



Universidade de Brasília

Faculdade de Ceilândia

Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde

BRUNA CABRAL REIS

**FRUTAS EXÓTICAS CULTIVADAS NO CERRADO DO DISTRITO FEDERAL:
MATURAÇÃO, COMPOSIÇÃO FENÓLICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,
APLICAÇÃO E ESTUDO DE ESTABILIDADE EM MICROPARTÍCULAS**

BRASÍLIA

2016

Universidade de Brasília
Faculdade de Ceilândia
Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde

BRUNA CABRAL REIS

**FRUTAS EXÓTICAS CULTIVADAS NO CERRADO DO DISTRITO FEDERAL -
MATURAÇÃO, COMPOSIÇÃO FENÓLICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,
APLICAÇÃO E ESTABILIDADE EM MICROPARTÍCULAS**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA
COMO REQUISITO PARA A
OBTENÇÃO DO
TÍTULO DE MESTRE EM CIÊNCIAS E
TECNOLOGIAS EM SAÚDE PELO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS EM
SAÚDE DA UNIVERSIDADE DE
BRASÍLIA

ORIENTADORA: PROF^a DR^a MARGÔ GOMES DE OLIVEIRA KARNIKOWSKI
CO-ORIENTADORA: PROF^a DR^a ELIANA FORTES GRIS

BRASÍLIA

2016

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

CABRAL REIS, BRUNA
CC117f Frutas exóticas cultivadas no cerrado do Distrito Federal: maturação, composição fenólica, atividade antioxidante, aplicação e estudo de estabilidade em micropartículas / BRUNA CABRAL REIS; orientador Margô Gomes de Oliveira Karnikowski; co-orientador Eliana Fortes Gris. -- Brasília, 2016.
113 p.

Dissertação (Mestrado - Mestrado em Ciências e Tecnologias em Saúde) -- Universidade de Brasília, 2016.

1. Biometria e maturação de frutas. 2. Composição fenólica de frutas. 3. Atividade antioxidante de frutas. 4. Microencapsulação de extrato de frutas. 5. Cerrado. I. Gomes de Oliveira Karnikowski, Margô, orient. II. Fortes Gris, Eliana, co-orient. III. Título.

BRUNA CABRAL REIS

FRUTAS EXÓTICAS CULTIVADAS NO CERRADO DO DISTRITO FEDERAL -
MATURAÇÃO, COMPOSIÇÃO FENÓLICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,
APLICAÇÃO E ESTABILIDADE EM MICROPARTÍCULAS.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA:

ORIENTADOR – Prof^a DR.^a MARGÔ GOMES DE OLIVEIRA KARNIKOWSKI
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - FACULDADE DE CEILÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS EM SAÚDE

1º MEMBRO – DR. CHRISTOPHER WILLIAM FAGG
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - FACULDADE DE CEILÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS EM SAÚDE

2º MEMBRO – DR. GUILHERME MARTINS GELFUSO
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - FACULDADE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE E DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

BRASÍLIA

2016

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, não posso deixar de agradecer ao Único que é digno de receber honra e glória, Aquele por quem todas as coisas foram feitas, que por Ele e para Ele todas as coisas são, e Aquele que é meu Pai eterno e ao mesmo tempo meu melhor amigo. Deus não é só quem agradeço por ter vencido essa caminhada do curso de mestrado, mas Ele é a razão da caminhada existir. Sou grata porque na eternidade, Ele já havia sonhado com esse trabalho. Na eternidade, o Dono de toda ciência e sabedoria já havia criado essas frutas, criado a mim e desenhado o momento em que eu encontraria com elas e exporia a comunidade acadêmica a maravilha que Ele mesmo criou. Em um livro muito antigo, que eu amo, há uma parte escrita pelo profeta Ezequiel inspirado por Deus, onde há descrições de um “*terroir*” especial: “Árvores frutíferas de toda espécie crescerão em ambas as margens do rio. Suas folhas não murcharão e os seus frutos não cairão. Todo mês produzirão, porque a água vinda do santuário chega a elas. Seus frutos servirão de comida, e suas folhas de remédio”. O texto milenar é muito atual, fala de frutas de ótima qualidade em um local de cultivo, um “*terroir*” especial, que é onde Ele está.

O Deus Criador é um Deus extremamente criativo e durante esse trabalho provei um pouco mais disso. Todo conhecimento científico que adquiri é simplesmente uma descoberta de várias combinações da criação Dele. Agradeço a Ele não só por sua manifestação de criação e por quem Ele é, mas também pelo relacionamento pessoal que desenvolve comigo que foi aprofundado durante esse mestrado. O conhecimento e experiência de vida que adquiri alcançou muito além do que qualquer título. Foi um tempo desafiador, que em meio a inúmeras responsabilidades, com alguns escorregões, consegui alcançar a linha de chegada e Ele quem me sustentou. Por isso, meu primeiro, maior e melhor agradecimento é a Ele: Jesus Cristo.

Agradeço aos meus pais, que compuseram a melhor torcida durante esse tempo. O apoio nas noites mal dormidas, o cuidado e preocupação com minha alimentação durante as horas de jejum, a compreensão sobre os vários dias que passava fora de casa, além da minha chegada em casa no final da noite. Enquanto eu lutava para dividir minhas tarefas acadêmicas e profissionais, eles não hesitaram em nada para que eu conseguisse alcançar todos meus objetivos. Acho que nunca vou conseguir retribuir a altura.

Aos meus irmãos, Artur e Hugo, que juntamente com meus pais compuseram essa torcida infalível. Foram companheiros e prestativos como sempre foram na

minha vida. Ao meu noivo, Igor, que constantemente segurou minha mão nos momentos em que pensei em desistir e esses não foram poucos. Também agradeço por sua intercessão constante e por acreditar nos planos que Deus tinha para mim durante esse curso.

Aos meus familiares e amigos que de alguma forma contribuíram para que eu terminasse meu trabalho. Em especial ao Josué, pelas orações e ajuda no inglês. Ao Luiz Antônio que foi meu maior incentivador para prosseguir a carreira acadêmica. Agradeço também aos amigos do PG SUS pelos propósitos de oração em favor do meu mestrado em tempos difíceis.

À minha orientadora Margô Karnikowski e co-orientadora Eliana Gris, por terem confiado a mim esse trabalho e pela oportunidade que me deram de poder fazê-lo. Compuseram a melhor equipe técnica que eu poderia ter.

À professora Eliana Gris e ao professor Eduardo Ferreira eu agradeço em especial, por além das contribuições científicas, me proporcionarem uma amizade e por terem se preocupado e cuidado de mim. Emociono-me de lembrar tudo que fizeram por mim. A professora Eliana já desde muito tempo exerce o papel verdadeiro de uma mestra e sempre será minha inspiração. Não posso medir a prontidão que ela sempre teve em me atender todas as vezes que precisei, seja pessoalmente, por telefone, por email ou até mesmo durante suas férias. Sempre estive segura pois sabia que nunca estaria sozinha.

Às colegas de laboratório Débora, Igor, Bruno, e em especial a Wanessa e Taty que gentilmente me fizeram companhia e me ajudaram durante as inúmeras análises feitas.

À toda equipe de vigilância da Faculdade de Ceilândia que gentilmente acompanhavam minha entrada e saída no laboratório e me faziam companhia nas noites e finais de semana desertos. Durante a maioria do curso eles foram minha principal companhia. Aos demais funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde, em especial à equipe da secretaria pelas inúmeras dúvidas esclarecidas.

Ao professor Juliano Chaker pelo apoio e disponibilidade. Ao professor Guilherme Gelfuso pela disposição e receptividade. Aos colegas do LTMAC, em especial à Paula, que com uma disposição excedente e simpatia constante trouxe leveza e paz durante o curso ao me acompanhar e apoiar nas análises de microencapsulação.

RESUMO

Sabendo que o Cerrado possui um “*terroir*” peculiar e apresenta frutas com alto potencial antioxidante devido às suas condições estressantes, frutas exóticas cultivadas nesse bioma foram estudadas quanto a sua biometria, maturação, composição fenólica e atividade antioxidante. A fruta com maior atividade antioxidante foi utilizada para aplicação e estudo de estabilidade em micropartículas. As frutas estudadas foram: jabuticaba (*Plinia cauliflora*), pitanga (*Eugenia uniflora* L.), seriguela (*Spondias purpúrea* L) e amora (*Morus* sp.) cultivadas no Cerrado do Distrito Federal e entorno. Medidas do comprimento, largura, massa e número de sementes por fruto foram feitas em cada fruto para a biometria. Para a maturação foram analisados o pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis, e calculado o grau de maturação. Os teores de polifenóis totais, polifenóis não polimerizados, polifenóis polimerizados, ortodifenóis, ésteres tartáricos, flavonóis e antocianinas monoméricas totais foram determinados. A capacidade de captura dos radicais DPPH e ABTS também foi avaliada, bem como a correlação entre a composição fenólica e atividade antioxidante. As características biométricas foram típicas das espécies. Sobre as características de maturação, as frutas foram colhidas em estágio maduro e em geral apresentaram maior teor de sólidos solúveis e menor acidez comparado com estudos em outras regiões. Foram encontrados altos teores de compostos fenólicos e de atividade antioxidante nessas frutas. Dentre as frutas estudadas, a jabuticaba foi a fruta com maior teor de compostos fenólicos e o solvente mais eficiente para extração de polifenóis foi o metanol. Os valores dos compostos bioativos avaliados apresentaram correlação positiva ($p < 0,05$) com a capacidade de captura dos radicais livres avaliados. Após esses estudos, foram desenvolvidas micropartículas de extrato de casca de jabuticaba por meio do método de *spray drying* utilizando o polímero quitosana. Após estudos de caracterização foi selecionado o melhor sistema de micropartículas que apresentou alta eficiência de encapsulação (~ 79 %), morfologia esférica e com superfície lisa, diâmetro médio de ~ 9 μm , e potencial zeta + 3,21 mV. Para avaliação da estabilidade, essas micropartículas foram submetidas a três condições de temperatura e o teor de polifenóis totais foi determinado. Após 60 dias verificou-se que as micropartículas foram capazes de melhorar a estabilidade de

polifenóis totais. Foi possível desenvolver um sistema microencapsulado de extrato de casca de fruto de jabuticaba e esse sistema foi capaz de proteger os polifenóis totais do extrato e melhorar sua estabilidade.

PALAVRAS CHAVE: frutas, polifenóis, atividade antioxidante, microencapsulação, estabilidade.

ABSTRACT

It is known that the Savana has a "terroir" peculiar and presents fruits with high antioxidant potential because of their stressful conditions, exotic fruits grown in this biome have been studied for their biometrics, ripeness, phenolic composition and antioxidant activity. The most antioxidant fruit was used for stability study and application in microparticles. The fruits were: jabuticaba (*Plinia cauliflora*), brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.), seriguela (*Spondias purpurea* L) and mulberry (*Morus* sp.) grown in the Cerrado of the Federal District and surrounding areas. Length, width, weight and number of seeds per fruit were measure in each fruit to biometrics. For maturation were analyzed pH, titratable acidity, soluble solids, and calculated the degree of ripeness. The contents of total polyphenols, polyphenols uncured, polymerized polyphenol, ortho-diphenols, tartaric esters, flavonols and anthocyanins total monomer were determined. The capture capacity of DPPH and ABTS radical was also evaluated, as well as the correlation between phenolic content and antioxidant activity. The biometric characteristics were typical of the species. On the characteristics of ripening, fruits were harvested at mature stage and generally had higher soluble solids content and lower acidity compared to studies in other regions. Found high levels of phenolics and antioxidant activity in these fruits. Among the fruit studied was jabuticaba fruit with a higher content of phenolics and more efficient solvent for extraction of polyphenols was methanol. The values of these bioactive compounds showed a positive correlation ($p < 0.05$) with the capture capacity of the evaluated free radicals. After these studies were developed jabuticaba peel extract of microparticles by the spray drying method using chitosan polymer. After characterization studies was selected the best microparticles system that had high

efficiency encapsulation (~ 79%) and spherical morphology with smooth surface, average diameter of ~ 9 micrometres and zeta potential + 3.21 mV. To evaluate the stability of these microparticles were subjected to three conditions of temperature and total polyphenol content was determined. After 60 days it was found that the microparticles were able to improve the stability of total polyphenols. It was possible to develop a microencapsulated jabuticaba bark extract system and this system is able to protect the total polyphenol extract and improve its stability.

KEYWORDS: fruits, polyphenols, antioxidant activity, microencapsulation, stability.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2:

Tabela 1: Análise descritiva das características biométricas dos frutos de jabuticaba, seriguela, pitanga e amora. Médias (Me) \pm desvio padrão (DP), Máximos (Máx), mínimo (Mín), coeficiente de variação (CV), assimetria (S) e curtose (K) de uma amostra aleatória (n= 100) de frutos dessas espécies das variáveis comprimento, largura, massa e número de sementes/fruto dos frutos.

Tabela 2: Valores de pH, Acidez titulável (AT), Teor de Sólidos Solúveis (TSS) e Grau de Maturação (GM) de jabuticaba, seriguela, pitanga e amora. Médias (Me) \pm desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) das análises realizadas com três repetições e em triplicata.

CAPÍTULO 3:

Tabela 1. Antocianinas monoméricas totais (AMT) em mg/100 g de peso fresco para extratos de frutas exóticas cultivadas no Cerrado.

CAPÍTULO 4:

Tabela 1: Quantidade de extrato de cascas de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) e polímero (quitosana) por 100 mL de solução, fluxo de secagem e volume utilizado de cada uma das soluções submetidas ao *spray dryer*.

Tabela 2: Caracterização das micropartículas de quitosana contendo extrato de jabuticaba (*Plinia cauliflora*).

Tabela 3: Resultados de média, moda e D₅₀ (μm) do tamanho do diâmetro de micropartículas das micropartículas MP0, MP3 e MP4 de quitosana contendo extrato de jabuticaba (*Plinia cauliflora*).

Tabela 4: Teor de polifenóis totais (mg GAE/ g) e atividade antioxidante sobre DDPH e ABTS (μM TEAC/g de MP) das micropartículas MP3 e MP4 de quitosana contendo extrato de jabuticaba (*Plinia cauliflora*).

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1:

Figura 1: Fotografia de frutas exóticas

Figura 2: Estrutura de alguns compostos fenólicos

Figura 3: Fotografia do equipamento *spray dryer*

CAPÍTULO 3:

Figura 1: Composição fenólica de extratos de frutas exóticas cultivadas no Cerrado.

Figura 2: Atividade antioxidante sobre DPPH e ABTS de extratos de frutas exóticas cultivadas no Cerrado.

CAPÍTULO 4:

Figura 1: Fotomicrografias de micropartículas de jabuticaba obtidas por *spray drying* utilizando quitosana como agente encapsulador. Ampliação de 5.000 vezes. A: MP0; B: MP1; C: MP2; D: MP3; E: MP4.

Figura 2: Estabilidade do teor de polifenóis totais (%) de micropartículas de jabuticaba com quitosana (MP3) e extrato etanólico de jabuticaba liofilizado (EEJ) em diferentes temperaturas.

LISTA DE ABREVIações, NOMENCLATURAS E SÍMBOLOS

C	Comprimento
AT	Acidez Titulável
GM	Grau De Maturação
K	Curtose
PT	Polifenóis Totais
S	Simetria
TSS	Teor De Sólidos Solúveis
ABTS	2,2-Azino-Bis-(3-Etilbenzotiazolina-6-Sulfonato
AMT	Antocianinas Monoméricas Totais
CAE	Ácido Cafeico
CE	Catequina
CV	Coeficiente De Variação
DPPH	2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl
DV	Desvio Padrão
EE	Eficiência De Encapsulação
EEJ	Extrato Etanólico de Casca de Jabuticaba Não Microencapsulado
ET	Ésteres Tartárico
EtOH	Extrato Etanólico
FL	Flavonois
GAE	Ácido Gálico
L	Largura
M	Massa
m/v	Massa/Volume
Máx	Máximo
Me	Média
MetOH	Extrato Metanólico
Mín	Mínimo
MP	Micropartículas De Quitosana Contendo Extrato De Jabuticaba
ND	ND: Não Detectado
NSF	Número De Sementes Por Fruto
OD	Orto-Difenois
PM	Peso Molecular
PNP	Polifenóis Não Polimerizados
PP	Polifenóis Polimerizados
TA	Temperatura Ambiente
TE	Temperatura Estressante
TEAC	Equivalentes De Trolox
TR	Temperatura Refrigerada
Trolox	Hydroxy-2,5,7,8-Tetramethylchroman-2-Carboxylic Acid

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO GERAL, JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS	12
1.1 INTRODUÇÃO GERAL	13
1.1.1 FRUTAS DO CERRADO BRASILEIRO.....	13
1.1.1.1 <i>Plinia cauliflora</i>	14
1.1.1.2 <i>Eugenia uniflora</i>	15
1.1.1.3 <i>Spondias purpurea</i>	16
1.1.1.4 <i>Morus sp.</i>	17
1.1.1.5 Maturação de Frutas	18
1.1.2 COMPOSIÇÃO FENÓLICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	18
1.1.3 MICROENCAPSULAÇÃO	19
1.1.3.1 Quitosana	22
1.2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DO TRABALHO	23
1.2.1 JUSTIFICATIVA.....	23
1.2.2 OBJETIVOS	23
1.2.2.1 Objetivo Geral	23
1.2.2.2 Objetivos específicos	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
CAPÍTULO 2 - BIOMETRIA E MATURAÇÃO DE FRUTAS EXÓTICAS DO CERRADO DO DISTRITO FEDERAL E ENTORNO	32
RESUMO.....	33
2.1 INTRODUÇÃO.....	33
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	34
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
2.4 CONCLUSÕES.....	47
2.5 REFERÊNCIAS	47
CAPÍTULO 3 - COMPOSIÇÃO FENÓLICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTAS EXÓTICAS DO CERRADO	52
RESUMO.....	53

3.1	INTRODUÇÃO.....	53
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	55
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
3.4	CONCLUSÕES	70
3.5	REFERÊNCIAS.....	71

CAPÍTULO 4 - DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE MICROPARTÍCULAS DE QUITOSANA CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DE JABUTICABA

	RESUMO.....	76
4.1	INTRODUÇÃO.....	76
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	78
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
4.4	CONCLUSÕES.....	92
4.5	REFERÊNCIAS	93

CAPÍTULO 5 - DISCUSSÃO, CONCLUSÃO GERAL E PERSPECTIVAS

5.1	DISCUSSÃO E CONCLUSÃO GERAL	97
5.2	PERSPECTIVAS	98
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99

ANEXOS

	REVISTA AFRICAN JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH: Normas de publicação	100
	Classificação Qualis	102
	REVISTA PLOS ONE: Normas de publicação	103
	Classificação Qualis	106
	REVISTA JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY: Normas de publicação	107
	Classificação Qualis	112
	COMPROVANTE DE SUBMISSÃO A REVISTA AFRICAN JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH.....	113

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL, JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

1.1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1.1 FRUTAS DO CERRADO BRASILEIRO

O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil e ocupa uma extensão de cerca de 2 milhões km², representando 25% da superfície territorial do país (Resende e Guimarães, 2007). Sua localização está essencialmente no Planalto Central, que inclui o Distrito Federal e entorno (Ribeiro *et al.*, 2008). Sua antiguidade, combinada à dinâmica que sofreu em períodos interglaciais, tornou o bioma possuidor de uma biodiversidade muito rica, (Forzaa, 2012; Resende e Guimarães, 2007; Ratter, Ribeiro e Bridgewater, 1997). No entanto, muitas espécies estão ameaçadas em razão da conversão do uso do solo e das poucas áreas de preservação ambiental (Wantzen *et al.*, 2012; Carvalho, Junior e Ferreira, 2009; Brannstrom, 2008). Em razão disso, foi considerado um dos 34 “hot spots” do mundo para conservação (Mittermeier *et al.*, 2005).

Em razão de sua biodiversidade, as plantas do Cerrado são utilizadas como fonte de alimento, medicamentos e outros produtos que geram renda e fortalecem o potencial econômico e sustentável do bioma, embora que ainda em pequena escala (Franzon, 2009; Oliveira *et al.*, 2008).

Várias espécies tem sido descritas na literatura como fontes de potentes atividades biológicas. Há a hipótese de que devido às condições estressantes que o bioma proporciona, como a acidez do solo, a excessiva exposição à luz do sol e o fogo frequentes na estação de seca, bem como agentes patógenos oportunistas, há uma seleção de espécies com maior resistência ao estresse oxidativo (Siqueira *et al.*, 2013). No entanto o aproveitamento dessas espécies nativas ou cultivadas, ainda não corresponde à complexidade do bioma, o que fomenta o incentivo da utilidade dessa biodiversidade, bem como de estudos que descrevam sua utilização (Ribeiro *et al.*, 2008).

Todas as partes dessas espécies podem ser utilizadas e estudadas, sejam as raízes, folhas ou frutos. As frutas do Cerrado despertam o interesse da ciência e da indústria, sobretudo, farmacêutica, em razão das atividades biológicas (Franzon, 2009; Oliveira *et al.*, 2008). Isso se dá em razão de sua composição, rica em compostos bioativos, além de serem ricas do ponto de vista nutricional. Por isso, diversas frutas vem sendo estudadas quanto a sua maturação, composição química e atividades biológicas (Silva *et al.*, 2016; Barroso, Conceição e Silveira, 2014).

Dentre essas frutas, destacam-se algumas frutas exóticas como a jabuticaba (*Plinia cauliflora*), a pitanga (*Eugenia uniflora* L.), a seriguela (*Spondias purpurea* L) e a amora (*Morus* sp.) (Figura 1).



Figura 1: Fotografias de frutas exóticas. A: jabuticaba (*Plinia cauliflora*); B: pitanga (*Eugenia uniflora* L.); C: seriguela (*Spondias purpurea* L); D: amora (*Morus* sp.). Fonte: Imagens da internet .¹

1.1.1.1 *Plinia cauliflora*

A *Plinia cauliflora* é nativa da Mata Atlântica e popularmente conhecida como jabuticabeira. Ocorre no Brasil e é mais comum nos estados que abrangem a Mata

¹Disponível em: <<http://www.saudedica.com.br/os-10-beneficios-da-jabuticaba-para-saude/>> (A); <<http://flores.culturamix.com/informacoes/como-cultivar-pitangueira>> (B); <<http://saudenocorpo.com/seriguela-e-seus-beneficios-a-saude/>> (C); <<http://revistagloborural.globo.com/vida-na-fazenda/como-plantar/noticia/2014/10/como-plantar-amora.html>> (D). Acesso em set 2016.

Atlântica e o Cerrado. Pode ser confundida com outras espécies do gênero e por isso é necessária uma identificação taxonômica correta da espécie para publicação de resultados (Borges *et al.*, 2014; Citadin *et al.*, 2010).

A jabuticaba tem se apresentado como uma fruta de grande interesse industrial e científico, sendo percebido um aumento de publicações sobre essa fruta nos últimos anos (Borges, Conceição e Silveira, 2014; Wu, Long e Kennelly, 2012). É muito apreciada pela população e bastante utilizada na fabricação de sucos, geléias, vinhos e licores (Borges, Conceição e Silveira, 2014). Silva *et al.* (2014) verificaram que até os resíduos de jabuticaba (casca e sementes) podem ser aproveitados e utilizados como uma fonte de pigmento natural com propriedades funcionais.

Além dos seus potenciais nutritivos, vários estudos têm identificado compostos fenólicos nessa fruta, assim como algumas propriedades farmacológicas, em especial a atividade antioxidante que tem sido fortemente associada aos seus componentes bioativos (Calloni *et al.*, 2015; Inada *et al.*, 2015; Lenquiste *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014; Alezandro *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2012; Veggi, Santos e Meireles, 2011; Rufino *et al.*, 2010; Santos, Veggi e Meireles, 2010; Reynertson *et al.*, 2008). Além da atividade antioxidante *in vitro*, Calloni *et al.* (2015) verificaram que a jabuticaba pode proteger as células de fibroblastos humanos contra o estresse oxidativo, podendo ser usada para o tratamento de enfermidades associadas com esse fenômeno, tais como doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e câncer.

A maioria dos estudos foca em compostos extraídos da casca e da polpa, mas Wang *et al.* (2014) verificaram que o extrato aquoso das sementes dessa espécie tem atividade antioxidante e apresenta um efeito quimioprotetor contra câncer bucal. Atividade antimicrobiana também foi relatada para os resíduos de jabuticaba por Silva *et al.* (2014). Além disso, sabe-se que os compostos bioativos presentes na jabuticaba, em especial as antocianinas, além de contribuírem para a atividade antioxidante, atuam como antiinflamatórios e antimutagênicos, antifúngicos, antibacterianos e hipoglicemiantes (Borges, Conceição e Silveira, 2014; Silva *et al.*, 2014; Martins de Sá *et al.*, 2014; Alezandro, Granato e Genovese, 2013).

1.1.1.2 *Eugenia uniflora*

A pitanga (*Eugenia uniflora* L.) é uma fruta nativa do Brasil, amplamente distribuída em todo país e é usada como árvore ornamental em jardins ou cultivada

em pomares domésticos (Donadio *et al.*, 2002). Seu sabor, conteúdo de compostos fenólicos e benefícios econômicos atraem os interesses para a fruta (Costa *et al.*, 2013; Celli, Pereira-Netto e Beta, 2011).

Estudos com pitangas cultivadas no Sul do Brasil indicam que é uma fruta com alto potencial antioxidante e pode ser usada como fonte de bioativos promotores da saúde humana (Bagetti *et al.*, 2011; Celli, Pereira-Netto e Beta, 2011), sendo que essa atividade tem sido associada à sua composição fenólica (Denardin *et al.*, 2015; Einbond *et al.*, 2004). A pitanga que apresentou maior teor de polifenóis totais no estudo de Denardin *et al.* (2015), foi também a fruta mais antioxidante. Celli, Pereira-Netto e Beta (2011) mostraram que durante o desenvolvimento da fruta há diferenças de composição fenólica e atividade antioxidante, apesar de apresentar alta atividade independente do desenvolvimento. Eles também mostraram que a coloração da fruta no momento da colheita é um fator importante a ser observado para a utilização de pitangas com maior potencial antioxidante.

Estudos mostram que os teores de compostos fenólicos como antocianinas e flavonoides são mais significativos na casca do que na polpa (Costa *et al.*, 2013; Lima *et al.*, 2002). As antocianinas delphinidina-3-glicosídeo e cianidina-3-glicosídeo, entre outros derivados de cianidina e malvidina foram relatados nos frutos de pitanga (Denardin *et al.*, 2015; Einbond *et al.*, 2004). Também foi verificado que os óleos essenciais do fruto apresentaram atividade antibacteriana diante de *Staphylococcus aureus* (Costa *et al.*, 2013).

1.1.1.3 *Spondias purpurea*

A espécie *Spondias purpurea* é popularmente conhecida como seriguela, nativa da América Central, com grande ocorrência no Brasil. Está presente na lista da flora do Cerrado e apresenta habitat Cerrado *lato sensu* (Mendonça *et al.*, 2008). Há relatos de que a espécie tem sido utilizada para o tratamento de diarreia, úlceras, aftas, disenteria e inchaço (Engels *et al.* 2012). Estudos identificaram e quantificaram compostos fenólicos presentes na fruta cultivada em diversas partes do Brasil e da Costa Rica (Silva *et al.*, 2016; Reis *et al.*, 2015; Gregoris 2013; Engels *et al.*, 2012; Omena *et al.*, 2012; Almeida *et al.*, 2011), dentre eles fenóis, flavonoides e taninos. Além disso, estudos mostram a associação entre sua composição fenólica e atividade antioxidante (Reis *et al.*, 2015; Gregoris 2013; Omena *et al.*, 2012; Almeida *et al.*, 2011).

Atividade antimicrobiana foi citada como uma propriedade de extratos de seriguela por Bernhardt (2008), e Gachet *et al.* (2010). Silva *et al.* (2016) verificaram que os compostos fenólicos foram potentes antioxidantes na absorção de raios ultravioleta, e que o extrato de seriguela apresentou atividade fotoprotetora contra UVB e raios UVA.

1.1.1.4 *Morus sp.*

As amoras são consideradas frutas pequenas do gênero *Rubus spp.* e *Morus spp.* O gênero *Rubus* apresenta frutos maiores, voltado especificamente para fruticultura, e as frutas desse gênero são mais consumidas em alimentos processados. O gênero *Morus* foi introduzido no Brasil no século XIX, seus frutos são menores e são aproveitados para fruticultura e sericicultura, consumidos *in natura* ou em polpas (Okamoto *et al.*, 2013).

Sobre o gênero *Morus sp.*, há estudos que descrevem utilizações com propriedades farmacológicas de todas as partes da fruta, tais como laxante, sedativo, expectorante, emoliente, calmante, diurético, agente hipoglicemiante, anti-séptico, anti-inflamatória, antioxidante, e no tratamento de eczema e inflamação bucal (Ercisli e Othan, 2007; Franzotti, 2006). No Brasil, as folhas de *Morus nigra L.* são utilizadas como um substituto para a terapia de substituição hormonal convencional (Miranda *et al.* 2010). No entanto, alguns estudos realizados no Brasil mostraram que a folha não apresenta atividade estrogênica (Queiroz *et al.*, 2012; Vanoni, 2006; Franzotti, 2006).

As folhas da fruta podem ser utilizadas no tratamento de diabetes mellitus tipo II, doenças hepáticas e renais (Padilha *et al.*, 2010; Franzotti, 2006), e alguns estudos mostram sua baixa toxicidade (Oliveira *et al.*, 2013).

A fruta de *Morus sp.* apresenta altas concentrações de compostos fenólicos, dentre eles flavonoides e ácidos fenólicos (Gundogdu *et al.*, 2011; Ercisli e Othan, 2007). A presença de substâncias fenólicas demonstrou estar relacionada com propriedades antimutagênicas, anticarcinogênicas e com a capacidade de alterar a expressão gênica (Awad *et al.*, 2005). Esses compostos fenólicos também estão associados à sua alta capacidade antioxidante (Ercisli e Othan, 2008).

As antocianinas são os principais flavonoides encontrados na fruta e contribuem para sua atividade antioxidante. Entre esses compostos, os derivados de cianidina foram considerados os principais (Pérez-Gregório *et al.*, 2011; Pawlowska *et al.*, 2008).

Estudos relatam que a espécie *M. nigra* apresenta maior atividade antioxidante, bem como maior quantidade de antocianina, ácido clorogênico e outros compostos fenólicos em relação às espécies *M. alba* e *M. rubra* (Gundogdu *et al.*, 2011; Ozgen, Serçe e Kaya, 2009; Ercisli e Othan , 2007).

