

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIANA BURANELO EGEA

FRUTOS NATIVOS DA FLORESTA ATLÂNTICA COM POTENCIAL DE
MAIOR UTILIZAÇÃO PELA POPULAÇÃO E PELA INDÚSTRIA:
CARACTERIZAÇÃO NUTRACÊUTICA E AROMÁTICA

Curitiba

2014

MARIANA BURANELO EGEA

FRUTOS NATIVOS DA FLORESTA ATLÂNTICA COM POTENCIAL DE
MAIOR UTILIZAÇÃO PELA POPULAÇÃO E PELA INDÚSTRIA:
CARACTERIZAÇÃO NUTRACÊUTICA E AROMÁTICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, como requisito exigido para a obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Aducto Bellarmino de Pereira Netto

Curitiba

2014

Egea, Mariana Buranelo

Frutos nativos da floresta atlântica com potencial de maior utilização pela população e pela indústria: caracterização nutracêutica e aromática / Mariana Buranelo Egea. – Curitiba, 2014

136 f. : il.; tabs.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Aducto Bellarmino de Pereira Netto

Bibliografia: p. 101 - 121

1. Compostos bioativos. 2. Antioxidantes. 3. Frutas - Aroma
I. Pereira Netto, Aducto Bellarmino. II. Título.

CDD 664

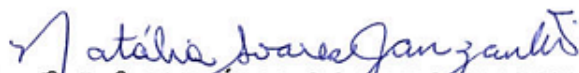
MARIANA BURANELO EGEA

**FRUTOS NATIVOS DA FLORESTA ATLÂNTICA COM
POTENCIAL DE MAIOR UTILIZAÇÃO PELA POPULAÇÃO E
PELA INDÚSTRIA: CARACTERIZAÇÃO NUTRACÊUTICA E
AROMÁTICA**

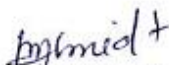
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



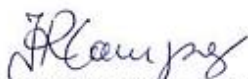
Orientador: Prof. Dr. ADAUCTO BELLARMINO DE PEREIRA NETTO
Setor de Ciências Biológicas, UFPR



Prof.ª Dr.ª NATÁLIA SOARES JANZANTTI
Campus São José do Rio Preto, UNESP



Prof.ª Dr.ª IARA MESSERSCHMIDT
Setor de Ciências Exatas, UFPR



Prof.ª Dr.ª FRANCINETE RAMOS CAMPOS
Setor de Ciências da Saúde, UFPR



Prof.ª Dr.ª BEATRIZ HELENA LAMEIRO NORONHA SALES MAIA
Setor de Ciências Exatas, UFPR

Curitiba, 09 de dezembro de 2014.

Dedico este trabalho a toda minha família que constitui meu alicerce para a vida.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelo apoio financeiro e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, pela oportunidade de aprimoramento profissional.

Ao meu orientador Prof. Dr. Adauto Bellarmino de Pereira Netto pela orientação.

Ao Laboratorio de Analisis de Aroma y Enología (LAEE), nas pessoas dos professores, Dr. Juan Cacho e Dr. Vicente Ferreira pela oportunidade do estágio no exterior. Ao prof. Dr Ricardo Lopez pela atenciosa ajuda, sem a qual seria impossível a execução desta pesquisa e pelas valiosas sugestões. Aos meus colegas de laboratório que constituíram a minha equipe sensorial e que cederam preciosas horas dos seus dias para a realização dessa etapa: Arancha de La Fuente, Julián Zapata, Belen Concejero, Ignacio Ontoñon, Vanesa Carrascón, Monica, Paula, Ernesto Franlu. E também pelos momentos de estudos e descontração.

Aos meus pais, Luis e Matilde, e ao meu sobrinho, Samuel, por se envolverem, inclusive fisicamente (na coleta de amostras) e me apoiarem nos momentos de dificuldade. Ao meu pai, por me ensinar o conceito de certo e errado. A minha mãe por seus ensinamentos de paciência e fé. Ao meu sobrinho, pela sua existência e proporcionar a jovem oportunidade de saber o que é educar.

Ao Lucas Martins Ferreira por todo carinho, amor, força e compreensão em momentos difíceis e por ter abdicado dos momentos de lazer para me auxiliar em todas as etapas deste trabalho.

À minha prima e amiga Juciellen Salvador Buranelo pela irmandade e toda a paciência dedicadas aos momentos complexos envolvidos ao longo destes anos.

À minha amiga Luciana Pereira Lobato pelos magníficos ensinamentos para a vida pessoal e profissional.

Aos meus amigos de longa data pelo apoio, incentivo e puxões de orelha: Ailton Cesar Lemes, Karla Batista de Aleluia, Daniela Pereira e Luciane Yoshiara.

As minhas amigas Ana Mery Oliveira, Carol Leivas, Dayse Bartolomeu e Janaína Fernanda pelos diversos momentos de diversão, pelos ensinamentos e carinho.

As minhas queridíssimas de outra naturalidade Jordana Prado, Gabriela Santana, Iara Reis, Fabiana Romão e Ana Paula Costa que me motivaram com o amor e o carinho na simplicidade do dia a dia.

Aos meus colegas de trabalho que se tornaram amigos da jornada da vida Jéferson Moreto e Aline Pedrosa pelo suporte emocional e pela diversão envolvida em cada dificuldade. Com vocês aprendi que podemos ter um pouco de tudo.

Ao Marcelo Zadorecki, técnico do laboratório e parceiro nas longas horas para o desenvolvimento deste trabalho.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho ou mesmo para incentivar a realização dele meu Muito Obrigada!

“Be the change you want to see in the world.”

Mahatma Gandhi

RESUMO

A Mata Atlântica é um dos 25 ecossistemas biologicamente mais ricos e ameaçados do mundo. Este ecossistema é rico em frutos exóticos que possuem cor, sabor e aroma atrativos para a indústria de alimentos. O objetivo deste trabalho foi caracterizar os compostos bioativos e a atividade antioxidante durante os estádios de amadurecimento e o perfil aromático após o amadurecimento dos frutos de araçá amarelo e vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine), butiá (*Butia eriospatha* (Martius) Beccari), gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg.), uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess). Com os resultados obtidos foi possível perceber que todas as polpas de frutos nativos da Floresta Atlântica apresentaram alto teor de compostos fenólicos (2000 - 7000 mg GAE.100 g⁻¹) exceto para a polpa de butiá, em todas as polpas de frutos o teor de compostos fenólicos totais foi reduzindo progressivamente durante o amadurecimento (do estágio verde para o estágio maduro). Quanto aos compostos bioativos analisados, todas as polpas dos frutos apresentaram diminuição do teor de clorofila total ao longo do amadurecimento. A polpa de frutos de gabioba apresentou o maior teor de carotenoides totais e de atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS dentre os frutos analisados. A polpa de frutos de araçá vermelho destacou-se pelo aumento de 12 vezes no conteúdo de antocianinas totais durante o amadurecimento. Quanto ao perfil aromático, o aroma dos frutos de araçá foi o resultado da interação de 23 compostos odorantes entre as 2 variedades, sendo os compostos predominantes os aldeídos e cetonas, entre os quais (*Z*)-3-hexenal como o mais intenso no aroma (84 e 82 % de FM para polpa de frutos de araçá amarelo e araçá vermelho, respectivamente). Monoterpenos oxigenados e 1,8-cineol foram detectados em ambas as variedades de araçá e ainda, linalol em araçá vermelho mostraram-se importantes na composição do aroma percebido destes frutos. Foram encontrados, 24, 16 e 16 compostos no aroma da polpa dos frutos de butiá, gabioba e uvaia, respectivamente. Grande parte dos compostos encontrados para o aroma da polpa de frutos de butiá foram ésteres, inclusive o composto encontrado com maior intensidade com FM de 84%, identificado como hexanoato de etila. No aroma de frutos de gabioba, o acetato de 3-mercaptoexila foi encontrado como odorante com maior intensidade (93% FM). No aroma da polpa de frutos de uvaia o composto de maior intensidade foi o furaneol (88% FM), seguido pela (*Z*)-1,5-octen-3-ona (82% FM). No geral, as polpas de frutos apresentaram alta atividade antioxidante e quantidade de compostos de interesse para a saúde humana, demonstrando o seu grande potencial para enriquecimento da dieta humana com compostos benéficos para a saúde. Os compostos de aroma da polpa de frutos de butiá e gabioba não haviam sido estudados, além disso este trabalho possibilitou adicionar informações sobre o aroma de frutos de araçá amarelo, vermelho e uvaia. Os resultados obtidos para o aroma, compostos bioativos e atividade antioxidante dos frutos nativos da Floresta Atlântica poderão contribuir para uma maior utilização desses frutos pela indústria de alimentos e conseqüentemente, para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica.

