta os ácidos fenólicos livres encontrados na matriz, fração 2 os ácidos fenólicos liberados pela hidrólise básica, e a fração 3 os liberados pela hidrólise ácida.

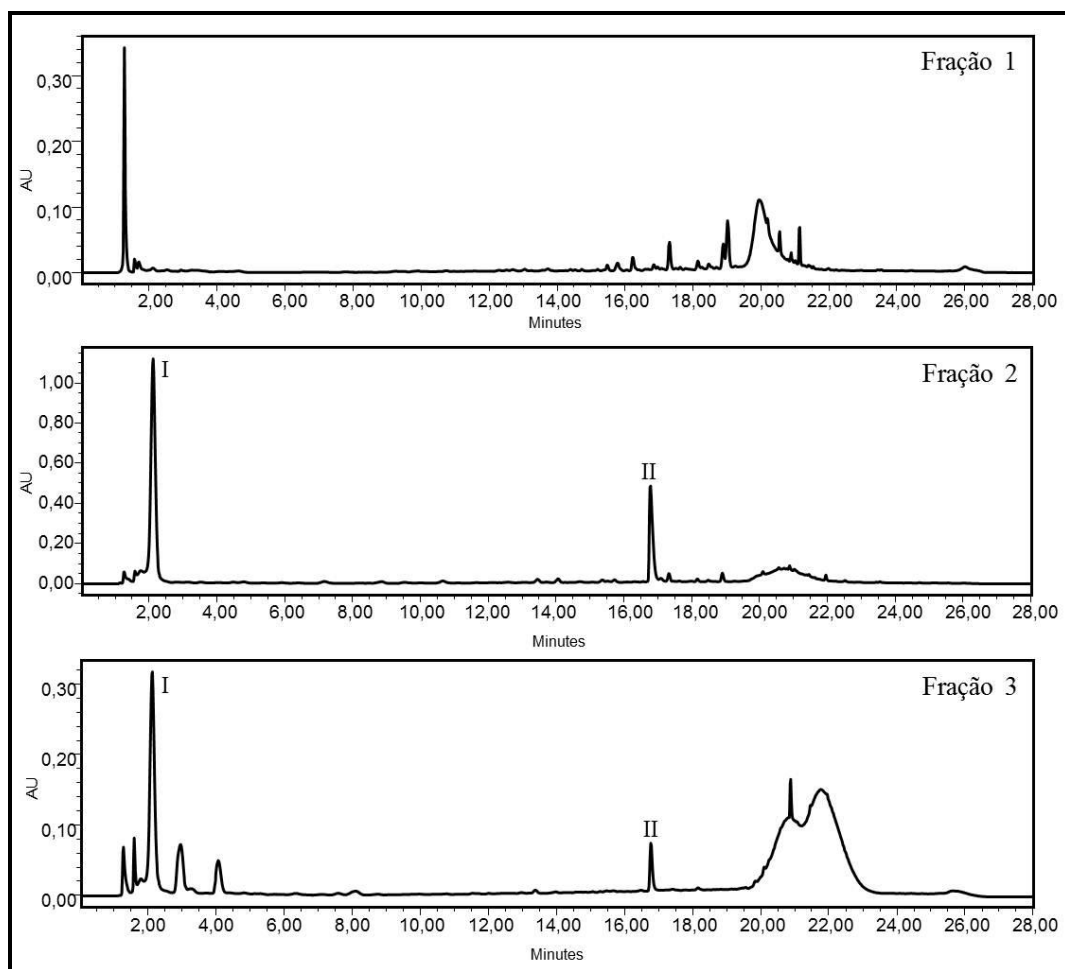


Figura 9: Cromatogramas das frações 1, 2 e 3 da análise de ácidos fenólicos a 270 nm. (I) Ácido gálico. (II) Ácido elágico.

A figura 10 apresenta os cromatogramas da análise do mix de padrões analíticos (A) e do padrão analítico de ácido elágico (B), injetados para se identificassem os ácidos fenólicos presentes no liofilizado de polpa e casca de camboim.

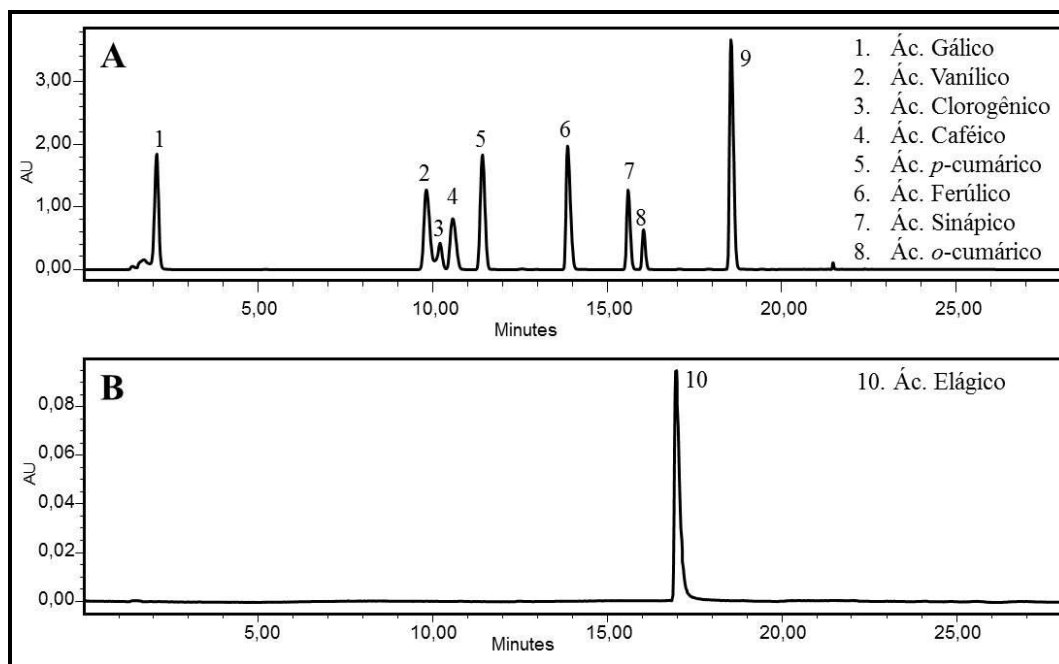


Figura 10: Cromatogramas da análise de padrões analíticos de ácidos fenólicos. (A) mix de padrões. (B) padrão de ácido elágico.

Não foram identificados nenhum dos ácidos fenólicos livres encontrados na fração 1. Nas frações 2 e 3 foram identificados os ácidos gálico e elágico, estes apresentaram mesmo t_R e espectro da absorção na região ultravioleta (Figura 11) que seus respectivos padrões analíticos.