1.1.1.5 Maturação de frutas

Maturação é o processo que ocorre no desenvolvimento das frutas que as tornam atraentes e comestíveis (Brady, 1987). Durante esse processo ocorrem modificações no metabolismo da planta que resultam em alterações de pH, ácidos, açúcares, bem como no tamanho dos frutos, que por sua vez conferem características sensoriais de textura, sabor e aparência diretamente relacionadas com a qualidade das frutas. Por isso, para avaliação da maturação e qualidade de frutas são utilizados parâmetros como: tamanho, pH, teor de sólidos solúveis e acidez titulável (Cavalani *et al.*, 2015; Costa *et al.*, 2006). Esses estudos são importantes, pois fornecem conhecimento acerca da conservação e do melhor período para colheita (Cavalani *et al.*, 2015; Palharini *et al.*, 2015; Antunes *et al.*, 2003), bem como da adaptação das plantas ao local de cultivo (Gris *et al.*, 2010).

Inúmeros fatores alteram a maturação e qualidade dos frutos. A composição do solo, por exemplo, é um fator que influencia, mas que é permanente e não varia anualmente. A temperatura, precipitação, luz e umidade são fatores que variam de acordo com o clima anual. Já a adubação, a poda e a irrigação são fatores modificáveis que variam, mas podem ser previsíveis. A incidência de doenças e alterações climáticas como geadas, granizo e seca são fatores acidentais que variam e são pouco previsíveis. Esses fatores unidos compõem o local de cultivo, para o qual é frequentemente utilizado o termo em francês “*terroir*” (). Essas características variam significativamente de uma região para outra, bem como entre as safras, o que fomenta o estudo desses parâmetros em diferentes regiões e por diferentes períodos.

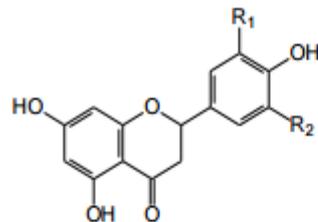
1.2 COMPOSIÇÃO FENÓLICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os polifenóis são um vasto grupo de metabólitos secundários de plantas que apresentam atividade antioxidante, e possuem em comum um anel aromático ligado a grupamentos hidroxila.

Em relação à estrutura química, os polifenóis abrangem uma grande variedade de compostos. Envolvem desde grupos de compostos mais simples, como os ácidos

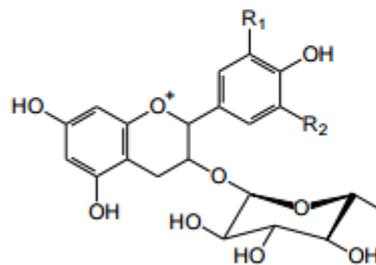
fenólicos, até compostos altamente polimerizados, como os taninos. Esses compostos podem ser divididos em dois grandes subgrupos de acordo com sua cadeia carbônica: flavonoides e não flavonoides. Os flavonoides são o maior grupo e mais variado, e tem em comum o esqueleto carbônico C6-C3-C6. Os flavonoides podem ser subdivididos em três classes: flavonóis, flavan-3-óis e antocianinas. No grupo dos não-flavonoides, há o restante de compostos com variedade de esqueleto carbônico, que abrange, por exemplo, a classe de ácidos fenólicos (C6-C1) e ácidos hidroxicinâmicos (C6-C3) (Bravo, 1998).

Flavonóis



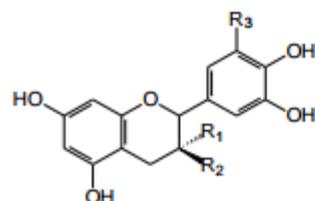
R₁ = H R₂ = H Campferol
 R₁ = OH R₂ = H Quercetina
 R₁ = OH R₂ = OH Miricetina

Antocianinas



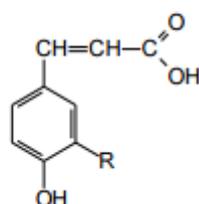
R₁ = OH R₂ = H Cianidina
 R₁ = OH R₂ = OH Delfinidina
 R₁ = OCH₃ R₂ = H Peonidina
 R₁ = OH R₂ = OCH₃ Petunidina
 R₁ = OCH₃ R₂ = OCH₃ Malvidina

Flavan-3-óis



Procianidinas
 R₁ = OH R₂ = H R₃ = H (+) - Catequina
 R₁ = H R₂ = OH R₃ = H (-) - Epicatequina
 Prodelfinidinas
 R₁ = OH R₂ = H R₃ = OH (+) - Galocatequina
 R₁ = H R₂ = OH R₃ = OH (-) - Epigalocatequina

Ácidos hidroxicinâmicos



R = H Ác. *p*-cumárico
 R = OH Ác. cafeico
 R = OMe Ác. ferrúlico

Figura 2: Estrutura de alguns compostos fenólicos. Fonte: Gris, 2010.

Cada grupo de polifenóis ocorre em qualidade e quantidades específicas em cada planta, conferindo sabor e aroma a esses alimentos, bem como propriedades farmacológicas como atividade antioxidante. Sabe-se que fatores ambientais e humanos influenciam fortemente as características fenólicas de frutas (Jackson e Lombard, 1993). O conhecimento de uma variedade grande desses compostos em cada fruta, com a definição das classes de polifenóis que ocorrem, bem como o teor de cada classe, é importante para determinar e explicar a atividade antioxidante da fruta.

O estresse oxidativo no organismo induz a formação de espécies reativas de oxigênio ou radicais livres. O excesso desses radicais nas células pode gerar uma série de malefícios ao organismo, inclusive o desenvolvimento de processos patológicos. Essas espécies são altamente reativas por isso reagem facilmente com moléculas celulares como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. No entanto, podem ser combatidas com sistemas antioxidantes enzimáticos suplementados ou provindos da dieta (Halliwell et al., 1995).

Alguns alimentos são fontes de compostos antioxidantes naturais. Dentre eles, destacam-se as frutas, em razão dos metabólitos presentes em sua composição. Dentre os metabólitos de plantas, os polifenóis são os metabólitos mais determinantes da atividade antioxidante de alimentos (Rufino et al., 2010). São potentes doadores de hidrogênio, e seus radicais intermediários são relativamente estáveis, dificultando uma nova cadeia de reação.

A potência de atividade antioxidante varia entre os grupos de polifenóis e depende de sua estrutura química, sendo os flavonoides considerados entre os mais potentes antioxidantes. A eficiência antioxidante dos flavonoides também varia entre o grupo, aumentando de acordo com seu grau de hidroxilação e diminuindo com a presença de uma porção de açúcar (Bravo, 1998).

Dessa forma, a composição fenólica tem sido estudada para determinar e explicar melhor a atividade antioxidante de alimentos, que pode ser aplicada em produtos como ativos de medicamentos e cosméticos, bem como retardando o processo de oxidação de produtos e aumentando sua vida de prateleira (Siqueira et al., 2013; Bravo, 1998).

Embora essas aplicações sejam requeridas, entraves tecnológicos são comumente relatados, uma vez que os polifenóis são compostos instáveis em

ambientes oxidantes, pois sofrem degradação com a influência da luz, oxigênio, temperatura, entre outros. Essa instabilidade dificulta a aplicação desses compostos em alimentos, medicamentos e cosméticos (Han et al., 2015; Bakowska et al., 2003). Além disso, podem ser incompatíveis com a composição de produtos, ter vida de prateleira curta e necessitarem de controle de armazenamento especial. Uma alternativa para o problema da instabilidade desses compostos naturais é a microencapsulação.

1.1.3 MICROENCAPSULAÇÃO

Tecnologias de encapsulação, tanto na escala nanométrica quanto micrométrica, vem sendo um recurso largamente utilizado e cada vez mais citado a fim de resolver problemas de estabilidade, liberação, absorção e metabolismo de ativos. Microencapsular polifenóis pode melhorar sua estabilidade, compatibilidade, liberação e absorção, utilizando polímeros e técnicas específicas para cada finalidade. Alguns trabalhos microencapsularam extratos polifenólicos de plantas e obtiveram partículas que foram capazes de proteger os polifenóis e melhorar a estabilidade desses (Nunes et al., 2015; Paini et al., 2015; Laine et al., 2008). Dessa forma, a microencapsulação vem sendo largamente aplicada em compostos fenólicos.

Para aplicação em frutas, a microencapsulação é uma abordagem em que o bioativo é delimitado por uma matriz de polímero, protegendo-o assim de fatores como: oxigênio, umidade, alterações de pH, luz, e de outras condições que aceleram o processo de degradação com o objetivo de aumentar a vida prateleira ou melhorar a absorção *in vivo* (Han et al., 2015).

Há uma vasta variabilidade de polímeros e técnicas de encapsulação utilizadas para frutas. Para a escolha desses, um dos critérios é a finalidade da microencapsulação. Métodos de liofilização e secagem por pulverização (*spray drying*) estão entre os mais utilizados para a obtenção de micropartículas. Entre os polímeros, há vários registros na literatura sobre alginato, quitosana, goma arábica, e maltodextrinas, que podem ser utilizados sozinhos ou misturados (Flores et al., 2014; Ezhilarasia et al., 2013; Laine et al., 2008).

De acordo com a finalidade, tipo de polímero e técnica, a encapsulação pode conferir uma série de vantagens para bioativos de frutas, além de melhora da estabilidade, em especial os polifenóis: melhoria de biodisponibilidade ou

transformação, controle da liberação, aumento da solubilidade e mascaramento de sabor desagradável (Rutz et al., 2013; Alonso et al., 2010; Laine et al., 2008)

O método de *spray drying* é um dos métodos mais empregados na obtenção de micropartículas dos mais variados materiais e aplicações, e consiste numa secagem por meio de uma corrente de gás aquecido sobre um produto líquido aspergido por pressão do bico atomizador do aparelho. A escolha por esse método é devida principalmente à sua facilidade de operação e um bom custo-benefício (Gelfuso et al., 2011; Kha, Nguyen e Roach, 2010)



Figura 3: Fotografia do equipamento *spray dryer*. Fonte: obtida pelo autor

1.1.3.1 Quitosana

A quitosana é um polissacarídeo constituído principalmente de D-glicosamina. Pode ser obtido da desacetilação da quitina, o componente principal do exoesqueleto de crustáceos e insetos, e também pode ser encontrado naturalmente em outros organismos. De acordo com a obtenção da quitosana, características como massa molar e grau de acetilação devem ser descritos adequadamente. O grau de acetilação também pode variar suas propriedades físico-químicas (Silva, Santos e Ferreira, 2006). Estudos mostram que a massa molar influencia diretamente na solubilidade do sistema (Jia et al., 2001; Baumann e Faust, 2001).

Esse polímero apresenta carga positiva em razão dos grupamentos amino em sua estrutura. Isso confere a vantagem de mucoadesividade, além da biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade. Além disso, é um polímero natural e de baixo custo, o que potencializa o interesse por sua utilização em tecnologias de encapsulamento de fármacos (Gelfuso et al., 2011; Shah et al., 2008). Em razão dessas propriedades, a quitosana é bastante utilizada entre os polímeros para microencapsulação com aplicações em medicamentos, cosméticos e alimentos (Scherließ et al., 2015).

Há publicação de trabalhos com as mais diversas aplicações desse polímero microencapsulando uma variedade de compostos. Desde compostos sintéticos, como a microencapsulação de minoxidil para aplicação tópica na área de cosméticos, até compostos naturais como óleo essencial de limoneno que foi microencapsulado para repelente de têxteis (Souza et al., 2014; Gelfuso et al., 2011).

1.2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DO TRABALHO

1.2.1 JUSTIFICATIVA

Sendo a propriedade antioxidante de frutas uma característica de grande interesse de aplicação, tanto para melhoramento de produtos quanto para ação farmacológica no organismo, e que o Cerrado é um “*terroir*” peculiar, que provavelmente favorece o desenvolvimento de metabólitos antioxidantes, estudos com frutas cultivadas nesse bioma, em especial na região do Centro-Oeste, são bastante interessantes apesar de escassos.

1.2.2 OBJETIVOS

1.2.2.1 Objetivo geral

O objetivo geral do presente trabalho foi caracterizar as frutas exóticas jaboticaba (*Plinia cauliflora*), pitanga (*Eugenia uniflora* L.), seriguela (*Spondias purpurea* L.) e amora (*Morus* sp.), cultivadas no Cerrado, com descrições de maturação, biometria, composição fenólica e atividade antioxidante, e estudar a aplicação de uma das frutas estudadas, a jaboticaba (*Plinia cauliflora*), em um sistema de microencapsulação.

1.2.2.2 Objetivos específicos

Como objetivos específicos o presente trabalho apresenta:

- 1.2.2.2.1 Caracterizar a biometria e a maturação das frutas exóticas: jabuticaba (*Plinia cauliflora*), pitanga (*Eugenia uniflora* L.), seriguela (*Spondias purpurea* L.) e amora (*Morus* sp.), cultivadas no Cerrado do Distrito Federal e entorno, bem como verificar a correlação entre as características biométricas e a maturação dessas frutas;
- 1.2.2.2.2 Descrever a composição fenólica, avaliar a atividade antioxidante *in vitro* bem como verificar a correlação entre esses dados, das frutas de jabuticaba (*Plinia cauliflora*), pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e seriguela (*Spondias purpurea* L.) cultivadas no Cerrado do Distrito Federal e entorno, bem como verificar a correlação entre a composição fenólica e atividade antioxidante dessas frutas;
- 1.2.2.2.3 Desenvolver e caracterizar as micropartículas de extrato de casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) utilizando o polímero quitosana de médio peso molecular por meio do método de *spray drying*.
- 1.2.2.2.4 Estudar a estabilidade de polifenóis totais de micropartículas de quitosana contendo extrato de casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*), durante o armazenamento em diferentes temperaturas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alezandro MR, Dubé P, Desjardins Y, Lajolo FM, Genovese MI. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of *jaboticaba*: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. *Food Research International*. 2013;54(1):468-77.
- Alezandro MR, Granato D, Genovese MI. *Jaboticaba* (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg), a Brazilian grape-like fruit, improves plasma lipid profile in streptozotocin-mediated oxidative stress in diabetic rats. *Food Research International*. 2013;54:10.
- Almeida MMB, Sousa PHMd, Arriaga ÂMC, Prado GMd, Magalhães CEEdC, Maia GA, et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*. 2011;44:2155-9.
- Alonso D, Gimeno M, Sepúlveda-Sánchez JD, Shirai K. Chitosan-based microcapsules containing grapefruit seed extract grafted onto cellulose fibers by a non-toxic procedure. . *Carbohydrate Research*. 2010;345(6):854-9.
- Antunes LEC, Duarte Filho J, Souza CMd. Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2003;38:413-9.
- Awad AB, Burr AT, Fink CS. Effect of resveratrol and betasitosterol in combination on reactive oxygen species and prostaglandin release by PC-3 cells. . *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2005;72:219–26.
- Bagetti M, Facco EMP, Piccolo J, Hirsch GE, Rodriguez-Amaya D, Kobori CN, et al. Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.). *Food Science and Technology (Campinas)*. 2011;31:147-54.
- Bąkowska A, Oszmianski J, Kucharska A. Thermodynamic characteristic of copigmentation of anthocyanins with flavonoids. *Acta Scientiarum Polonorum*. 2003;2(2):57-66.
- Barroso MR, Barros L, Dueñas M, Carvalho AM, Santos-Buelga C, Fernandes IP, et al. Exploring the antioxidant potential of *Helichrysum stoechas* (L.) Moench phenolic compounds for cosmetic applications: Chemical characterization, microencapsulation and incorporation into a moisturizer. *Industrial Crops and Products*. 2014;53:330–6.
- Baumann H, Faust V. *Carbohydrate Research*. 2001;331(43).
- Bernhardt E. *Medicinal Plants of Costa Rica*. Costa Rica: Zona Tropical Publications; 2008.
- Borges LL, Conceição EC, Silveira D. Active compounds and medicinal properties of *Myrciaria* genus. *Food Chemistry*. 2014;153:10.
- Brady CJ. Fruit Ripening. *Annual Review of Plant Physiology*. 1987;38:155-78.

Brannstrom C, Jepson W, Filippi AM, Redo D, Xu Z, Ganesh S. Land change in the Brazilian Savanna (Cerrado), 1986–2002: Comparative analysis and implications for land-use policy. *Land Use Policy*. 2008;25(4):579-95.

Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. 1998;56(11):317-33.

Calloni C, Agnol RD, Martínez LS, Marcon FdS, Moura S, Salvador M. *Jaboticaba (Plinia trunciflora (O. Berg) Kausel)* fruit reduces oxidative stress in human fibroblasts cells (MRC-5). *Food Research International*. 2015;70:15-22.

Carvalho FMVd, Ferreira LG. The Cerrado Into-Pieces: Habitat Fragmentation as a Function Of Landscape Use In The Savannas Of Central Brazil. *Biological Conservation*. 2009;142(7):1392–403.

Cavalini FC, Jacomino AP, Trevisan MJ, Miguel ACA. Ponto de Colheita e Qualidade de Goiabas Kumagai e Paluma. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2015;37:64-72.

Celli GB, Pereira-Netto AB, Beta T. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages. *Food Research International*. 2011;44:2442-51.

Citadin I, Danner MA, Sasso SAZ. Jabuticabeiras. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2010;32:0-.

Costa AGV, Garcia-Diaz DF, Jimenez P, Silva PI. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red–black berries. *Journal of Functional Foods*. 2013;5 (2013):539-49.

Costa G, Noferini M, Fiori G, Ziosi V. Internal fruit quality: how to influence it, how to define it. *Acta Horticulture*. 2006; 712: 339–346.

Danner MA, Raseira MdCB, Sasso SAZ, Citadin I, Scariot S. Repetibilidade de caracteres de fruto em araçazeiro e pitangueira. *Ciência Rural*. 2010;40:2086-91.

Denardin CC, Hirsch GE, Da Rocha RF, Vizzotto M, Henriques AT, Moreira JCF, et al. Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2015;23(3):387-98.

Donadio LC MF, Servidone AA. Frutas Brasileiras. *Jaboticabal: Novos Talentos*; 2002.

Einbond LS, Reynertson KA, Luo X-D, Basile MJ, Kennelly EJ. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food chemistry*. 2004;84:23-8.

Engels C, Gräter D, Esquivel P, Jiménez VM, Gänzle MG, Schieber A. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Food Research International*. 2012;46:6.

Ercisli S, Orhan E. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Food Chemistry*. 2007;103:1380-4.

Ezhilarasi PN, Indrani D, Jena BS, Anandharamakrishnan C. Freeze drying technique for microencapsulation of Garcinia fruit extract and its effect on bread quality. *Journal of Food Engineering*. 2013;117(4):513-20.

Flores FP, Singh RK, Kerr WL, Pegg RB, Kong F. Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during in vitro digestion. *Food Chemistry*. 2014;153:7.

Forzza RC, Baumgratz JFA, Bicudo CEM, Canhos DAL, Carvalho AA, Coelho MAN, et al. New Brazilian Floristic List Highlights Conservation Challenges. *BioScience*. 2012;62(1):39-45.

Franzon RC. Fruteiras nativas do Cerrado têm potencial para exploração 2009 April 2016. Disponível em: <http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/131/>.

Franzotti EM. Identificação de agonistas e antagonistas de receptores nucleares em extratos de plantas medicinais: *Morus nigra* L., *Plectranthus ornatus* codd., *Ipomoea cairica* (L) sweet e *Pouteria torta* (mart.). In: Brasília Ud, editor. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde). Brasília2006.

Franzotti EM. Identificação de agonistas e antagonistas de receptores nucleares em extratos de plantas medicinais: *Morus nigra* L., *Plectranthus ornatus* Codd., *Ipomea cairica* (L) sweet e *Pouteria torta* (Mart.) radlk. . In: Brasília Ud, editor. Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Brasília2006.

Freire ECBdS, Silva FVGd, Santos AFd, Medeiros IFd. Avaliação Da Qualidade De Ciriguela (*Spondias Purpurea*, L) Em Diferentes Estádios De Maturação. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável Grupo Verde de Agricultura Alternativa (GVAA)*. 2011;6(2):27-40.

Gachet MS, Lecaro JS, Kaiser M, Brun R, Navarrete H, Muñoz RA, et al. Assessment of anti-protozoal activity of plants traditionally used in Ecuador in the treatment of leishmaniasis. *Journal Ethnopharmacology*. 2010;128:184-97.

Gregoris E, Lima GPP, Fabris S, Bertelle M, Sicari M, Stevanato R. Antioxidant Properties of Brazilian Tropical Fruits by Correlation between Different Assays. *BioMed Research International*. 2013;2013:8.

Gris EF. Perfil fenólico e atividades antioxidante e hipolipemiante de vinhos de variedades *Vitis vinifera* cultivadas em São Joaquim - SC - Brasil. In: Universidade Federal de Santa Catarina CdCA, editor. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Florianópolis2010.

Gris EF, Burin VM, Brighenti E, Vieira H, Bordignon-Luiz MT. Phenology and ripening of *Vitis vinifera* L. grape varieties in São Joaquim, southern Brazil: a new South American wine growing region. *Ciencia e investigación agraria*. 2010;37:61-75.

Gundogdu M, Muradoglu F, Gazioglu Sensoy R, Yilmaz H. Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra* L., *Morus alba* L. and *Morus rubra* L. by HPLC. *Scientia Horticulturae*. 2011;132:37-41.

Halliwel B, Aeschbach R, Lolinger J, Aruoma OI. The characterization on antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*. 1995;33(7):601-17.

Han HJ, Lee JS, Park SA, Ahn JB, Lee HG. Extraction optimization and nanoencapsulation of jujube pulp and seed for enhancing antioxidant activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2015;130(1):93–100.

Hassimotto NMA, Mota RVd, Cordenunsi BR, Lajolo FM. Physico-chemical characterization and bioactive compounds of blackberry fruits (*Rubus* sp.) grown in Brazil. *Food Science and Technology (Campinas)*. 2008;28:702-8.

Ibrahim SP, Stringheta PC, Teófilo RF, De Oliveira IRN. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of *jaboticaba* (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of food engineering* 2013;117(4):538 -44.

Inada KOP, Oliveira AA, Revorêdo TB, Martins ABN, Lacerda ECQ, Aline Soares Freire, et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. *Journal of Functional Foods*. 2015;17:12.

Jackson DI, Lombard PB. Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality — A review. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1993;44:409–30.

Jia Z, Shen D, Xu W. *Carbohydrate Research*. 2001;333(1).

Kha, T. C., Nguyen, M. H., Roach, P. D. Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering*. 2010; 98 (3): 385-392.

Laine P, Kylli P, Heinonen M, Jouppila K. Storage Stability of Microencapsulated Cloudberry (*Rubus chamaemorus*) Phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008;56:11251-61.

Lenquiste SA, Marineli RdS, Moraes ÉA, Dionísio AP, Brito ESd, Maróstica-Junior MR. Jaboticaba peel and jaboticaba peel aqueous extract shows in vitro and in vivo antioxidant properties in obesity model. *Food Research International*. 2015;77:9.

Lima VLAG, Mélo EA, Lima DES. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. *Scientia Agricola*. 2002 59(3):447–50.

Martins de Sá LZC, Castro PFS, Lino FMA, Bernardes MJC, Viegas JCJ, Dini TCP, et al. Antioxidant potential and vasodilatory activity of fermented beverages of jaboticaba berry (*Myrciaria jaboticaba*). *Journal of Functional Foods*. 2014;8:169–79.

Mendonça RC, Felfili JM, Walter BMT, Silva Júnior MC, Rezende AV, Filgueiras TS, Nogueira PE, Fagg CW. Flora vascular do bioma Cerrado: checklist com 12.356 espécies. In: Sano SM,

Mittermeier RA, Gil PR, Hoffman M, Pilgrim J, Brooks T, Mittermeier CG, Lamoreux J, Fonseca GAB. Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest And Most Endangered Terrestrial Ecoregions. Mexico City : Conservation International; 2005.

Nunes GL, Boaventura BCB, Pinto SS, Verruck S, Murakami FS, Prudêncio ES, et al. Microencapsulation of freeze concentrated *Ilex paraguariensis* extract by spray drying. *Journal of Food Engineering*. 2015;151:60-8.

Okamoto F, Furlaneto FdPB, Martins AN. Amora Preta: Quem é Quem. *Pesquisa & Tecnologia - Informações Tecnológicas*. 2013;10(2).

Oliveira ACB, Oliveira AP, Guimarães AL, Oliveira RA, Silva FS, Reis SAGB, et al. Avaliação toxicológica pré-clínica do chá das folhas de *Morus nigra* L. (Moraceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 2013;15:244-9.

Oliveira LdS, Paludo A, França LVd, Vilela MdF. Distribuição geográfica de espécies nativas do Cerrado: resultados preliminares. *Simpósio Nacional Cerrado*; Brasília, DF: Embrapa Cerrados 2008.

Omena CMB, Valentim IB, Guedes GdS, Rabelo LA, Mano CM, Bechara EJH, et al. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities in fruits. *Food Research International*. 2012;49(11):334.

Ozgen M, Serçe S, Kaya C. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. *Scientia Horticulturae*. 2009 Feb 3; 119 (3): 275–279.

Paini M, Aliakbarian B, Casazza AA, Lagazzo A, Botter R, Perego P. Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. *LWT - Food Science and Technology*. 2015;62(1):177-

Palharini MCdA, Fischer IH, Vegian MRdC, Fileti MdS, Montes SMNM. Efeito da temperatura de armazenamento na conservação pós-colheita de amora-preta. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. 2015;45:413-9.

Pérez-Gregorio MR, Regueiro J, Alonso-González E, Pastrana-Castro L, Simal-Gándara J. Influence of alcoholic fermentation process on antioxidant activity and phenolic levels from mulberries (*Morus nigra* L.). *LWT - Food Science and Technology*. 2011;44 (8):1793–801.

Pawlowska AM, Oleszek W, Braca A. Quali-quantitative analyses of flavonoids of *Morus nigra* L. and *Morus alba* L. (Moraceae) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008 May 14; 56 (9): 3377–3380.

Queiroz GT ST, Macedo R, Peters VM, Leite MN, Sá RCS, Guerra MO. Efficacy of *Morus nigra* L. on reproduction in female Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2012;50(3-4):816–22.

Ratter JA, Ribeiro JF, Bridgewater S. The Brazilian Cerrado Vegetation and Threats to its Biodiversity. *Annals of Botany Company*. 1997;80(3):223-30.

Reis LCB, Carneiro LM, Branco CRC, Branco A. Comparison of Conventional Microwave and Focused Microwave-assisted Extraction to Enhance the Efficiency of the Extraction of Antioxidant Flavonols from Jocote Pomace (*Spondias purpurea* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*. 2015;2015(70):10.

Resende MdLF, Guimarães LdL. Inventários da Biodiversidade do Bioma Cerrado: Biogeografia de Plantas. In: IBGE Hd, editor. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; 2007. p. 14.

Reynertson KA, Yang H, Jiang B, Basile MJ, Kennelly EJ. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry*. 2008;109(4):8

Ribeiro JF, Oliveira MCd, Gulias APSM, Fagg JMF, Aquino FG. Usos múltiplos da biodiversidade no Bioma Cerrado: estratégia sustentável para a sociedade, os agronegócios e os recursos naturais. . In: Faleiro FG, Neto ALdF, editors. *Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócios e recursos naturais*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrado; 2008. p. 337-60.

Rufino MdSM, Alves RE, Brito ESd, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F, Mancini-Filho J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*. 2010;121(2010):996-1002.

Rutz JK, Zambiasi RC, Borges CD, Krumreich FD, da Luz SR, Hartwig N, et al. Microencapsulation of purple Brazilian cherry juice in xanthan, tara gums and xanthan-tara hydrogel matrixes. *Carbohydrate Research*. 2013;98 (2):1256-65.

Santos DT, Veggi PC, Meireles AA. Extraction of antioxidant compounds from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. *Journal of Food Engineering*. 2010;101:9.

Scherließ R, Mönckedieck M, Young K, Trows S, Buske S, Hook S. First in vivo evaluation of particulate nasal dry powder vaccine formulations containing ovalbumin in mice. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015;479:408-15.

Shah PP, Mashru RC, Thakkar AR, Badhan AC. Effect of chitosan crosslinking on bitterness of artemether using response surface methodology. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2008; 60: 421-427.

Silva HSRC, dos Santos KSCR, Ferreira EI. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. *Química Nova*. 2006;29(4):776-85.

Silva MC, Souza VBd, Thomazini M, Silva ERd, Smaniotto T, Carvalho RAd, et al. Use of the jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties. *LWT - Food Science and Technology*. 2014; 55 (2014) : 203-9.

Silva RV, Costa SCC, Branco CRC, Branco A. In vitro photoprotective activity of the *Spondias purpurea* L. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation. *Industrial Crops and Products*. 2016;83:6.

Siqueira EMdA, Rosa FR, Fustinoni AM, Sant'Ana LPd, Arruda SF. Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional Red Delicious Apple *Plos One*. 2013;8(8):7.

Souza Jefferson M., Caldas Artemisia L., Tohidi Shafagh D., Molina Javier, Souto Antônio P., Fangueiro Raul et al. Properties and controlled release of chitosan microencapsulated limonene oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2014; 24(6): 691-698.

Vanoni APNB. Avaliação da atividade fitoestrogênica do extrato hidroalcoólico e da infusão das folhas de *Morus nigra* L. In: Sul UFdRGd, editor. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias Porto Alegre 2006.

Veggi PC, Santos DT, Meireles MAA. Anthocyanin extraction from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins by different techniques: economic evaluation. *Procedia Food Science*. 2011;1(2011):1725-31.

Wang W-H, Tyan Y-C, Chen Z-S, Lin C-G, Yang M-H, Yuan S-S, et al. Evaluation of the Antioxidant Activity and Antiproliferative Effect of the *Jaboticaba* (*Myrciaria cauliflora*) Seed Extracts in Oral Carcinoma Cells. *BioMed Research International*. 2014;2014:1-7.

Wantzen KM, Couto EG, Mund EE, Amorim RSS, Siqueira A, Tielborger K, et al. Soil carbon stocks in stream-valley-ecosystems in the Brazilian Cerrado agroscape. Oxford, ROAMED-UNI: Elsevier; 2012. 10 p.

Wu S-B, Dastmalchi K, Long C, Kennelly EJ. Metabolite Profiling of *Jaboticaba* (*Myrciaria cauliflora*) and Other Dark-Colored Fruit Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012;60(7513-7525).

Wu S-B, Dastmalchi K, Long C, Kennelly EJ. Metabolite Profiling of *Jaboticaba* (*Myrciaria cauliflora*) and Other Dark-Colored Fruit Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012;60(7513-7525).

Wu S-B, Wu J, Yin Z, Zhang J, Long C, Kennelly EJ, et al. Bioactive and Marker Compounds from Two Edible Dark-Colored *Myrciaria* Fruits and the Synthesis of Jaboticabin. *Journal of agricultural and food chemistry* 2013;61(17):4035–43.