Palavras-Chave: compostos bioativos, atividade antioxidante, compostos de aroma, olfatometria.

ABSTRACT

The Atlantic Forest is one of 25 ecosystem richest and most threatened in the world. This ecosystem is rich in exotic fruits that have color, flavor and attractive aroma for the food industry. The aim of this work was to characterize the bioactive compounds and antioxidant activity during the stages of ripening and the aromatic profile after ripening of the lemon and strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine), butia (*Butia eriospatha* (Martius) Beccari), gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg.) e uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess). All the native fruits to the Atlantic Forest showed high phenolic content (2000 - 7000 GAE.100 mg g⁻¹) and except to butia fruits the phenolic content was progressive reduced during the ripening process (unripening fruits to ripening fruits). The total chlorophyll content decreased throughout the ripening of the all native fruits studied in this work. The gabioba fruits showed the highest content of total carotenoids and higher antioxidant activity by DPPH and ABTS methods among the analyzed fruits. The strawberry guava fruits showed an increase of 12 times in the total anthocyanins content during the ripening process. The aroma profile of lemon and strawberry guavas is due to the result of interaction of approximately 23 odorant compounds among two varieties, dominated by the presence of aldehydes and ketones and the (*Z*)-3-hexenal is more important odorant (84 and 82 % MF to lemon and strawberries guavas, respectively). Monoterpenes oxygen and 1,8-cineol were detected in both varieties of guavas and, linalool in strawberry guava proved important in aroma composition perceived these fruits. For the butia fruit were found 24 compounds in the aroma profile, while the gabioba and uvaia fruits presented the same amount of compounds (16 adorous compounds in each fruit). The class of compounds found more frequently for fruit pulp of butiá was ester and the compound with higher intensity was ethyl hexanoate (84 % MF). In gabioba fruits the more intensity of aroma compound were the 3-mercaptohexyl acetate (93 % MF). For the uvaia fruit the furaneol was the compound with higher intensity (88 % MF), followed by (*Z*)-1.5-octen-3-one (82 % MF). In general, the fruits presented high antioxidant activity and high quantity of bioactive compounds of interest in human health. Compounds of aroma butia pulp and gabioba pulp were not studied and this work added information about the aroma of two varieties of guavas pulps (lemon and strawberry) and uvaia. The results obtained for the aroma, bioactive compounds and antioxidant activity of fruits native to the Atlantic Forest could contribute to the increased consume of these fruits by the food industry and also for biodiversity conservation in the Atlantic Forest.

Key-words: bioactive compounds, antioxidant activity, aroma compounds, olfactometry.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESTRUTURA BÁSICA DOS FLAVONOIDES.....	30
FIGURA 2 - ESTRUTURA DO CÁTION FLAVÍLICO (A) E ESTRUTURA DA ANTOCIANIDINA (B)	31
FIGURA 3 - ESTRUTURA QUÍMICA DA CLOROFILA A.....	33
FIGURA 4 - ESQUELETO ACÍCLICA DO LICOPENO	33
FIGURA 5 - ESTRUTURA DICÍCLICA DO β -CAROTENO.....	33
FIGURA 6 - CROMATÓGRAFO EM FASE GASOSA (1) INJETOR; (2) CRONÓMETRO; (3) SNIFFING PORT - ODO.....	42
FIGURA 7 - ESTÁDIOS DE AMADURECIMENTO DE FRUTOS DE ARAÇÁ AMARELO. DA DIREITA PARA A ESQUERDA: ESTÁDIO 1, ESTÁDIO 2, ESTÁDIO 3 E ESTÁDIO 4.	57
FIGURA 8 - FRUTOS DE UVAIA DURANTE O AMADURECIMENTO: A - ESTÁDIO 1; B - ESTÁDIO 2; C - ESTÁDIO 3; D - ESTÁDIO 4.....	57
FIGURA 9 - FRUTOS DE ARAÇÁ VERMELHO. A - ESTÁDIO 1; B - ESTÁDIO 2; C - ESTÁDIO 3; D - ESTÁDIO 4.	57
FIGURA 10 - VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DURANTE O AMADURECIMENTO DE FRUTOS DE ARAÇÁ AMARELO (x), ARAÇÁ VERMELHO (Δ), BUTIÁ (\square), GABIROBA (\circ) E UVAIA (\diamond) (mg DE ÁCIDO GÁLICO.100g ⁻¹ DE MATÉRIA SECA).	59
FIGURA 11 - VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE MEDIDA PELO MÉTODO DPPH DURANTE O AMADURECIMENTO DE FRUTOS DE ARAÇÁ AMARELO (x), ARAÇÁ VERMELHO (Δ), BUTIÁ (\square), GABIROBA (\circ , inserto) E UVAIA (\diamond).	62
FIGURA 12 - VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE MEDIDA PELO MÉTODO DE ABTS DURANTE O AMADURECIMENTO DE FRUTOS DE ARAÇÁ AMARELO (x) ARAÇÁ VERMELHO (Δ), BUTIÁ (\square), GABIROBA (\circ) E UVAIA (\diamond) (mM TROLOX EQUIVALENTE.100g ⁻¹ MS).	63
FIGURA 13 - SISTEMA DE <i>PURG-AND-TRAPE</i> UTILIZADO PARA A EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ODORÍFEROS NESTE TRABALHO.....	79
FIGURA 14 - FICHA UTILIZADA PARA O TESTE TRIANGULAR DAS POLPAS DE ARAÇÁ AMARELO E VERMELHO.....	83
FIGURA 15 - FICHA UTILIZADA NA ANÁLISE SENSORIAL PARA A DESCRIÇÃO LIVRE DAS POLPAS DE ARAÇÁ AMARELO E VERMELHO PELOS JULGADORES.....	83
FIGURA 16 - FICHA UTILIZADA NA ANÁLISE SENSORIAL PARA CONFIRMAR OS PADRÕES DOS DESCRITORES ANTERIORMENTE ESCOLHIDOS PELOS JULGADORES.....	83
FIGURA 17 - FICHA UTILIZADA NA ANÁLISE SENSORIAL PARA TREINAR OS JULGADORES NAS DIFERENTES INTENSIDADES DOS PADRÕES ANTERIORMENTE ESCOLHIDOS.....	84
FIGURA 18 - FICHA UTILIZADA NA ANÁLISE SENSORIAL PARA PARA IDENTIFICAR A INTENSIDADE DE CADA DESCRITOR ANTERIORMENTE ESCOLHIDO PELOS JULGADORES.....	84