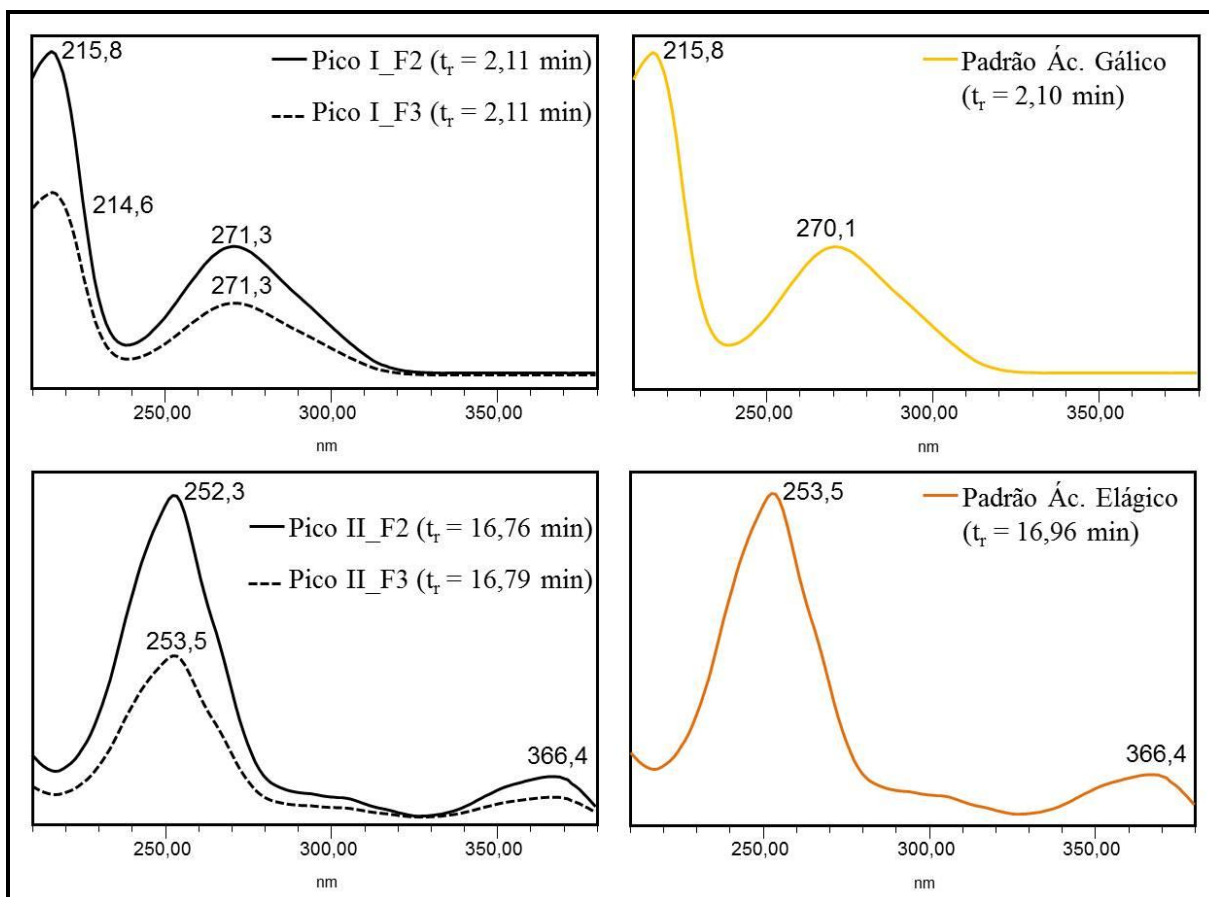


Figura 11: Espectros de na região ultravioleta (270 nm) e t_R ácidos fenólicos identificados e seus respectivos padrões analíticos.

Os ácidos gálico e elágico foram quantificados utilizando os dados da curva analítica (Ác. Gálico – Equação da reta: $Y = 2,38 \times 10^4 X$; $R^2 = 0,9926$. Ác, Elágico – Equação da reta: $Y = 7,98 \times 10^4 X + 5,09 \times 10^4$; $R^2 = 0,9827$) preparada com padrões analíticos destes, apresentando respectivamente 4,03 mg.g⁻¹ e 1,71 mg.g⁻¹ na fração 2 e, 1,31 mg.g⁻¹ e 0,29 mg.g⁻¹ na fração 3. Ambos os ácidos identificados são frequentemente encontrados em outras espécies da família Myrtaceae. Devido suas reconhecidas capacidades antioxidante e antimicrobiana (REYNERTSON *et al.*, 2008), a presença destes ácidos fenólicos no liofilizado de polpa com casca de camboim poderia permitir a este a possibilidade de atuar como conservador e antioxidante em preparações a que fosse adicionado.

5.6. CAROTENOIDES

A análise cromatográfica do extrato de carotenoides do liofilizado de polpa com casca de camboim revelou 7 carotenoides (Figura 12), sendo dois carotenoides majoritários, a β -criptoxantina e o β -caroteno, e outros 5 carotenoides em concentração inferior a 5%, luteína, zeaxantina, 13-*cis*- β -caroteno, α -caroteno e o 9-*cis*- β -caroteno.