CAPÍTULO 2

**ARTIGO CIENTÍFICO:
BIOMETRIA E MATURAÇÃO DE FRUTAS EXÓTICAS DO CERRADO DO
DISTRITO FEDERAL E ENTORNO**

**Submetido a revista African Journal of Agricultural Research, qualis B2 na área
interdisciplinar**

RESUMO

O presente estudo objetivou caracterizar a biometria e a maturação das frutas jabuticaba (*Plinia cauliflora*), pitanga (*Eugenia uniflora* L.), seriguela (*Spondias purpurea* L) e amora (*Morus* sp.), cultivadas no Cerrado do Distrito Federal e entorno, bem como estimar a correlação entre as características biométricas e a maturação dessas frutas. Medidas do comprimento (C), largura (L), massa (M) e número de sementes por fruto (NSF) foram feitas em cada fruto para a biometria. Para a maturação foram analisados o pH, acidez titulável (AT), teor de sólidos solúveis (TSS), e calculado o grau de maturação (GM). As jabuticabas apresentaram biometria característica da fruta, ligeiramente pequenas e leves, com frutos com 1 a 3 sementes. As pitangas apresentaram comprimento de 1,66 cm, largura de 1,87 cm, massa de 3,66 g, e uma semente por fruto. Observou-se que a biometria das seriguelas foi característica da fruta, ligeiramente menores. As amoras também foram biometricamente características, ligeiramente pequenas e leves. A caracterização da maturação dos frutos foi realizada e os resultados demonstraram que os valores de GM variaram de 5,20 a 28,14, observando-se que os valores foram característicos de cada fruta. Verificou-se que as amostras de jabuticabas e seriguelas apresentaram valores de TSS elevados em relação a outros estudos, as amostras de amoras se apresentaram mais ácidas que estudos em outras regiões. As pitangas apresentaram parâmetros de maturação elevados de acordo com os comumente encontrados para a fruta em outras regiões. Verificou-se correlação positiva ($p \leq 0,05$) entre o comprimento e TSS de jabuticaba ($R = 1,0$) e entre L e GM de amora ($R = 1,0$). Houve correlação negativa entre o pH e massa de pitanga ($R = -1,0$).

PALAVRAS CHAVE: maturação, biometria, jabuticaba, pitanga, seriguela, amora.

2.1 INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil em extensão, sendo considerado apresentado como um bioma com grande biodiversidade, com inúmeras espécies de plantas, muitas delas endêmicas, muitas ameaçadas e com poucas áreas de preservação ambiental (FORZZA et al., 2012; WANTZEN et al., 2012; CARVALHO; FERREIRA, 2009; BRANNSTROM et al., 2008; RESENDE; GUIMARÃES, 2007).

Em razão de sua biodiversidade, muitas plantas são utilizadas como fonte de alimentos, medicamentos e outros produtos que geram renda e fortalecem o potencial econômico e sustentável do Cerrado (FRANZON, 2009). No entanto o aproveitamento das espécies ainda não corresponde à complexidade do bioma, o que incentiva estudos que promovam maior conhecimento dessas plantas e aproveitamento dessa biodiversidade (RIBEIRO et al., 2008). Dentre essas espécies, podem-se citar algumas frutas exóticas, como a jabuticaba (*Plinia cauliflora*), a pitanga (*Eugenia uniflora* L.), a seriguela (*Spondias purpurea* L.) e amora (*Morus* sp.).

Estudos biométricos e de maturação vem sendo realizados a fim de selecionar e caracterizar frutos de diversas espécies (ZIELINSK et al., 2015; NASCIMENTO et al., 2013; SILVA; SCARIOT, 2013; HIRSCH et al., 2012; BAGETTI et al., 2011; BRUNINI et al., 2004). Além disso, a caracterização biométrica também é importante para auxiliar na identificação de espécies (MORAES; ALVES, 2002; CUNHA-SILVA et al., 2012). Estudos de maturação podem fornecer conhecimento acerca da conservação e do melhor período para colheita (CAVALANI et al., 2015; PALHARINI et al., 2015; ANTUNES et al., 2003). É conhecido que o local de cultivo (“*terroir*”) influencia fortemente o desenvolvimento dos frutos (GRIS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2003), portanto, essas características variam significativamente de uma região para outra, o que fomenta o estudo em diferentes regiões.

Ainda são escassos estudos sobre a biometria e maturação de frutas exóticas do Cerrado, cultivadas ou nativas na região Centro-Oeste, mais especificamente no Distrito Federal e entorno. Assim, estudos nessa área são de grande valia, e podem auxiliar no melhor conhecimento desses frutos o que pode também auxiliar no fortalecimento e desenvolvimento dessas frutas na região. Diante do exposto, este estudo objetivou caracterizar a biometria e a maturação das frutas exóticas: jabuticaba (*Plinia cauliflora*), pitanga (*Eugenia uniflora* L.), seriguela (*Spondias purpurea* L.) e amora (*Morus* sp.), cultivadas no Cerrado do Distrito Federal e entorno, bem como verificar a correlação entre os resultados.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Coleta das amostras e área de estudo

Frutos de jabuticaba (*Plinia cauliflora*), pitanga (*Eugenia uniflora* L.), seriguela (*Spondias purpurea* L.) e amora (*Morus* sp.) foram coletados para o estudo em um

estado de maturação adequado para a colheita cultivada. Os frutos da espécie *Plinia cauliflora* foram coletados na Fazenda Água Limpa, Distrito Federal (15° 56' 54,956" S e 47° 56' 3,767" O) em diversas partes de seis árvores. Os frutos de pitanga, seriguela e amora foram coletados no município de Luziânia, GO com as seguintes coordenadas, respectivamente: 16° 11' 50,507" S e 47° 52' 15,402" O; 16° 11' 48,887" S e 47° 52' 13,808" O e 16° 11' 49,427" S e 47° 52' 15,827" O. Os frutos de pitanga, foram coletados em diversas partes de duas árvores, os de seriguela e amora foram coletados em uma árvore.

Após a coleta, o material foi devidamente lavado e armazenado sob refrigeração (máximo de 12 horas), até a realização das análises de maturação e início das análises de biometria.

Uma amostra do material botânico coletado de cada espécie foi enviada para o Herbário da Universidade de Brasília. O material foi devidamente identificado pela botânica Carolyn Elinore Barnes Proença e permanece no local como testemunha do presente trabalho (REIS, BC n. 1, 3, 4 e 6).

A caracterização do clima da região é do tipo Aw (Tropical desértico), segundo classificação climática de Köppen, e caracteriza-se por duas estações bem definidas: uma estação quente e chuvosa (de outubro a abril) e outra fria e seca (de maio a setembro) (LIRA-JÚNIOR, 2016). A temperatura média anual máxima é de 28,5°C e a média anual mínima é de 12,0 °C. A precipitação média anual é de 1.600 mm, com uma pronunciada estação seca em junho. A umidade relativa entre maio e setembro fica abaixo de 70% e a umidade mínima ocorre em agosto (MOTA, 2012).

Análises de caracterização da biometria dos frutos

A caracterização biométrica dos frutos foi realizada com uma amostra aleatória de 100 frutos para medição individual. Foram desprezados frutos com aparentes sinais de doença ou predação. Com auxílio de paquímetro de 160 mm, foi medido individualmente, o comprimento (C), no sentido longitudinal da base até o ápice, e a largura (L), medida na parte mais larga dos frutos. A massa fresca (M) de cada fruto foi medida em balança analítica (modelo AY220, marca Marte) com precisão de quatro casas decimais. Para cada fruto, também foi obtido o número de sementes, exceto para amora (SILVA et. al., 2013; MOTA, 2012).

Análises de caracterização da maturação dos frutos

A análise de caracterização da maturação dos frutos avaliados foi realizada com aproximadamente 60 frutos e determinada por meio das análises de determinação do pH, da acidez titulável (AT) e do teor de sólidos solúveis (TSS). O grau de maturação foi determinado pelo cálculo da relação entre TSS e AT. A determinação do pH foi realizada por leitura direta utilizando um potenciômetro digital (modelo PG2000, marca Gehaka); a acidez titulável foi determinada por volumetria potenciométrica com NaOH 0,1 N e expressa em termos de percentagem de ácido cítrico; e o teor de sólidos solúveis foi determinado com refratômetro Abbe (modelo RMT, marca Bel Engineering) com correção de temperatura, e (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 2006). Todas as análises foram realizadas com três repetições em triplicata.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada com auxílio do programa Statistica 10 (2010). Foram determinadas as medidas de posição (média, desvio padrão, valor máximo e mínimo) e de dispersão (coeficiente de variação, assimetria e curtose) para os dados biométricos. Para os dados de maturação foram determinadas as médias e desvio padrão. Todos os resultados foram submetidos à Análise de Variância - ANOVA, Teste Tukey HSD. Análise de correlação dos resultados da maturação e das características biométricas de cada fruta também foi realizada. Foi admitido nível de significância de 5 % ($p \leq 0,05$).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização biométrica dos frutos

O estudo de biometria de frutos é importante para seleção de frutas com boa qualidade. Frequentemente frutos maiores estão relacionados com um bom estágio de maturação, e conseqüentemente com boa qualidade (DANNER et al., 2010). A biometria também oferece conhecimento que caracteriza a espécie e auxilia na classificação, dessa forma, auxilia tanto na identificação do fruto quanto na caracterização de uma população específica (SILVA; SCARIOT, 2013).

Os resultados obtidos de comprimento (C), largura (L), massa fresca (M) e número de sementes por fruto (NSF) estão apresentados na Tabela 1. O comprimento das amostras de jaboticaba estudadas apresentou média de 1,28 cm, de pitanga 1,66 cm, de seriguela 1,63 cm e de amora 1,54 cm. Já os dados de largura apresentaram média de 1,31 cm, 1,87 cm, 0,78 cm e 0,85 cm para os frutos estudados de jaboticaba, pitanga, seriguela e amora, respectivamente. Como esperado, em relação ao tamanho dos frutos, observou-se que a largura da seriguela e da amora foram menores, o que confere frutos mais finos em relação à jaboticaba e à pitanga, que foram mais largas e arredondadas de acordo com seus dados de C e L.

A média dos valores de tamanho das amostras de jaboticaba avaliadas foi semelhante ao encontrado em frutos de jaboticabeira da espécie *Plinia cauliflora Berg* cultivadas em Jaboticabal, São Paulo (JESUS et al., 2004). Em outras regiões do estado de São Paulo foram encontrados valores de largura superiores ao presente estudo nos frutos da espécie *Plinia jaboticaba* (1,6 cm a 2,4 cm: ALEZANDRO et al., 2013; 1,4cm: NASCIMENTO et al., 2013; 1,73 cm a 2,45 cm: OLIVEIRA et al., 2003). Freire et al. (2011) estudaram seriguelas (*Spondias purpurea L.*) na Paraíba em vários estádios de maturação, e todas apresentaram comprimento e largura bem maiores que as seriguelas do nosso estudo. Sendo assim, observou-se que essas frutas cultivadas na Caatinga foram maiores que as cultivadas no Cerrado. Também observamos que o tamanho das amoras estudadas foi menor em relação às amoras do gênero *Rubus spp.* cultivadas no Paraná, que verificaram valores que variaram entre 1,59 cm a 2,80 cm (ZIELINSK et al., 2015). Cabe ressaltar que amoras são consideradas frutas pequenas do gênero *Rubus spp.* e *Morus spp.* O gênero *Rubus* foi introduzido ao Brasil no século XX e seu cultivo foi expandido para região sul e sudeste do país. É um gênero que apresenta frutos maiores, voltado especificamente para fruticultura, consumido em alimentos processados. O gênero *Morus* foi introduzido ao Brasil desde o século XIX. Seus frutos são menores e são aproveitados para fruticultura e sericicultura, consumidos *in natura* ou em polpas (OKAMOTO et al., 2013). Estudos de biometria e maturação no país só foram encontrados para o gênero *Rubus*. Assim, este é o primeiro estudo de biometria e maturação do gênero *Morus* cultivado no Brasil. Existem descrições de biometria e maturação desse gênero em outros países (ERCISLI; ORHAN, 2008; ERCISLI; ORHAN, 2007).

Em relação aos valores de massa fresca, verificou-se que a média das amostras de jabuticaba foi de 1,80 g, com coeficiente de variação de 26,93%. Um estudo com jabuticabeiras da mesma espécie do presente estudo, cultivadas em Jaboticabal, São Paulo, encontrou valores de massa do fruto que variaram entre 1,6 a 4,5 g (JESUS et al., 2004). Outros estudos encontraram valores superiores para a espécie *P. jaboticaba* cultivada no estado de São Paulo (3,86 g: NASCIMENTO et al., 2013; 3,56 g a 7,40 g: OLIVEIRA et al., 2003). Isso indica que as jabuticabas cultivadas no Cerrado são mais leves que as cultivadas no estado de São Paulo. Nos frutos de seriguela foi encontrado o maior valor de massa fresca dentre as frutas estudadas (Tabela 1). Esses resultados corroboram com Freire et al. (2011), que encontraram valores de massa que variaram entre 9,5 g a 14,28 g durante a maturação dessas frutas cultivadas no estado da Paraíba, Brasil. Esses autores também perceberam que no início da maturação a massa dos frutos de seriguela aumentavam (de 9,5 g para 14,28 g) e nos estádios finais começavam a sofrer perdas (9,78 g). Os frutos de seriguela avaliados no presente estudo apresentaram média de massa fresca maior que os frutos de pitanga, apesar de médias de comprimento semelhantes e de largura menor (Tabela 1). Essa diferença de massa fresca entre a seriguela e pitanga, apesar de comprimentos parecidos, pode estar relacionada à diferença da massa da semente e da polpa, que não foram avaliados neste estudo. Como esperado, a amora foi a fruta mais leve dentre as estudadas apresentando média de 0,82 g de massa. As amoras do presente estudo apresentaram valores de massa inferiores às amoras do gênero *Rubus* spp. e *Morus* spp. estudadas por Zielinsk et al. (2015) e Ercisli e Orhan (2007), respectivamente.

Quanto a variabilidade de massa fresca das frutas estudadas, a jabuticaba, pitanga e amora apresentaram valores altos de coeficiente de variação (Tabela 1). Essa alta variabilidade na massa fresca também foi encontrada por outros autores em outros frutos (SILVA et al., 2013; ANDRADE et al., 2010).

Sobre o NSF, somente a jabuticaba apresentou variação com 1 a 3 sementes por fruto e coeficiente de variação de 40,06% (Tabela 1). Esses resultados corroboram com Jesus et al. (2004) em frutos de jabuticaba cultivadas em São Paulo. No presente trabalho, em todos os frutos de pitanga e seriguela foi encontrada somente uma semente por fruto, sem variabilidade. Assim, observa-se uma tendência de frutos com menor quantidade de sementes apresentarem menor variabilidade. Em estudos com outras frutas, também se observou a mesma tendência. Andrade et al. (2010)

encontraram alta variabilidade (CV= 34,82%) no número de sementes por fruto no caso do jatobá, com média de 4,50. Já para o coquinho-azedo (*Butia capitata* (Mart.) Beccari), foi encontrada pouca variabilidade no número de sementes (CV: 2,35%), com uma média de 1,01 (SILVA; SCARIOT, 2013).

O coeficiente de assimetria quantifica o desvio de uma distribuição de frequências em relação a uma distribuição simétrica. A maioria dos dados biométricos encontrados apresentou o valor de simetria (S) maior que 0 (Tabela 1), o que significa que a distribuição dos dados é assimétrica à direita, ou seja, predominam nas amostras valores maiores de biometria em grande parte das características das frutas, com destaque para o NSF da jabuticaba e L da seriguela que são fortemente assimétricos à direita (Tabela 1). Resultados semelhantes foram encontrados nos frutos de *Melanoxylon brauna*, que é uma espécie conhecida como braúna que ocorre na Mata Atlântica (SILVA et al., 2013). A distribuição do comprimento da seriguela, da largura da jabuticaba e amora e da massa da seriguela apresentou assimetria à esquerda. A distribuição do comprimento da pitanga e da amora foi simétrica (Tabela 1).

Ainda sobre a distribuição das frequências, verificamos os valores de curtose (K) que medem o grau de achatamento da distribuição. Esses valores também estão apresentados na Tabela 1. As distribuições das características biométricas da seriguela apresentam altos valores de coeficiente de curtose, ou seja, com maior concentração de valores em torno do centro da distribuição. As curvas de distribuição dessas características são todas leptocúrticas, ou seja, pontiagudas, com medidas de curtose maiores que a distribuição normal. Para as outras amostras, a distribuição é levemente platicúrtica (achatada, $k < 0$) ou leptocúrtica ($k > 0$).

As características biométricas se alteram significativamente em função de variações no campo. As condições climáticas, de luminosidade e do solo de cada região influenciam em todo desenvolvimento do fruto, e conseqüentemente, em suas características biométricas. Em vários estudos pode-se verificar diferenças biométricas entre as amostras coletadas da mesma espécie no mesmo bioma e Estado (CICONINI et al., 2013; SILVA; SCARIOT, 2013; RODRIGUES, 2006). O estágio de maturação em que o fruto se encontra, também influencia significativamente suas características biométricas (ZIELINSK et al., 2015; FREIRE et al., 2011). Vale destacar que no presente estudo, a jabuticaba foi coletada em local diferente das outras frutas, apesar de estar localizada no mesmo bioma e em uma

distância próxima (cerca de 60 km). Essas amostras podem ter sido influenciadas por fatores climáticos, luminosos e de solo distintos das outras frutas estudadas.

Tabela 1: Análise descritiva das características biométricas dos frutos de jabuticaba, seriguela, pitanga e amora. Médias (Me) \pm desvio padrão (DP), Máximos (Máx), mínimo (Mín), coeficiente de variação (CV), assimetria (S) e curtose (K) de uma amostra aleatória (n= 100) de frutos dessas espécies das variáveis comprimento, largura, massa e número de sementes/fruto dos frutos.

	Me \pm DP	Máx	Mín	CV (%)	S	K
Comprimento (cm)						
Jabuticaba	1,28 \pm 0,12 ^a	1,6	1,0	9,32	0,26	0,23
Pitanga	1,66 \pm 0,25 ^b	2,20	1,00	14,96	-0,04	-0,13
Seriguela	1,63 \pm 0,21 ^b	2,0	0,70	12,66	-0,84	3,14
Amora	1,54 \pm 0,36 ^{a,b}	2,25	0,70	23,4	0,03	-0,54
Largura (cm)						
Jabuticaba	1,31 \pm 0,13 ^a	1,6	1,0	9,85	-0,14	-0,23
Pitanga	1,87 \pm 0,24 ^b	2,50	1,35	12,70	0,26	-0,34
Seriguela	0,78 \pm 0,19 ^c	1,85	0,10	24,30	1,08	10,29
Amora	0,85 \pm 0,11 ^c	1,10	0,60	12,5	-0,25	-0,30
Massa (g)						
Jabuticaba	1,80 \pm 0,48 ^a	3,30	0,93	26,93	0,53	0,14
Pitanga	3,66 \pm 0,93 ^b	6,83	1,69	25,50	0,54	0,47
Seriguela	10,87 \pm 1,72 ^c	15,68	4,15	15,82	-0,58	2,09
Amora	0,82 \pm 0,33 ^a	1,87	0,15	40,3	0,42	0,10
Nº Sementes/fruto						
Jabuticaba	1,33 \pm 0,53 ^a	3	1	40,06	1,33	0,85
Pitanga	1,00 ^b	1	1	-	-	-
Seriguela	1,00 ^b	1	1	0,00	-	-
Amora	-	-	-	-	-	-

Diferentes letras nos valores de média para cada uma das variáveis comprimento, largura, massa e número de sementes por fruto representam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey HSD.

Caracterização da maturação dos frutos

A análise de maturação é um indicativo de qualidade das frutas. Os principais parâmetros avaliados são pH, acidez titulável, e teor de sólidos solúveis. No entanto, os limites desses parâmetros que determinam a qualidade, variam de acordo com o tipo de fruta e com a finalidade de utilização. Os resultados do estudo de maturação dos frutos são apresentados na Tabela 2.

O pH é importante na qualidade de frutas porque assegura a estabilidade microbiana a longo prazo (SCHERER et al., 2008). É um fator intrínseco ao alimento, apresentando valores peculiares de acordo com o tipo de fruto (BRUNINI et al., 2004; CECCHI, 2003). A média de pH apresentada pelas amostras de jaboticaba no presente estudo foi de 3,41 (Tabela 2), semelhante a valores encontrados em outros estudos para a espécie *P. jaboticaba* (3,28 por ALEZANDRO et al., 2013; 3,5 por BRUNINI et al., 2004). De acordo com esse parâmetro, verificamos que os frutos de jaboticabas estudadas se encontraram dentro da faixa de pH encontrada para esse tipo de fruta.

Os valores de pH dos frutos de pitanga foram os mais elevados dentre as frutas estudadas (Tabela 2), e também superior ao limite (pH entre 2,5 a 3,4) aceito no país (BRASIL, 2000). Dentre as frutas estudadas, a pitanga é a única que possui padrões de identidade e qualidade da polpa regulamentados no país para consumo como bebida (BRASIL, 2000). Esses valores de pH verificados em nosso estudo também foram superiores aos valores encontrados por outros pesquisadores para frutas (BAGETTI et al., 2011) e polpa (FREITAS et al., 2014; CHAVES et al., 2013). Os frutos de seriguela estudados apresentaram médias de pH de 2,87, semelhante ao encontrado em seriguelas silvestres no México (pH: 2,7 por RAMÍREZ HERNÁNDEZ et al., 2008). Nossos resultados também corroboram com os encontrados em seriguelas no estado da Paraíba, Brasil que estavam iniciando a quebra da coloração verde (2,87: FREIRE et al., 2011). A amora apresentou média de pH de 3,09, o que corrobora com resultados encontrados por Tosun et al. (2008) e Hirsch et al. (2012). Esses valores de pH baixos, encontrados neste e em outros estudos são esperados em razão das características naturais de sabor ácido a doce-ácido da amora (HIRSCH et al., 2012). Os resultados de pH encontrados em amoras de Minas Gerais, Brasil e em regiões da Turquia foram um pouco elevados em relação

aos nossos: entre 3,23 e 3,59 em Minas Gerais (gênero *Rubus* spp.) e entre 3,43 e 5,60 na Turquia (gênero *Morus* spp.) (ERCISLI; ORHAN, 2008; HASSIMOTTO et al., 2008; ERCISLI; ORHAN, 2007; ANTUNES et al., 2003).

A acidez determina nos frutos o teor de ácidos orgânicos, produtos intermediários do metabolismo respiratório, que alteram significativamente o odor e sabor dos frutos, tornando-os perceptivelmente menos doces quando em altos teores (NAWIRSKA-OLSZANSKA et al., 2014; AZZOLINI et al., 2004; OLIVEIRA et al., 1999). Também é importante na análise de conservação do fruto, pois os processos de decomposição geralmente alteram a acidez. Durante o processo de maturação, os teores de acidez dos frutos tendem a diminuir (PALHARINI et al., 2015; ZIELINSK et al., 2015), mas em alguns casos, pode-se verificar um pequeno aumento com o avanço da maturação, como observado por FREIRE et al. (2011) em seriguelas. A acidez é um parâmetro peculiar de cada fruto, que pode se apresentar comumente baixo, como a banana, até alto, em frutos como o limão (CECCHI, 2003). Os frutos de jaboticaba estudados apresentaram média de AT de 1,40 %, semelhantes aos resultados de frutos completamente maduros (1,39 %) encontrados por Alezandro et al. (2013) e superiores ao valor máximo encontrado por Brunini et al. (2004) durante o armazenamento em condições ambientes (1,16%) para a espécie *P. jaboticaba*. Estudos explicam que no caso da jaboticaba não se verifica diminuição da acidez após a colheita, mas um aumento (ALEZANDRO et al., 2013; BRUNINI et al., 2004). As amostras de pitanga avaliadas apresentaram a menor AT (0,75 %) entre os frutos analisados, resultado que vai ao encontro do valor elevado de seu pH. Esse valor foi inferior aos limites estabelecidos pela legislação brasileira para polpa (mínimo de 0,92 %) e aos valores encontrados em outros estudos (BAGETTI et al., 2011; FREITAS et al., 2014; CHAVES et al., 2013). A seriguela apresentou média de AT de 0,8 % (Tabela 2), que está de acordo com o observado em seriguelas mexicanas (0,2 % a 2 %) por Maldonado-Astudillo et al. (2014), e um pouco menor que os valores encontrados em seriguelas brasileiras cultivadas em Pernambuco, Brasil (1,0 % a 1,1 %) por Sampaio et al. (2008). As seriguelas do presente estudo também apresentaram valores de acidez semelhante às seriguelas da Paraíba estudadas por Freire et al. (2011) que estavam iniciando a quebra da coloração verde, embora as do presente estudo estivessem maduras. Esses resultados indicam que estas seriguelas maduras cultivadas no Cerrado, apresentaram valores de acidez semelhante às seriguelas cultivadas na Paraíba que estavam no início da maturação. A amora

apresentou a maior AT dentre as frutas estudadas (Tabela 2), como esperado em razão das suas características naturais de sabor ácido (HIRSCH et al., 2012). Esses valores foram maiores que os verificados em outros estudos para os gêneros *Rubus* spp. e *Morus* spp. (PALHARINI et al., 2015; HIRSCH et al., 2012; HASSIMOTTO et al., 2008; ERCISLI; ORHAN, 2007; ANTUNES et al., 2003) e menor que estudos da fruta (*Rubus* L.) cultivada na Turquia, onde apresentaram médias de 5,78 % a 14,80% nas amostras avaliadas (TOSUN et al., 2008). Amostras de amoras do gênero *Rubus* spp. cultivadas no Paraná apresentaram valores de acidez semelhante à encontrada no presente estudo com o gênero *Morus* sp. (1,81 %), mas isso foi verificado nos frutos ainda não maduros (ZIELINSK et al., 2015). Esses resultados indicam que as amoras estudadas no Cerrado do gênero *Morus* sp. se apresentaram mais ácidas que amoras estudadas em outras regiões.

O teor de sólidos solúveis (TSS) indica o teor de açúcar da fruta e influencia diretamente na qualidade organoléptica e nutricional dos frutos (AZZOLINI et al., 2004). Quanto maior o teor de sólidos solúveis, maior é o teor de açúcar, mais doce é o sabor do fruto, e menor a necessidade de aditivos. No entanto, se esse teor for muito alto pode indicar início do processo de senescência (SAMPAIO et al., 2008). As amostras de jaboticaba apresentaram média do teor de sólidos solúveis de 18 °Brix, valor superior ao encontrado em outros estudos em frutos da espécie *P. jaboticaba* cultivados em São Paulo (5,6 a 12,4 °Brix: ALEZANDRO et al., 2013; 12,0 a 15,5 °Brix: BRUNINI et al., 2004). De acordo com esses resultados, as jaboticabas da espécie *P. cauliflora* estudadas no Cerrado são mais doces que as amostras de jaboticabas da espécie *P. jaboticaba* estudadas na Mata Atlântica. A pitanga apresentou a maior média de TSS (21 °Brix) dentre as frutas estudadas e também em relação a outros estudos com essa mesma fruta (BAGETTI et al., 2011). No entanto, esse valor está dentro do limite legal de qualidade da pitanga, que é o mínimo de 6 °Brix (BRASIL, 2000). As frutas de seriguela apresentaram valor de TSS de 14 °Brix, e estes resultados corroboram com Ramírez Hernández et al. (2008) que avaliaram seriguelas cultivadas no México. Segundo Sampaio et al. (2008), as seriguelas cultivadas no Brasil apresentaram no estado climatérico de amadurecimento, teor de sólidos solúveis entre 9,8 a 15 °Brix. O TSS das seriguelas estudadas está na faixa encontrada por Freire et al. (2011) em amostras de seriguelas predominantemente amarelas (8,27 %) e predominantemente vermelhas (21%). De acordo com esse parâmetro, as seriguelas estudadas estavam levemente doces. A amora apresentou

valor de TSS de 8,83 °Brix, como esperado para essa fruta, uma vez que, a amora tem naturalmente sabor pouco doce. Outros estudos também verificaram valores relativamente baixos de TSS para o gênero *Rubus* spp. (HIRSCH et al., 2012; HASSIMOTTO et al., 2008; TOSUN et al., 2008; ANTUNES et al., 2003). No entanto, Ercisli e Orhan (2007; 2008) encontraram valores elevados de TSS em amoras do mesmo gênero que a do presente estudo (*Morus* sp.) cultivadas na Turquia: médias variaram entre 14,3 °Brix a 20,4 °Brix.

O grau de maturação (GM) foi determinado por meio do cálculo da relação entre TSS e AT. Essas são variáveis que influenciam na qualidade organoléptica e nutricional de frutas. A relação entre esses parâmetros além de avaliar o “flavor” dos frutos, é mais representativa para indicar a maturação, uma vez que, oferece mais equilíbrio que os valores isolados de acidez e teor de sólidos solúveis (FREIRE et al., 2011; AZZOLINI et al., 2004; BRUNINI et al., 2004). Nesse sentido, o grau de maturação é inversamente proporcional à acidez, de forma que, quanto menor a acidez, maior é o grau de maturação. Isso é explicado pois, a perda de acidez é considerada como desejável em grande parte dos frutos e importante para o processo de amadurecimento, onde são provavelmente convertidos em açúcares (FREIRE et al., 2011).

As jaboticabas do presente estudo apresentaram média de grau de maturação de 13,34, superior ao encontrado por Alezandro et al. (2013) em frutos completamente maduros de *Plinia jaboticaba* (8,92). Essa diferença pode ser explicada pelos valores superiores de sólidos solúveis encontrados no presente estudo. Já em relação aos frutos de *Plinia jaboticaba* estudados por Brunini et al. (2004), o grau de maturação observado foi um pouco inferior (GM = 14,66). Verificamos que os frutos de jaboticaba do presente estudo estavam mais doces, embora tenham apresentado grau de maturação semelhante ao encontrado por Brunini et al. (2004). Vários fatores alteram os parâmetros de maturação, como o “terroir”, a luminosidade, umidade relativa do ar, temperatura, entre outros fatores (GRIS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2003). As diferenças de pH, acidez e sólidos solúveis das jaboticabas estudadas são provavelmente devido à essas diferenças.

O maior grau de maturação entre as frutas estudadas foi encontrado na pitanga, como já discutido em relação aos valores de pH e TSS mais elevados e menor acidez (FREITAS et al., 2014; CHAVES et al., 2013; BAGETTI et al., 2011; BRASIL, 2000). Esses valores elevados podem ser devido às características intrínsecas dessas frutas

nessa região e safra, ou podem ter sido verificados devido à uma coleta em um período tardio de maturação. No entanto, o uso da pitanga para outras finalidades que não de comercialização da polpa, tais como como extração e utilização de seus compostos secundários, pode ser considerado.

Os frutos de seriguelas avaliadas neste estudo apresentaram grau de maturação de 18,64. Esse valor encontra-se de acordo com os valores encontrados em seriguelas na Paraíba no início da pigmentação amarela (GM: 13,87) até o estágio em que as frutas estavam predominantemente amarelas (GM: 21,98). De acordo com o grau de maturação, as frutas estudadas estavam no estágio de maturação correspondente à pigmentação amarela da casca, o que foi confirmado com observações empíricas na cor dos frutos. Sampaio et al. (2008) encontraram grau de maturação entre 6,7 a 15,7 durante a respiração pós colheita de seriguelas em Pernambuco. Esses valores foram inferiores ao encontrado no presente trabalho e isso pode ser explicado em razão da diferença de “*terroir*” dos frutos estudados, entre outros fatores citados anteriormente. Nossos resultados indicam que frutas de seriguela cultivadas no Cerrado do entorno do Distrito Federal tem maior relação TSS/AT que as cultivadas na Caatinga do Pernambuco. Provavelmente as seriguelas do Cerrado tem sabor mais doce por causa do alto teor de sólidos solúveis e menor acidez.