FIGURA 19 - GRÁFICO ARANHA DE INTENSIDADE DOS DESCRITORES ENCONTRADOS NA POLPA DE ARAÇÁ AMARELO E VERMELHO PELO PAINEL SENSORIAL.	86
FIGURA 20 - ESPECTRO DE MASSAS DO COMPOSTO NÃO IDENTIFICADO LRI DB-WAX 1640 E VF-5MS 1111	91
FIGURA 21 - CLASSES DE COMPOSTOS CONSTITUINTES DO AROMA ENCONTRADAS NOS FRUTOS DE BUTIÁ, GABIROBA E UVAIA. .	95

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – GÊNERO, ESPÉCIE, LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA DE ARAÇÁ AMARELO, ARAÇÁ VERMELHO, BUTIÁ, GABIROBA, E UVAIA.....	48
TABELA 2 - VARIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE COR DO EPICARPO NOS FRUTOS DE ARAÇÁ AMARELO, VERMELHO, BUTIÁ, GABIROBA E UVAIA EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE AMADURECIMENTO.....	55
TABELA 3 - COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE PEARSON (r) ENTRE OS COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ARAÇÁ AMARELO, ARAÇÁ VERMELHO, BUTIÁ, GABIROBA E UVAIA.	65
TABELA 4 – CONTEÚDO DE FLAVONOIDES TOTAIS, ANTOCIANINAS TOTAIS, CAROTENOIDES TOTAIS, CLOROFILA TOTAL DE FRUTOS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE AMADURECIMENTO	68
TABELA 5 - PADRÕES UTILIZADOS COMO REFERÊNCIA DE AROMA NA ANÁLISE SENSORIAL	84
TABELA 6 - ÍNDICE DE RETENÇÃO LINEAR NAS COLUNAS CROMATÓGRAFICAS, DESCRITORES OLFATOMETRICOS, IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS E FM (%) DOS ODORANTES ISOLADOS DO HEADSPACE DAS POLPAS DE ARAÇÁ AMARELO E VERMELHO.....	89
TABELA 7 - CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTOS DE AROMA DO ARAÇÁ AMARELO E VERMELHO	90
TABELA 8 - ÍNDICE DE RETENÇÃO LINEAR NAS COLUNAS CROMATOGRÁFICAS, DESCRITORES OLFATOMETRICOS, IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS E FM (%) DOS ODORANTES ISOLADOS DO HEADSPACE DAS POLPAS DE BUTIÁ, GABIROBA E UVAIA.	93
TABELA 9 - CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTOS DE AROMA DE FRUTOS DE BUTIÁ, GABIROBA E UVAIA.....	95

LISTA DE SIGLAS

ABTS	Ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico)
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional da Vigilância Sanitária
BHT	2,6 Di-test-butil-4-metilfenol
CFT	Compostos fenólicos totais
CG-EM	Cromatografia a gás com espectrômetro de massas
CG-O	Cromatografia a gás-olfatometria
CIE	Commission Internationale de l'Eclairage
DIC	Detector de ionização de chama
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
DRI	Dietary Reference Intake
EQ	Equivalente em quercitina
ERO	Espécie reativa de oxigênio
FD	Fator de diluição
FM	Frequência moderada
GAE	Equivalente em ácido gálico
HDL	Lipoproteína de alta densidade
ISO	International Organization for Standardization
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LRI	Índice de retenção linear
MS	Matéria seca
•NO	Especie reativa óxido nítrico
O ₂ ⁻	Espécie reativa superóxido
OH ⁻	Espécie reativa hidroxila
OONO ⁻	Espécie reativa peróxinitrilo
PAL	Fenilalanina amônia liase
PPO	Polifenol oxidase
SPE	Extração em fase sólida
SPME	Microextração em fase sólida
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
TE	Equivalente em trolox
TROLOX	Ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
1 FLORESTA ATLÂNTICA BRASILEIRA.....	19
2 PROSPECÇÃO BIBLIOGRÁFICA DE ESPÉCIES FRUTÍFERAS DA FLORESTA ATLÂNTICA UTILIZADAS NESTE TRABALHO.....	19
2.1 Araçá.....	20
2.2 Butiá	21
2.3 Gabiroba.....	23
2.4 Uvaia	24
3 ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	25
4 COMPOSTOS BIOATIVOS.....	26
4.1 Compostos Fenólicos	27
4.2 Flavonoides	29
4.3 Clorofilas e carotenoides.....	31
5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	34
5.1 Radicais livres	35
6 AROMA DOS ALIMENTOS.....	37
6.1 Aspectos gerais da determinação do aroma presente nos alimentos	39
6.2 Estudos de determinação de aroma em frutos	42
CAPÍTULO 2 – CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS NUTRACÊUTICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FRUTOS NATIVOS DA FLORESTA ATLÂNTICA EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE AMADURECIMENTO	45
1 INTRODUÇÃO	46
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	47
2.1 Material Vegetal	47
2.2 Caracterização dos estádios de amadurecimento.....	48
2.3 Reagentes.....	49
2.4 Extração da amostra	49
2.5 Determinação de compostos fenólicos totais (CFT).....	50
2.6 Determinação de atividade antioxidante	50
2.7 Determinação de flavonoides totais	51
2.8 Determinação de antocianinas totais	52
2.9 Determinação do teor de carotenoides totais	52
2.10 Determinação do teor de clorofila.....	53
2.11 Análise estatística	53
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	53
3.1 Avaliação da cor nos estádios de amadurecimento	53
3.2 Compostos fenólicos totais (CFT)	58
3.3 Atividade antioxidante	61
3.4 Conteúdo de flavonoides totais	65

3.5	Conteúdo de antocianinas totais	70	
3.6	Conteúdo de carotenoides totais.....	71	
3.7	Conteúdo de clorofila total.....	73	
4	CONCLUSÕES	74	
CAPÍTULO 3 – CARACTERIZAÇÃO DO AROMA DOS FRUTOS NATIVOS DA FLORESTA ATLÂNTICA.....			76
1	INTRODUÇÃO	77	
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	78	
2.1	Reagentes.....	78	
2.2	Material vegetal	78	
2.3	Cromatografia a gás-olfatometria	79	
2.3.1	Preparo do extrato.....	79	
2.3.2	Análise por cromatografia a gás-olfatometria (CG-O)	80	
2.3.3	Identificação por cromatografia bidimensional de compostos não identificados	81	
2.4	Análise sensorial	82	
2.5	Análise quantitativa	85	
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	85	
3.1.	Comparação das características sensoriais das variedades de <i>Psidium cattleianum</i> (araçá amarelo e araçá vermelho)	85	
3.2	Caracterização de compostos constituintes do aroma de frutos de butiá, gabioba e uvaia.....	91	
4	CONCLUSÕES	99	
REFERÊNCIAS.....			101
APÊNDICES.....			122
APÊNDICE A – RESUMOS PUBLICADOS EM ANAIS DE EVENTOS			123
APÊNDICE B – ARTIGO PUBLICADO EM PERIÓDICO			130

1 INTRODUÇÃO GERAL

Existe uma busca por fontes de alimentos especialmente palatáveis e com propriedades benéficas para a saúde humana. Consumidores conscientes da necessidade de cuidados com a saúde e dirigentes da indústria de alimentos tem se engajado em uma busca intensa pela identificação de frutos exóticos que produzam quantidades significativas de compostos conhecidos por promover a saúde humana e que constituam novas fontes de ingredientes alimentícios.