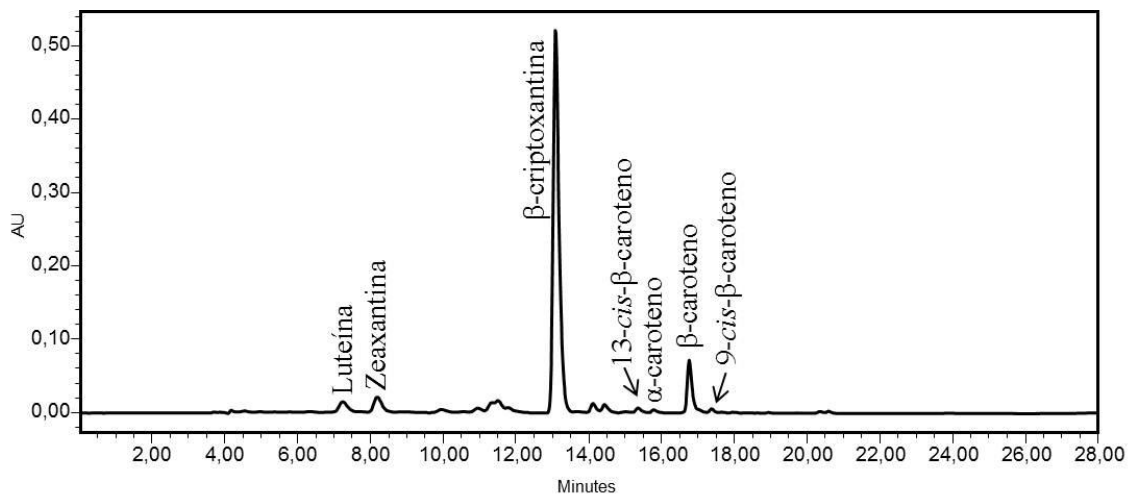
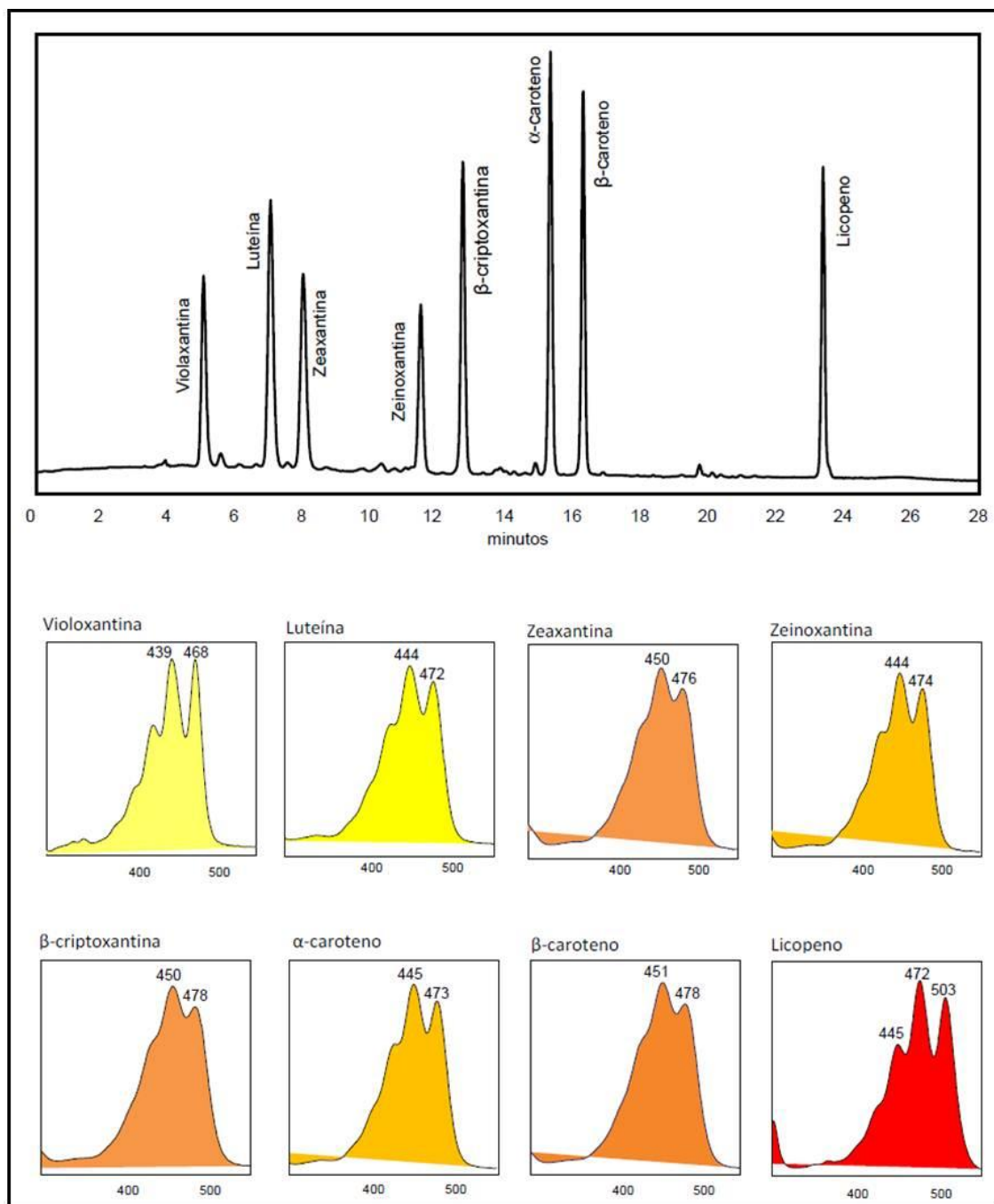


Figura 12: Cromatograma do extrato de carotenoides a 243,8 nm.

Estes carotenoides foram identificados pela correlação entre seus t_R e espectros na região do visível com a de padrões previamente isolados e analisados pelo laboratório (figura 13).



Fonte: Pacheco, 2009.

Figura 13: Cromatograma e espectros de absorção na região do visível (243,8 nm) de padrões de carotenoides previamente isolados e identificados no laboratório.

Os carotenoides majoritários, β-criptoxantina e β-caroteno, possuem espectros iguais na região do visível, no entanto foi possível distinguir os dois carotenoides pela diferença entre seus tempos de retenção (Figura 14). A similaridade entre os espectros destes

carotenoides se dá devido a sua similaridade estrutural. Isto porque a diferença entre estas duas moléculas se dá pela presença de uma hidroxila a mais na molécula do β -criptoxantina, o que torna esta molécula mais polar fazendo com que em uma coluna de fase reversa esta elua primeiro.

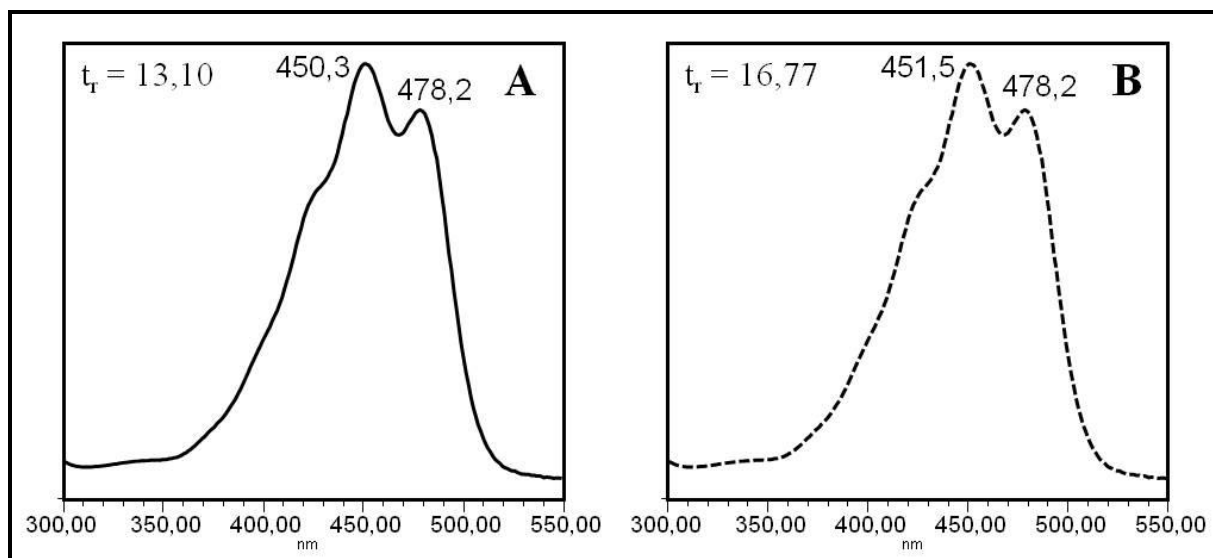


Figura 14: Espectros na região do visível (243,8 nm) dos carotenoides da β -criptoxantina (A) e β -caroteno (B) no liofilizado de polpa com casca de camboim.

Após a análise cromatográfica, os carotenoides foram quantificados como descrito no item 4.4.3. O Teor de carotenoides totais e de cada carotenoide identificado é apresentado tabela 20.