Apesar de valores elevados de acidez em relação a outros estudos, a relação TSS/AT corroboram com os valores encontrados para amoras do gênero *Rubus* spp. no Rio Grande do Sul e em Minas Gerais (HIRSCH et al., 2012; HASSIMOTTO et al., 2008). Isso pode ser explicado pelos valores elevados de TSS dessas amostras. Já para amoras do mesmo gênero (*Morus* spp.) cultivadas na Turquia, a relação TSS/AT foi bem superior (variaram de 11,6 a 81,6) em relação as nossas (ERCISLI; OHRAN; 2007). Essa diferença provavelmente foi em razão na diferença de “*terroir*” e outros fatores já mencionados.

De acordo com teste Tukey HSD, os resultados de todos os parâmetros de maturação avaliados diferiram significativamente entre as diferentes frutas estudadas, salvo para a AT, onde a jabuticaba e amora foram estatisticamente semelhantes e pitanga e seriguela também ($p \leq 0,05$). Esses resultados são esperados, uma vez que são frutas diferentes e apresentam as peculiaridades inerentes de cada espécie.

Tabela 2: Valores de pH, Acidez titulável (AT), Teor de Sólidos Solúveis (TSS) e Grau de Maturação (GM) de jabuticaba, seriguela, pitanga e amora. Médias (Me) \pm desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) das análises realizadas com três repetições e em triplicata.

	Jabuticaba		Pitanga		Seriguela		Amora	
	Me \pm DP	CV	Me \pm DP	CV	Me \pm DP	CV	Me \pm DP	CV
pH	3,41 \pm 0,05 ^a	1,48	3,62 \pm 0,03 ^b	0,96	2,87 \pm 0,01 ^c	0,35	3,09 \pm 0,10 ^d	3,12
AT*	1,40 \pm 0,19 ^a	13,45	0,75 \pm 0,06 ^b	8,66	0,81 \pm 0,08 ^b	9,28	1,73 \pm 0,16 ^a	9,08
TSS	18,47 \pm 0,06 ^a	0,31	21,00 \pm 0,00 ^b	0,00	14,08 \pm 1,47 ^c	10,46	8,83 \pm 1,68 ^d	18,99
GM	13,34 \pm 1,97 ^a	14,75	28,14 \pm 2,53 ^b	8,98	18,64 \pm 1,21 ^c	6,51	5,20 \pm 1,35 ^d	26,03

*% ácido cítrico

Diferentes letras na mesma linha representam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey HSD.

A análise de correlação ($p \leq 0,05$) foi realizada entre os parâmetros biométricos e de maturação de cada fruta. Para as amostras de jabuticaba, verificou-se correlação positiva significativa entre o comprimento e TSS ($R = 1,0$). Esse resultado indica que jabuticabas maiores em comprimentos foram mais doces. Esses parâmetros estão relacionados à qualidade da fruta. No caso de jabuticabas, para melhorar a qualidade dessas, Nascimento et al. (2013) propuseram o desbaste de frutos de jabuticaba da espécie *P. jaboticaba*, pois observaram que frutos com maior qualidade, apresentavam tamanhos maiores. Para a pitanga, verificou-se correlação negativa significativa entre o pH e massa ($R = -1,0$). Assim, quanto maior o pH, menor a massa dessas frutas. Essa correlação pode indicar que no caso da pitanga, as frutas podem aumentar acidez após a colheita na medida em que também perdem a massa, como observado por Antunes et al. (2003) em frutos de amora. Para seriguela não foram encontradas correlações significativas. Já para amora, houve correlação positiva significativa entre L e GM ($R = 1,0$). Esse resultado indica que amoras mais maduras tendem a ser mais largas. Zielinsk et al. (2015) observaram que no processo de maturação da amora, o peso, tamanho, diâmetro e teor de açúcar aumentaram significativamente enquanto a acidez diminuiu.

2.4 CONCLUSÕES

A biometria e maturação de frutas exóticas cultivadas no Cerrado do Distrito Federal e entorno foram descritas. Em relação às características de biometria dos frutos, as jaboticabas apresentaram valores característicos da fruta, ligeiramente pequenas e leves, e frutos com 1 a 3 sementes. As pitangas apresentaram comprimento de 1,66 cm, largura de 1,87 cm, massa de 3,66 g, e uma semente por fruto sem variabilidade. As seriguelas e amoras apresentaram biometria característica da fruta, ligeiramente menores, e ligeiramente pequenas e leves, respectivamente.

No que se refere à caracterização da maturação dos frutos, as médias de pH para as frutas estudadas variaram de 2,87 a 3,62, de AT de 0,75 a 1,73 % de ácido cítrico, de TSS de 8,83 a 21,00 °Brix, e de GM de 5,20 a 18,64. Os valores encontrados para maturação foram característicos de cada fruta, sendo que, as jaboticabas e seriguelas estavam mais doces e as amoras mais ácidas que estudos em outras regiões. As pitangas apresentaram parâmetros de maturação elevados de acordo com os comumente encontrados para a fruta em outras regiões. De acordo com a finalidade de uso, os frutos de pitanga estudados podem ser considerados e utilizados.

De acordo com a correlação das características biométricas e de maturação de cada fruta, quanto maior o comprimento de jaboticaba maior o teor de sólidos solúveis, e quanto maior a largura da amora maior seu grau de maturação. Já para pitanga, quanto maior seu pH, menor será sua massa.

Os resultados do presente estudo fornecem a primeira descrição das características biométricas e de maturação dessas frutas exóticas cultivadas no Cerrado do Distrito Federal e entorno. Essa descrição propicia informações sobre a qualidade dessas frutas que podem promover seu uso para as mais diversas finalidades, seja para o consumo *in natura*, para produtos alimentícios processados, bem como para produção de medicamentos ou cosméticos. Faz-se necessário mais estudos que possam propiciar o aproveitamento dessas frutas nesse bioma pouco explorado, em favor do desenvolvimento e uso sustentável da região.

2.5 REFERÊNCIAS

Alezandro, M. R., Dubé, P., Desjardins, Y., Lajolo, F. M., Genovese, M. I. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria*

jaboticaba (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 468-477, 2013.

Andrade, L. A. D., Bruno, R. D. L. A., Oliveira, L. S. B. D., Silva, H. T. F. D. Aspectos biométricos de frutos e sementes, grau de umidade e superação de dormência de jatobá. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, p. 293-299, 2010.

Antunes, L. E. C., Duarte Filho, J., Souza, C. M. D. Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 413-419, 2003.

AOAC, A. O. A. C. **Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists** (W. Horwitz Ed. 18 ed.). Gaithersburg: William Horwitz. 2006

Azzolini, M. **Fisiologia pós-colheita de goiabas 'Pedro Sato' estádios de maturação e padrão respiratório**. 2003. 100f. Dissertação mestrado. Piracicaba, São Paulo.

Bagetti, M., Facco, E. M. P., Piccolo, J., Hirsch, G. E., Rodriguez-Amaya, D., Kobori, C. N., Emanuelli, T. Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.). **Food Science and Technology** (Campinas), v. 31, p. 147-154, 2011.

Brannstrom, C., Jepson, W., Filippi, A. M., Redo, D., Xu, Z., Ganesh, S. (Land change in the Brazilian Savanna (Cerrado), 1986–2002: Comparative analysis and implications for land-use policy. **Land Use Policy**, v. 25, n. 4, p. 579-595, 2008.

Brasil. Instrução Normativa nº 01, de 07 de janeiro de 2000. **Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, jan. 09 2000.

Brunini, M. A., Oliveira, A. L. D., Salandini, C. A. R., Bazzo, F. R. Influência de embalagens e temperatura no armazenamento de jaboticabas (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg) cv 'SABARÁ'. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 24, p. 378-383, 2004.

Carvalho, F. M. V. D., Ferreira, L. G. The Cerrado Into-Pieces: Habitat Fragmentation As A Function Of Landscape Use In The Savannas Of Central Brazil. **Biological Conservation**, v. 142, n. 7, p. 1392–1403, 2009.

Cavalini, F. C., Jacomino, A. P., Trevisan, M. J., Miguel, A. C. A. Ponto De Colheita e Qualidade de Goiabas Kumagai e Paluma. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, p. 64-72, 2015.

Cecchi, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. UNICAMP, 2003. 207p.

Chaves, M. A., Barreto, I. M. A., Reis, R. C., Kadam, D. M. Physicochemical and sensory properties of purple Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) foams. **International Journal of Food Science Technology**, v. 48, n. 8, p. 1688-1697, 2013.

Cunha-Silva, G. R., Rodrigues, C. M., & Miranda, S. D. C. D. Dados biométricos de frutos e sementes de *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa* (Hayne) Y. T. Lee & Langenh e H. martiana Hayne. **Biotemas**, v. 25, n. 3, 121-127, 2012.

Danner, M. A., Raseira, M. D. C. B., Sasso, S. A. Z., Citadin, I., & Scariot, S. Repetibilidade de caracteres de fruto em araçazeiro e pitangueira. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2086-2091, 2010

Ercisli, S., Orhan, E. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. **Food Chemistry**, v. 103, p. 1380-1384, 2007.

Ercisli, S., Orhan, E. Some physico-chemical characteristics of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes from Northeast Anatolia region of Turkey. **Scientia Horticulturae**, v.116, p. 41-46, 2008.

Forzza, R. C., Baumgratz, J. F. A., Bicudo, C. E. M., Canhos, D. A. L., Carvalho, A. A., Coelho, M. A. N., Zappi, D. C. New Brazilian Floristic List Highlights Conservation Challenges. **BioScience**, v. 62, n. 1, p. 39-45, 2012.

Franzon, R. C. 2009. **Fruteiras nativas do Cerrado têm potencial para exploração**. Available at: <http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/131/>. Accessed in: 24 maio 2016.

Freire, E. C. B. D. S., Silva, F. V. G. D., Santos, A. F. D., Medeiros, I. F. D. Avaliação da Qualidade de Ciriguela (*Spondias, Purpurea*, L.) em diferentes estádios de maturação. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável Grupo Verde de Agricultura Alternativa (GVAA)**, v. 6, n. 2, p. 27-40, 2011.

Freitas, M. L. F., Dutra, M. B. D. L., Bolini, H. M. A. Development of pitanga nectar with different sweeteners by sensory analysis: ideal pulp dilution, ideal sweetness, and sweetness equivalence. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 34, p. 174-180, 2014.

Gris, E. F., Burin, V. M., Brighenti, E., Vieira, H., Bordignon-Luiz, M. T. Phenology and ripening of *Vitis vinifera* L. grape varieties in São Joaquim, southern Brazil: a new South American wine growing region. **Ciencia e Investigación Agraria**, v. 37, p. 61-75, 2010.

Gris, E. F., Mattivi, F., Ferreira, E. A., Vrhovsek, U., Pedrosa, R. C., & Bordignon-Luiz, M. T. Proanthocyanidin profile and antioxidant capacity of Brazilian *Vitis vinifera* red wines. **Food Chemistry**, v. 126, n. 1, p. 213-220, 2011.

Hassimotto, N. M. A., Mota, R. V. D., Cordenunsi, B. R., & Lajolo, F. M. Physico-chemical characterization and bioactive compounds of blackberry fruits (*Rubus* sp.) grown in Brazil. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 28, p. 702-708, 2008.

Hirsch, G. E., Facco, E. M. P., Rodrigues, D. B., Vizzotto, M., Emanuelli, T. Caracterização físico-química de variedades de amora-preta da região sul do Brasil. **Ciência Rural**, v. 42, p. 942-947, 2012.

Jesus, N. D., Martins, A. B. G., Almeida, E. J. D., Leite, J. B. V., Ganga, R. M. D., Scaloppi Junior, E. J., Andrade, R. A., Moreira, R. F. C. Caracterização de quatro grupos de jaboticabeira, nas condições de Jaboticabal-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 26, 482-485, 2004.

Lira-Júnior, L. A. ***Oxelytrum discicolle* (Coleoptera: Silphidae) Em Mata de Galeria no Cerrado: Padrão de Atividade Diária e Atratividade por carcaças em diferentes estágios de decomposição.** 2016. 60p. Dissertação (mestrado), Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Maldonado-Astudillo, Y. I.; Alia-Tejacal, I.; Núñez-Colín, C. A.; Jiménez-Hernández, J.; López-Martínez, V.; Valle-Guadarrama, S.; Andrade-Rodríguez, M.; Bautista-Baños, S.; Pelayo-Zaldívar, C. Postharvest physiology and technology of *Spondias purpurea* L. and *S. mombin* L. **Scientia Horticulturae**, v. 174, p. 193-206, 2014.

Moraes, P. L. R. D., Alves, M. C. Biometria de frutos e diásporos de *Cryptocarya aschersoniana* Mez e *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae). **Biota Neotropica**, v. 2, p. 1-11, 2002.

Mota, E. D. H. **Diásporos e plântulas de espécies lenhosas de Mata de Galeria: biometria, morfologia e aspectos da germinação e do desenvolvimento inicial.** 2012. Dissertação (mestrado). Universidade de Brasília, Brasília, DF.

Moura, R. C. D., Lopes, P. S. N., Brandão Junior, D. D. S., Gomes, J. G., Pereira, M. B. Biometria de frutos e sementes de *Butia capitata* (Mart.) Beccari (Arecaceae), em vegetação natural no Norte de Minas Gerais, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 10, p. 415-419, 2010.

Nascimento, T. P. D., Bettiol Neto, J. E., Pereira, R. A., Castro, I. A. D., Chagas, E. A., Lajolo, F. M., Cordenunsi, B. R. Effect of thinning on flower and fruit and of edible coatings on postharvest quality of jaboticaba fruit stored at low temperature. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 33, p. 424-433, 2013.

Okamoto, F., Furlaneto, F. D. P. B., Martins, A. N. Amora Preta: Quem é Quem. **Pesquisa & Tecnologia - Informações Tecnológicas**, v. 10, n. 2, 2010.

Oliveira, A. L. D., Brunini, M. A., Salandini, C. A. R., & Bazzo, F. R. Caracterização tecnológica de jaboticabas 'Sabará' provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 397-400, 2003.

Oliveira, M. E. B. D., Bastos, M. D. S. R., Feitosa, T., Branco, M. A. D. A. C., Silva, M. D. G. G. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de acerola, cajá e caju. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 19, p. 326-332, 1999.

Palharini, M. C. D. A., Fischer, I. H., Vegian, M. R. D. C., Fileti, M. D. S., Montes, S. M. N. M. Efeito da temperatura de armazenamento na conservação pós-colheita de amora-preta. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, p. 413-419, 2015.

Ramírez Hernández, B. C., Barrios Eulogio, P., Castellanos Ramos, J. Z., Muñoz Urias, A., Palomino Hasbach, G., Pimienta Barrios, E. Sistemas de producción de *Spondias purpurea* (Anacardiaceae) en el centro-occidente de México. **Revista de Biología Tropical**, v. 56, p. 675-687, 2008.

Resende, M. D. L. F., Guimarães, L. D. L. **Inventários da Biodiversidade do Bioma Cerrado: Biogeografia de Plantas**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2007.

Ribeiro, J. F., Oliveira, M. C. D., Gulias, A. P. S. M., Fagg, J. M. F., Aquino, F. G. Usos múltiplos da biodiversidade no Bioma Cerrado: estratégia sustentável para a sociedade, os agronegócios e os recursos naturais. In F. G. Faleiro & A. L. d. F. Neto (Eds.), **Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócios e recursos naturais**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrado, 2008, p. 337-360.

Rodrigues, A. C. C. Biometria de frutos e sementes, germinação e crescimento do angico (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb.) Altschul) em diferentes condições de substrato e luminosidade. **Biota Neotropica**, v. 6, 2006.

SAMPAIO, S. A., BORA, P. S., HOLSCHUH, H. J. Postharvest respiration and maturation of some lesser-known exotic fruits from Brazil – ciriguela (*Spondias purpurea* L.). **Ceres**, v. 55, n. 2, p. 141-145, 2008.

Scherer, R., Rybka, A. C. P., Godoy, H. T. Determinação simultânea dos ácidos orgânicos tartárico, málico, ascórbico e cítrico em polpas de acerola, açaí e caju e avaliação da estabilidade em sucos de caju. **Química Nova**, v. 31, p. 1137-1140, 2008.

Silva, M. D. S., Borges, E. E. D. L. E., Leite, H. G., Corte, V. B. Biometria de frutos e sementes de *Melanoxylon brauna* Schott. (Fabaceae-Caesalpinioideae). **Cerne**, v. 19, p. 517-524, 2013.

Silva, P. A. D. D., Scariot, A. Phenology, biometric parameters and productivity of fruits of the palm *Butia capitata* (Mart.) Beccari in the Brazilian cerrado in the north of the state of Minas Gerais. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, p. 580-589, 2013.

Tosun, I., Ustun, N. S., Tekguler, B. Physical and chemical changes during ripening of blackberry fruits. **Scientia Agricola**, v. 65, p. 87-90, 2008.

Wantzen, K. M., Couto, E. G., Mund, E. E., Amorim, R. S. S., Siqueira, A., Tielborger, K., Seifan, M. Soil carbon stocks in stream-valley-ecosystems in the Brazilian Cerrado agroscape. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 151, p. 70-79, 2012.

Zielinski, A. A. F., Goltz, C., Yamato, M. A. C., Ávila, S., Hirooka, E. Y., Wosiacki, G., Nogueira, A., Demiate, I. M. Blackberry (*Rubus* spp.): influence of ripening and processing on levels of phenolic compounds and antioxidant activity of the 'Brazos' and 'Tupy' varieties grown in Brazil. **Ciência Rural**, v. 45, p. 744-749, 2015.

CAPÍTULO 3

**MANUSCRITO:
COMPOSIÇÃO FENÓLICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTAS
EXÓTICAS DO CERRADO**

A ser submetido a revista Plos One, qualis A1 na área interdisciplinar

RESUMO

O excesso de radicais livres no organismo humano pode resultar em diversos malefícios, incluindo processos patológicos. Em razão de sua composição química que apresenta compostos bioativos, entre eles os polifenóis, as frutas podem ser consideradas antioxidantes no combate a esses radicais livres. Sabendo que o Cerrado apresenta frutas com alto potencial antioxidante devido as suas condições estressantes, frutas exóticas cultivadas nesse bioma foram estudadas quanto a sua composição fenólica e atividade antioxidante. Jabuticaba (*Plinia cauliflora*), pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e seriguela (*Spondias purpurea* L) foram estudadas. As partes dessas frutas utilizadas foram a casca de jabuticaba e seriguela e a porção comestível de pitanga, e os solventes utilizados para a extração dos compostos bioativos foram metanol e etanol. Os teores de polifenóis totais (PT), polifenóis não polimerizados (PNP), polifenóis polimerizados (PP), orto-difenóis (OD), ésteres tartáricos (ET), flavonóis (FL) e antocianinas monoméricas totais (AMT) foram determinados. A capacidade de captura dos radicais DPPH e ABTS também foi avaliada, bem como a correlação entre a composição fenólica e atividade antioxidante. Foram encontrados altos teores de compostos fenólicos e de atividade antioxidante. Dentre as frutas estudadas, a jabuticaba foi a fruta com maior teor de compostos fenólicos e, de forma geral, o solvente mais eficiente para extração de polifenóis foi o metanol. Os valores dos compostos fenólicos avaliados apresentaram correlação positiva ($p < 0,05$) com a atividade antioxidante analisada através da captura dos radicais livres avaliados. Assim, verificamos que as frutas jabuticaba, pitanga e seriguela cultivadas no Cerrado apresentam alto teor de compostos fenólicos que foram correlacionados à sua alta atividade antioxidante. Os resultados do presente trabalho apresentam a primeira descrição de composição fenólica e atividade antioxidante dessas frutas cultivadas no Cerrado do Distrito Federal e entorno.

Palavras Chave: polifenóis, atividade antioxidante, jabuticaba, pitanga, seriguela, amora.

3.1 INTRODUÇÃO

O excesso de radicais livres no organismo humano gera processos oxidativos a uma vasta variedade de biomoléculas, podendo resultar em diversos malefícios e processos patológicos. Sabe-se que frutas apresentam em sua composição química

compostos bioativos com propriedades farmacológicas, dentre elas, a atividade antioxidante, que pode combater esses radicais no organismo humano e promover um equilíbrio do sistema [1, 2, 3, 4]. Esses compostos bioativos são provenientes do metabolismo secundário de plantas e possuem a função de proteger a planta contra estresse do campo, de luminosidade, falta de umidade, presença de patógenos, entre outros. Dentre esses compostos destacam-se os polifenóis, que apresentam uma grande variedade de estruturas químicas, mas tem em comum o anel aromático ligado à um ou mais grupos hidroxilas. Esses compostos, além de seus reconhecidos benefícios à saúde humana, também contribuem para as características organolépticas de frutas, como as antocianinas na cor, ácidos e flavonóis no “flavor” e adstringência [5-7]. Desta forma essas frutas com compostos bioativos podem ser utilizadas nas indústrias de alimentos, medicamentos e cosméticos, com benefícios à saúde e melhoramento de produtos [8-9].

Nas frutas, de maneira geral, os polifenóis estão presentes em maiores concentrações nas cascas e sementes, o que explica o maior potencial antioxidante que essas partes possuem em relação à polpa [8, 10]. Uma vez que a composição fenólica de frutos é originária do metabolismo secundário, essa composição é fortemente influenciada por vários fatores, intrínsecos e extrínsecos, tais como a variedade, espécie, o “*terroir*”, safra, pluviosidade, insolação, luminosidade, temperatura, entre outros. Sendo assim, uma mesma espécie de fruta pode variar sua composição fenólica bem como sua capacidade antioxidante de acordo com o local: o “*terroir*” [1, 10, 11, 12, 13].

O Cerrado é um bioma que abriga um “*terroir*” peculiar, é o segundo maior em extensão do Brasil [14]. Há hipótese de que a acidez do solo, a excessiva exposição à luz do sol e fogo frequentes na estação de seca, bem como agentes patógenos oportunistas, conferem uma seleção de espécies com maior resistência ao estresse oxidativo, por isso muitas frutas do Cerrado estão sendo descritas com alto potencial antioxidante [2]. Contudo, estudos que descrevam a composição fenólica e atividade antioxidante de frutas cultivadas no Cerrado não correspondem a sua complexidade e riqueza natural. Nesse sentido, este trabalho objetivou, pela primeira vez, até nosso conhecimento, descrever a composição fenólica, avaliar a atividade antioxidante bem como verificar a correlação entre esses dados, das frutas de jabuticaba, pitanga e seriguela cultivadas no Cerrado do Distrito Federal e entorno.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Reagentes Químicos

Os reagentes químicos utilizados foram: reagente Folin–Ciocalteu; 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH); 2,2-Azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato (ABTS); hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox); e os padrões de ácido gálico, ácido caféico, quercetina e catequina de grau CLAE foram obtidos da marca Sigma (St. Louis, MO, USA). O reagente vanilina foi obtido da Fluka Chemie AG (Buchs, Switzerland); carbonato de sódio obtido da Fmaia (Minas Gerais, Brazil), molibdato de sódio obtido da Merck Chemical Co. (Darmstadt, Germany). Todos os solventes utilizados foram de grau analítico e adquiridos pela Vetec Química Fina (São Paulo, Brazil) e Quimex (Lima, Peru).

Amostras dos Frutos

Frutos de jabuticaba (*Plinia cauliflora*), pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e seriguela (*Spondias purpúrea* L) foram coletados de plantas cultivadas no Cerrado do Distrito Federal e entorno. Os frutos da espécie *Plinia cauliflora* (sinônimo de *Myrciaria cauliflora*) foram coletados na Fazenda Água Limpa, Distrito Federal (15° 56' 54.956" S e 47° 56' 3.767" O) em diversas partes de seis árvores. Os frutos de pitanga e seriguela foram coletados no município de Luziânia, GO, com as seguintes coordenadas respectivamente: 16° 11' 50.507" S e 47° 52' 15.402" O e 16° 11' 48.887" S e 47° 52' 13.808" O. Os frutos de pitanga foram coletados de diversas partes de duas árvores e os de seriguela e amora de uma árvore. Após a coleta, o material foi devidamente lavado, armazenado sob refrigeração (máximo de 12 horas) até a elaboração dos extratos.

Todas as espécies foram devidamente identificadas pelo Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília (UnB) por meio da botânica Carolyn Elinore Barnes Proença e as testemunhas encontram-se no Herbário da UnB.

Elaboração dos Extratos

Os extratos foram elaborados segundo Lees e Francis [15] com modificações a partir das cascas dos frutos de jabuticaba e seriguela, e a partir da porção comestível de pitanga (polpa). Casca (100 g) ou a porção comestível das frutas (200 g) foram

adicionados em soluções extratoras (500 mL) de etanol e metanol e colocados para maceração durante uma semana sob refrigeração e ao abrigo da luz. Posteriormente foram filtrados e armazenados em frasco âmbar e sob refrigeração.

Determinação da composição fenólica

O teor de polifenóis totais (PT) foi realizado pelo método de Folin-Ciocalteu [16]. Alíquotas de 0,05 ml dos extratos foram adicionadas à 3,95 ml de água destilada e em seguida à 0,25 ml de reagente Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos, foi adicionado 0,75 ml de carbonato de sódio a 20%. A solução foi agitada em agitador de tubos (Logen Scientific, modelo LSM 56-III) e após 120 minutos sob o abrigo de luz, foram realizadas as leituras das amostras em espectrofotômetro (Hitachi, modelo U-3900H) a 760 nm. O teor dos polifenóis totais nos extratos foi calculado de acordo com uma curva padrão de ácido gálico e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de casca ou porção comestível fresca.

O teor de polifenóis não polimerizados (PNP) foi determinado segundo Paronetto [17] por meio do índice de vanilina. Alíquota de 1,0 ml do extrato foi colocada em um tubo e 0,5 ml de álcool etílico absoluto foi adicionado para completar o volume para 1,5 ml. Adicionou-se 1,0 ml do reativo de vanilina e agitou-se a solução em agitador de tubos. Após 20 minutos, foi feita leitura em espectrofotômetro a 500 nm. O teor dos polifenóis não polimerizados nos extratos foi calculado de acordo com uma curva padrão de catequina e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de catequina (CE) por 100 g de casca ou porção comestível fresca. O teor de polifenóis polimerizados (PP) foi obtido por meio da diferença entre o teor de polifenóis totais e o teor de polifenóis não polimerizados.

O teor dos orto-difenóis (OD) foi determinado segundo método de Paronetto [17] com a reação de Arnow. Uma alíquota 0,2 ml de extrato foi adicionada em 0,5 ml de água destilada, 0,5 ml de HCl 0,5 N e 0,5 ml do reativo de Arnow. A solução foi agitada e após 1 minuto foi adicionado 0,5 ml de NaOH 1 N. A solução foi agitada e após 15 minutos, o volume foi completado com água destilada para 5 ml. As amostras foram lidas em espectrofotômetro em 500 nm. O teor de orto-difenóis nos extratos foi calculado de acordo com uma curva padrão de catequina e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de catequina (CE) por 100 g de casca ou porção comestível fresca.

O teor de ésteres tartáricos e flavonóis foi obtido segundo Glories [18]. Alíquota de 0,15 ml de extrato foi adicionado a 0,25 ml de solução etanólica de HCl 0,1 % e em seguida completado o volume para 5 ml com solução aquosa de HCl 2 %. Após 15 minutos ao abrigo da luz, foi realizada leitura espectrofotométrica a 320 nm e 360 nm para o teor de éster tartárico e flavonóis respectivamente. O teor de ésteres tartáricos e flavonóis foi calculado de acordo com uma curva padrão e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido cafeico (CAE) por 100 g de casca ou porção comestível fresca para ésteres tartáricos e mg de equivalentes de quercetina (QE) para flavonóis.

As antocianinas monoméricas totais (AMT) foram determinadas por meio do método de pH diferencial de acordo com Giusti e Wrolstad [19]. Foram preparados tampão cloreto de potássio 0,025 M, com pH ajustado para 1,0, e tampão acetato de sódio 0,4 M, com pH ajustado para 4,5. O extrato foi diluído com o tampão cloreto de potássio (pH 1,0) e após 15 minutos ao abrigo da luz, foi realizada varredura no espectrofotômetro com objetivo de obter absorvância no comprimento de onda máximo entre 1,00 e 1,200. Foi feita leitura fixa no comprimento de onda de 700 nm. O mesmo procedimento foi realizado com o tampão acetato de sódio (pH 4,5). A absorvância final foi obtida por meio do cálculo: $(\text{Absorvância}_{\text{comprimento de onda máximo}} - \text{Absorvância}_{700\text{nm}})_{\text{pH}1,0} - (\text{Absorvância}_{\text{comprimento de onda máximo}} - \text{Absorvância}_{700\text{nm}})_{\text{pH}4,5}$. As antocianinas monoméricas totais foram obtidas por meio do cálculo: $\text{AMT (mg/L)} = (A_{\text{final}} \times \text{Peso molecular}_{\text{cianidina-3-glicosídeo (PM=449.2)}} \times \text{Fator de diluição} \times 1000) / (\text{absortividade molar}_{\text{cianidina-3-glicosídeo (26,900 mol L}^{-1}\text{)}} \times 1)$. Os resultados foram expressos em mg de AMT/ 100 g de casca ou porção comestível fresca.

Avaliação da atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante *in vitro* foi realizada através da avaliação da captura dos radicais livres DPPH [20] e ABTS [21]. Os resultados foram expressos como equivalentes de Trolox ($\mu\text{M TEAC}/100 \text{ g de casca ou porção comestível fresca}$) e calculados por meio de curva padrão.

A avaliação da captura do radical DPPH foi realizada como segue: alíquotas de 0,1 ml de extrato foram adicionadas a 2,9 ml de solução etanólica do radical DPPH 0,1 mM. Após 30 minutos ao abrigo de luz foi feita leitura em espectrofotômetro a 517 nm (A_f). Foi obtida a absorvância do radical sem o extrato (A_0). A quantidade de radical sequestrado foi obtida em percentagem por meio do cálculo: $(1 - A_f/A_0) \times 100$.

A avaliação da captura do radical ABTS: o radical ABTS foi obtido por meio da adição de 10,0 ml de uma solução aquosa de ABTS 7 mM em 10,0 ml de uma solução de persulfato potássico 2,45 mM. A solução foi armazenada em frasco âmbar e mantida por no mínimo 16 horas protegida da luz. Alíquota de 2,0 ml do radical foi adicionada em 100 ml de etanol de forma que foram realizadas medidas de absorvância a 754 nm com densidade óptica em torno de 0,700. Alíquotas de 0,06 ml de extrato foram adicionadas a 2,94 ml da solução do radical ABTS. Após 6 minutos ao abrigo de luz foi feita leitura em espectrofotômetro a 754nm (A_t). Foi obtida a absorvância do radical sem o extrato (A_0). A quantidade de radical sequestrado foi obtida em percentagem por meio do cálculo: $(1 - A_t/A_0) \times 100$.