A Floresta Atlântica apresenta 7,5% da sua área original no país e é uma formação florestal bem heterogênea que, com a sua diversidade fez com que este ecossistema fosse considerado como um “*hotspot*” pela “*Conservation internacional*”. A área remanescente divide-se em vários fragmentos, sendo que os de maior área ocorrem nos relevos de mais difícil acesso nas serras costeiras do Sudeste e Sul do Brasil, que não são agricultáveis e por consequência permaneceram preservados. Nestas áreas é possível encontrar uma abundância de frutos que são consumidos, tipicamente em pequena escala, pela população local. Na maioria dos casos estes frutos apresentam cor, sabor e principalmente aromas atrativos e, em alguns casos, são apontados por estudos etnobotânicos como frutos com propriedades nutraceuticas (www.biodiversityhotspots.org; MYERS *et al.*, 2000; SCUDELLER *et al.*, 2001).

Sabe-se que muitos frutos exóticos apresentam compostos conhecidos pela sua atividade antioxidante que ajudam a prevenir doenças (BATTINO *et al.*, 2009; FU *et al.*, 2011; RIBOLI; NORAT, 2003). Dentre eles, estão os compostos fenólicos, como os flavonoides e as antocianinas, e os carotenoides. Estudos recentes mostraram que compostos fenólicos das mais diversas fontes reduzem os níveis de peroxidação lipídica em tecidos como o do fígado, intestinos, rins e cérebro; demonstraram capacidade de aumentar a atividade antioxidante enzimática e ainda, estão associados a prevenção de doenças degenerativas, sobretudo cardiovasculares e cânceres (KASDALLAH-GRISSA *et al.*, 2007; MANACH *et al.*, 2004). Os carotenoides são compostos que desempenham um importante papel na redução do risco de câncer, catarata, arteriosclerose e no processo de envelhecimento (SCHOEFS, 2002). Ainda, alguns carotenoides podem ser precursores de vitamina A (TIAN *et al.*, 2007).

Desta forma, a identificação e a quantificação de compostos nutraceuticos possibilita a caracterização da funcionalidade dos frutos estudados e a divulgação destas propriedades contribui para o aumento do consumo destes frutos e o desenvolvimento de novos produtos pela indústria de alimentos (NETZEL *et al.*, 2007). O processo de amadurecimento de frutos é responsável por inúmeras transformações na composição química que podem ser facilmente identificadas pelas evidentes mudanças na coloração, textura, sabor e aroma (GOUVEIA *et al.*, 2003). Pela grande variedade de frutos existentes na Floresta Atlântica, pouco se sabe sobre as variações nos compostos bioativos destas frutas. O objetivo do Capítulo 1 foi caracterizar os diferentes estádios de amadurecimento quanto a cor do epicarpo e a atividade antioxidante *in vitro* quantificada pelos métodos de ABTS (ácido 2, 2-azino-bis (3 etilbenzotiazolin-6-sulfônico) e DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e a sua correlação com os compostos fenólicos totais, antocianinas, flavonoides, carotenoides, clorofila da polpa dos frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabioba e uvaia.

Além da grande diversidade de frutos exóticos existente nas áreas da Floresta Atlântica, estes frutos muitas vezes consumidos pela população local, possuem aroma atraente para os consumidores (LASEKAN; ABBAS, 2012). Esta percepção do aroma pelo consumidor é definida como a resposta aos compostos voláteis ativos que entram pelas narinas e a percepção de aroma é o resultado da sensação percebida a partir de produtos voláteis que entram pela boca e pelo sistema respiratório (van RUTH, 2001). Pesquisas relacionadas a caracterização de aromas em alimentos são importantes por que a partir delas é possível determinar, dentre os compostos voláteis que os frutos contêm, àqueles que realmente são importantes para a percepção do aroma dos frutos e qual a sua contribuição nesta percepção. Por sua vez, o objetivo do Capítulo 2 foi utilizar a cromatografia a gás-olfatometria (CG-O) e a cromatografia bidimensional aliada ao espectrômetro de massas (CG-O-CG-O-EM) para caracterizar os compostos precursores do aroma dos frutos nativos da Mata Atlântica. Os resultados deste capítulo foram divididos em duas partes. Na primeira parte foram apresentados os resultados obtidos da comparação do aroma da polpa de frutos de duas variedades de araçá obtidos utilizando CG-O e análise sensorial descritiva. Na segunda parte foram apresentados os resultados obtidos da comparação dos compostos ativos no perfil aromático dos frutos de butiá, gabioba e uvaia utilizando CG-O.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar o perfil nutracêutico e aromático de frutos de araçá amarelo e vermelho, butiá, gabioba e uvaia nativos da Floresta Atlântica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar e separar os frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabioba e uvaia por medida instrumental da cor do epicarpo em diferentes estádios de amadurecimento;
- Caracterizar a polpa dos frutos quanto ao teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, antocianinas totais, clorofila total e carotenoides totais durante os estádios de amadurecimento;
- Determinar a atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS nos diferentes estádios de amadurecimento da polpa dos frutos nativos e correlacionar com os teores de compostos bioativos;
- Caracterizar os compostos odoríferos da polpa de frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabioba e uvaia utilizando cromatografia a gás-olfatometria (CG-O);
- Comparar o perfil de compostos odoríferos das variedades de araçá amarelo e vermelho utilizando cromatografia a gás-olfatometria (CG-O) e análise sensorial descritiva;
- Comparar o perfil de compostos odoríferos dos frutos de butiá, gabioba e uvaia utilizando cromatografia a gás-olfatometria (CG-O).

CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 FLORESTA ATLÂNTICA BRASILEIRA

A Floresta Atlântica, estabelecida na costa atlântica brasileira, originalmente se estendia do norte do estado do Rio Grande do Norte ao sul do Rio Grande do Sul representando 1.227.600 km² de área total. Todavia, atualmente restam somente 7,5% da área original, que correspondem a 91.930 km² (MYERS *et al.*, 2000). A Floresta Atlântica é uma formação florestal bem heterogênea, formada por diferentes fisionomias, com alta diversidade florística e riqueza de espécies. A área remanescente, normalmente fragmentos não agricultáveis, ocorre nos relevos de mais difícil acesso nas serras costeiras do Sudeste e Sul do Brasil. A devastação da Floresta Atlântica se iniciou com a exploração do pau-brasil (após a descoberta do Brasil), seguida pelos ciclos da cana-de-açúcar, café e cacau, pela pecuária extensiva, exploração de madeira e carvão vegetal e pela expansão urbana. Por isso é caracterizada como um *hotspots* de conservação internacional (www.biodiversityhotspots.org; SCUDELLER; MARTINS; SHEPHERD, 2001).

Na Floresta Atlântica remanescente é possível encontrar uma abundância de frutos que são consumidos, tipicamente em pequena escala, pela população local. Na maioria dos casos, estes frutos apresentam cor, sabor e aroma característicos e atrativos e, em alguns casos, são apontados por estudos etnobotânicos como frutos com propriedades nutraceuticas. Uma estratégia que tem sido utilizada para a conservação de ecossistemas ameaçados que é a identificação de frutos que podem ser usados de maneira sustentável. Assim, a identificação e utilização de fruteiras nativas encontradas em ecossistemas naturais ameaçados possibilita a melhoria de qualidade de vida da população local, em função do aumento do consumo destes alimentos, contribuindo com a renda dos habitantes em função da comercialização dos mesmos (SCUDELLER; MARTINS; SHEPHERD, 2001).

2 PROSPECÇÃO BIBLIOGRÁFICA DE ESPÉCIES FRUTÍFERAS DA FLORESTA ATLÂNTICA UTILIZADAS NESTE TRABALHO

A família Myrtaceae possui cerca de 140 gêneros, mais de 3000 espécies e os seus dois centros de dispersão são Austrália, sudeste da Ásia, América tropical e temperada. Dentre espécies dessa família, os mais populares como frutos comestíveis no Brasil são araçá, jabuticaba, cabeludinha, gabioba e cambuci, entre outras (JOLY, 1993).