Tabela 20: Teor de carotenoides no liofilizado de polpa com casca de camboim (base úmida)

Carotenoides identificados	Teor \pm Desvio Padrão (mg/100g)
Luteína	1,39 \pm 0,16
Zeaxantina	2,03 \pm 0,21
β -criptoxantina	39,22 \pm 0,17
13- <i>cis</i> - β -caroteno	0,24 \pm 0,004
α -caroteno	0,26 \pm 0,01
β -caroteno	4,75 \pm 0,15
9- <i>cis</i> - β -caroteno	0,24 \pm 0,01
Totais	52,22 \pm 0,54

A β -criptoxantina apresentou um teor de (44,76 mg/100g, base seca) superior ao encontrado em frutos de cajá (10,46 mg/100g, base seca), *Spondias mombin* L., uma reconhecida fonte deste carotenoide (TIBURSKI *et al.*, 2011). Dos carotenoides identificados, β -criptoxantina, 13-cis- β -caroteno, α -caroteno, 9-cis- β -caroteno e o β -caroteno são carotenoides pró-vitânicos A. O potencial pró-vitânico A calculado resultou em um fornecimento de 4,15 mg RE/100g do liofilizado de polpa com casca de camboim, a IDR segundo a RDC nº269 de 2005 da Anvisa é de 0,6 mg, ou seja, 14,46 mg do liofilizado de polpa com casca de camboim é capaz de fornecer 100% da IDR.. De acordo com a RDC nº 54 de 2012 da Anvisa o liofilizado de polpa e casca e camboim pode ainda ser considerado um produto rico em vitamina A, pois em uma porção (100 g) ele fornece 100% da IRD desta vitamina.

5.7. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante tem sido amplamente estudada em diversos frutos. Os antioxidantes presentes em frutas e hortaliças podem produzir sinergismo ou inibição entre si. Por isso, além de avaliar o potencial antioxidante de substâncias isoladamente, torna-se interessante, estudar o potencial no contexto mais complexo, ou seja, em extratos totais obtidos de frutas. Dentre as metodologias utilizadas para avaliação da atividade antioxidante de frutos estão incluídos o método de captura do radical DPPH \cdot e o método de captura do radical ABTS \cdot^+ .

O potencial antioxidante do liofilizado de polpa com casca de camboim foi avaliado a partir de uma mistura dos extratos cetônico e metanólico deste, garantindo assim que o potencial antioxidante avaliado incluísse tanto as substâncias mais polares quanto as menos polares. A avaliação pelo método de captura do radical DPPH \cdot demonstrou um EC₅₀ de 85,68 g/g DPPH \cdot , e uma capacidade de 550,14 μ mol Trolox/g pelo método de captura do radical ABTS \cdot^+ . Em ambas as metodologias o extrato demonstrou uma capacidade antioxidante superior a de outros frutos liofilizados de myrtaceas analisados por Rufino *et al.* (2010), como jaboricaba (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg.), Jamelão (*Syzygium cumini* (L) Skeels),

murta (*Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O.Berg.) e uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess.), e inferior ao camu-camu (Tabela 21).

Tabela 21: Valores médios da atividade antioxidante do liofilizado de polpa com casca de camboim pelos métodos ABTS^{·+} e DPPH[·] em comparação a resultados de outros frutos retirados da literatura.

Fruto liofilizado	ABTS ^{·+} ($\mu\text{mol Trolox/g}$)	DPPH [·] EC ₅₀ (g/g DPPH [·])
Camboim	550,14 \pm 3,27	85,68 \pm 1,10
Jaboticaba*	317 \pm 2,7	138 \pm 3,1
Jamelão*	125 \pm 10,8	938 \pm 46,9
Murta*	166 \pm 4	363 \pm 27,4
Uvaia*	182 \pm 14,2	276 \pm 22,2
Camu-camu*	1237 \pm 33,8	42,6 \pm 1,4

Os valores são a média dos resultados da análise da amostra em triplicata, com os respectivos desvios padrão. *Fonte: Rufino *et al.*, 2010.

5.8. COMPOSTOS VOLÁTEIS DO ÓLEO ESSENCIAL

O camboim apresenta um intenso aroma cítrico, levemente adocicado. Após o processo de liofilização este aroma se manteve perceptível. A figura 15 apresenta o cromatograma da análise de voláteis com detector DIC e a tabela 22 apresenta os voláteis identificados no liofilizado de polpa com casca de camboim. Dos 32 compostos identificados 34,4% são monoterpenos hidrocarbonetos, 25% monoterpenos oxigenados e 40,6% sesquiterpenos hidrocarbonetos. O composto majoritário foi identificado como β -*cis*-Ocimeno, representando 50,8% da área relativa na análise cromatográfica utilizando o detector DIC.

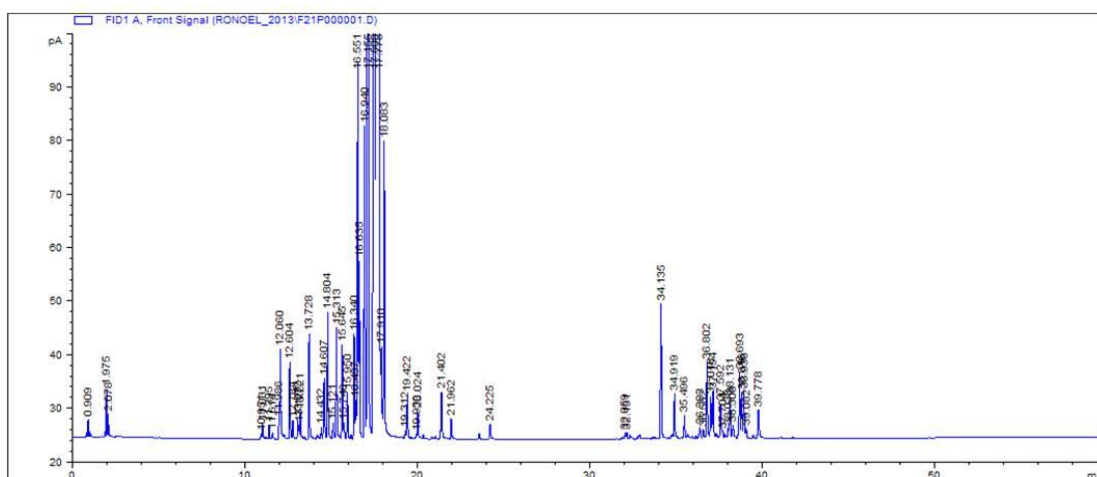


Figura 15: Cromatograma da análise do óleo essencial do liofilizado de polpa com casca de camboim por CG-DIC.

Tabela 22: Identificação de voláteis presentes no liofilizado de polpa com casca de camboim, determinada por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas e detector de ionização de chamas com coluna HP-5.

Identificação	IR _{Exp.}	IR _{Lit.}	% Área relativa (DIC)	MI
α -pireno	841	939	0,114	MS
β -pineno	937	979	0,985	IR, MS
α -terpineno	958	1017	0,690	IR, MS
Limoneno	975	1029	0,797	MS
1,8-cineol	980	1031	3,143	MS
β - <i>cis</i> -Ocimeno	1009	1037	50,882	IR, MS
γ -terpineno	1017	1060	2,515	IR, MS
Oxido de linalool <- <i>cis</i> -> (furanoid)	1030	1087	tr	IR, MS
Isoterpinoleno	1049	1088	0,068	IR, MS
Terpinoleno	1051	1089	0,392	IR, MS
β -linalool	1066	1097	0,248	IR, MS
Mentatrieno <1,3,8- <i>para</i> >	1090	1110	tr	IR, MS
Ocimeno <allo>	1098	1132	0,483	IR, MS
Ocimeno<neo-allo>	1113	1144	0,181	IR, MS
4-terpinenol	1155	1177	tr	IR, MS
α -terpineol	1172	1189	0,150	IR, MS
Geraniol	1192	1253	tr	IR, MS
Terpinen-7-al<alpha>	1209	1285	tr	IR, MS
Longiciclono	1377	1374	tr	IR, MS
α -ylangeno	1384	1375	0,057	IR, MS
α -copaeno	1390	1377	tr	IR, MS

Continuação...