Análise estatística

Todas as análises foram realizadas com duas repetições e em triplicata. ANOVA, Análise de Correlação e Teste Tukey HSD foram realizados no programa STATISTICA 10 admitindo nível de significância de 5%.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação da composição fenólica

A caracterização fenólica em alimentos tem sido estudada para determinar e explicar melhor a atividade antioxidante desses. Assim, o conhecimento de uma variedade grande desses compostos em cada fruta, bem como o teor desses compostos, é importante para determinar e explicar a atividade antioxidante de alimentos, destacando-se as frutas.

A seguir são apresentados os resultados da avaliação de compostos fenólicos não flavonoides e flavonoides de frutas cultivadas no Cerrado do Distrito Federal e entorno.

O teor de polifenóis totais (PT) é um parâmetro vastamente utilizado para determinar/caracterizar a composição fenólica total de frutas. Os resultados dos valores de polifenóis totais (PT), polifenóis não polimerizados (PNP) e polimerizados (PP) das frutas estudadas estão apresentados na Figura 1.

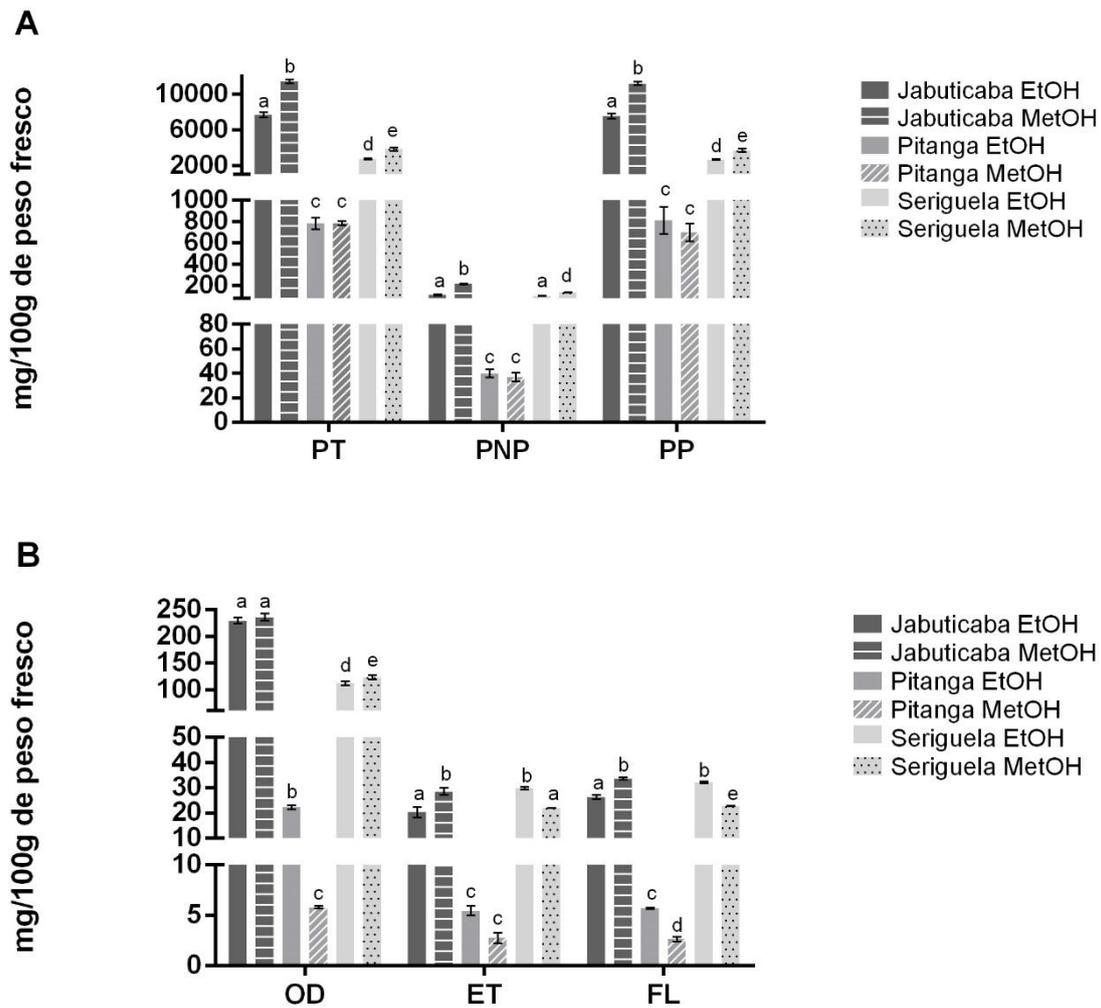


Figura 1. Composição fenólica de extratos de frutas exóticas cultivadas no Cerrado.

(A): Polifenóis totais (PT) expressos como mg GAE; Polifenóis não polimerizados (PNP) expressos como mg; Polifenóis polimerizados (PP) expressos em mg. (B): Orto-difenóis (OD) expressos como mg CE; Éster tartárico (ET) expressos como mg; Flavonóis (FL) expressos como mg de CE. (EtOH): Extrato etanólico; (MetOH): Extrato metanólico de casca de jaboticaba, porção comestível de pitanga e casca de seriguela. Diferentes letras para cada grupo de composto representam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey HSD.

Verificou-se que dentre as frutas estudadas, a jaboticaba apresentou o maior teor de polifenóis totais (~ 7.700 a 11.500 mg GAE/100 g de casca fresca), polifenóis não polimerizados (~ 120 a 220 mg CE/100 g de casca fresca) e polimerizados (~ 7.500 a 11.000 mg/100 g de casca fresca). Há na literatura vários registros de estudos que também verificaram altos teores de compostos fenólicos para essa fruta, tanto para a espécie *Plinia jaboticaba*, cultivadas na região Sudeste, em São Paulo e Minas

Geraiis [22-26], quanto para a espécie *Plinia cauliflora* cultivada em regiões do Brasil, Estados Unidos e República da China [27, 28, 29].

Vale destacar que jaboticabeiras (*Plinia* spp.) são espécies nativas da região Centro/Sudeste/Sul do Brasil e compreendem cerca de nove espécies, dentre elas as mais comuns são: *Plinia trunciflora* (Berg) Mattos, *Plinia cauliflora* (DC.) Berg e *Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg [30]. A morfologia entre essas espécies é bem próxima e por isso, faz-se necessário realizar a identificação botânica dos frutos. O presente estudo foi realizado com a espécie *Plinia cauliflora*, devidamente identificada, com testemunha presente no Herbário da Universidade de Brasília, conforme já citado.

Os teores de PT encontrados em jaboticabas pelo presente estudo foram superiores aos encontrados para o fruto inteiro da espécie *P. cauliflora* cultivadas no Ceará e na Flórida, EUA [28, 31]. Sabe-se que a casca de jaboticaba é mais rica em polifenóis em relação ao fruto inteiro [10], então esses resultados são esperados já que utilizamos somente a casca do fruto. Nossos resultados também foram superiores aos encontrados em cascas de jaboticabas cultivadas em São Paulo [29]. Alezandro et al. [10] compararam as duas espécies de jaboticabas cultivadas em São Paulo, *P. cauliflora* e *P. jaboticaba*, e verificaram que a espécie *P. jaboticaba* é mais rica em polifenóis. No entanto, nossos resultados para cascas de *P. cauliflora* cultivadas no Cerrado foram superiores aos encontrados em cascas de *P. jaboticaba* cultivadas na região Sudeste [22, 23]. Esses resultados sugerem que jaboticabas cultivadas no Cerrado são mais ricas em polifenóis totais que as cultivadas na Mata Atlântica. Isso pode ser explicado porque o bioma Cerrado expõe a planta a um maior estresse e em resposta, o fruto desenvolve proteção, aumentando por exemplo, o teor de metabólitos secundários como os polifenóis [2].

Já Leite-Legatti et al. [26] encontraram valores de PT superiores, quando comparados aos nossos, para a casca liofilizada (556,3 g GAE kg⁻¹) de jaboticabas da espécie *P. jaboticaba* compradas em um mercado em São Paulo. Outro estudo, que adquiriu jaboticabas da mesma espécie, no mesmo mercado, apresentou valores inferiores de PT: 4.861 mg GAE / 100 g de casca liofilizada [23]. Como os resultados desses estudos foram expressos por peso seco, é esperado que os valores sejam superiores aos expressos em peso fresco. Rufino et al. [28] encontraram resultados de PT oito vezes maior quando eram expressos em peso seco em relação aos resultados de PT baseados no peso fresco de *P. cauliflora*.

Entre as frutas estudadas, a pitanga apresentou os menores valores de PT, bem como dos outros compostos fenólicos estudados (Figura 1). Esses valores podem ser explicados por ter sido utilizada a porção comestível da fruta e não somente a casca isolada, como foi realizado para a seriguela e a jabuticaba, pois, como citado anteriormente, as cascas de frutas possuem maior quantidade de polifenóis [8, 10]. No entanto, a separação da casca de pitanga foi inviável por ser muito fina, sendo a porção comestível a parte viável a ser utilizada para estudos e indústria [1, 32, 33]. Embora tenhamos observado os menores valores para pitanga, dentre as frutas estudadas, esses valores são significativos e muito interessantes. Verificamos que os valores de PT encontrados em nosso estudo variaram de ~ 780 a 790 mg GAE / 100 g, de PNP variaram de ~ 37 a 40 mg CE / 100 g e PP variaram de ~ 700 a 810 mg / 100 g de porção comestível fresca (Figura 1). Os teores de PT foram superiores aos resultados encontrados em um estudo com pitangas cultivadas no Rio Grande do Sul (~ 200 a 450 mg GAE / 100 g da porção comestível de pitangas das variedades laranja e vermelha, respectivamente) [32]. Outro estudo mais recente, na mesma região, encontrou teores de PT ~ 450 mg GAE / 100 g de porção comestível de pitangas das variedades laranja e vermelha (Dernadin et al., 2015). Nossos resultados foram superiores aos resultados citados no Rio Grande do Sul, isso sugere que pitangas cultivadas no Cerrado apresentam maior composição fenólica em relação a pitangas cultivadas na região do Pampa Gaúcho.

Os teores de PT encontrados nos extratos elaborados com as cascas de seriguela do presente estudo variaram de ~ 2.800 a 3.900 mg GAE / 100 g, o teor de PNP variaram de ~ 100 a 130 mg CE / 100 g e PP variaram de ~ 2.700 a 3.700 mg / 100 g de casca fresca (Figura 1). Estudo recente com cascas de seriguela (*Spondias purpúrea* L.) cultivada na Bahia encontrou valores de PT de ~ 2.900 mg GAE / 100 g de extrato seco da casca [8]. Esses resultados indicam que as nossas amostras de seriguelas cultivadas no Cerrado apresentaram maior quantidade de polifenóis totais que as seriguelas do estudo cultivadas na Caatinga. Outro estudo com a polpa de seriguela cultivada no Brasil encontrou valores de PT inferiores ao presente estudo [34], o que confirma o fato de que as cascas de seriguela apresentam maior teor de compostos fenólicos em relação às outras partes da fruta. No entanto, estudo com cascas de seriguelas cultivadas no estado do Alagoas, Brasil, encontrou valores superiores ao presente estudo: ~ 11.220 mg GAE / 100 g de extrato seco de casca [35]. Além da diferença de “*terroir*”, que influencia fortemente da composição fenólica,

esse valor encontrado por Omena et al. [35] pode ser explicado porque os resultados foram expressos em peso seco. Reis et al. [36] também encontraram valores superiores de PT para o bagaço (casca, semente e fibra) de seriguelas cultivadas na Bahia, em que eles utilizaram um diferente método de extração (extração assistida por micro-ondas focalizada), o qual afirmam que é mais eficiente que a maceração.

Os orto-difenois são fenóis hidroxilados e o seu teor em frutas é importante para indicar a atividade antioxidante [37]. Os resultados do teor de orto-difenois (OD) das frutas estudadas estão apresentados na Figura 1. Observamos que os extratos de jabuticaba e de seriguela apresentaram os maiores teores de orto-difenois dentre as frutas estudadas. Os teores de OD do presente estudo variaram de ~ 6,0 mg CE / 100 g de porção comestível para o extrato metanólico de pitanga a ~ 250,0 mg CE / 100 g de casca para o extrato metanólico de jabuticaba.

Os ácidos fenólicos são importantes no estudo de frutas para caracterizar o flavor, e como são compostos fenólicos, contribuem para a atividade antioxidante desses alimentos [11, 38]. Dentro desse grupo, encontram-se os derivados do ácido benzoico, derivados do ácido cinâmico e ésteres e heterosídeos de ácidos fenólicos. Em algumas frutas, os ácidos hidroxicinâmicos são os principais ácidos fenólicos e se encontram sob a forma de ésteres tartáricos [12]. O teor de éster tartárico pode estimar o teor de éster de ácidos fenólicos presentes na amostra. Os resultados dos teores de ésteres tartáricos (ET) das frutas estudadas estão apresentados na Figura 1. Os extratos de cascas de jabuticaba e de seriguela apresentaram os maiores valores. Para os extratos elaborados com as cascas de jabuticaba os teores de ET variaram entre ~ 20,0 e ~ 30,0 mg CAE / 100 g. Em análises qualitativas pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), Reynerson et al. (2008) encontraram a presença de ácidos cinâmicos para a espécie *P. cauliflora* cultivada na Flórida, EUA, mas esses compostos não foram quantificados. Já Abe et al. [25] por meio do método de CLAE não encontraram ácidos hidroxicinâmicos para a espécie *P. jaboticaba* cultivada em São Paulo, Brasil.

Os teores de ésteres tartáricos verificados nos extratos elaborados com cascas de seriguelas variaram entre ~ 22,0 e 30,0 mg CAE / 100 g. Estudo qualitativo por meio do método de cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectroscopia de massa (UPLC-MS) com seriguelas cultivadas no estado de Alagoas, Brasil, encontraram um éster formado entre cafeico e ácido quínico, o ácido 3-cafeoilquínico, e foi um dos principais compostos polifenólicos encontrados que apresentou atividade

antioxidante [35]. Em cascas de seriguelas cultivadas na Costa Rica também foi identificado por meio de UHPLC–DAD–ESI-MS esse mesmo ácido, além dos ácidos elágico e dihidroxibenzoico [39].

Para os extratos elaborados com a porção comestível de pitanga, os teores de ET variaram entre ~ 3,0 e 6, 0 mg CAE / 100 g. Em um estudo com pitangas compradas em um mercado em São Paulo, foram identificados por meio do método de CLAE, ácidos hidroxicinâmicos, e esses foram quantificados em 1,31 mg de ácido clorogênico / 100 g de peso fresco de polpa [25]. Estudo qualitativo de polifenóis por meio do método de cromatografia de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos (CLAE-DAD) com essa fruta, identificaram derivados de ácido benzoico, derivados de ácido hidroxicinâmico e derivados de ácido elágico em pitangas cultivadas no Rio Grande do Sul [1].

Os flavonoides são o maior grupo de polifenóis e são amplamente estudados. A estrutura química em comum é a cadeia carbônica (C6-C3-C6), que forma uma estrutura base com dois anéis aromáticos ligados por um anel pirano. Os subgrupos de flavonoides são separados segundo o grau de oxidação do anel pirano. Dentre eles, destacam-se os flavonóis e as antocianinas. Os flavonóis participam de processos de co-pigmentação com as antocianinas e podem ter uma função importante na evolução da cor [12]. A quercetina é um dos principais flavonóis estudados e geralmente é o que se encontra em maiores teores em frutas. Os resultados dos teores de flavonóis (FL) das frutas estudadas estão apresentados na Figura 1. Novamente, a jabuticaba e seriguela apresentaram os maiores teores. Para os extratos elaborados com as cascas de jabuticaba, os teores variaram de ~ 30 a 35 mg CE / 100 g. Aezandro et al. [10] verificaram por CLAE que a casca de jabuticaba da espécie *P. cauliflora* cultivada em São Paulo, Brasil, é mais rica em flavonoides, como derivados de quercetina (expressos em ~ 6 mg de aglicona / 100 g de peso fresco), que a espécie *P. jaboticaba* cultivada na mesma região.

Os extratos elaborados com a porção comestível de pitanga apresentaram teores de flavonóis entre ~ 3,0 e 6,0 mg CE / 100 g. Celli, Pereira-Netto e Beta [33] em análises de compostos fenólicos por meio de HPLC-MS/MS identificaram e quantificaram flavonóis, principalmente derivados de quercetina, que variaram de ~ 55 a 200 µg equivalentes de aglicona / g de fruto seco, e miricetina, que variaram de ~ 30 a 400 µg equivalentes de aglicona / g de fruto seco de pitangas cultivadas no Paraná, Brasil. Outro estudo que utilizou o método CLAE-DAD também identificou a

presença de derivados de quercetina e campferol em pitangas cultivadas no Rio Grande do Sul, Brasil [1]. Assim, provavelmente a quantificação de flavonóis no presente estudo trata-se principalmente de derivados de quercetina, tal qual são expressos os resultados.

Para os extratos elaborados com cascas de seriguela houveram variações entre ~ 23,0 e 33,0 mg CE / 100 g de casca fresca. Estudos qualitativos por meio de LC-MS identificaram a presença de flavonóis, como derivados de quercetina e rutina, em cascas de seriguelas cultivadas em Costa Rica e no estado da Bahia e Alagoas, Brasil [8, 35, 39]. Omena et al. [35] afirmaram que a quercetina predominou no extrato de polpa de seriguelas cultivadas em Alagoas e quantificaram ~ 3,8 ug / g de extrato de casca. Esses resultados sugerem que cascas de seriguela possuem alta quantidade de flavonóis, entre eles os derivados de quercetina.

As antocianinas são uma classe de compostos flavonoides importante, pois apresentam propriedades antioxidantes amplamente reconhecidas. São formadas por um anel heterocíclico oxigenado conhecido como cátion *flavílium*, ligado à uma ou mais moléculas de carboidratos. No entanto, também podem ser encontradas na forma de ésteres de ácido como p-cumárico e cafeico. Estão presentes de forma mais evidente em frutos de cor escura, e seu estudo qualitativo e quantitativo nas cascas oferece informações sobre coloração das frutas como também sua atividade antioxidante [1, 12, 25]. Na Tabela 1, encontram-se os resultados de AMT para as frutas do presente estudo. Como esperado, o extrato que apresentou os maiores teores de AMT foram os de cascas de jaboticaba, conforme observado em outros estudos com a casca da fruta [10, 29, 40]. Os extratos de cascas de jaboticaba apresentaram valores que variaram de ~ 330 a 450 mg de AMT / 100 g de cascas frescas (Tabela 1). A jaboticaba é considerada uma importante fonte de antocianinas, sendo relatado em outros estudos variações de 7 a 314 mg em 100 g da espécie *P. cauliflora* em diferentes métodos de extração [28, 40, 41]. Para a espécie *P. jaboticaba*, também se verificou altos teores de antocianinas: entre ~ 55 mg (por meio do método de CLAE com resultados expressos em peso fresco) a ~ 730 mg (por meio do método de pH diferencial com resultados expressos em peso de extrato liofilizado) de antocianinas em 100 g de extrato de cascas de jaboticaba [23, 25, 26]. Santos, Veggi e Meireles [29] encontraram teores de antocianinas em cascas de *P. cauliflora* compradas em mercados em São Paulo, em torno de ~ 6 mg / g de casca seca, obtidas sob diferentes métodos de extração. Esses resultados são superiores ao presente

estudo, no entanto, a expressão em peso de extrato liofilizado e os diferentes métodos de extração podem explicar a diversidade de valores. Dessa forma, apesar de valores inferiores a outros estudos, jabuticabas da espécie *P. cauliflora* cultivadas no Cerrado também podem ser ricas fontes de antocianinas.

Tabela 1. Antocianinas monoméricas totais (AMT) em mg/100 g de peso fresco para extratos de frutas exóticas cultivadas no Cerrado.

Extrato	Jabuticaba*	Pitanga**	Seriguela*
EtOH	333,14±7,82 ^a	ND	ND
MetOH	455,74±23,75 ^b	0,45±0,08 ^c	14,28±0,82 ^c

Média ± desvio padrão (n=3). ND: não detectado.

*parte utilizada da fruta: casca.

**parte utilizada da fruta: polpa comestível. Diferentes letras representam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey HSD.

O extrato metanólico elaborado com a porção comestível de pitanga apresentou o menor teor de AMT, ~ 0,45 mg / 100 g de porção comestível fresca. O extrato etanólico não extraiu antocianinas, provavelmente em razão do baixo teor de antocianinas na amostra. Esse valor foi inferior aos encontrados em variedades de pitangas cultivadas no Rio Grande do Sul, Brasil, onde o teor de antocianinas variou entre 25 a 136 mg / 100 g da polpa fresca em outro método [32]. A diferença de “*terroir*”, além de outros fatores do campo e o tipo de extração, podem explicar a diferença do teor de antocianinas do presente estudo. Estudos qualitativos identificaram a antocianina cianidina 3-O-glicosídeo em pitangas cultivadas no estado do Paraná, Brasil e na Florida, EUA [33, 42].

O extrato metanólico elaborado com cascas de seriguela apresentou ~ 15 mg de AMT / 100 g de cascas frescas. O extrato etanólico não extraiu antocianinas. Estudo qualitativo com seriguelas cultivadas no estado de Alagoas, Brasil, com base em reações químicas e alterações colorimétricas, verificou a presença de antocianinas nas cascas dessa fruta, e não encontrou esses flavonoides nas sementes e polpa [35]. Gregoris et al. [43] por meio do método de pH diferencial, não encontraram antocianinas em frutas brasileiras, dentre elas, porções comestíveis de seriguela. Em análise quantitativa por meio do método de pH diferencial em polpas de frutas exóticas brasileiras do Nordeste do Brasil, foi encontrado o menor teor para seriguela, ~ 1 mg

/ 100 g de polpa fresca [34]. Esses resultados confirmam que esse tipo de composto fenólico pode ser encontrado em cascas dessa fruta, mas em pequenas concentrações. O presente estudo apresenta a primeira descrição quantitativa de antocianinas em cascas de seriguela de frutos cultivados no Cerrado do DF e entorno.

Em relação aos dois solventes extratores utilizados nesse estudo, verificamos que as melhores extrações dos compostos fenólicos analisados em casca de jabuticabas foram apresentadas pelo solvente metanol ($p > 0,05$). Leite-Legatti et al. [26] afirmaram que de acordo com o solvente utilizado para extrair polifenóis, em especial antocianinas, há diferenças significativas da quantidade detectada. Eles verificaram que o solvente metanol foi mais eficaz na extração de antocianinas de cascas de jabuticabas por meio do método de Wrolstad (1976). Esses resultados corroboram com os encontrados no presente estudo, onde o metanol foi mais eficiente em extrair polifenóis, inclusive antocianinas, em relação ao etanol ($p > 0,05$). Isso pode ser explicado porque o metanol apresenta maior polaridade em relação ao etanol, que facilita interação com os polifenóis. Além dos nossos resultados que avaliaram a diferença com o etanol, esse solvente tem sido utilizado em outros estudos de polifenóis com a casca dessa fruta [10, 22, 23, 25, 26].

Dentre as soluções utilizadas para extração de polifenóis na porção comestível de pitanga não verificamos diferenças significativas ($p \leq 0,05$) na maioria dos compostos, portanto, de forma geral, os dois solventes apresentaram a mesma eficiência em extrair os polifenóis analisados. Salvo, para flavonol, onde o extrato de pitanga com solução etanólica apresentou maior teor desses compostos em relação ao extrato com metanol ($p > 0,05$). Para seriguela, de forma geral, a solução metanólica foi mais eficiente para extrair os compostos fenólicos analisados. Contudo, para extrair ésteres tartáricos e flavonois, o melhor solvente para cascas de seriguela foi o etanol ($p > 0,05$).

Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante de frutas e sua relação direta com compostos fenólicos é amplamente estudada. Altos teores de compostos fenólicos em frutas do Cerrado estão diretamente relacionados à alta atividade antioxidante dessas frutas [2, 40]. Segundo Siqueira et al. [2], o estresse que o bioma Cerrado proporciona às frutas, incentiva-as no desenvolvimento de mecanismos protetores à oxidação e consequentemente aumentam sua atividade antioxidante. Essa atividade antioxidante

de frutas pode oferecer proteção ao estresse oxidativo do corpo humano ou ao estresse oxidativo de produtos durante a vida de prateleira. Dessa forma, essas frutas podem ser aplicadas no desenvolvimento de novos produtos na indústria de medicamentos, cosméticos e alimentos, além do incentivo do consumo *in natura*, que estimula o uso sustentável do bioma. A atividade antioxidante das frutas exóticas jabuticaba, pitanga e seriguela cultivadas no Cerrado foi avaliada no presente estudo utilizando duas metodologias, e os resultados estão apresentados na Figura 2.

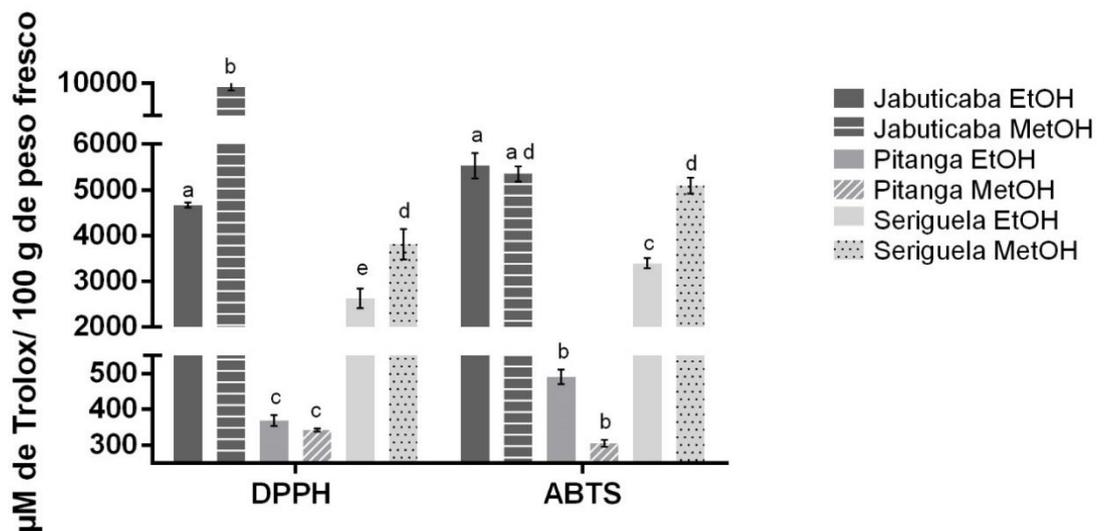


Figura 2. Atividade antioxidante sobre DPPH e ABTS de extratos de frutas exóticas cultivadas no Cerrado.

Resultados expressos como TEAC (equivalente em μmol de Trolox / 100 g de casca ou polpa comestível). Diferentes letras para cada radical representam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey HSD.

Os resultados da atividade antioxidante dos extratos estudados sobre o radical DPPH (μmol TEAC / 100 g) estão apresentados na Figura 2. De acordo com os resultados, verificou-se que a fruta que apresentou maior atividade antioxidante sobre o radical DPPH foi a jabuticaba e os resultados variaram de ~ 4.700 a $9.600 \mu\text{mol}$ TEAC / 100 g de casca fresca, sendo que o extrato metanólico apresentou a maior atividade, com diferenças significativas ($p > 0,05$). A jabuticaba é uma fruta brasileira, típica da Mata Atlântica e é considerada um “super fruto” com alta capacidade antioxidante [40]. Outros autores também verificaram a capacidade de captura do radical DPPH de extratos de jaboticabas da espécie *P. cauliflora* cultivadas no Nordeste do Brasil, EUA e República da China, e encontraram alta atividade para a

fruta inteira e para a casca, todos expressos em IC₅₀ (Concentração requerida para reduzir a quantidade original de radicais livres por 50%), o que dificulta a comparação com os nossos resultados, mas confirma a capacidade de captura desse radical por diferentes partes dessa fruta [27, 28, 31, 44]. Alezandro et al. [10] encontraram maior atividade antioxidante sobre o DPPH das cascas de jabuticabas da espécie *P. cauliflora* adquiridas em um mercado de São Paulo (~ 35.000 µmol TEAC / 100 g de matéria seca), em relação a atividade antioxidante das cascas de jabuticaba do presente estudo. Esses resultados podem ser explicados pela expressão em peso seco. Rufino et al. [28] avaliaram a atividade antioxidante sobre DPPH de frutas do Brasil e verificaram resultados significativamente diferentes para matéria fresca e matéria seca. Em matéria fresca, a jabuticaba apresentou IC₅₀ cerca de 10 vezes maior que IC₅₀ de matéria fresca [28]. Esses resultados confirmam que existem diferença significativa de resultados de matéria fresca e seca, em razão da quantidade de água que a fruta apresenta, aumentando seu peso fresco [29].

Dentre as frutas estudadas, a pitanga foi a fruta que apresentou menor atividade antioxidante sobre o DPPH e os resultados variaram de ~ 340 a 370 µmol TEAC / 100 g de porção comestível, sem diferenças significativas entre os extratos de acordo com o teste Tukey HSD ($p \leq 0,05$). Bagetti et al. [32] encontraram atividade antioxidante sobre DPPH que variaram entre 1.400 a 3.100 µmol TEAC / 100 g de polpa de pitangas cultivadas no Rio Grande do Sul.

A seriguela apresentou resultados que variaram entre ~ 2.600 e 3.800 µmol TEAC / 100 g de casca fresca, sendo que o extrato metanólico apresentou a maior atividade ($p > 0,05$). Outros estudos apresentaram alta atividade antioxidante para essa fruta em outros lugares do Brasil [35, 43]. O presente estudo apresentou atividade antioxidante superior à encontrada em seriguelas cultivadas no Ceará (~ 150 µmol TEAC / 100 g de matéria fresca), contudo, essa baixa atividade pode ser explicada porque eles avaliaram a polpa da fruta [34]. De acordo com esses resultados, a casca de seriguela possui maior atividade antioxidante sobre DPPH em relação à polpa.

Os resultados da atividade antioxidante dos extratos estudados sobre o radical ABTS (µmol TEAC / 100 g) estão apresentados na Figura 2. A jabuticaba também foi a fruta que apresentou maior atividade antioxidante sobre ABTS, com resultados que variaram de ~ 5.300 a 5.500 µmol TEAC / 100 g de casca, e não verificamos diferença significativa entre os extratos ($p \leq 0,05$). Esses resultados foram superiores ao

encontrado por Rufino et al. [28] no Nordeste do Brasil (~ 3.700 $\mu\text{mol TEAC} / 100 \text{ g}$ de peso fresco). Contudo, esses pesquisadores utilizaram o fruto inteiro. Resultados superiores ao presente estudo foram descritos por Wu et al. [44] com jaboticabas cultivadas na Flórida, EUA, mas os resultados também foram expressados em peso de matéria liofilizada, o que potencializa os valores de TEAC.