Dentre os gêneros encontrados no Brasil estão *Eugenia*, *Campomanesia*, *Psidium* e *Myrciaria* (CHAVES *et al.*, 2009; DONADIO, 1997).

2.1 ARAÇÁ

A árvore de *Psidium cattleianum* Sabine popularmente conhecida como araçá possui de 1 a 10 metros de altura, alta capacidade de frutificação e boa resistência a doenças e pragas (exceto a mosca dos frutos) (SOUSA; SOBRAL, 2007).

As folhas de *Psidium cattleianum* Sabine são usadas na medicina popular para alívio de dores de dente, de barriga, da garganta ou abdominal (VENDRUSCOLO *et al.*, 2005; VENDRUSCOLO; MENTZ, 2006). Estudos recentes apresentaram que o extrato de folhas de *Psidium cattleianum* Sabine reduz a mestatase em células cancerígenas do pulmão (IM *et al.*, 2012), possui atividade antimicrobiana (BRIGHENTI *et al.*, 2008; COELHO DE SOUZA *et al.*, 2004; DESOTI *et al.*, 2001; GAETTI-JARDIM *et al.*, 2011), combate a cáries em ratos (MENEZES *et al.*, 2010) e atua como analgésico (ALVARENGA *et al.*, 2013).

Os frutos do araçazeiro são ovais ou oblongos, que pesam menos de 20 gramas, são suculentos, de sabor semelhante a goiaba, conhecidos por apresentarem de quatro a sete vezes mais ácido ascórbico quando comparados a frutos cítricos e são muito apreciados pelo homem e pela avifauna (RASEIRA; RASEIRA, 1994). *P. cattleianum* é uma espécie que apresenta grupos de plantas com frutos de coloração amarela (denominados de morfotipo amarelo) e frutos de coloração vermelha (denominados de morfotipo vermelho). Estes frutos são popularmente conhecidos como araçá amarelo e araçá vermelho (SOUSA; SOBRAL, 2007) e desta forma serão tratados neste trabalho.

O araçá vermelho apresenta alta perecibilidade, sendo necessário realizar a imediata refrigeração, visando reduzir as taxas respiratórias e preservar a qualidade pós-colheita dos frutos (DREHMER; AMARANTE, 2008). A aplicação do fruto como matéria-prima para elaboração de alimentos caseiros como doces, compotas, sucos e geléias já foi estudada (SANDOVAL; GARZÓN, 2009; SANTOS *et al.*, 2007; WILLE *et al.*, 2004).

Segundo Andrade *et al.* (2012) os frutos de araçá apresentam em 100 g de polpa, 85,60 g de umidade, 0,75 g de cinzas, 0,96 g de proteínas, 7,77 g de fibra alimentar e 4,91 g de carboidratos e o teor de lipídeos foi inferior ao que é possível detectar pela metodologia utilizada.

Nora *et al.* (2014a) avaliaram o efeito protetor e o potencial antioxidante araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine), na redução dos efeitos da hipercolesterolemia induzida pela cisplatina em ratos Wistar machos. Os animais tratados com a cisplatina (indutor) apresentaram elevada taxa de glicose, altos níveis de colesterol LDL, colesterol LDL oxidado e colesterol total. Nos animais onde foram administrados os frutos de araçá, os níveis de gordura no fígado melhoraram com a suplementação pelos frutos e não houve diferenças nas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e níveis de creatina, uréia e colesterol HDL e, também, no peso dos órgãos analisados, indicando que a dose utilizada não foi capaz de afetar tais marcadores.

2.2 BUTIÁ

Os frutos de *Butia eriospatha* (Martius) Beccari são popularmente conhecidos como butiá ou butia-da-serra. São plantas solitárias, de caule subterrâneo, curto e grosso, moderadamente altas. As folhas geralmente arqueadas, com pecíolo e bainha indistintos. As inflorescências são interfoliares, ramificadas com bráctea peduncular e geralmente lisa ou estriada superficialmente, flores dispostas sobre a parte inferior das ráquias em grupos de três, sendo a central feminina e as laterais masculinas (LORENZI *et al.*, 2004).

O fruto do butiazeiro é uma drupa comestível, globoso, possuindo mesocarpo carnoso e fibroso e endocarpo duro e denso e amarelo, doce-acidulado, além de conter de uma a três sementes oleaginosas com diâmetro médio de 1,7 a 1,9 cm (REITZ *et al.*, 1974). São comumente utilizados na produção de sobremesas, sucos, vinhos e licores (DAL MAGRO *et al.*, 2006). A maturação dos frutos geralmente ocorre de novembro a maio, com o seu pico no verão, no mês de fevereiro (ROSA; CASTELLANI; REIS, 1998).

A alta perecibilidade dos frutos de butiá é caracterizada pelas elevadas taxas respiratórias, sendo necessário o imediato resfriamento a 0°C de frutos colhidos no estágio de maturação verde-amarelo, visando preservar a sua qualidade pós-colheita (AMARANTE; MEGGUER, 2006).

Sganzerla (2010) analisando os parâmetros biométricos de frutos de *Butia capitata* e *Butia eriosphata* encontraram diâmetros de 30,71 e 26, 51 mm e comprimento de 22, 66 e 21,54 mm. Assim, os frutos apresentam a forma achatada já que o diâmetro é maior que o comprimento. Quanto ao rendimento os frutos de *Butia eriosphata* apresentaram rendimento de 60,27, 18, 33 e 5,06% para polpa, caroço e amêndoa, respectivamente.

Segundo Franco (1999), a composição proximal dos frutos de butiá apresenta em 100 g de polpa 11,4 g de glicídeos, 1,8 g de proteínas, 1,5 g de lipídios e 33 mg de vitamina C. Sganzerla (2010) encontrou valores de 9 °Brix para sólidos solúveis, 2,36 para pH a 20 °C, 1,88 % para acidez em ácido cítrico, 4,55 % de glicose para açúcares totais e 2,22% de glicose para açúcares redutores em polpa de frutos de butiá (*B. eriosphata*) coletada na cidade de Pelotas (Rio Grande do Sul, Brasil).

Dal Magro *et al.* (2006) comparando polpa de frutos de butiá (*Butia eriosphata*) em amostras do Paraná e Santa Catarina encontraram: 70,44 e 17,61 mg de vitamina C em 100 gramas de amostra; 14,33 e 12,18 mg de ácido cítrico por 100 gramas de amostra; 15,80 e 13,22 % de sólidos totais; e 84,21 e 86,78 % de umidade.

No estado do Rio Grande do Sul, *Butia capitata* e *Butia eriosphata*, integram a lista de espécies ameaçadas de extinção, segundo o Decreto Estadual nº. 42.099 publicado em 01/01/2003 (SEMA, 2015). A concentração destas palmeiras está muito reduzida devido ao avanço de atividades agrícolas no território gaúcho, como do arroz irrigado e da pecuária.

2.3 GABIROBA

A guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg.) também é conhecida popularmente como guavirova, guabiroba-miúda e guabirobeira-do-mato. A espécie se apresenta como arbusto, arvoreta ou árvore de 10 a 20 m de altura e até 60 cm de diâmetro e os ramos jovens são glabros. As folhas são verdes e opostas, simples, membranáceas, ovalado-oblongas, medindo de 4-10 cm de comprimento por 3-4,5 cm de largura (CORREA, 1974; LEGRAND, 1957). Suas flores são indicadas como melíferas e sua madeira é usada na produção de instrumentos musicais e agrícolas, lenha, carvão, cerca e tabuado (VALLILO *et al.*, 2008).