Identificação	IR _{Exp.}	IR _{Lit.}	% Área relativa (DIC)	MI
Geranyl acetato	1404	1381	tr	IR, MS
Sativeno	1414	1392	tr	IR, MS
Isocaryophylleno	1425	1409	tr	IR, MS
α -cedreno	1429	1412	tr	IR, MS
β -caryophylleno	1442	1419	1,157	IR, MS
α -guaieno	1465	1440	0,394	IR, MS
α -caryophylleno (α -humuleno)	1482	1455	0,199	IR, MS
α -amorphenno	1514	1485	0,102	IR, MS
β -selineno	1521	1490	0,716	IR, MS
β -cadineno	1528	1529	0,363	IR, MS
Selina-3,7(11)-dieno	1586	1547	0,436	IR, MS

IR_{Exp.}: Índice de retenção calculado utilizando uma série de n-alcanos (C5-C23). IR_{Lit.}: Índice de retenção reportado pela literatura. MI: método de identificação; MS: compostos identificados por espectrometria de massa; IR: componentes identificados por comparação do índice de retenção com a literatura. Referências: Adams (2001) and NIST 08 library. tr: traços.

Thiebolt *et al.* (2012) identificou os voláteis presentes no óleo essencial das folhas, flores e caule de *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) *O.Berg.*, no qual os monoterpenos mostraram-se o grupo majoritário no óleo essencial das folhas e flores e sesquiterpenos no caule. Os voláteis identificados podem justificar o aroma apresentado pelo liofilizado de polpa com casca de camboim, uma vez que compostos como limoneno, 1,8-cineol, β -*cis*-Ocimeno, γ -terpineno e α -terpineol foram anteriormente associados, respectivamente, aos aromas cítrico, camforáceo, floral/herbáceo, herbáceo-cítrico, e floral/doce pela técnica sniffing CG (PINO, MARBOT & VÁZQUEZ, 2001). Este aroma intenso do liofilizado de polpa com casca de camboim poderia mascarar outros aromas não agradáveis ou mesmo conferir aroma de fruta a outros produtos a que fosse adicionado.

6. CONCLUSÃO

O liofilizado de polpa com casca de camboim é fonte de compostos bioativos, como os carotenoides, flavonoides e ácidos fenólicos.

- O liofilizado de polpa com casca de camboim apresenta um baixo conteúdo de lipídeos e proteínas, em sua composição predominam os açúcares.
- Foram identificados e quantificados os açúcares glicose, frutose e sacarose.
- Não foi detectado ácidoascórbico no liofilizado de polpa com casca de camboim, contudo esta foi encontrada e identificada no fruto *in natura*.
- Foram identificados e quantificados os carotenoides β -criptoxantina, β -caroteno, luteína, zeaxantina, 13-cis- β -caroteno, α -caroteno e 9-cis- β -caroteno. A β -criptoxantina, o carotenoide majoritário, foi encontrada em concentrações superiores a de outros alimentos tidos como fonte deste carotenoide. Assim sendo o liofilizado de polpa com casca de camboim pode ser considerado uma fonte de carotenoides pró-vitaminicos A.
- Foram identificados e quantificados os ácidos fenólicos gálico e elágico. No entanto, estes somente podem ser encontrados no liofilizado de polpa com casca de camboim após hidrólise química.
- O flavonoide rutina foi identificado e quantificado, apresentando-se em altas concentrações. O liofilizado de polpa com casca de camboim pode ser considerado fonte para obtenção deste flavonoide.
- O liofilizado de polpa com casca de camboim apresentou atividade antioxidante superior a de outros frutos usualmente consumidos, frescos ou liofilizados.
- Dos 32 compostos voláteis identificados 50% correspondem ao β -cis-Ocimeno.

A obtenção de um liofilizado de polpa com casca de camboim mostrou-se benéfica para preservação de carotenoides, flavonoides e ácidos fenólicos, permitindo a realização de um grande volume de análises num considerável espaço de tempo, no entanto foi ineficaz para concentração de ácido ascórbico. Os resultados deste estudo contribuem para um maior conhecimento sobre o valor nutricional, fitoquímicos e atividade antioxidante desta espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIHISIA, T., MATSUMOTO, K., TOKUDA, H., YASUKAWA, K., SEINO, K., NAKAMOTO, K., KUNINAGA, H., SUZUKI, T., KIMURA, Y. Anti-inflammatory and Potential Cancer Chemopreventive Constituents of the Fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 5, p. 754-757, 2007.

ALMAGRO, I.; SAN ANDRES, M. P.; VERA, S. Determination of water-soluble vitamins in pharmaceutical preparations by reversed-phase liquid chromatography with a mobile phase containing sodium dodecylsulphate and n-propanol. **Chromatographia**, v. 55, p. 185-188, 2002.

ANDRADE JUNIOR, D. R.; SOUZA, R. B.; SANTOS, S. A.; ANDRADE, D. R. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.31, n.1, p.60-68, 2005.

AOCS. (2009). Official Method Am 5-04, Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society (6th ed.). Champaign, IL: American Oil Chemists' Society Press.

APEL, M. A.; LIMA, M. E. L.; SOUZA, A.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M. C. M.; SOBRAL, M. E. G.; SUFFREDINI, I. B.; MORENO, P. R. Screening of the biological activity from essential Oils of native species from the atlantic rain forest (São Paulo – Brazil). **Pharmacologyonline**, v.3, p.376-383, 2006.

ARANHA, F. Q.; BARROS, Z. F.; MOURA, L. S. A.; GONÇALVES, M. C. R.; BARROS, J. C.; METRI, J. C.; SOUZA, M. S. O papel da ácido ascórbico sobre as alterações orgânicas no idoso. **Revista de Nutrição**, v.13, n.2, p.89-97, 2000.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta free radicals and the main dietary antioxidants. **Revista de Nutrição**, v.12, n.2, p.123-130, 1999.

BRAGA, A. C. C.; SILVA, A. E.; PELAIS, A. C. A.; BICHARA, C. M. G.; POMPEU, D. R. Atividade antioxidante e quantificação de compostos bioativos dos frutos de abricó (*Mammea americana*). **Alimentos e Nutrição**, v.21, n.1, p.31-36, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – CNNPA n.12, de 24/07/1978 – **Dispõe sobre normas técnicas especiais**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 02/2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n.269, de 22/09/2005– **Dispõe sobre o Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (idr) de proteína, vitaminas e minerais"**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 02/2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n.2, de 15/01/2007– **Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes"**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 04/2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n. 54, de 12/11/2012 – **Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 02/2015.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

CABRAL, I. S. R.; OLDONI, T. L. C.; PRADO, A.; BEZERRA, R. M. N.; ALENCAR, S. M.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P. L. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v.32, n.6, p.1523-1527, 2009.