A pitanga, dentre as frutas estudadas, apresentou menor atividade antioxidante sobre ABTS. Os valores de TEAC variaram de ~ 305 a 490 $\mu\text{mol TEAC} / 100 \text{ g}$ de porção comestível. Também não verificamos diferenças significativas entre os extratos ($p \leq 0,05$). Esses resultados corroboram com os encontrados na atividade antioxidante sobre DPPH.

A seriguela apresentou atividade sobre o radical ABTS e os resultados variaram de ~ 3.400 a 5.100 $\mu\text{mol TEAC} / 100 \text{ g}$ de casca. Assim como sobre o DPPH, o extrato metanólico apresentou maior atividade ($p > 0,05$). Também como discutido com a atividade antioxidante de seriguela sobre o DPPH, outros estudos apresentaram alta atividade antioxidante sobre ABTS para essa fruta em outros lugares do Brasil [34, 35]. Resultados inferiores ao presente estudo foram encontrados para polpa de seriguelas cultivadas no Ceará [34] e resultados superiores foram encontrados para resultados expressos em peso seco de casca de seriguelas cultivadas em Alagoas [35]. Isso indica que seriguelas avaliadas nesse estudo, cultivadas no Cerrado, apresentaram maiores valores de capacidade antioxidante contra esses radicais que as cultivadas na Caatinga.

Análise de Correlação foi realizada para verificar se os valores dos compostos fenólicos avaliados possuíam influencia na atividade antioxidante verificada no estudo. De forma geral, verificamos correlação positiva entre os resultados de atividade antioxidante e os resultados de composição fenólica para todas as frutas ($p < 0,05$).

Foi encontrada alta correlação positiva entre os valores de atividade antioxidante sobre DPPH e os teores de polifenóis totais ($R=0,917$), polifenóis polimerizados ($R=0,905$), antocianinas monoméricas totais ($0,901$), bem como orto-difenóis ($R=0,844$), éster tartárico ($R=0,659$) e flavonol ($0,679$). Também foi encontrada correlação positiva entre os valores de atividade antioxidante sobre ABTS e os teores de compostos fenólicos: polifenóis totais ($R=0,770$), polifenóis polimerizados ($R=0,822$), orto-difenóis ($R=0,889$), éster tartárico ($R=0,650$), flavonol ($0,703$) e antocianinas monoméricas totais ($0,766$).

Nossos resultados corroboram com os resultados descritos na literatura para as frutas estudadas. Sobre a jabuticaba, os valores elevados de polifenóis e atividade antioxidante são explicados pela capacidade antioxidante já reconhecida dessa fruta, além da maior capacidade antioxidante da parte que foi utilizada, a casca [28, 31]. Estudos com a casca revelam que essa parte da fruta apresenta alto teor de antocianinas, que está ligada à sua atividade antioxidante e à sua coloração púrpura [10, 27, 29]. Estudos com pitangas cultivadas na região Sul encontraram alta correlação significativa entre os compostos fenólicos e atividade antioxidante sobre DPPH [1, 32, 33]. Em relação a seriguela, há poucos estudos que buscam explicar que tipo de composto se atribui a atividade antioxidante de seriguela, contudo eles são unânimes em descartar as antocianinas como compostos polifenólicos que contribuem para essa atividade, devido à baixa concentração desses compostos nessa fruta [34, 43]. Gregoris et al. [43] ao pesquisarem sobre a relação entre a atividade antioxidante de frutas tropicais brasileiras e o teor de ácido ascórbico dessas, entre elas a seriguela, não encontraram uma relação evidente e afirmaram que a alta atividade antioxidante apresentada por essa fruta é atribuída a compostos diferentes do ácido ascórbico, como os polifenóis, destacando os flavonoides, exceto antocianinas. Almeida et al. [34] encontraram alta correlação significativa positiva entre a atividade antioxidante sobre DPPH e ABTS e o teor de PT de seriguelas cultivadas no Ceará, Brasil. Esses autores sugeriram que a atividade antioxidante dessa fruta pode ser atribuída a compostos fenólicos, com exceção das antocianinas, como ácidos fenólicos [34]

3.4 CONCLUSÕES

As frutas exóticas jabuticaba, pitanga e seriguela cultivadas no Cerrado do DF e entorno foram avaliadas quanto à sua composição fenólica e atividade antioxidante pela primeira vez. Foram encontrados altos teores de compostos fenólicos e alta atividade antioxidante nessas frutas. A jabuticaba foi a fruta com maior teor de compostos fenólicos e mais antioxidante dentre as estudadas, e o solvente mais eficiente para extração de polifenóis foi o metanol. De forma geral, as atividades antioxidantes das frutas analisadas apresentaram alta correlação positiva com os compostos fenólicos. As frutas exóticas estudadas neste estudo, que foram cultivadas no Cerrado, são promissoras para aplicação como antioxidantes em produtos da

indústria de medicamentos, cosméticos e alimentos, promovendo a utilização adequada e sustentável da região.

3.5 REFERÊNCIAS

1. Denardin CC, Hirsch GE, Da Rocha RF, Vizzotto M, Henriques AT, Moreira JCF, et al. Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2015;23(3):387-98.
2. Siqueira EMdA, Rosa FR, Fustinoni AM, Sant'Ana LPd, Arruda SF. Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional Red Delicious Apple *Plos One*. 2013;8(8):7.
3. Gris EF, Burin VM, Brighenti E, Vieira H, Bordignon-Luiz MT. Phenology and ripening of *Vitis vinifera* L. grape varieties in São Joaquim, southern Brazil: a new South American wine growing region. *Ciencia e investigación agraria*. 2010;37:61-75.
4. Halliwell B, Gutteridge JM. Free Radicals in Biology and Medicine. In: Press OU, editor. Oxford, U.K.1999.
5. Fu Y-C, Fu T-F, Wang H-J, Lin C-W, Lee G-H, Wu S-C, et al. Aspartic acid based modified PLGA-PEG nanoparticles for bone targeting: in vitro and in vivo evaluation. *Acta Biomaterialia*. 2014;10(11):14.
6. Hervert-Hernández D, García OP, Rosado JL, Goñi I. The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety. *Food Research International*. 2011;44:8.
7. Ryan L, Thondre P, Henry C. Oat-based breakfast cereals are a rich source of polyphenols and high in antioxidant potential. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011;24:6.
8. Silva RV, Costa SCC, Branco CRC, Branco A. In vitro photoprotective activity of the *Spondias purpurea* L. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation. *Industrial Crops and Products*. 2016;83:6.
9. Flores FP, Singh RK, Kerr WL, Pegg RB, Kong F. Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during in vitro digestion. *Food Chemistry*. 2014;153:7.
10. Alezandro MR, Dubé P, Desjardins Y, Lajolo FM, Genovese MI. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. *Food Research International*. 2013;54(1):468-77.
11. Mphahlele RR, Stander MA, Fawole OA, Opara UL. Effect of fruit maturity and growing location on the postharvest contents of flavonoids, phenolic acids, vitamin C

and antioxidant activity of pomegranate juice (cv. Wonderful). *Scientia Horticulturae*. 2014;179:10.

12. Gris EF. Perfil fenólico e atividades antioxidante e hipolipemiante de vinhos de variedades *Vitis vinifera* cultivadas em São Joaquim - SC - Brasil. In: Universidade Federal de Santa Catarina CdCA, editor. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Florianópolis 2010.

13. Oliveira ALd, Brunini MA, Salandini CAR, Bazzo FR. Caracterização tecnológica de jaboticabas 'Sabará' provenientes de diferentes regiões de cultivo. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2003;25:397-400.

14. Mendonça RCd, Felfili JM, Walter BMT, Júnior MCdS, Rezende AV, Filgueiras TS, et al. Flora vascular do bioma Cerrado: checklist com 12.356 espécies. In: Sano SM, Almeida SPd, Ribeiro JF, editors. *Cerrado: ecologia e flora 2*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; 2008. p. 423-1279.

15. Lees DH, Francis FJ. Standardization of pigment analyses in cranberries. *HortScience*. 1972;7:2.

16. Singleton VL, Rossi JAJ. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1965;16(3):15.

17. Paronetto L. Polifenoli e tecnica enologica. *Edagricole*. 1977:32.

18. Glories Y. Recherches sur la matière colorante des vins rouges *Bulletin de la Societe Chimique*. 1978;9:4.

19. Giusti MM, Wrolstad RE. Anthocyanins. Characterization and Measurement with UV-Visible Spectroscopy. In: Wrolstad RE, editor. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: John Wiley & Sons; 2001. p. 13.

20. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*. 1995;28(1):6.

21. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorizing assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999;26(9-10):7.

22. Inada KOP, Oliveira AA, Revorêdo TB, Martins ABN, Lacerda ECQ, Aline Soares Freire, et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. *Journal of Functional Foods*. 2015;17:12.

23. Lenquiste SA, Marineli RdS, Moraes ÉA, Dionísio AP, Brito ESd, Maróstica-Junior MR. Jaboticaba peel and jaboticaba peel aqueous extract shows in vitro and in vivo antioxidant properties in obesity model. *Food Research International*. 2015;77:9.

24. Alezandro MR, Granato D, Genovese MI. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg), a Brazilian grape-like fruit, improves plasma lipid profile in streptozotocin-mediated oxidative stress in diabetic rats. *Food Research International*. 2013;54:10.
25. Abe LT, Lajolo FM, Genovese MI. Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2012;92:1679-1687.
26. Leite-Legatti AV, Batista ÂG, Dragano NRV, Marques AC, Malta LG, Riccio MF, et al. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. *Food Research International*. 2012;49:8.
27. Wang W-H, Tyan Y-C, Chen Z-S, Lin C-G, Yang M-H, Yuan S-S, et al. Evaluation of the Antioxidant Activity and Antiproliferative Effect of the Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seed Extracts in Oral Carcinoma Cells. *BioMed Research International*. 2014;2014:1-7.
28. Rufino MdSM, Alves RE, Brito ESd, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F, Mancini-Filho J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*. 2010;121(2010):996-1002.
29. Santos DT, Veggi PC, Meireles AA. Extraction of antioxidant compounds from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. *Journal of Food Engineering*. 2010;101:9.
30. Citadin I, Danner MA, Sasso SAZ. Jabuticabeiras. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2010;32:0-.
31. Reynertson KA, Yang H, Jiang B, Basile MJ, Kennelly EJ. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry*. 2008;109(4):8
32. Bagetti M, Facco EMP, Piccolo J, Hirsch GE, Rodriguez-Amaya D, Kobori CN, et al. Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.). *Food Science and Technology (Campinas)*. 2011;31:147-54.
33. Celli GB, Pereira-Netto AB, Beta T. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages. *Food Research International*. 2011;44:2442-51.
34. Almeida MMB, Sousa PHMd, Arriaga ÂMC, Prado GMd, Magalhães CEEdC, Maia GA, et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*. 2011;44:2155-9.
35. Omena CMB, Valentim IB, Guedes GdS, Rabelo LA, Mano CM, Bechara EJH, et al. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities in fruits. *Food Research International*. 2012;49(11):334.

36. Reis LCB, Carneiro LM, Branco CRC, Branco A. Comparison of Conventional Microwave and Focused Microwave-assisted Extraction to Enhance the Efficiency of the Extraction of Antioxidant Flavonols from Jocote Pomace (*Spondias purpurea* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*. 2015;2015(70):10.
37. Soufi O, Romero C, Hayette L. Ortho-diphenol profile and antioxidant activity of Algerian black olive cultivars: Effect of dry salting process. *Food Chemistry* 2014;157:504-9.
38. Defilippi BG, Manríquez D, Luengwilai K, González-Agüero M. Chapter 1 Aroma Volatiles: Biosynthesis and Mechanisms of Modulation During Fruit Ripening. *Advances in Botanical Research*. 2009; 50: pp. 1-38.
39. Engels C, Gräter D, Esquivel P, Jiménez VM, Gänzle MG, Schieber A. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Food Research International*. 2012;46:6.
40. Silva MC, Souza VBd, Thomazini M, Silva ERd, Smaniotto T, Carvalho RAd, et al. Use of the jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties. *LWT - Food Science and Technology*. 2014;55(2014):203-9.
41. Terci DBL. Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas. In: Campinas UFd, editor. Tese (Doutorado em Química). Campinas, SP 2004.
42. Einbond LS, Reynertson KA, Luo X-D, Basile MJ, Kennelly EJ. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food chemistry*. 2004;84:23-8.
43. Gregoris E, Lima GPP, Fabris S, Bertelle M, Sicari M, Stevanato R. Antioxidant Properties of Brazilian Tropical Fruits by Correlation between Different Assays. *BioMed Research International*. 2013;2013:8.
44. Wu S-B, Dastmalchi K, Long C, Kennelly EJ. Metabolite Profiling of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and Other Dark-Colored Fruit Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012;60(7513-7525).

CAPÍTULO 4

**MANUSCRITO:
DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE
MICROPARTÍCULAS DE QUITOSANA CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DE
JABUTICABA**

**A ser submetido a revista Journal of Agricultural and Food Chemistry, qualis A1
na área interdisciplinar**

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo microencapsular extrato fenólico de casca de jabuticaba e testar a estabilidade das micropartículas desenvolvidas. As micropartículas foram obtidas pelo método de *spray drying* utilizando o polímero quitosana, através de variações das quantidades de polímero e extrato, e condições de secagem. Após estudos de caracterização foi selecionado o melhor sistema de micropartículas que apresentou alta eficiência de encapsulação (~ 79 %), morfologia esférica e com superfície lisa, diâmetro médio de ~ 9 µm, e potencial zeta + 3,21 mV. Para avaliação da estabilidade, essas micropartículas foram submetidas a três condições de temperatura e o teor de polifenóis totais foi determinado. De forma geral, após 60 dias verificou-se que as micropartículas foram capazes de melhorar a estabilidade de polifenóis totais. Foi possível desenvolver micropartículas de extrato de casca de jabuticaba e essas foram capazes de proteger os polifenóis totais do extrato e melhorar sua estabilidade.

PALAVRAS CHAVE: polifenóis, microencapsulação, quitosana, jabuticaba.

4.1 INTRODUÇÃO

Polifenóis são compostos bioativos de grande interesse e estão presentes em frutas, principalmente em suas cascas^{1,2}. Sabendo-se que eles apresentam atividade contra radicais livres, isso pode ser utilizado para melhorar produtos e promover efeitos benéficos à saúde^{3,4}. Dessa forma, são cada vez mais utilizados em produtos alimentícios, cosméticos e medicamentosos, seja para aumentar a vida de prateleira desses produtos, reduzir a quantidade adicionada de antioxidantes sintéticos, ou para promover efeitos benéficos no organismo⁵⁻⁷. No entanto, a atividade contra radicais livres é em razão de seus compostos fenólicos que são predominantemente moléculas, o que dificulta a aplicação desses compostos bioativos em novos produtos.

A instabilidade desses compostos ocorre frente a diferentes condições de processamento e armazenamento. A temperatura é um dos fatores que influenciam a estabilidade desses compostos, além da exposição ao oxigênio e à luz. Por isso, a microencapsulação tem sido uma boa alternativa para preservar esses bioativos em

produtos, além de possibilitar o controle da liberação desses compostos no produto ou organismo ^{8,9}.

Dentre as várias tecnologias utilizadas para promover a microencapsulação de compostos, o *spray drying* é um dos métodos mais empregados na obtenção de micropartículas dos mais variados materiais e aplicações, e consiste numa secagem por meio de uma corrente de gás aquecido sobre um produto líquido aspergido por pressão do bico atomizador do aparelho ¹³. A escolha por esse método é devida principalmente à sua facilidade de operação e um bom custo-benefício. Em alimentos, a técnica tem sido utilizada para proteção e liberação controlada de compostos bioativos, principalmente antioxidantes ^{9, 11, 12, 13}. Para aplicação tópica, a microencapsulação além de poder proteger os bioativos, pode promover uma liberação controlada do composto na pele ¹⁰.

O polímero quitosana tem sido frequentemente utilizado como agente microencapsulante em razão de sua vasta aplicabilidade por ser biodegradável, biocompatível e atóxico. Além disso, é um polímero natural e de baixo custo, o que potencializa o interesse por sua utilização em tecnologias de encapsulamento de fármacos ^{10,14}. Laine et al.⁶ explicam que polímeros de maior peso molecular podem formar complexos mais firmes com os compostos fenólicos e dessa forma apresentar maior eficiência de encapsulação, pois compostos como os flavonoides podem formar complexos com polissacarídeos. No presente trabalho, o polímero quitosana de médio peso molecular foi utilizada para garantir uma boa eficiência de encapsulação, além de suas vantagens previamente citadas.

A *Plinia cauliflora*, popularmente conhecida como jabuticaba, é uma espécie brasileira, nativa da Mata Atlântica, mas cultivada em todo país. Estudos mostram que a fruta é uma rica fonte de polifenóis e é considerada uma fruta com potente atividade antioxidante, destacando-se seus resíduos, como as cascas. A fruta é frequentemente utilizada para consumo *in natura* ou em forma de doces e geleias, mas o alto potencial antioxidante das cascas apontam para a sustentabilidade do uso de jabuticabas, com aproveitamento de resíduos como as cascas ^{2, 15, 16,17, 18}.

Assim, sendo a casca de jabuticaba uma rica fonte de compostos fenólicos, este trabalho desenvolveu micropartículas de extrato etanólico de cascas de jabuticaba utilizando o polímero quitosana de médio peso molecular por meio do método de *spray drying*. Após estudos de caracterização desses sistemas,

selecionou-se microcápsulas para o estudo de estabilidade de polifenóis durante o armazenamento em diferentes temperaturas.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras

Frutos de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) foram coletados para o estudo em um estado de maturação adequado para a colheita. Os frutos da espécie *Plinia cauliflora* foram coletados em Sobradinho, Distrito Federal (15° 37' 42,373" S e 47° 49' 55,408" O). Após a coleta, o material foi devidamente higienizado. Uma amostra do material botânico coletado da espécie foi enviada para o Herbário da Universidade de Brasília para devida identificação botânica e permanece no local como testemunha do presente trabalho (Reis, BC n. 2).

Elaboração do extrato de jabuticaba

O extrato foi elaborado segundo Lees e Francis¹⁹ com adaptações a partir das cascas de jabuticaba (*Plinia cauliflora*). Às cascas (100 g) foram adicionadas solução extratora de etanol (500 ml) e colocados para maceração durante uma semana sob refrigeração e ao abrigo da luz. Posteriormente a solução foi filtrada e armazenada em frasco âmbar e sob refrigeração.

Para análises de estabilidade, foi obtido um extrato etanólico de casca de jabuticaba não microencapsulado (EEJ). Para isso, o extrato inicial foi liofilizado (Liofilizador Liotop, modelo L101).

Obtenção de micropartículas de quitosana contendo extrato de jabuticaba (MP)

Micropartículas de quitosana de médio peso molecular (Aldrich) contendo extrato etanólico de jabuticaba foram obtidas por meio de *spray drying* de acordo com o método de Gelfuso et al.¹⁰ com adaptações. A quitosana foi dissolvida em soluções aquosas com 1 % (m / v) de ácido acético e deixada 24 horas para homogeneização em agitador magnético (Logen Scientific, modelo LS 61-220). O extrato foi incorporado nas proporções apresentadas na Tabela 1, e a solução final foi submetida ao *spray dryer* (Labmaq, modelo MSD 1.0) em uma vazão de 6 ml / minuto, ajustado de acordo com a viscosidade de cada solução, por um bico atomizador pressurizado de 1,0 mm

de diâmetro, com ar de atomização a 30 L / minuto. O fluxo de ar quente de secagem foi utilizado nas taxas descritas na Tabela 1 e a temperatura de entrada do ar foi de 140 °C e de saída do ar foi de ~ 100 °C.

Tabela 1: Quantidade de extrato de cascas de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) e polímero (quitosana) por 100 ml de solução, fluxo de secagem e volume utilizado de cada uma das soluções submetidas ao *spray dryer*.

	Quantidade de quitosana (g)	Quantidade de extrato em peso seco (g)	Proporção polímero/extrato	Fluxo de secagem	Volume de solução utilizado (ml)
MP0	2,0	0,00	-	4,5m ³ /min	400
MP1	2,0	0,01	200:1	4,5m ³ /min	400
MP2	2,0	0,03	67:1	4,5m ³ /min	400
MP3	2,0	0,20	10:1	4,5m ³ /min	800
MP4	2,0	0,20	10:1	3,95m ³ /min	800

Após serem obtidas, as micropartículas foram devidamente armazenadas em frasco vedado sob abrigo de luz e refrigeração. As micropartículas foram então caracterizadas quanto ao rendimento, eficiência de encapsulação de polifenóis totais e morfologia. A partir desses resultados, selecionou-se os melhores sistemas para caracterização da distribuição de tamanho, potencial zeta e estudo de estabilidade de polifenóis durante o armazenamento.

Caracterização de micropartículas de quitosana contendo extrato de jabuticaba (MP)

Rendimento

As micropartículas obtidas por *spray drying* foram pesadas e o rendimento do processo foi calculado como porcentagem em função da quantidade de sólidos adicionados durante o processo de preparação ²⁰, segundo a Equação I:

$$R\% = (Q_f \div Q_i) \times 100$$

(Equação I)

Onde: R% é o rendimento do processo; Qf é a quantidade de micropartículas obtidas no final do processo; e Qi é a quantidade de sólidos adicionados durante o processo de preparação.

Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação foi determinada avaliando-se a quantidade de polifenóis totais encapsulados nas micropartículas de quitosana. Desta forma, o teor de polifenóis totais nas micropartículas foi determinado por meio do método de Folin-Ciocalteu ²¹, com adaptações, e o teor dos polifenóis totais foi calculado de acordo com uma curva padrão de ácido gálico e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de MP. As micropartículas foram dispersas em solução aquosa de ácido acético 1% (v / v) sob agitação a 500 rpm durante 24 horas. Alíquotas de 0,2 ml dessa solução foram adicionadas à 3,8 ml de água destilada e em seguida à 0,25 ml de reagente Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos, foi adicionado 0,75 ml de solução de carbonato de sódio a 20%. A solução foi agitada em agitador de tubos (Logen Scientific, modelo LSM 56-III) e após 120 minutos sob o abrigo de luz, foram realizadas as leituras das amostras em espectrofotômetro (Hitachi, modelo U-3900H) a 760 nm. Para leitura das amostras, essas foram submetidas a centrifugação durante 10 minutos por 4.000 rpm em uma centrífuga (Hettich Zentrifugen, modelo EBA 20). O sobrenadante foi recolhido para leitura espectrofotométrica, obtendo-se a quantidade encapsulada de polifenóis totais expressa em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de MP (Qobtida).

A eficiência de encapsulação foi calculada a partir da Equação II:

$$EE\% = (Q_{obtida} \div Q_{teórica}) \times 100$$

(Equação II)

Onde: EE% é a eficiência de encapsulação de polifenóis totais na micropartícula; Qobtida é a quantidade de polifenóis totais extraídos das micropartículas de quitosana; e Qteórica é a quantidade de polifenóis totais teoricamente estaria presente nas micropartículas, de acordo com a quantidade de extrato utilizada.

Distribuição de tamanho

A distribuição de tamanho de partículas foi determinada por difração a laser no equipamento Beckman Coulter LS 13 320. Cerca de 1,0 mg das micropartículas

obtidas foram suspensas em 2,0 ml de etanol e estas suspensões foram levadas ao equipamento para análise.

Potencial zeta

O potencial zeta das micropartículas suspensas foi determinado por espalhamento de luz eletroforético com o auxílio do equipamento Zetasizer Nano (Malvern, modelo ZS). Aproximadamente 1,0 mg das micropartículas foi suspenso em uma solução hidroalcoólica (etanol:água) contendo 50% (v/v) e 10 mM de NaCl.

Morfologia

A morfologia das micropartículas obtidas, bem como a visualização da distribuição de tamanho, foi determinada por meio da análise em microscópio eletrônico de varredura (MEV Quanta 250 FEG). Cerca de 20 mg de microcápsulas foram distribuídos uniformemente sobre uma lamínula limpa, seca e sem manchas. Em seguida as amostras foram metalizadas com uma camada de ouro e analisadas no equipamento, num aumento de 5.000 a 10.000 vezes.

Avaliação da atividade antioxidante de MP

A avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de extrato de casca de jabuticaba microencapsulado foi realizada através da avaliação da captura dos radicais livres DPPH ²² e ABTS ²³, com adaptações. As amostras de micropartículas foram preparadas como para análise de eficiência de encapsulação. Os resultados foram expressos como equivalentes de Trolox (mM TEAC/g de micropartícula) e calculados por meio de curva padrão.

A avaliação da captura do radical DPPH foi realizada como segue: alíquotas de 0,4 ml de solução de extrato do conteúdo de micropartículas foram adicionadas a 4,6 ml de solução do radical DPPH 0,1 mM. Após 30 minutos ao abrigo de luz foi realizada leitura em espectrofotômetro a 517 nm (A_t). Para leitura das amostras, respeitando o tempo de reação, essas foram submetidas a centrifugação por 10 minutos a 4.000 rpm e o sobrenadante foi recolhido para leitura espectrofotométrica. Foi obtida a absorbância do radical (A_0). Os resultados foram expressos como equivalentes de Trolox (mM TEAC/g de MP) e calculados por meio de curva padrão.

A avaliação da captura do radical ABTS: o radical ABTS foi obtido por meio da adição de 10,0 ml de uma solução aquosa de ABTS 7 mM em 10,0 ml de uma solução de persulfato potássico 2,45 mM. A solução foi armazenada em frasco âmbar e mantida por no mínimo 16 horas protegida da luz. Alíquota de 2,0 ml do radical foi adicionada em 100 ml de etanol de forma que foram realizadas medidas de absorvância a 754 nm com densidade óptica em torno de 0,700. Alíquotas de 0,1 ml de solução de extrato do conteúdo de micropartículas foram adicionadas a 4,9 ml da solução do radical ABTS. Após 6 minutos ao abrigo de luz foi realizada leitura em espectrofotômetro a 754nm (A_t). Para leitura das amostras, respeitando o tempo de reação, essas foram submetidas a centrifugação por 4 minutos a 4.000 rpm e o sobrenadante foi recolhido para leitura espectrofotométrica. Foi obtida a absorvância do radical sem o extrato (A_0). Os resultados foram expressos como equivalentes de Trolox (mM TEAC/g de MP) e calculados por meio de curva padrão.

Estudo de estabilidade de micropartículas de quitosana contendo extrato de jabuticaba (MP)

Após o estudo de caracterização, foram selecionadas as MP que apresentaram os melhores resultados de caracterização. Essas micropartículas foram submetidas ao estudo de estabilidade no que diz respeito ao teor de polifenóis totais durante o armazenamento em diferentes temperaturas. Amostras dessas MP selecionadas e do extrato etanólico de casca de jabuticaba liofilizado e não microencapsulado (EEJ) foram armazenadas nas seguintes condições: temperatura refrigerada (TR) ~ 2 a 6° C; temperatura ambiente (TA), ~ 25° C; e temperatura estressante (TE) ~ 40° C. Para manter e controlar as condições de temperatura foram utilizadas câmaras climáticas (Nova Ética, modelo 420 – CLDTS 300) para TA e TE, e um refrigerador (Eletrolux, modelo H300) para TR. Durante o armazenamento, as micropartículas foram mantidas em recipientes selados, sob o abrigo de luz.

As amostras foram analisadas quanto ao teor de polifenóis totais de acordo com o método de Folin-Ciocalteu ²¹, com adaptações, descritas anteriormente, em diferentes tempos de armazenamento: dia 0, 7, 14, 30 e 60.

Análise estatística

Todas as análises foram realizadas com duas repetições e em triplicata. ANOVA, Análise de Correlação e Teste Tukey HSD foram realizados no programa STATISTICA 10 admitindo nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As frutas são alvo de interesse no desenvolvimento de novos produtos pois apresentam propriedades benéficas à saúde, dentre elas, a atividade antioxidante. Isso, em razão do alto teor de compostos fenólicos em sua composição. No entanto, a instabilidade desses compostos fenólicos tem sido um desafio para aplicação desses em produtos de alimentos, cosméticos e medicamentos. Sistemas de microencapsulação de extratos de frutas tem sido desenvolvidos para aumentar a estabilidade desses compostos e viabilizar sua aplicação^{6, 8, 9, 11}. Esses sistemas são estudados tanto para a utilização desses compostos como agentes de melhoramento de produtos cosméticos, medicamentosos ou alimentícios, quanto como agentes ativos desses produtos^{6,9}.

Caracterização de micropartículas

Rendimento

Os rendimentos do processo de obtenção de micropartículas de extrato de jabuticaba com o polímero quitosana estão apresentados na Tabela 2. Os resultados variaram de ~ 30,00 % a 40,00 %. À medida que se aumentou a proporção do extrato em relação ao polímero (proporção de polímero:extrato variou de 200:1 a 10:1), o rendimento também aumentou. Mas um maior rendimento foi mais evidente quando o volume da solução com o polímero e extrato foi aumentado, e conseqüentemente o volume de sólidos submetido ao processo. Verificou-se um melhor rendimento (Tabela 2) da MP2 para MP3, onde a quantidade de extrato foi aumentada em mais de seis vezes.

Sabe-se que a quitosana forma um filme quando passa por processo de secagem em uma superfície lisa. Outros estudos com quitosana que utilizaram o método de *spray drying* apresentaram rendimentos iguais ou menores que 50%^{10, 24}. A propriedade da quitosana de ficar retida no aparelho com superfície lisa tem sido

apresentada como uma explicação para o baixo rendimento. Contudo, a utilização de volumes maiores de sólidos, como é feito em produções industriais, é apresentada como uma resolução para o baixo rendimento desses processos ¹⁰.

Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação é a porcentagem do agente de interesse a ser encapsulado que as micropartículas foram capazes de encapsular. No presente estudo, a eficiência de microencapsulação de extrato de cascas de *P. cauliflora* foi realizada por meio do método de teor de polifenóis totais, em razão dos altos teores de polifenóis totais nas cascas dessas frutas. Dessa forma, a quantidade de extrato encapsulado foi considerada como a mesma quantidade de polifenóis totais encapsulados. A razão entre o teor de polifenóis totais encontrado nas micropartículas poliméricas e o teor de polifenóis totais teóricos presentes na mesma quantidade de micropartículas, levando-se em consideração a proporção polímero:bioativo, foi considerada como a eficiência de encapsulação e está apresentada na Tabela 2. Os resultados variaram de 52,71 % a 89,74 %, sendo que os maiores valores de eficiência de encapsulação foram obtidos em micropartículas com proporção mais concentrada de extrato (10:1) enquanto os menores valores foram encontrados nas micropartículas com proporções menos concentradas de extrato (200:1). As micropartículas MP3 e MP4 apresentaram os melhores valores de EE: 78,66 % e 89,74 % respectivamente.

Outros sistemas de encapsulação de extratos apresentaram eficiência de encapsulação semelhantes ao presente trabalho, entre ~ 70 a 90 % ^{24, 25}.

Nossos estudos indicam que proporções de polímero maiores que 67 vezes em relação ao extrato seco de casca de jabuticaba não promovem boa encapsulação por meio da quitosana com a técnica de *spray drying*. A eficiência de encapsulação frequentemente varia de acordo com a quantidade usada do agente encapsulado ^{25, 26}.