As folhas, na forma de infusão, são popularmente utilizadas no tratamento de úlcera ou outros problemas no estômago e também em febre. Extrato hidroalcolico das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. mostrou efeito preventivo contra ulcera gástrica sem efeitos tóxicos em ratos (MARKMAN *et al.*, 2004). O tratamento em grupos de pacientes hipercolesterolêmicos mostrou redução no nível de colesterol total e de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (KLAFKE *et al.*, 2010).

Os frutos da guabirobeira são arredondados, de cor verde quando jovens e amarelos e adocicados quando maduros. Os frutos possuem grande potencial econômico, seja como alimento *in natura* ou na preparação de sucos, doces, sorvetes e licores caseiros (SANTOS *et al.*, 2013a; SANTOS *et al.*, 2013b). Os frutos de guabiroba possuem rápido amadurecimento após a colheita e esta é uma das dificuldades encontradas na exploração comercial dos frutos *in natura* pela rápida perda de qualidade (VALLILO *et al.*, 2008).

Frutos de guabiroba apresentaram as características de composição proximal em 100 g de polpa: 0,5 g de cinzas, 1,9 g de lipídeos, 8,9 g de carboidratos, 1,1 de proteínas, 2,3 g de fibra alimentar, totalizando um valor calórico de 57,3 kcal (VALLILO *et al.*, 2008). Santos *et al.* (2013) apresentaram teor de 313,21 mg.100g⁻¹ em ácido ascórbico em frutos de guabiroba completamente maduros.

A literatura relata densidade aparente de 0,97 a 1,01 g cm⁻³, pH de 3,26 a 3,77, acidez titulável de 1,92 a 1,45 mg 100g⁻¹, sólidos solúveis de 8,30 a 13,50 °Brix, rendimento de polpa de 40,49 a 58,32 % para frutos de guabiroba variando do estágio

verde para o estágio maduro. Santos *et al.* (2009) encontraram em frutos de gabioba 7,88% de açúcares totais, sais minerais (ferro 3,52, cálcio 28,45; fósforo 25,3; potássio 1,53 mg 100g⁻¹).

2.4 UVAIA

Uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess.) é uma espécie arbórea de 6 a 13 metros de altura, de tronco castanho e ereto, nativa da região Sul do Brasil (LORENZI *et al.*, 2006; MATTOS, 1954), encontrada de São Paulo até o Rio Grande do Sul. A dificuldade de reprodução de mudas desta espécie se dá basicamente pela carência de sementes por frutos (contendo de uma a três sementes que apresentam tegumento de coloração castanha) e pela baixa longevidade das sementes (MATTOS, 1954; SILVA *et al.*, 2003). Possui copa alongada, flores brancas e solitárias e frutos grandes de cor amarelo alaranjada, formando um conjunto muito atraente (REITZ, 1974). Floresce de agosto a setembro, com início da maturação dos frutos em setembro, prolongando-se a novembro. Os frutos são comestíveis e são constituídos de drupas globosas e carnosas (SCALON; SCALON FILHO; RIGONI, 2004).

Os frutos da uvaia são consumidos *in natura* ou usados para a produção de sucos, geleias e doce em pasta (SCALON; DELL'OLIO; FORNASIERI, 2004). Ainda, o vinagre produzido a partir de frutos de uvaia apresenta sabor especial, associado à presença dos ácidos tartárico e málico, além do acético, gerado pela fermentação (ANDERSEN; ANDERSEN, 1989).

Stieven, Moreira e Silva (2009) estudaram a viabilidade da extração de óleo essencial de casca, semente e casca com semente. Além de rendimento satisfatório, os óleos essenciais mostraram ação bacteriostática em todas as cepas testadas (*Scherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas* e *Enterococcus faecalis*).

De acordo com a Tabela de Composição de Alimentos (USP, 1998) em 100 g de polpa dos frutos sem caroço são encontrados: 85,53 g de umidade, 1,56 g de proteínas, 2,04 g de lipídeos totais, 10,43 g de carboidratos, 0,44 g de cinzas e 2,04 g de fibras alimentar total.

Quanto ao conteúdo de ácido ascórbico da polpa de uvaia, Stieven *et al.* (2007) obtiveram 1,69 mg de ácido ascórbico em 100 mL de polpa congelada pelo método de iodeto de potássio e 3,99 mg de ácido ascórbico em 100 mL de polpa congelada pelo método de Tillmans. Estela *et al.* (2008) encontraram teor de ácido ascórbico de 29,46 a 40,15 mg 100g⁻¹ entre os estádios de maturação dos frutos de uvaia. Estes valores coincidiram com o que foi encontrado por Quináia e Ferreira (2007) para suco de frutos de uvaia (48 mg).

Silva *et al.* (2008) encontraram teor de sólidos solúveis de 9 °Brix, pH de 2,57 e densidade de 1,029 g mL⁻¹ em frutos de uvaia obtidos no município de Goianópolis, GO. Este conteúdo de sólidos solúveis foi coincidente ao encontrado por Estela *et al.* (2008) entre os seis estádios de maturação de frutos de uvaia da cidade de Vieirópolis, PB (6,1 a 9,5 °Brix). Ainda, estes autores encontraram acidez titulável média de 2,19% e pH médio de 5,63.

3 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Atualmente, a demanda dos consumidores por produtos que sejam saborosos, visualmente atrativos e que contribuam com a saúde e o bem estar tem aumentado. Neste contexto, o profissional da área de alimentos e a indústria de alimentos têm papel cada vez mais influente sobre a dieta e estilo de vida da população (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011).

O termo funcional foi promovido pela primeira vez no Japão, na década de 80, por cientistas que estudaram a relação entre nutrição, satisfação sensorial, fortificação e modulação de sistemas fisiológicos (SIRÓ *et al.*, 2008). Internacionalmente, alimento funcional é definido como “qualquer alimento ou ingrediente que possa proporcionar um benefício à saúde, além dos nutrientes tradicionais que eles contêm” (HASLER, 1998). Semelhante a isso, a Resolução nº 19 de 30 de abril de 1999 da Agência Nacional da Vigilância Sanitária (BRASIL, 1999) define que a alegação de propriedade funcional de um alimento é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano. Em qualquer caso, na

alegação de propriedade funcional, a legislação prevê que é necessária a comprovação científica e não são permitidas alegações que façam referência à cura ou a prevenção de doenças.

Entre os alimentos funcionais, algumas definições se confundem, como a definição nutracêuticos que de acordo com a literatura é um alimento ou parte de um alimento que proporciona benefícios médicos e de saúde, incluindo a prevenção e/ou tratamento da doença (ROBERFROID, 2002).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) não reconhece o termo nutracêutico. No entanto, a Resolução RDC nº 2, de 2002, define substância bioativa, a definição oficial mais equiparável a nutracêuticos. Essa é definida como nutriente ou não nutriente com ação metabólica ou fisiológica específica no organismo, devendo estar presente em fontes alimentares, seja de origem natural ou sintética, sem finalidade medicamentosa ou terapêutica (BRASIL, 2002).

Atualmente, baixa quantidade de informações estão disponíveis na literatura, principalmente no que diz respeito de frutos nativos das floras brasileiras. Assim, o conhecimento da presença de compostos que possuam alegação de propriedades benéficas (como compostos da classe dos carotenoides, flavonoides, etc) presentes nestes frutos, pode conscientizar a população da importância da inclusão destes novos produtos de origem vegetal à dieta humana.

4 COMPOSTOS BIOATIVOS

Os alimentos de origem vegetal apresentam compostos fitoquímicos com ação metabólica ou fisiológica específica. Estas substâncias podem exercer seus efeitos agindo como antioxidantes, ativando enzimas de detoxificação hepática, bloqueando a atividade de toxinas virais ou bacterianas, inibindo a ação do colesterol, diminuindo a agregação plaquetária, ou destruindo bactérias gastrintestinais nocivas (PENNINGTON, 2002).