CARDOSO, P. C.; TOMAZINI, A. P. B.; SRTINGHETA, P. C.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Vitamin C and carotenoids in organic and conventional fruits grown in Brazil. **Food Chemistry**, v.126, n.2, p.411–416, 2011.

CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. 2. ed. Campinas: Editora Unicamp, 2003. 207p.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v.30, n.2, p.441-449, 2007.

COLLINS, C. H. Principios básicos de cromatografía. In: COLLINS, C. H., BRAGA, G. L., BONATO, P. S. (coord.). **Introdução a métodos cromatográficos**. 5 ed. Campinas: UNICAMP, 1993.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de ácido ascórbico e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.1, p.15-19, 2010.

CRUZ, A. V. M.; KAPLAN, M. A. C. Uso medicinal de espécies das famílias myrtaceae e melastomataceae no Brasil. **Floresta e Ambiente**, v.11, n.1, p.47-52, 2004.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia: um breve ensaio. **Atualidades em Química**, n.7, p.21-25, 1998.

DIAS, M. G.; CAMÕES, M. F.; OLIVEIRA, L. Uncertainty estimation and in-house method validation of HPLC analysis of carotenoids for food composition data production. **Food Chemistry**, v.109, n.4, p.815–824, 2008.

EINBOND, S. L.; REYNERTSON, K. A.; LUO, X.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v.84, n.1, p.23–28, 2004.

EL-AGAMEY, A.; LOWE, G. M.; GARVEY, D. V. M.; MORTENSEN, A.; PHILLIP, D. M.; TRUSCOTT, G.; YOUNG, A. J. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.430, n.1, p.37–48, 2004.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; CARVAJAL-LÉRIDA, I.; JARÉN-GALÁN, M.; GARRIDO-FERNÁNDEZ, J.; PÉREZ-GALVEZ, A.; HOMERO-MÉNDEZ, D. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. **Food Research International**, v.46, n.2, p.438–450, 2012.

FERREIRA, I. C. F. R.; ABREU, R. M. V. Stress Oxidativo, Antioxidantes e **Fitoquímicos Bioanálise**, v.IV, n.2, p.32-39, 2007.

FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Progress in Lipid Research**, v.43, n.3, p. 228–265, 2004.

GODOY, R. L. O.; PORTE, P.; GOUVÊA, A. C. M. S.; BORGUINI, R. G.; SANTIAGO, M. C. P. A.; PACHECO, S.; TORQUILHO, H. S.; PORTE, L. H. M. Identificação de compostos voláteis de jamelão (*Syzygium cumini*). **Higiene Alimentar**, v. 27, p. 1569-1573, 2013.

GOVAERTS, R.; SOBRAL, N.; ASHTON, P.; BARRIE, F.; HOLST, B. K.; LANDRUM, L. L.; MATSUMOTO, K.; MAZINE, F.; LUGHADHA, N. E.; PROENÇA, C. (2008). World Checklist of Myrtaceae: 1-455. Kew Publishing, Royal Botanic Gardens, Kew.

GUENTHER, E. **The Essential Oils**. V. I, 2 ed. New York: D. Van Nostrand Company, 1952a.

GUENTHER, E. **The Essential Oils**. V. I, 2 ed. New York: D. Van Nostrand Company, 1952b.

GUTIÉRREZ, J. R. V. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. **Revista Cubana de Medicina Militar**, v.31, n.2, p.126-33, 2002.

HEAD, K. A. Ascorbic Acid in the Prevention and Treatment of Cancer. **Alternative Medicine Review**, v.3, n.3, p.174-186, 1998.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**/coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo:Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p.

JIANG, P., BURCZYNSKI, F., CAMPBELL, C., PIERCE, G., AUSTRIA, J. A., BRIGGS, C. J. Rutin and Xavonoid contents in three buckwheat species *Fagopyrum esculentum*, *F. tataricum*, and *F. homotropicum* and their protective eVects against lipid peroxidation. **Food Research International**, v. 40, n. 3, p. 356-364, 2007..

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**, v.78, n.3, p.389–398, 2008.

KLOPOTEK, Y.; OTTO, K.; BÖHM, V. Processing Strawberries to Different Products Alters Contents of Vitamin C, Total Phenolics, Total Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.53, n.14, p.5640–5646, 2005.

- KLUMP, S. P. *et al.* Determination of isoflavones in soy and selected foods containing soy by extraction, saponification, and liquid chromatography: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 84, n. 6, p. 1865-1883, 2001.
- KUBOLA, J., SIRIAMORNPUN, S., MEESO, N. Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 972–981, 2011.
- KURTZ, B. C.; ARAÚJO, D. S. D. de. Composição florística e estrutura do componente arbóreo de um trecho de Mata Atlântica na Estação Ecológica Estadual do Paraíso, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v.51, p.69-112. 2000
- LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, n. 3, p. 207-220, 2000.
- LÓPEZ, A.; BICERRA, E.; DÍAZ, E. Perfil ecológico de cuatro rodales de camu camu árbol *Myrciaria floribunda* (H. West. ex Willd) O. Berg. en Ucayali. **Ecología Aplicada**, v.5, n.1,2, p.45-52, 2006.
- LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, M. **Brazilian fruits & cultivated exotics: for consumer in natura**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.
- LOURENÇO, A. R. L.; BARBOSA, M. R. V. Myrtaceae em restingas no limite norte de distribuição da Mata Atlântica, Brasil. **Rodriguésia**, v.63, n.2, p.373-393, 2012.
- LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, T.; CROZIER, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.83, n.5, p.496–502, 2003.
- MACRAE, R. **Food Science and Technology – A series of monographs: HPLC in food analysis**. Editora Academic Press, 2^a ed. 1998. P.77.
- MALDANER, L.; JARDIM, I.C.S.F.O. estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. **Revista Química Nova**, Vol. 32, No. 1, 214-222, 2009.
- MANELA-AZULAY, M.; LACERDA, C. A. M.; PEREZ, M. A.; FILGUEIRA, A. L.; CUZZI, T. Ácido ascórbico. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.78, n.3, p.265-274, 2003.

MARQUES, L. G. ; PRADO, M. M. ; FREIRE, J . Vitamin C Content of Freeze-Dried Tropical Fruits. In: 11th International Congress on Engineering and Food, 2011, Atenas. 11th **International Congress on Engineering and Food**, 2011.

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

MATTILA, P.; KUMPULAINEN, J. Determination of Free and Total Phenolic Acids in Plant-Derived Foods by HPLC with Diode-Array Detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3660-3667, 2002.

MELÉNDEZ, A. J.; BEJINES, E.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Vitamin c in orange juices determined by hplc: influence of the wavelength of detection. **Italian Journal of Food Science**, n.1, v.16, p.79, 2004.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; BRITTON, G.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments. **Food Chemistry**, v.101, n.3, p.1145–1150, 2007.

MOREIRA FILHO, M.; FERREIRA, S. A. N. Clonagem do camu-camu arbustivo em porta-enxertos de camu-camu arbustivo e arbóreo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n.4, p.1202-1205, 2009.