Tabela 2: Caracterização das micropartículas de quitosana contendo extrato de jabuticaba (*Plinia cauliflora*).

	Proporção polímero/extrato (m/m)	Rendimento (%)	EE (%)
MP0	-	29,63	-

MP1	200:1	32,45	ND
MP2	67:1	33,84	52,71 ± 1,25 ^a
MP3	10:1	37,12	78,66 ± 1,56 ^b
MP4	10:1	39,80	89,74 ± 3,28 ^c

Diferentes letras na mesma coluna representam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey HSD.

Morfologia

A análise da morfologia das micropartículas formadas foi possível por meio de fotomicrografias geradas por microscopia de varredura eletrônica (MEV). As fotomicrografias das micropartículas obtidas no presente trabalho podem ser visualizadas na Figura 1. As micropartículas formadas apresentaram formato de esferas de tamanhos variados com superfície enrugada ou lisa. As micropartículas contendo apenas o polímero quitosana, permitiu obter micropartículas esféricas homogêneas com superfície enrugada, o que corrobora com outros estudos utilizando o mesmo polímero e técnica ²⁷. Com a adição do extrato de jabuticaba, a superfície dessas esferas tornou-se mais lisa. Esses resultados indicam uma interação entre o polímero quitosana e os componentes do extrato. De acordo com as fotomicrografias, a superfície da micropartícula pareceu depender da quantidade de extrato, pois tornou-se mais lisa com maior quantidade de extrato (MP3 e MP4).

A superfície rugosa de micropartículas com *Aloe vera*, quitosana e vitamina E obtidas por *spray drying* sob outras condições por Pereira e colaboradores (2014) demonstrou ser uma propriedade interessante para aplicação em feridas de queimaduras ²⁷. No entanto, para outras aplicações, Tonon ²⁹ apresenta vantagens de partículas com superfícies lisas, pois essas tem menor área de contato e são menos susceptíveis a sofrer com os processos de oxidação em relação às partículas com superfícies ásperas. Dessa forma, as micropartículas obtidas nesse trabalho com o extrato de jabuticaba são partículas promissoras para aplicação.

De acordo com esses resultados, as micropartículas MP3 e MP4 foram selecionadas para dar continuidade ao estudo de caracterização em relação a distribuição de tamanho e potencial zeta.

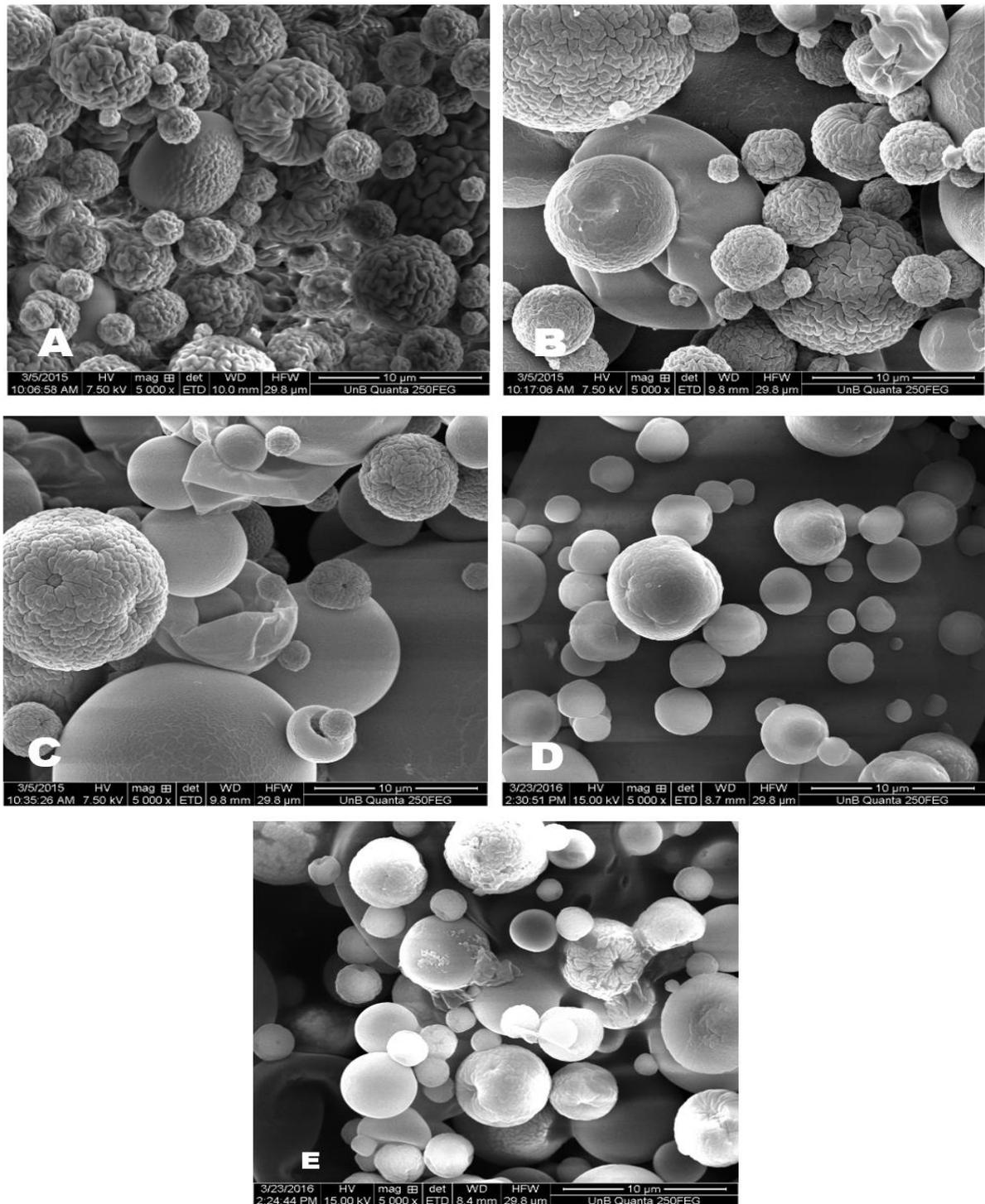


Figura 1: Fotomicrografias de micropartículas de jaboticaba obtidas por *spray drying* utilizando quitosana como agente encapsulador. Ampliação de 5.000 vezes. A: MP0; B: MP1; C: MP2; D: MP3; E: MP4.

Distribuição de tamanho

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados do tamanho de micropartículas de extrato de jaboticaba obtidas por *spray drying* utilizando quitosana como agente encapsulador.

Tabela 3: Resultados de média, moda e D₅₀ (µm) do tamanho do diâmetro de micropartículas das micropartículas MP0, MP3 e MP4 de quitosana contendo extrato de cascas de jabuticaba (*Plinia cauliflora*).

	Média	Moda	D ₅₀
MP0	3,82 ± 5,40 ^a	7,08	1,61
MP3	8,53 ± 13,06 ^b	18,00	2,74
MP4	14,87 ± 19,98 ^c	19,76	5,79

Diferentes letras na mesma coluna representam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey HSD.

As micropartículas vazias (MP0) apresentaram diâmetro médio de ~ 3,8 µm, moda de ~ 7,1 µm e D₅₀ de ~ 1,6 µm, enquanto as micropartículas contendo extrato de jabuticaba apresentaram diâmetro médio de ~ 8,5 µm (MP3) e ~ 14,9 µm (MP4), moda de ~ 18,0 µm (MP3) e ~ 19,8 µm (MP4), e D₅₀ de ~ 2,7 µm (MP3) e ~ 5,8 µm (MP4). Essas micropartículas contendo extrato de jabuticaba foram submetidas às mesmas proporções de polímero:extrato bem como as mesmas condições no *spray drying*, exceto o fluxo de ar quente de secagem. As micropartículas com menor fluxo de ar quente de secagem (3,95m³ / min) apresentaram o maior tamanho (MP4). Esses resultados demonstram que a adição de extrato de jabuticaba e a diminuição do fluxo de ar quente de secagem aumentam o tamanho das micropartículas de quitosana obtidas por *spray drying*.

Para aplicação tópica, partículas maiores que 3 µm tendem a ficarem retidas no estrato córneo e quanto maior seu tamanho menor é capacidade de penetração¹⁰. Enquanto partículas na escala nanométrica são mais eficientes nessa penetração²⁶. As micropartículas obtidas no presente estudo por apresentarem tamanhos entre ~ 8 a 20 µm, em uma possível aplicação tópica devem ficar retidas no estrato córneo.

Potencial zeta

As micropartículas MP03 apresentaram um valor de potencial zeta de +3,21 (±3,25) mV. A quitosana é um polímero catiônico e as partículas obtidas a partir desse polímero apresentam cargas positivas³⁰. Mas os resultados de potencial zeta das

micropartículas de quitosana contendo extrato de jabuticaba indicam que essas apresentaram carga neutra.

Avaliação da atividade antioxidante e teor de polifenóis totais das MP

Tabela 4: Teor de polifenóis totais (mg GAE/ g) e atividade antioxidante sobre DDPH e ABTS (mM TEAC/g de MP) das micropartículas MP3 e MP4 de quitosana contendo extrato de jabuticaba (*Plinia cauliflora*).

	Proporção polímero/ extrato (m/m)	Atividade antioxidante sobre DPPH	Atividade antioxidante sobre ABTS	Teor de Polifenóis totais
MP3	10:1	93,07 ± 1,84 ^a	119,98 ± 2,17 ^a	13,82 ± 0,27 ^a
MP4	10:1	59,85 ± 0,48 ^b	120,81 ± 1,19 ^a	14,71 ± 0,54 ^a

Diferentes letras na mesma coluna representam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey HSD.

A partir dos resultados de caracterização, as micropartículas MP3 e MP4 foram selecionadas para a avaliação da atividade antioxidante e teor de polifenóis totais. Os resultados de atividade antioxidante e teor de polifenóis totais estão descritos na Tabela 4. Comparando os dois sistemas, esses não foram significativamente diferentes quanto ao teor de polifenóis totais e atividade antioxidante sobre ABTS, portanto os dois sistemas apresentam atividade antioxidante sobre ABTS e teor de polifenóis totais semelhantes. No entanto, a atividade antioxidante sobre DPPH foi superior para as micropartículas MP3 ($p < 0,05$). Como o único parâmetro que foi modificado entre a MP3 e MP4 foi o ar de secagem, verificou-se que com menor fluxo de ar quente de secagem ($3,95\text{m}^3/\text{min}$), apesar de aumentar a eficiência de encapsulação de polifenóis totais (Tabela 2), diminuiu a atividade antioxidante sobre DPPH. Portanto, para o estudo de estabilidade de polifenóis totais durante o armazenamento, a MP3 foi selecionada por ter apresentado tamanho médio menor em relação a MP4, e maior atividade antioxidante sobre DPPH, apesar de ter apresentado menor eficiência de encapsulação e rendimento (Tabela 2), pois em uma

possível aplicação tópica as características de tamanho e atividade antioxidante são mais expressivas para o desenvolvimento de um produto.

Estudo de estabilidade de MP

Tendo em vista que a baixa estabilidade de polifenóis tem sido um problema para aplicabilidades desses bioativos, este trabalho desenvolveu um sistema de microencapsulação de extrato etanólico de cascas de jabuticaba utilizando o polímero quitosana de médio peso molecular por meio do método de *spray drying*. Após estudos de caracterização desses sistemas, selecionou-se as micropartículas MP3 para o estudo de estabilidade de polifenóis durante o armazenamento, e os resultados estão apresentados na Figura 2.

O teor de polifenóis variou nas diferentes temperaturas tanto para as MP3 quanto para o extrato não microencapsulado (EEJ). De acordo com os resultados, a temperatura refrigerada foi a condição que apresentou melhor estabilidade de polifenóis totais ao final da avaliação de estabilidade (60 dias). De forma geral, as MP3 apresentaram menor diminuição do teor de polifenóis totais durante o armazenamento nas três condições de temperatura em relação ao EEJ ($p < 0,05$). Ao final do estudo de estabilidade verificou-se que as MP3 refrigeradas apresentaram 97 ± 9 % do teor inicial de polifenóis totais enquanto o EEJ sob refrigeração perdeu metade do teor inicial de polifenóis totais, $\sim 52 \pm 3$ % ($p < 0,05$). Esses resultados indicam que a microencapsulação de extrato de jabuticaba aumentou significativamente a estabilidade do teor de polifenóis totais em temperatura refrigerada durante os 60 dias de avaliação da estabilidade.

Durante o armazenamento em temperatura ambiente, verificou-se que as MP3 começaram a perder o teor de polifenóis, em ~ 12 %, após 30 dias ($p < 0,05$). Paini et al. ³¹ encontraram resultados semelhantes pois, em temperatura de 25° C as micropartículas de extrato fenólico de bagaço de azeitona com maltodextrina mantiveram a estabilidade de polifenóis até 28 dias de armazenamento. Embora tenha se verificado essa perda, nossas micropartículas após 60 dias apresentaram 83 ± 4 % do teor inicial enquanto o EEJ apresentou 27 ± 4 % do teor inicial de polifenóis após o mesmo período. Portanto, em temperatura ambiente de $\sim 25^{\circ}$ C, o extrato não microencapsulado perdeu mais de 70 ± 4 % do teor de polifenóis totais contra $17 \pm$

4 % do teor perdido nas micropartículas de extrato ($p < 0,05$), demonstrando a capacidade de proteção desses compostos pela microencapsulação com quitosana.

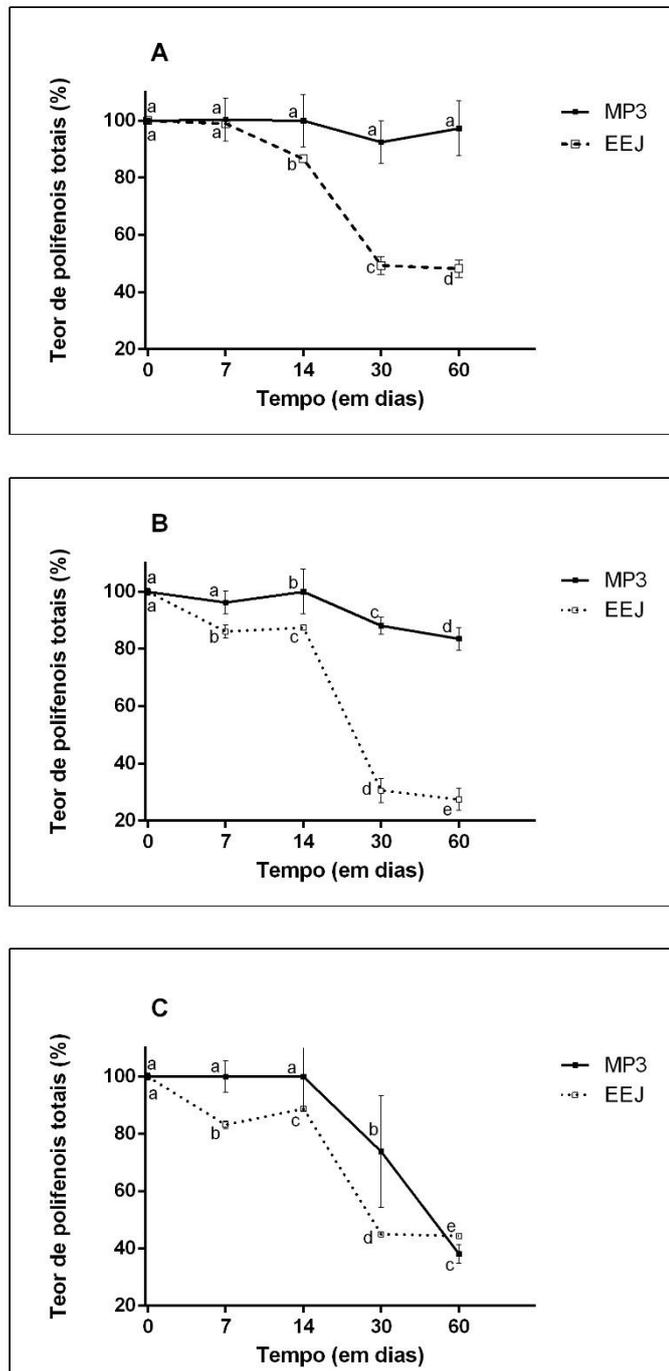


Figura 2: Teor de polifenóis totais (%) de micropartículas de jaboticaba com quitosana (MP3) e extrato etanólico de jaboticaba liofilizado (EEJ) submetidas a diferentes temperaturas durante o tempo de 60 dias. A: Temperatura refrigerada (TR) ~ 2 a 6° C; B: temperatura ambiente (TA), ~ 25° C; e C: temperatura estressante (TE) ~ 40° C. Teor de polifenóis totais foi baseado no método de Folin–Ciocalteu.

Seguindo a mesma tendência da temperatura ambiente, em temperatura estressante de $\sim 40^{\circ}\text{C}$, o teor de polifenóis nas MP3 começou a diminuir a partir de 30 dias de armazenamento ($p < 0,05$). Durante 30 dias de armazenamento as micropartículas foram capazes de melhorar a estabilidade de polifenóis, pois mantiveram $74 \pm 19\%$ do teor, enquanto o EEJ apresentou apenas $45 \pm 1\%$ ($p < 0,05$). Já no final dos 60 dias, as MP3 tiveram uma redução significativa no teor de polifenóis totais e não apresentaram diferença significativa em relação ao teor de polifenóis totais do EEJ ($p > 0,05$). Isso indica que a microencapsulação do extrato de jabuticaba não foi capaz de aumentar a estabilidade dos polifenóis totais frente à degradação de temperaturas estressantes de $\sim 40^{\circ}\text{C}$ durante os 60 dias de avaliação da estabilidade. No entanto, nossos resultados mostram que as micropartículas desenvolvidas no presente estudo podem ser uma vantagem na aplicação de produtos mesmo em condições de temperatura estressante, contanto que o tempo de armazenamento não seja superior a 30 dias. Paini et al.³¹ submeteram micropartículas de extrato fenólico de bagaço de azeitona com maltodextrina à temperatura de 45°C e verificaram que, a estabilidade de polifenóis foi mantida até 14 dias de armazenamento. De acordo com esses resultados, nossas micropartículas mantiveram a estabilidade por mais tempo (30 dias) em relação as micropartículas desenvolvidas por esses autores.

O teor de polifenóis totais apresentados pelo EEJ quando submetido à temperatura refrigerada começou a diminuir a partir de 14 dias de armazenamento, mas nas temperaturas ambiente e estressante, o teor diminuiu a partir do sétimo dia de armazenamento ($p < 0,05$). Em 60 dias observamos que uma perda de cerca de $\sim 60\%$ do teor de polifenóis totais. Nas temperaturas refrigerada e estressante, os resultados mostraram que após 60 dias não foram observadas diferenças estatisticamente significativas de acordo com o teste de Tukey ($p > 0,05$) para o teor de polifenóis totais. Esses resultados indicam que outro fator ou uma união de outros fatores, salvo a temperatura e exposição à luz, altera o teor de polifenóis totais do extrato de jabuticaba durante o armazenamento. Uma possibilidade seria a influência da oxidação e superfície de contato das amostras com o ar bem como umidade pois, foi possível apenas minimizar essas influências no estudo.

Nossos resultados mostram que as micropartículas desenvolvidas no presente estudo são capazes de proteger o teor de polifenóis totais do extrato de cascas de jabuticaba e aumentar a estabilidade dos mesmos. Além disso, de acordo com esses

resultados, nossas micropartículas podem ser armazenadas tanto em temperatura refrigerada (~ 97 %) quanto em temperatura ambiente (~ 83 %) para preservar o teor de polifenóis totais durante 60 dias e em temperatura estressante (~ 74 %) durante 30 dias.

Outros estudos mostram que o processo de microencapsulação protege os polifenóis provenientes de extratos e aumentam sua estabilidade ^{6, 31, 32}. Laine et al. ⁶ desenvolveram um sistema de microencapsulação de extrato de Cloudberry (*Rubus chamaemorus*) utilizando o polímero maltodextrina que também foi capaz de proteger e aumentar os polifenóis totais do extrato. Os pesquisadores também explicam que o estado físico e estrutura porosa das matrizes de micropartículas estão associados a proteção de compostos fenólicos nesses sistemas. Nossos estudos mostram que a microencapsulação de extrato de jabuticaba utilizando o polímero quitosana por meio do método de *spray drying* é eficaz para formar partículas estáveis que protegem os compostos fenólicos do extrato e melhoram sua estabilidade. Outras micropartículas com outro polímero e método foram citadas na literatura para cascas de jabuticaba da espécie *P. jaboticaba* ³³. No entanto, até nosso conhecimento, o presente estudo é o primeiro a desenvolver micropartículas de extrato da espécie *P. cauliflora* com o polímero quitosana por meio do método de *spray drying*. A vasta aplicabilidade do polímero quitosana com suas vantagens de biodegradabilidade, biocompatibilidade, atoxicidade e baixo custo, somada às vantagens bioativas do alto teor de polifenóis totais presentes nas cascas de jabuticaba, abrem uma vasta possibilidade de aplicações das micropartículas desenvolvidas no presente estudo, em especial para aplicação tópica, que foram eficazes na proteção e melhora da estabilidade de polifenóis totais presentes na jabuticaba.

4.4 CONCLUSÕES

Micropartículas de extrato etanólico de casca de jabuticaba foram obtidas por meio do método de *spray drying* utilizando a quitosana de médio peso molecular como agente microencapsulador. As melhores micropartículas desenvolvidas apresentaram rendimento considerável (~ 37 %), boa eficiência de encapsulação (~ 79 %), diâmetro médio de ~ 8 µm, com formas arredondadas, homogêneas e de superfície lisa, e potencial zeta de ~ + 3 mV. As micropartículas apresentaram significativa atividade antioxidante e teor de polifenóis totais. Sobre a estabilidade do teor de polifenóis totais,

as micropartículas desenvolvidas no presente estudo foram capazes de proteger o teor de polifenóis totais do extrato de jaboticaba e melhoraram a estabilidade desses compostos durante o armazenamento em temperatura de 2° C até ~ 25° C em 60 dias, e de ~ 40° C em 30 dias.

4.5 REFERÊNCIAS

1. Silva, R. V., Costa, S. C. C., Branco, C. R. C., Branco, A. In vitro photoprotective activity of the *Spondias purpurea* L. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation. *Industrial Crops and Products* 2016, 83, 6.
2. Alezandro, M. R., Dubé, P., Desjardins, Y., Lajolo, F. M., Genovese, M. I. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. *Food Research International* 2013, 54, 1, 468-477.
3. Gris, E. F. Perfil fenólico e atividades antioxidante e hipolipemiante de vinhos de variedades *Vitis vinifera* cultivadas em São Joaquim - SC - Brasil. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Florianópolis 2010.
4. Halliwell, B., Aeschbach, R., Lolinger, J., Aruoma, O. I. The characterization on antioxidants. *Food and Chemical Toxicology* 1995, 33, 7, 601-617.
5. Siqueira, E. M. A., Rosa, F. R., Fustinoni, A. M., Sant'Ana, L. P., Arruda, S. F. Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional Red Delicious Apple *Plos One*. 2013;8, 1--7.
6. Laine, P., Kylli, P., Heinonen, M., Jouppila, K. Storage Stability of Microencapsulated Cloudberry (*Rubus chamaemorus*) Phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008, 56, 11251-11261.
7. Bravo, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 1998, 56, 11, 317-333.
8. Otálora, M. C., Carriazo, J. G., Iturriaga, L., Nazareno, M. A., Osorio, C. Microencapsulation of betalains obtained from cactus fruit (*Opuntia ficus-indica*) by spray drying using cactus cladode mucilage and maltodextrin as encapsulating agents. *Food Chemistry* 2015, 187, 174-181.
9. Flores, F. P., Singh, R. K., Kerr, W. L., Pegg, R. B., Kong, F. Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during in vitro digestion. *Food Chemistry* 2014, 153, 272-278.
10. Gelfuso, G. M., Gratieri, T., Simao, P. S., de Freitas, L. A. P., Lopez, R. F. V. Chitosan microparticles for sustaining the topical delivery of minoxidil sulphate. *Journal Microencapsulation* 2011, 28, 7, 650-658.

11. Borrmann, D., Pierucci, A.P.T.R., Leite, S.G.F., Leão, M.H.M.R. Microencapsulation of passion fruit (*Passiflora*) juice with n-octenylsuccinate-derivatised starch using spray-drying. *Food and Bioproducts Processing* 2013, 91, 23-27.
12. Medina-Torres, L., García-Cruz, E. E., Calderas, F., González Laredo, R. F., Sánchez-Olivares, G., Gallegos-Infante, Rocha-Guzmán, N.E., Rodríguez-Ramírez, J. Microencapsulation by spray drying of gallic acid with nopal mucilage (*Opuntia ficus indica*). *LWT - Food Science and Technology* 2013, 50, 642-650.
13. Kha, T. C., Nguyen, M. H., Roach, P. D. Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering* 2010, 98, 3, 385-392.
14. Shah, P. P., Mashru, R. C., Thakkar, A. R., Badhan, A. C. Effect of chitosan crosslinking on bitterness of artemether using response surface methodology. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2008, 60, 421-427.
15. Silva, M. C., Souza, V. B. d., Thomazini, M., Silva, E. R. d., Smaniotto, T., Carvalho, R. A. d., Genovese, M. I., Favaro-Trindade, C. S. Use of the jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties. *LWT - Food Science and Technology* 2014, 55, 203-209.
16. Wang, W.-H., Tyan, Y.-C., Chen, Z.-S., Lin, C.-G., Yang, M.-H., Yuan, S.-S., Tsai, W.-C. Evaluation of the Antioxidant Activity and Antiproliferative Effect of the Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seed Extracts in Oral Carcinoma Cells. *BioMed Research International* 2014, 1-7.
17. Rufino, M. d. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S. d., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., Mancini-Filho, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry* 2010, 121, 996-1002.
18. Santos, D. T., Veggi, P. C., Meireles, A. A. Extraction of antioxidant compounds from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. *Journal of Food Engineering* 2010, 101, 23-31.
19. Lees, D. H., Francis, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. *HortScience*, 7, 2. 1972.
20. Parikh, R. H., Parikh, J. R., Dubey, R. R., Soni, H. N., & Kapadia, K. N. Poly(D,Llactide-co-glycolide) microspheres containing 5-fluorouracil: optimization of process parameters. *AAPS PharmSciTech* 2003, 4, E13.
21. Singleton, V. L., Rossi, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 1965, 16, 15.
22. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology* 1995, 28,6.

23. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorizing assay. *Free Radical Biology and Medicine* 1999, 26, 7p.
24. Endo, E. H., Ueda-Nakamura, T., Nakamura, C. V., Filho, B. P. Activity of spray-dried microparticles containing pomegranate peel extract against *Candida albicans*. *Molecules* 2012, 17, 9, 10094-10107.
25. Han, H. J., Lee, J. S., Park, S. A., Ahn, J. B., Lee, H. G. Extraction optimization and nanoencapsulation of jujube pulp and seed for enhancing antioxidant activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2015, 130, 1, 93–100.
26. Matos, B. N., Reis, T. A., Gratieri, T., Gelfuso, G. M. Chitosan nanoparticles for targeting and sustaining minoxidil sulphate delivery to hair follicles. *International Journal of Biological Macromolecules* 2015, 75, 225-229.
27. Pereira, G. G., Santos-Oliveira, R., Albernaz, M. S., Canema, D., Weismüller, G., Barros, Magalhães, L., Lima-Ribeiro, M. H. M., Pohlmann, A. R., Guterres, S. S. Microparticles of Aloe vera/vitamin E/chitosan: Microscopic, a nuclear imaging and an in vivo test analysis for burn treatment. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2014, 86, 292-300.
28. Scherließ, R., Mönckedieck, M., Young, K., Trows, S., Buske, S., Hook, S. First in vivo evaluation of particulate nasal dry powder vaccine formulations containing ovalbumin in mice. *International Journal of Pharmaceutics* 2015, 479, 408-415.
29. Tonon, R. V. Secagem por atomização do suco de açaí: influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto. Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos. Campinas. 2009.
30. Felt, O.; Gurny, R.; Buri, P.; Baeyens, V. Delivery of antibiotics in the eye using a positively charged polysaccharide as vehicle. *AAPS PharmSci3* 2001, 3, E34.
31. Paini, M., Aliakbarian, B., Casazza, A.A., Lagazzo, A., Botter, R., Perego, P. Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. *LWT-Food Science and Technology* 2015, 62, 177-186.
32. Nunes, G. L., Boaventura, B. C. B., Pinto, S. S., Verruck, S., Murakami, F. S., Prudêncio, E. S., De Mello Castanho Amboni, R. D. Microencapsulation of freeze concentrated *Ilex paraguariensis* extract by spray drying. *Journal of Food Engineering* 2015, 151, 60-68.
33. Ibrahim, S. P., Stringheta, P. C., Teófilo, R. F., De Oliveira, I. R. N. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering* 2013, 117, 4, 538 -544.

CAPÍTULO 5

DISCUSSÃO, CONCLUSÃO GERAL E PERSPECTIVAS

5.1 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO GERAL

Sabe-se que as condições climáticas, de solo, bem como intervenções humanas, no local de cultivo, o “*terroir*” possuem alta variabilidade e influenciam fortemente o desenvolvimento de frutos, e que o Cerrado é um bioma que possui de um “*terroir*” peculiar. Dessa forma, a escassez de trabalhos sobre frutas exóticas no bioma Cerrado, DF e entorno, e seu possível potencial em promover o desenvolvimento de metabólitos antioxidantes em plantas, fomentou o desenvolvimento do presente estudo. Dessa forma, foram utilizadas as frutas exóticas jabuticaba (*Plinia cauliflora*), pitanga (*Eugenia uniflora* L.), seriguela (*Spondias purpúrea* L.) e amora (*Morus* sp.) cultivadas no Cerrado do Distrito Federal e entorno, sem controle de cultivo, cultivadas naturalmente nessa região. O presente estudo descreveu as principais características biométricas, de maturação, composição fenólica e atividade antioxidantes dessas frutas, bem como desenvolveu micropartículas da jabuticaba, a fruta que apresentou o maior poder antioxidante.

As principais características da biometria e maturação das frutas exóticas cultivadas no Cerrado do Distrito Federal e entorno foram descritas. Observou-se que as características biométricas foram típicas das espécies, com algumas variações que eram esperadas em razão da diferença de “*terroir*”. Frequentemente frutos maiores estão relacionados com frutos em um bom estágio de maturação, e conseqüentemente com boa qualidade (Danner et al., 2010). No entanto, em alguns casos, nossas frutas foram ligeiramente leves e pequenas, mas apresentaram alto teor de composição fenólica e atividade antioxidante.

Sobre as características de maturação, as frutas foram colhidas em estágio maduro, o que foi confirmado pelos resultados. Verificou-se que as frutas apresentaram diferenças em relação a outros estudos, que podem ser explicados também pela diferença de “*terroir*”. Em geral, nossas frutas apresentaram maior teor de sólidos solúveis e menor acidez. Essa característica é interessante já que a perda de acidez é considerada como desejável em grande parte dos frutos e importante para o processo de amadurecimento, onde são provavelmente convertidos em açúcares (Freire et al., 2011).