De acordo com Halliwell (1996), os efeitos defensivos de antioxidantes naturais em frutos e vegetais estão relacionados a três grandes grupos: ácido ascórbico, fenólicos como antioxidantes hidrofílicos e carotenoides como antioxidantes lipofílicos.

4.1 COMPOSTOS FENÓLICOS

O metabolismo secundário de plantas e fungos produz compostos fenólicos, que possuem alto poder antioxidante e capacidade de quelar metais e inibir a lipoxigenase e os radicais livres (DECKER, 1997). Estes compostos estão largamente distribuídos no reino vegetal, fazendo parte da dieta de forma significativa, por meio dos frutos e hortaliças, influenciando fortemente em sua qualidade sensorial e nutricional (SCALZO *et al.*, 2005). Do ponto de vista químico, apresentam em sua estrutura anéis aromáticos associados a grupamentos hidroxilas, em diferentes posições (CHEYNIER, 2005). A maioria dos compostos fenólicos é encontrado na natureza combinado com ésteres ou de heterosídeos, e não na forma livre e representam a maior categoria de agentes fitoquímicos distribuídos no reino vegetal (SIMÕES *et al.*, 2000). Estes compostos são derivados das vias do ácido chiquímico e acetato (HELDT; HELDT, 2005).

Os polifenóis, ou arilpropanoides, constituem uma classe de metabólitos secundários das plantas representados por mais de 8 mil compostos diferentes (MARTINEZ-VALVERDE; PERIAGO; ROS, 2000). Eles são responsáveis pela maioria dos compostos sensoriais característicos de plantas (alimentos e bebidas) e podem contribuir com efeitos benéficos na saúde humana (CHEYNIER, 2005).

Segundo Reynerston *et al.* (2008), os frutos são fontes alimentares ricos em compostos fenólicos e apresentam variações dessas substâncias em função de diversos fatores que podem ser intrínsecos, como o tipo de cultivar, a variedade, o estágio de maturação do fruto e de extrínsecos, como as condições edafoclimáticas e região geográfica. Ainda, os compostos fenólicos são os antioxidantes naturais mais ingeridos na dieta de humanos, podendo atingir níveis em torno de 1 g/dia nas populações de regiões tropicais e subtropicais, sendo este valor altamente variável e dependente da dieta (HALLIWELL; RAFTER; JENNER, 2005).

Os compostos fenólicos possuem a função antioxidante e para isso as moléculas precisam apresentar pelo menos uma das três propriedades: supressão da formação de radicais livres (por quelação de metais ou por inibição de enzimas

geradoras de radicais livres), eliminação ou desativação de radicais livres, com formação de um produto estável, ou participação em processos de reparo de danos oxidativos (RIBEIRO *et al.*, 2005). Normalmente, os compostos fenólicos atuam como sequestradores de radicais livres e íons metálicos causando modificações no estado *redox* da célula e desencadeando um conjunto de reações dose-dependentes (MANACH *et al.*, 2004).

Diversos estudos sugerem uma associação entre ação antioxidativa dos compostos fenólicos contidos nos alimentos e a prevenção de doenças degenerativas, sobretudo cardiovasculares e cânceres (MANACH *et al.*, 2004). Estudos recentes mostram que compostos fenólicos das mais diversas fontes reduzem os níveis de peroxidação lipídica em tecidos como o do fígado, intestinos, rins e cérebro, além de também demonstrarem capacidade de aumentar a atividade antioxidante (KASDALLAH-GRISSA *et al.*, 2007).

Abundância de compostos fenólicos são positivamente correlacionados com os efeitos de atividade antimicrobiana, atividade antioxidante e antiproliferativas em células humanas cancerígenas do cerebais e do colon, como relatado por Medina *et al.* (2011) para a polpa de quatro genótipos de araçá amarelo e duas genótipos de araçá vermelho provenientes da cidade de Pelotas (Rio Grande do Sul, Brasil). Para os genótipos analisados, estes autores relataram teores de 402 – 768 mg GAE por 100 gramas de polpa fresca dos frutos. Os compostos fenólicos identificados em maior quantidade nas duas variedades de araçá foram a epicatequina e o ácido gálico e em menor quantidade foram o ácido cumárico, ácido ferrúlico, miricetina e quercitina.

Enquanto isso, Fetter *et al.* (2010) realizaram um estudo comparativo entre as variedades de araçá amarelo, vermelho e pêra provenientes da mesma região, e encontraram 294, 668 e 1851 mg de ácido clorogênico por 100 g de amostra de frutos fresca.

As diferenças encontradas entre os estudos de Medina *et al.* (2011) e Fetter *et al.* (2010) podem ser devido aos solventes utilizados na etapa de extração das amostras. No primeiro caso, a extração foi realizada utilizando acetona e etanol e no segundo caso em metanol.

Em frutos do gênero *Butia* provenientes da cidade de Pelotas (Rio Grande do Sul, Brasil) o teor médio de compostos fenólicos encontrado por Sganzerla (2010) foi de 270 mg de GAE por 100 grama de amostra fresca. Teores ligeiramente superiores

foram relatados para os genótipos da espécie *B. odorata* Barb. Rodr. estudados por Beskow *et al.* (2015) (265 – 402 mg de ácido gálico equivalente por 100 gramas de amostra fresca). Os ácidos fenólicos encontrados neste trabalho foram ácido gálico, o ácido hidroxibenzoico, ácido cumárico, ácido ferrúlico e ácido cafeico.

A literatura relata o teor de CFT para outros frutos nativos da Floresta Atlântica: 131,90 mg GAE por 100 gramas para frutos de gabioba provenientes da cidade de Ponta Grossa (Paraná, Brasil) (SANTOS *et al.*, 2013b), e 815,5 mg GAE por 100 gramas de uvaia liofilizados obtidos na região de Pelotas (RAMIREZ *et al.*, 2009).

4.2 FLAVONOIDES

Os flavonoides são compostos bioativos caracterizados estruturalmente como difenilpropanos, possuem 15 átomos de carbono em sua estrutura química, denominado de núcleo fundamental, formado por duas fenilas ligadas por uma cadeia de três átomos de carbono (HERTOG; CHAPMAN; KATAN, 1992). Muitos ocorrem naturalmente como flavonoides glicosilados (chamados de heterosídeos), e os carboidratos mais comuns são D-glicose, L-ramnose, glicoramnose, galactose e arabinose. Na forma livre, os flavonoides são denominados agliconas (SIMÕES *et al.*, 2000). Estes compostos podem ser agrupados em diversas sub-classes incluindo antocianinas, flavonas, flavan-3-óis, flavanonas, isoflavonas e flavonóis. Eles são encontrados nos alimentos geralmente como O-glicosídeos com açúcar normalmente ligado na posição C-3, ou, no caso das isoflavonas, C-7 (KING; YOUNG, 1999). A estrutura básica dos flavonoides é apresentada na FIGURA 1, onde se observa um esqueleto de difenil proprano (C₆-C₃-C₆) com dois anéis benzênicos (A e B) ligado a um anel pirano (C) (BEHLING *et al.*, 2004).

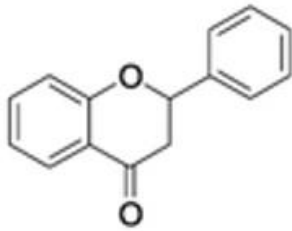


FIGURA 1 - ESTRUTURA BÁSICA DOS FLAVONOIDES
 FONTE: adaptado de De Pauli (2010)

No Brasil, os alimentos mais ingeridos pelos brasileiros como fonte de flavonoides são a laranja (70%), a alface (9%) e o tomate (2,5%), e os principais flavonoides consumidos são os glicosídeos e a quercitina. A quantidade ingerida destes compostos no Brasil entre a população de 17 a 88 anos é de 79 mg por dia para mulheres e 86 mg por dia para os homens (ARABBI; GENOVESE; LAJOLO, 2004).