OLIVEIRA, V. B.; YAMADA, L. T.; FAGG, C. W.; BRANDÃO, M. G. L. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v.48, p.170–179, 2012.

PACHECO, S. Preparo de padrões analíticos, estudo de estabilidade e parâmetros de validação para ensaio de carotenoides por cromatografia líquida. 2009. 106p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ciência dos Alimentos). Seropédica: UFRRJ, 2009.

PACHECO S., Peixoto F., Borguini R.G., Nascimento L.S.M., Bobeda C.R. R., Santiago M.C.P.A., Godoy R.L.O., Microscale extraction method for HPLC carotenoid analysis in vegetable matrices. **Scientia Agric.** (USP. Impresso), v. 71, n.5, p. 416-419, 2014.

PARK H. H., LEE S., SON H. Y., PARK S. B., KIM M. S., CHOI, E. J., SINGH, T. S. K., HA, J., LEE, M., KIM, J., HYUM, M. C., KWON, T. K., KIM, Y. H., KIM, S. Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. **Archives of Pharmacal Research**, v. 31, n. 10, p. 1303–1311, 2008.

PEIXOTO, G. L.; MARTINS, S. V.; SILVA, A. F.; SILVA, E. Composição florística do componente arbóreo de um trecho de Floresta Atlântica na Área de Proteção Ambiental da Serra da Capoeira Grande, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v.18, n.1, p.151-160, 2004.

PENNINGTON, J. A. T. Food Composition Databases for Bioactive Components. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.15, p.419-434, 2002.

PENTEADO, M. D. V. C. Vitaminas – Aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos. São Paulo: Ed. Metha, 2003. 611p.

PEREIRA, M. C. A.; ARAUJO, D. S. D.; PEREIRA, O. J. Estrutura de uma comunidade arbustiva da restinga de Barra de Maricá – RJ. **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, n.3, p.273-281, 2001.

PEREIRA, M. C.; STEFFENS, R. S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P. F.; RIOS, A. O.; VIZZOTTO, M.; FLÔRES, S. H. Characterization and Antioxidant Potential of Brazilian Fruits from the Myrtaceae Family. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.60, p.3061-3067, 2012.

PINNELL, S. R. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.48, n.1, p.1-19, 2003.

PINO, J. A., MARBOT, R., VÁZQUEZ, C. Volatiles in Strawberry Guava Fruits. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 49, n. 12, p. 5882-5887, 2001.

PORTE, A. Estudo de óleos essenciais de três plantas condimentares da família Lamiceae: *Rosmarinus officinales* L. (Alecrim), *Salvia officinales* L. (Sálvia) e *Thymus vulgaris* L. (Tomilho). 2000. 226p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ciência dos Alimentos). Seropédica: UFRRJ, 2000.

REYNERTSON, K. A., YANG, H., JIANG, B., BASILE, M. J., KENNELLY, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883–890, 2008.

ROBBINS, R. J. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.10, p.2866-2887, 2003.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D. B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**, 2001. 64p.

ROGEZ, H., BUXANT, R., MIGNOLET, E., SOUZA, J. N. S., SILVA, E. M., LARONDELLE, Y. Chemical composition of the pulp of three typical Amazonian fruits: araçá-boi (*Eugenia stipitata*), bacuri (*Platonia insignis*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 4, p. 308-384, 2004.

ROMBALDI, C. V.; TIBOLA, C. S.; ZAICOVSKI, C. B.; SILVA, J. A.; FACHINELLO, J. C.; ZAMBIAZI, R. C. Potencial de conservação e qualidade de frutas: aspectos biotecnológicos de pré e pós-colheita. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 19, 2006, Cabo Frio. Palestras e resumos... Cabo Frio-RJ: SBF/UENF/UFRuralRJ. 2006. p. 105-132.

ROSA, J. S. Desenvolvimento de um método rápido para análise de vitamina c por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando coluna de troca iônica. 2005. 101p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ciência dos Alimentos). Seropédica: UFRRJ, 2005.

ROSA, J. S.; GODOY, R. L. O.; OIANO NETO, J.; CAMPOS, R. S.; MATTA, V. M.; FREIRE, C. A.; SILVA, A. S.; SOUZA, R. S. Desenvolvimento de um método de análise de ácido ascórbico em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.4, p.837-846, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, SAMPAIO, C. G.; S. M.; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS•+. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007 (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico).

RUTZ, Josiane Kuhn. Avanços na cromatografia líquida. 2009. 41f. Trabalho acadêmico (Seminário em Alimentos) - Bacharelado em Química de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SHEN, Y.; JIN, L.; XIAO, P.; LU, Y.; BAO, J. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. **Journal of Cereal Science**, v.49, n.1, p.106–111, 2009

SOARES, D. G.; ANDREAZZA, A. C.; SALVADOR, M. Avaliação de compostos com atividade antioxidante em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.1, p.95-100, 2005

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. (2013). *Myrtaceae*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB171>>. Acesso em: 08/2013.

SOUZA, M. C.; MORIM, M. P. Subtribos Eugeniinae O. Berg e Myrtinae O. Berg (Myrtaceae) na Restinga da Marambaia, RJ, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v.22, n.3, p.652-683. 2008.

SOUZA, M. C.; MORIM, M. P.; CONDE, M. M. S.; MENEZES, L. F. T. Subtribo Myrciinae O. Berg (Myrtaceae) na Restinga da Marambaia, RJ, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v.21, n.1, p.49-63, 2007.

STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Molecular Aspects of Medicine**, v.24, n.6, p.345–351, 2003.

STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v.1740, n.2, p.101–107, 2005.

STONE, I. Fifty years of research on ascorbate and the genetics of scurvy. **Orthomolecular Psychiatry**, v.13, n.4, p.280, 1984.

TADIC, V. M., DOBRIC, S., MARCKOVIC, G. M., DORDEVIC, S. M., ARSIC, I. A., MENKOVIC, N. R., STEVIC, T. Anti-inflammatory, Gastroprotective, Free-Radical-Scavenging, and Antimicrobial Activities of Hawthorn Berries Ethanol Extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 17, p. 7700-7709, 2008.

TIBURSKI, J. H., ROSENTHAL, A. R., DELISA, R., GODOY R. L. O, PACHECO, S. Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2326-2331, 2011.

TIETBOHL, L. A. C., LIMA, B. G., FERNANDES, C. P., SANTOS, M. G., SILVA, F. E. B., DENARDIN, E. L. G., BACHINSKI, R., ALVES, G. G., SILVA-FILHO, M. V., ROCHA, L. Comparative Study and Anticholinesterasic Evaluation of Essential Oils from Leaves, Stems and Flowers of *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd.) O. Berg. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.31, n.4, p.637-641, 2012.

TRUEBA, L.G.P. Los flavonoides: oxidantes e prooxidantes. **Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas**, v.22, n.1, p.48-57, 2003.

UENOJO, M.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, v.30, n.3, p.616-622, 2007.

USDA-ARS (US Department of Agriculture, Agricultural Research Service). USDA nutrient database for standard reference. Disponível em: <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>> Acesso em: 07/2014.