Foi possível correlacionar as características biométricas e de maturação de cada fruta, e verificou-se que quanto maior o comprimento de jabuticaba maior o teor de sólidos solúveis, e quanto maior a largura da amora maior seu grau de maturação.

Já para pitanga, quanto maior seu pH, menor sua massa. Os resultados da determinação da composição fenólica e da atividade antioxidante das frutas exóticas: jabuticaba (*Plinia cauliflora*), pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e seriguela (*Spondias purpúrea* L.), demonstraram um alto teor de compostos fenólicos e alta atividade antioxidante de captura dos radicais DPPH e ABTS. Também foi verificada alta correlação entre a composição fenólica e atividade antioxidante, confirmando a importância desses compostos na atividade antioxidante das frutas. Como esperado, a jabuticaba apresentou o maior teor fenólico e atividade antioxidante. Esses resultados corroboram com a literatura que destaca o potencial dessa fruta (Alejandro et al., 2013; Almeida et al., 2011; Celli, Pereira-Netto e Beta, 2011), mas até nosso conhecimento, nosso estudo foi o primeiro a caracterizar essas frutas cultivadas na região do Cerrado do Distrito Federal e entorno.

A partir dos resultados, a jabuticaba foi a fruta selecionada para desenvolvimento de micropartículas. Assim, micropartículas de extrato de cascas de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) foram desenvolvidas - utilizando o polímero quitosana de médio peso molecular por meio do método de *spray drying*, - caracterizadas, e sua estabilidade em diferentes temperaturas foi avaliada. Verificou-se que esse sistema foi capaz de proteger o teor de polifenóis totais do extrato de jabuticaba e melhorar a estabilidade desses compostos durante o armazenamento em diferentes temperaturas. Há na literatura a descrição do desenvolvimento de micropartículas de jabuticaba da espécie *Plinia jaboticaba* (Ibrahim et al., 2013). Mas até nosso conhecimento, nosso estudo é o primeiro a desenvolver micropartículas da espécie *Plinia cauliflora* com o polímero quitosana. Essas micropartículas são bastante promissoras pois a alta aplicabilidade do polímero quitosana e o alto potencial antioxidante da jabuticaba abre uma gama de possibilidades de aplicação dessa tecnologia, em especial para aplicação tópica.

5.2 PERSPECTIVAS

O objetivo que foi proposto pelo presente trabalho foi alcançado e apresentamos pela primeira vez uma descrição das características dessas frutas cultivadas nessa região. Nosso trabalho fomenta novos estudos que sejam capazes de responder melhor aos questionamentos sobre a vantagem e possíveis utilizações

dos cultivos de frutas no Cerrado, bem como aplicação das micropartículas desenvolvidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alezandro MR, Dubé P, Desjardins Y, Lajolo FM, Genovese MI. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of *jaboticaba*: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. Food Research International. 2013;54(1):468-77.

Almeida MMB, Sousa PHMd, Arriaga ÂMC, Prado GMd, Magalhães CEdC, Maia GA, et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. Food Research International. 2011;44:2155-9.

Celli GB, Pereira-Netto AB, Beta T. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages. Food Research International. 2011;44:2442-51.

Danner MA, Raseira MdCB, Sasso SAZ, Citadin I, Scariot S. Repetibilidade de caracteres de fruto em araçazeiro e pitangueira. Ciência Rural. 2010;40:2086-91.

Freire ECBdS, Silva FVGd, Santos AFd, Medeiros IFd. Avaliação Da Qualidade De Ciriguela (*Spondias Purpurea*, L) Em Diferentes Estádios De Maturação. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável Grupo Verde de Agricultura Alternativa (GVAA). 2011;6(2):27-40.

Ibrahim SP, Stringheta PC, Teófilo RF, De Oliveira IRN. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of *jaboticaba* (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. Journal of food engineering 2013;117(4):538 -44.

ANEXOS

REVISTA AFRICAN JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH

Normas de publicação

Introduction

Authors should read the editorial policy and publication ethics before submitting their manuscripts. Authors should also use the appropriate reporting guidelines in preparing their manuscripts.

Research Ethics

Studies involving human subjects should be conducted according to the World Medical Association (WMA) Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects.

Studies involving non human animals should follow appropriate ethical guidelines such as the Animal Welfare Act, The Animals (Scientific Procedures) Act (Amendment) Order 1993, The EU parliament directive on the protection of animals used for scientific purposes, ARRPP policies and guidelines, etc.

Reporting guideline

Responsible reporting of research studies, which includes a complete, transparent, accurate and timely account of what was done and what was found during a research study, is an integral part of good research and publication practice and not an optional extra.

Preparing your manuscript

The type of article should determine the manuscript structure. However, the general structure for articles should follow the IMRAD structure.

Title

The title phrase should be brief.

List authors' full names (first-name, middle-name, and last-name).

Affiliations of authors (department and institution).

Emails and phone numbers

Abstract

The abstract should be less than 300 words. Abstract may be presented either in unstructured or structured format. The keywords should be less than 10.

Abbreviations

Abbreviation should be used only for non standard and very long terms.

The Introduction

The statement of the problem should be stated in the introduction in a clear and concise manner.

Materials and methods

Materials and methods should be clearly presented to allow the reproduction of the experiments.

Results and discussion

Results and discussion maybe combined into a single section. Results and discussion may also be presented separately if necessary.

Disclosure of conflict of interest

Authors should disclose all financial/relevant interest that may have influenced the study.

Acknowledgments

Acknowledgement of people, funds etc should be brief.

Tables and figures

Tables should be kept to a minimum.

Tables should have a short descriptive title.

The unit of measurement used in a table should be stated.

Tables should be numbered consecutively.

Tables should be organized in Microsoft Word or Excel spreadsheet.

Figures/Graphics should be prepared in GIF, TIFF, JPEG or PowerPoint.

Tables and Figures should be appropriately cited in the manuscript.

References

References should be listed in an alphabetical order at the end of the paper. DOIs, PubMed IDs and links to referenced articles should be stated wherever available.

Acceptance Certificate

Authors are issued an Acceptance Certificate for manuscripts that have been reviewed and accepted for publication by an editor.

Payment of manuscript handling fee

Once a manuscript has been accepted, the corresponding author will be contacted to make the necessary payment of the manuscript handling fee. Kindly note that on the manuscript management system, the payment option is only enabled for manuscripts that have been accepted for publication.

Proofs

Prior to publication, a proof is sent to the corresponding author. Authors are advised to read the proof and correct minor typographical or grammatical errors. Authors should promptly return proofs to the editorial office.

Publication

Once proofs are received at the editorial office, the manuscripts are usually included in the next issue of the journal. The article will thereafter be published on the journal's website

Publication Notification

After the article is made available on the journal's website, a publication notice is sent to the corresponding author with links to the issue and article.

Classificação Qualis

Periódicos			
ISSN	Título	Área de Avaliação	Classificação
1991-637X	African Journal of Agricultural Research	CIÊNCIA DE ALIMENTOS	B3
1991-637X	African Journal of Agricultural Research	FARMÁCIA	B3
1991-637X	African Journal of Agricultural Research	INTERDISCIPLINAR	B2

REVISTA PLOS ONE

Normas de publicação

Submission Guidelines

Parts of a Submission

Title

Include a full title and a short title for the manuscript.

Title	Length	Guidelines	Examples
Full title	250 characters	Specific, descriptive, concise, and comprehensible to readers outside the field	Impact of Cigarette Smoke Exposure on Innate Immunity: A <i>Caenorhabditis elegans</i> Model
Short title	70 characters	State the topic of the study	Cigarette Smoke Exposure and Innate Immunity

Titles should be written in title case (all words capitalized except articles, prepositions, and conjunctions). Avoid specialist abbreviations if possible. For clinical trials, systematic reviews, or meta-analyses, the subtitle should include the study design.

Author List

Who belongs on the author list

All authors must meet the criteria for authorship as outlined in the authorship policy. Read the policy.

Those who contributed to the work but do not meet the criteria for authorship can be mentioned in the Acknowledgments. Read more about Acknowledgments.

Author names and affiliations

Enter author names on the title page of the manuscript and in the online submission system.

On the title page, write author names in the following order:

- First name (or initials, if used)
- Middle name (or initials, if used)
- Last name (surname, family name)

Each author on the list must have an affiliation. The affiliation includes department, university, or organizational affiliation and its location, including city, state/province (if applicable), and country.

If an author has multiple affiliations, enter all affiliations on the title page only. In the submission system, enter only the preferred or primary affiliation.

Author names will be published exactly as they appear in the manuscript file. Please double-check the information carefully to make sure it is correct.

Title page

The title, authors, and affiliations should all be included on a title page as the first page of the manuscript file.

Download sample title, author list, and affiliations page (PDF)

Abstract

The Abstract comes after the title page in the manuscript file. The abstract text is also entered in a separate field in the submission system.

The Abstract should:

- Describe the main objective(s) of the study
- Explain how the study was done, including any model organisms used, without methodological detail
- Summarize the most important results and their significance
- Not exceed 300 words

Abstracts should not include:

- Citations
- Abbreviations, if possible

Introduction

The introduction should:

- Provide background that puts the manuscript into context and allows readers outside the field to understand the purpose and significance of the study
- Define the problem addressed and why it is important
- Include a brief review of the key literature
- Note any relevant controversies or disagreements in the field
- Conclude with a brief statement of the overall aim of the work and a comment about whether that aim was achieved

Materials and Methods

The Materials and Methods section should provide enough detail to allow suitably skilled investigators to fully replicate your study. Specific information and/or protocols for new methods should be included in detail. If materials, methods, and protocols are well established, authors may cite articles where those protocols are described in detail, but the submission should include sufficient information to be understood independent of these references.

We encourage authors to submit detailed protocols for newer or less well-established methods as supporting information. Read the supporting information guidelines.

Human or animal subjects and/or tissue or field sampling

Methods sections describing research using human or animal subjects and/or tissue or field sampling must include required ethics statements. See the reporting guidelines for human research, clinical trials, animal research, and observational and field studies for more information.

Results, Discussion, Conclusions

These sections may all be separate, or may be combined to create a mixed Results/Discussion section (commonly labeled “Results and Discussion”) or a mixed Discussion/Conclusions section (commonly labeled “Discussion”). These sections may be further divided into subsections, each with a concise subheading, as appropriate. These sections have no word limit, but the language should be clear and concise.

Together, these sections should describe the results of the experiments, the interpretation of these results, and the conclusions that can be drawn.

Authors should explain how the results relate to the hypothesis presented as the basis of the study and provide a succinct explanation of the implications of the findings, particularly in relation to previous related studies and potential future directions for research.

PLOS ONE editorial decisions do not rely on perceived significance or impact, so authors should avoid overstating their conclusions.

References

Any and all available works can be cited in the reference list. Acceptable sources include:

- Published or accepted manuscripts
- Manuscripts on preprint servers, if the manuscript is submitted to a journal and also publicly available as a preprint

Do not cite the following sources in the reference list:

- Unavailable and unpublished work, including manuscripts that have been submitted but not yet accepted (e.g., “unpublished work,” “data not shown”). Instead, include those data as supplementary material or deposit the data in a publicly available database.
- Personal communications (these should be supported by a letter from the relevant authors but not included in the reference list)

References are listed at the end of the manuscript and numbered in the order that they appear in the text. In the text, cite the reference number in square brackets (e.g., “We used the techniques developed by our colleagues [19] to analyze the data”). PLOS uses the numbered citation (citation-sequence) method and first six authors, et al.

Do not include citations in abstracts or author summaries.

Make sure the parts of the manuscript are in the correct order before ordering the citations.

Formatting references

Because all references will be linked electronically as much as possible to the papers they cite, proper formatting of the references is crucial.

PLOS uses the reference style outlined by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), also referred to as the “Vancouver” style. Example formats are listed below. Additional examples are in the ICMJE sample references.

A reference management tool, EndNote, offers a current style file that can assist you with the formatting of your references. If you have problems with any reference management program, please contact the source company's technical support.

Figures and Tables

Figures

Do not include figures in the main manuscript file. Each figure must be prepared and submitted as an individual file.

Cite figures in ascending numeric order upon first appearance in the manuscript file.

Read the guidelines for figures.

Figure captions

Figure captions must be inserted in the text of the manuscript, immediately following the paragraph in which the figure is first cited (read order). Do not include captions as part of the figure files themselves or submit them in a separate document.

At a minimum, include the following in your figure captions:

- A figure label with Arabic numerals, and “Figure” abbreviated to “Fig” (e.g. Fig 1, Fig 2, Fig 3, etc). Match the label of your figure with the name of the file uploaded at submission (e.g. a figure citation of “Fig 1” must refer to a figure file named “Fig1.tif”).
- A concise, descriptive title

The caption may also include a legend as needed.

Read more about figure captions.

Tables

Cite tables in ascending numeric order upon first appearance in the manuscript file.

Place each table in your manuscript file directly after the paragraph in which it is first cited (read order). Do not submit your tables in separate files.

Tables require a label (e.g., “Table 1”) and brief descriptive title to be placed above the table. Place legends, footnotes, and other text below the table.

Classificação Qualis

Periódicos			
ISSN	Título	Área de Avaliação	Classificação
1932-6203	Plos One	CIÊNCIA DE ALIMENTOS	A1
1932-6203	Plos One	FARMÁCIA	A2
1932-6203	Plos One	INTERDISCIPLINAR	A1

REVISTA JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY

Normas de publicação**MANUSCRIPT PREPARATION**

Manuscript Format. Manuscripts must be prepared using accepted word-processing software, and all parts must be double-spaced. All pages must be numbered consecutively starting with the title page and including tables and figures. Lines in the abstract and text should be numbered consecutively from beginning to end in a separate column at the left. Do not put line numbers on pages with tables or figures. A standard font, in a size of 12 points or greater, must be used. The Journal has a 20 typed page limit, not including references, tables, and figures. Authors must request approval from the Editor in Chief to submit manuscripts exceeding 20 typed pages. Standard American English usage is required. Authors who are not familiar with standard American English are urged to seek assistance; deficiencies in grammar may be a serious hindrance during the review process. Assistance with Improving Your Manuscript. Authors may want professional assistance with improving the English, figures, or formatting in their manuscript before submission. ACS ChemWorx Authoring Services can save you time and improve the communication of research in your manuscript. You can learn more about the services offered at <http://es.acschemworx.acs.org>. The ACS Style Guide (3rd ed., 2006; ISBN 0-8412-3999-1), available from Oxford University Press, Order Department, 201 Evans Road, Cary, NC 27513, provides a detailed treatment of the fundamentals of manuscript preparation. Refer to a current issue of the Journal for general style. The style guide is also available at the Journal's Web site and through ACS ChemWorx. The various sections of the manuscript should be assembled in the following sequence: Title and authorship (single page) Abstract and keywords (single page) Introduction Materials and Methods (including Safety information) Results/Discussion Abbreviations Used Acknowledgment Supporting Information description References Figure captions Tables Figure graphics Graphic for table of contents

TITLE, AUTHORSHIP, AND KEYWORDS The title, authorship, and institutional affiliations should be included on a single page. **Title.** The title should be specific, informative, and concise. **Keywords** in the title assist in effective literature retrieval. If a plant is referred to in the title or elsewhere in the text by its common or trivial name, it should be identified by its scientific name in parentheses immediately following its first occurrence. This term should also be provided as one of the keywords. If trade names are mentioned, give generic names in parentheses.

Authorship. Be consistent in authorship designation on the manuscript and on all correspondence. First name, middle initial, and last name are generally adequate for correct identification, but omit titles. Give the complete mailing address of all institutions where work was conducted and identify the affiliation of each author. If the current address of an author is different, include it in a footnote on the title page. The name of the author to whom inquiries about the paper should be addressed must be marked with an asterisk; provide the telephone and e-mail address of this correspondent. **Keywords.** Provide significant keywords to aid the reader in literature retrieval. The keywords are published immediately before the text, following the abstract.

ABSTRACT Authors' abstracts are used directly for Chemical Abstracts. The abstract should be a clear, concise (100–150 words), one-paragraph summary, informative

rather than descriptive, giving scope and purpose, experimental approach, significant results, and major conclusions. Write for literature searchers as well as journal readers. **INTRODUCTION** Discuss relationships of the study to previously published work, but do not reiterate or attempt to provide a complete literature survey. Use of Chemical Abstracts/Scifinder and other appropriate databases is encouraged to ensure that important prior publications or patents are cited and that the manuscript does not duplicate previously published work. The purpose or reason for the research being reported, and its significance, originality, or contribution to new knowledge in the field, should be clearly and concisely stated. Current findings should not be included or summarized in this section.

MATERIALS AND METHODS Authors are required to call special attention in their manuscripts to safety considerations such as explosive tendencies, special precautionary handling procedures, and toxicity. Apparatus, reagents, and biological materials used in the study should be incorporated into a general section. List devices of a specialized nature or instruments that may vary in performance, such that the model used may affect the quality of the data obtained (e.g., spectroscopic resolution). List and describe preparation of special reagents only. Reagents normally found in the laboratory and preparations described in standard handbooks or texts should not be listed. Specify the source, vendor [city and state (or city and country if non-U.S.)], and availability of special equipment, reagents, kits, etc. Do not include catalog numbers. Biological materials should be identified by scientific name (genus, species, authority, and family) and cultivar, if appropriate, together with the site from which the samples were obtained. Specimens obtained from a natural habitat should be preserved by deposit of samples in a herbarium for plants or in a culture collection for microorganisms, with a corresponding collection or strain number listed. Manuscripts describing studies in which live animals or human subjects are used must include a statement that such experiments were performed in compliance with the appropriate laws and institutional guidelines and also name the institutional committee that approved the experiments. Authors are encouraged to note the approval code or number or give the name of the approving office or official. (See Reporting Specific Data: Animal or Human Studies.) Manuscripts reporting data from inhumane treatment of experimental animals will be rejected. Specific experimental methods should be sufficiently detailed for others to repeat the experiments unequivocally. Omit details of procedures that are common knowledge to those in the field. Brief highlights of published procedures may be included, but details must be left to the References, and verbatim repeat of previously published methods, even if done by the authors, will not be permitted unless a quotation from a published work is included, and placed in quotation marks, with the reference to the source included at the end of the quotation. Describe pertinent and critical factors involved in reactions so the method can be reproduced, but avoid excessive description. For information on the reporting of certain types of data see Reporting Specific Data. Describe statistical design and methods in this section.

RESULTS AND DISCUSSION

Results and discussion may be presented in separate sections or combined into a single section, whichever format conveys the results in the most lucid fashion without redundancy. Be complete but concise in discussing findings, comparing results with previous work and proposing explanations for the results observed. All data must be accompanied by appropriate statistical analyses, including complete information on sampling, replication, and how the statistical method employed was chosen. Avoid comparisons or contrasts that are not pertinent, and avoid speculation unsupported by

the data obtained. A separate summary or conclusion section is not to be used; any concluding statements are to be incorporated under Results and Discussion.

ABBREVIATIONS AND NOMENCLATURE Standard abbreviations, without periods, should be used throughout the manuscript. Refer to The ACS Style Guide for the preferred forms of commonly used abbreviations. Specialized abbreviations may be used provided they are placed in parentheses after the word(s) for which they are to substitute at first point of use and are again defined in this section. Avoid trivial names and “code” abbreviations (e.g., NAR for naringenin) unless such codes are in common usage (e.g., MTBE for methyl tert-butyl ether). If trade names are used, define at point of first use. If nomenclature is specialized, include a “Nomenclature” section at the end of the paper, giving definitions and dimensions for all terms. Use SI units insofar as possible. Refer to The ACS Style Guide for lists of SI units and a discussion of their use. Write all equations and formulas clearly and number equations consecutively. Place superscripts and subscripts accurately; avoid superscripts that may be confused with exponents. Identify typed letters and numbers that might be misinterpreted, such as “oh” for zero or “ell” for one. Chemistry numbering requiring primes should be identified as such (i.e., 3,3'-dihydroxy-), not by an apostrophe (e.g., 3,3'-dihydroxy-). It is the authors' responsibility to provide correct nomenclature. Structures should be included for uncommon chemicals, particularly when the systematic or common name is too complex or unclear to readily denote the structure. Such structures should be included as a figure or table. All nomenclature must be consistent and unambiguous and should conform to current American usage. Insofar as possible, authors should use systematic names similar to those used by Chemical Abstracts Service, the International Union of Pure and Applied Chemistry, and the International Union of Biochemistry and Molecular Biology. Chemical Abstracts (CA) nomenclature rules are described in Appendix IV of the Chemical Abstracts Index Guide. For CA nomenclature advice, consult the Manager of Nomenclature Services, Chemical Abstracts Service, P.O. Box 3012, Columbus, OH 43210-0012. A name generation service is available for a fee through CAS Client Services, 2540 Olentangy River Road, P.O. Box 3343, Columbus, OH 43210-0334 [telephone (614) 447-3870; fax (614) 447-3747; e-mail answers@cas.org]. In addition, the ACS Web site has links to nomenclature recommendations at <http://chemistry.org>.

FUNDING SOURCES When submitting a manuscript to the Journal via ACS Paragon Plus, the submitting author is asked to identify the funding sources for the work presented in the manuscript. Identifying funding sources is optional during submission of an original manuscript. Funding source information is required when a revised manuscript is submitted. Funding should be acknowledged in a separate statement (not in the Acknowledgment paragraph).

REFERENCES Consult The ACS Style Guide and current issues of the Journal for examples of reference format. Authors should cite all prior published work directly pertinent to the manuscript. To demonstrate that the submitted manuscript meets sufficient interest of the readership of the journal, it is expected that articles recently published on the respective topic in the Journal of Agricultural and Food Chemistry be cited to a reasonable extent. As a general guideline, authors should attempt to limit the literature cited to approximately 50 or fewer citations (except for review or perspective manuscripts). Authors are responsible for the accuracy of their references. References taken from a review or other secondary source should be checked for accuracy with the primary source. References should be listed on a separate page and numbered in the order in which they are cited in the text. References should be cited in the text by superscript numbers, for example, 1,2–5, etc. Give complete information, using the last

name and initials of the author, patentee, or equivalent; do not use "Anonymous". Follow Chemical Abstracts Service Source Index for abbreviations of journal titles. Because subscribers to the Web edition of the Journal are now able to click on the "Chemport" or other tag following each reference to retrieve the corresponding abstract from various Web resources, reference accuracy is critical.

Typical references follow the styles given below. For journals: 1. Brown, J.; Jones, M.; Green, D. Article title. *J. Agric. Food Chem.* 1980, 28, 1–4. (Issue number must be used if each issue of the periodical begins with page 1.) For books: 2. Smith, L.; Caldwell, A. Chapter title. In *Book Title*, edition no.; Keys, F., Park, G., Eds.; Publisher: City, State (or Country if non-U.S.), Year; Vol. no., pp. For Web pages: 3. Black, A.; White, B. Page title. URL (<http://...>) (most recent access date).

Papers should not depend for their usefulness on unpublished material, and excessive reference to material "in press" is discouraged. Reference to the authors' own unpublished work is permitted if the subject is of secondary importance to the manuscript in question, but any unpublished results of central importance must be described in sufficient detail within the manuscript. If pertinent references are "in press" or unpublished for any reason, furnish copies to enable reviewers to evaluate the manuscript. An electronic copy of these materials should be uploaded according to the directions for review-only Supporting Information. "In press" references should include the Digital Object Identifier (DOI) assigned by the potential publisher.

TABLES AND ARTWORK The tables and graphics (illustrations) should be inserted in the manuscript file after the References section. Do not upload tables and graphics that are to be published with the manuscript as Supporting Information files. Tables and figures should be carefully designed to maximize presentation and comprehension of the experimental data with superfluous information excluded. Useful information not directly relevant to the discussion may be included under Supporting Information. **Tables.** Tables may be created using a word processor's text mode or table format feature. The table format feature is preferred. Ensure each data entry is in its own table cell. Lower case should be used for all table entries unless a capital letter is required. If the text mode is used, separate columns with a single tab and use a line feed (enter) at the end of each row. Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals and should be grouped after the figure captions. Footnotes in tables should be given letter designations and be cited in the table by italic superscript letters. The sequence of letters should proceed by row rather than by column. Each table should be provided with a descriptive heading, which, together with the individual column headings, should make the table, as nearly as possible, self-explanatory. In setting up tabulations, authors are requested to keep in mind the type area of the journal page (17.8 × 25.4 cm), and the column width (8.5 cm), and to make tables conform to the limitations of these dimensions. Arrangements that leave many columns partially filled or that contain much blank space should be avoided. Conversely, arrangements that include >20 columns should be broken into two tables if possible. If significance of values is to be indicated, use a lower case letter, on line, one space after the value.

Figures and Artwork. The preferred submission procedure is to embed graphic files in a Word document. It may help to print the manuscript on a laser printer to ensure all artwork is clear and legible. Artwork should be sequentially numbered using Arabic numbers. Schemes and charts may have titles and footnotes; figures should have captions. Insert the captions following the References and the graphics after the Tables. Additional acceptable file formats are TIFF, PDF, EPS (vector artwork), or CDX (ChemDraw file). If submitting individual graphic files in addition to their being embedded in a Word document, ensure the files are named according to graphic

function (i.e., Scheme 1, Figure 2, Chart 3), not the scientific name. Labeling of all figure parts should be present, and the parts should be assembled into a single graphic. For EPX files, ensure that all fonts are converted to outlines or embedded in the graphic file. The document setting should be in RGB mode. Note: Although EPS files are accepted, the vector-based graphics will be rasterized for production. Please see below for TIFF file production resolutions. TIFF files (either embedded in a Word document or submitted as individual files) should have the following resolution requirements: black and white line art, 1200 dpi; grayscale art (a monochromatic image containing shades of gray), 600 dpi; color art (RGB color mode), 300 dpi. The RGB and resolution requirements are essential for producing high-quality graphics within the published paper. Graphics submitted in CMYK or at lower resolution may be used; however, the colors may not be consistent. Graphics of poor quality may not be able to be improved. Most graphic programs provide an option for changing the resolution when images are saved. Best practice is to save the graphic file at the final resolution and size using the program used to create the graphic. For bar charts, bars with hatching patterns generally reproduce well. Bars that range in shading from light to dark gray to black can usually be reproduced successfully, although we do not recommend any more than two shades of gray. A legend needs to be included within the figure itself rather than the patterns or shades included in the caption. For manuscripts containing gel patterns, use of a high-resolution digital scanner is recommended. Only high-quality original, unaltered digital reproductions will allow reviewers to correctly verify the experimental results. For an example of gel patterns see *J. Agric. Food Chem.*, 2012, 60 (18), 4492–4499 (DOI: 10.1021/jf300563n). Only readable and accurately represented images are acceptable; the Editors reserve the option to reject images that do not satisfactorily support points made in the manuscript or that are not of satisfactory quality for publication. The quality of the illustrations published in the Journal largely depends on the quality of the originals provided. Figures cannot be modified or enhanced by the journal production staff. Contrast is important. Each figure or photograph should be properly labeled. Graphics should be sized at the final production size when possible. Single-column graphics are preferred and can be sized up to 240 points (3.33 in.). Double-column graphics must be sized between 300 and 504 points (4.167 in. and 7 in.). All graphics have a maximum depth of 660 points (9.167 in.) including the caption (please allow 12 points for each line of caption text). Consistently sizing letters and labels in graphics throughout the manuscript will help to ensure consistent graphic presentation for publication. Lettering should be no smaller than 4.5 points. (Helvetica or Arial type works well for lettering.) Lines should be no thinner than 0.5 point. Lettering and lines should be of uniform density. Avoid the use of very large and very small lettering within the same figure. If artwork that must be reduced will be submitted, use larger lettering and thicker lines so that, when reduced, the artwork meets the above-mentioned parameters. Avoid using complex textures and shading to achieve a three-dimensional effect. To show a pattern, choose a simple crosshatch design. Color illustrations should be submitted only if they are essential for clarity of communication. Reproduction of color illustrations will be provided at no cost to the author. Do not submit color prints to be printed in black and white. Structural Formulas. Structural formulas should be included for all new chemicals and for existing chemicals for which chemical nomenclature and/or trivial names do not convey the structure adequately. Structural formulas are valuable in expressing concisely the precise nature of the compounds under discussion and revealing the essence of the subject to readers unfamiliar with the topic, without their necessary recourse to reference materials. The use of chemical names without

accompanying structures may cause readers to overlook the significance of the paper. Structures should be produced with the use of a drawing program such as ChemDraw.

TABLE OF CONTENTS GRAPHICS Authors of research articles, perspectives, and reviews are required to include a suitable graphic for publication in the table of contents (TOC) in the Web edition of the Journal. Submission of this graphic is mandatory. This graphic should capture the reader's attention and, in conjunction with the manuscript's title, give the reader a quick visual impression of the type of chemistry described. Structures should be constructed as specified under Structural Formulas above. The TOC graphic may be up to 3.25 in. (8.5 cm) wide and 1.75 in. (4.75 cm) tall. (See detailed instructions at the Paragon Plus Web site.) Text should be limited to labels for compounds, reaction arrows, and figures. The use of color to enhance the scientific value is encouraged. The TOC graphic should be inserted on a separate page at the end of the manuscript file. A guide to TOC graphics is available here: (http://pubs.acs.org/paragonplus/submission/toc_abstract_graphics_guidelines.pdf).

Classificação Qualis

Periódicos			
ISSN	Título	Área de Avaliação	Classificação
0021-8561	Journal of Agricultural and Food Chemistry	CIÊNCIA DE ALIMENTOS	A2
0021-8561	Journal of Agricultural and Food Chemistry	FARMÁCIA	A2
0021-8561	Journal of Agricultural and Food Chemistry	INTERDISCIPLINAR	A1

COMPROVANTE DE SUBMISSÃO A REVISTA AFRICAN JOURNAL OF
AGRICULTURAL RESEARCH



Bruna Cabral Reis <brunacabralreis@gmail.com>

Manuscript Update On AJAR/02.09.16/11653: Current Status - Submitted

African Journal of Agricultural Research <ajar@academicjournals.org>
Para: brunacabralreis@gmail.com

2 de setembro de 2016 01:58

African Journal of Agricultural Research

Dear Mrs REIS CABRAL

Your manuscript has been forwarded to our Editorial Office. An acknowledgement letter will be sent to you shortly. Please track your manuscripts on ms.academicjournals.me

Date	02-Sep-2016
Manuscript Number	AJAR/02.09.16/11653
Manuscript Title	BIOMETRICS AND MATURITY OF EXOTIC FRUIT OF CERRADO OF THE FEDERAL DISTRICT AND SURROUNDING
Current Status	Submitted



[View Archive](#)

academicJournals

Contacts Us

Editorial Office: ajar@academicjournals.org

Accounts Unit: accounts@academicjournals.org

Help Desk: helpdesk@academicjournals.org

Submit manuscripts: ms.academicjournals.me/

Website: www.academicjournals.org/

Thank you for submitting your manuscript to the
African Journal of Agricultural Research