VÁLDES, F. Ácido ascórbico. **Actas Dermo-Sifiliográficas**, v.97, n.9, p.557-568, 2006.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonoides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v.23, n.2, p.141-149, 2008.

YANG, J., GUO, J., YUAM, J. In vitro antioxidant properties of rutin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 6, p. 1060-1066, 2008.

ZAMORRA, J. D. S. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 34, n.1, p.17-26, 2007.

ANEXO I: Myrtaceas encontradas no Rio de Janeiro

Espécie	Nome Comum	Localidade	Fontes
<i>Blepharocalyx salicifolius</i> (Kunth) O. Berg	cambuí	Marambaia e Jacarepaguá	5
<i>Calycorectes pohlianus</i> (O. Berg) Kiaersk.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Calycorectes sellowianus</i> O. Berg	araçá	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Calyptranthes brasiliensis</i> Spreng.	guamirim-branco, batinga-mirim	Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Macaé e São João da Barra	4
<i>Calyptranthes lucida</i> Mart. ex DC.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Calyptranthes</i> sp.1	goiabeira	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Calyptranthes</i> sp.2		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Campomanesia eugenoides</i> (Cambess.) D. Legrand	guabiroba	Pedra de Guaratiba (Floresta Atlântica)	3
<i>Campomanesia laurifolia</i> Gardner	glabiroba	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia bahiensis</i> DC.		Reserva da Praia do Sul, Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Macaé e São João da Barra	5
<i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.	grumixama	Reserva da Praia do Sul, Marambaia e Jacarepaguá	5
<i>Eugenia chlorophylla</i> O. Berg		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia copacabanensis</i> Kiaersk. *		Reserva da Praia do Sul, Marambaia, Jacarepaguá, Maricá e Cabo Frio	5
<i>Eugenia cuprea</i> (O. Berg) Nied.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia excelsa</i> O. Berg		Reserva da Praia do Sul, Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Macaé e Cachoeiras de Macacu	1, 5
<i>Eugenia expansa</i> Spring ex Mart.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia glazioviana</i> f. <i>parvifolia</i> Kiaersk.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia mandioccensis</i> O. Berg		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia maroviana</i> O. Berg		Pedra de Guaratiba (Floresta Atlântica)	3

Espécie	Nome Comum	Localidade	Fontes
<i>Eugenia microcarpa</i> O. Berg		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia neonitida</i> Sobral	pitangão, pitangatuba	Marambaia, Grumari, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Barra de São João e Macaé	5
<i>Eugenia neosilvestris</i> Sobral	grumixana-miúda	Marambaia e Cabo Frio	5
<i>Eugenia oxyoentophylla</i> Kiaersk. *		Marambaia, Grumari e Maricá	5
<i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) DC.		Reserva da Praia do Sul, Marambaia, Grumari, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Barra de São João, Macaé e São João da Barra	5
<i>Eugenia rostrata</i> O. Berg		Marambaia, Jacarepaguá e Cabo Frio	5
<i>Eugenia rotundifolia</i> Casar.	araponga	Marambaia, Grumari, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Macaé e São João da Barra	5
<i>Eugenia sp.</i>	araçá	Restinga da Marambaia e Cachoeira de Macacu	1, 5
<i>Eugenia subavenia</i> O. Berg		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia sulcata</i> Spring ex Mart.	pitanga-preta, murta-preta	Reserva da Praia do Sul, Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Barra de São João e Macaé	5
<i>Eugenia tinguayensis</i> Cambess.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia umbrosa</i> O. Berg	maria-doce	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Eugenia uniflora</i> L.	pitanga	Marambaia, Grumari, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio e São João da Barra	5
<i>Gomidesia fenzliana</i> O. Berg	guamirim, papaguela	Reserva da Praia do Sul, Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Barra de São João e Macaé	4
<i>Gomidesia martiana</i> O. Berg		Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Barra de São João e Macaé.	4
<i>Gomidesia spectabilis</i> (DC.) O. Berg		Cachoeiras de Macacu	1

Espécie	Nome Comum	Localidade	Fontes
<i>Marlierea racemosa</i> (Vell.) Kiaersk.	araçá	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Marlierea silvatica</i> (Gardner) Kiaersk.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Marlierea tomentosa</i> Cambess.	guapurana, guapurunga, araçá	Reserva da Praia do Sul, Restinga da Marambaia, São João da Barra e Cachoeiras de Macacu	1, 4
<i>Myrceugenia pilotantha</i> var. <i>pilotantha</i> (Kiaersk.) Landrum		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Myrcia acuminatissima</i> O. Berg		Reserva da Praia do Sul, Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Cabo Frio e Macaé	4
<i>Myrcia fallax</i> (Rich.) DC.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Myrcia hispida</i> O. Berg	araçá	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Myrcia lundiana</i> Kiaersk. *		Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Marica, Cabo Frio e Macaé	4
<i>Myrcia multiflora</i> (Lam.) DC.		Cachoeiras de Macacu, Reserva da Praia do Sul, Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Cabo Frio e Macaé	1, 4
<i>Myrcia recurvata</i> O. Berg		Reserva da Praia do Sul, Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Cabo Frio e Macaé	4
<i>Myrcia richardiana</i> (O. Berg) Kiaersk.		Restinga da Marambaia	4
<i>Myrcia</i> sp.		Cachoeiras de Macacu	1
<i>Myrcia tenuivenosa</i> Kiaersk.	goiabeira	Cachoeiras de Macacu	1
<i>Myrciaria floribunda</i> (H. West ex Willd.) O. Berg	camboim, camu-camu arbustivo	Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio e Macaé	2, 5
<i>Myrciaria tenella</i> (DC.) O. Berg	camboim, murta	Marambaia, Jacarepaguá e Cabo Frio	5
<i>Myrrhinium atropurpureum</i> Schott *	pau-ferro, carrapatinho	Marambaia, Grumari, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio e Barra de São João	5
<i>Myrtaceae</i> sp. 1		Pedra de Guaratiba (Floresta Atlântica)	3
<i>Myrtaceae</i> sp. 2		Pedra de Guaratiba (Floresta Atlântica)	3

Espécie	Nome Comum	Localidade	Fontes
<i>Neomitranthes obscura</i> (DC.) N. Silveira	camboim-de-cachorro, pitanga-de cachorro	Restinga da Marambaia, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Macaé e São João da Barra	5
<i>Plinia ilhensis</i> G.M. Barroso *		Restinga da Marambaia	5
<i>Psidium cattleianum</i> Sabine	araçá, araçá-da-praia, araçá vermelho	Marambaia, Jacarepaguá e Maricá	5
<i>Psidium guajava</i> L.	goiabera	Pedra de Guaratiba (Floresta Atlântica)	3
<i>Psidium guineense</i> Sw.	araçá, araçá-azedo	Marambaia, Maricá e Barra de São João	5
<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels	jamelão	Pedra de Guaratiba (Floresta Atlântica)	3

Fonte: (1) Kutz & Araújo, 2000; (2) Moreira Filho & Ferreira, 2009; (3) Peixoto, Martins, Silva & Silva, 2004; (4) Souza; Morin; Conde & Menezes, 2007; (5) Souza & Morim, 2008. Legenda: * Registros apenas no Rio de Janeiro.