Alguns dados da literatura relatam a presença de flavonoides em frutos nativos da Floresta Atlântica. Beskow *et al.* (2015) identificaram catequina, epicatequina e quercitina na polpa de cinco genótipos de *Butia odorata*. Ramirez *et al.* (2009) encontraram teores de 87, 106 e 161 mg QE por 100 gramas de matéria seca para frutos de araçá amarelo, araçá vermelho e uvaia. Santos (2011) relatou 68 mg QE por 100 gramas de polpa de frutos de gabioba completamente maduros.

As antocianidinas são pigmentos do grupo dos flavonoides que apresentam como estrutura fundamental o cátion flavílico (2-fenilbenzopirilium) e são a estrutura básica das antocianinas como mostrado na FIGURA 2. As antocianidinas (agliconas) consistem de um anel aromático ligado a um anel heterocíclico que contém oxigênio, o qual está ligado por meio de uma ligação carbono-carbono a um terceiro anel aromático. As antocianinas são caracterizadas pela presença do esqueleto contendo 15 átomos de carbono na forma C₆-C₃-C₆ e absorvem luz na região visível do espectro. A maioria possui hidroxilas nas posições 3, 5 e 7 que podem estar ligadas a açúcares que conferem maior estabilidade e solubilidade a este pigmento. Dentre os açúcares estão a glicose, xilose, arabinose, ramnose, galactose ou dissacarídeos constituídos por esses açúcares, aos quais podem estar ligados a ácidos fenólicos, como *p*-coumárico, cafeíco, fenílico e vanílico (KONCZAK; ZHANG, 2004).

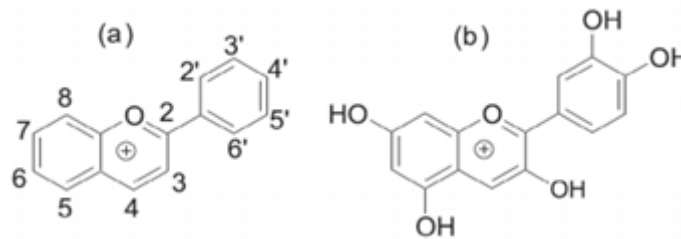


FIGURA 2 - ESTRUTURA DO CÁTION FLAVÍLICO (A) E ESTRUTURA DA ANTOCIANIDINA (B)
 FONTE: adaptado de Oldoni, 2010

As antocianinas são solúveis em água e responsáveis pelos tons compreendidos desde a coloração vermelha até a coloração azul em muitos frutos, legumes e hortaliças (BRIDLE; TIMBERLAKE, 1997; MAZZA; MINIATI, 1993). As antocianinas são conhecidas por desempenhar funções nas plantas, entre elas: antioxidantes, proteção à ação da luz, mecanismo de defesa e função biológica. Além disso, as cores vivas e intensas são importantes nos mecanismos reprodutores das plantas (LOPES *et al.*, 2007).

Araçá vermelho foi considerado uma boa fonte de antocianinas (NORA *et al.*, 2014c; NORA *et al.*, 2014b). Fetter *et al.* (2010) estudando polpa de frutos de araçás vermelho, amarelo e pêra da cidade de Pelotas (Rio Grande do Sul, Brasil) encontraram três vezes mais antocianinas em araçá vermelho comparado com as outras variedades estudadas (36, 11 e 11 mg de cianidina-3-glicosídeo equivalente por 100 gramas de amostra fresca). Menores teores de antocianinas (0,21 – 6,29 mg de cianidina-3-glicosídeo equivalente por 100 gramas de amostra fresca) foram relatados para seis diferentes genótipos de araçá por Medina *et al.* (2011).

Sganzerla (2010) estudando polpa de duas espécies do gênero *Butia* descreveu teores de antocianinas entre 0,73 e 2,20 mg de cianidina-3-glicosídeo por 100 gramas de polpa fresca de *Butia eriosthapa* e *Butia capitata*, respectivamente. Dentre os compostos pertencentes a família das antocianinas, a keracianina e a kuromanina foram identificadas em *B. capitata* e *B. eriosphata* (SGANZERLA, 2010) e em *B. odorata* Barb. Rodr. (BESKOW *et al.*, 2015).

4.3 CLOROFILAS E CAROTENOIDES

Clorofilas e carotenoides estão naturalmente presentes nas plantas onde são responsáveis pela coloração específica e desempenham importante papel na fotossíntese. Estudos têm demonstrado a sua importância em tecidos animais como antioxidantes, onde não podem ser sintetizados (SCHOEFS, 2002).

A clorofila compreende uma família de substâncias semelhantes entre si, pertencentes à classe das porfirinas, formadas por 4 anéis pirrólicos e um quinto anel isocíclico, localizado ao lado do terceiro anel pirrólico. Os anéis estão ligados entre si por pontes metilênicas e a molécula contém um átomo de magnésio no seu interior, coordenado aos anéis. No quarto anel pirrólico, o ácido propiônico ali existente é esterificado por um álcool acíclico de cadeia longa, geralmente o fitol, conferindo à clorofila um caráter hidrofóbico. As moléculas de clorofila são denominadas de clorofila a (FIGURA 3), b, c e d. A clorofila a, corresponde a aproximadamente 75% dos pigmentos verdes encontrados nos vegetais e por isso é a mais importante dessa família. A diferença entre a clorofila a e a clorofila b ocorre por uma substituição no anel pirrólico II (GROSS, 1991). As clorofilas c e d são encontradas em algas (SCHWARTZ; LORENZO, 1990).

A estrutura básica de uma molécula de um carotenoide é um esqueleto tetraterpênico simétrico formado por uma ligação cauda-a-cauda de duas moléculas difosfato de geranylgeranila (unidades de C_{20}). A FIGURA 4 ilustra o esqueleto acíclico do licopeno que dá a cor vermelha ao tomate. Na FIGURA 5 observa-se o esqueleto básico de um licopeno que teve seus grupos terminais modificados em anéis de seis membros produzindo um carotenoide dicíclico conhecido como β -caroteno. Estes compostos são lipofílicos e portanto, insolúveis em água. Os carotenoides são divididos em duas famílias de compostos: os carotenos que são desprovidos de oxigênio, como o β -caroteno; e as xantofilas que possuem oxigênio, como a luteína. (SCHOEFS, 2002; PFANDER, 1971).

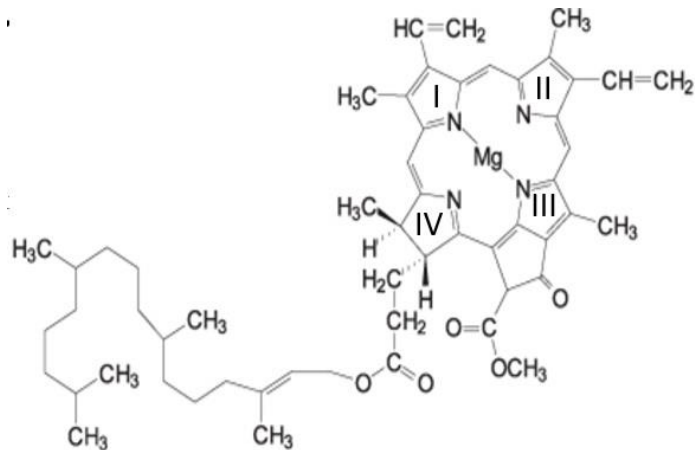


FIGURA 3 - ESTRUTURA QUÍMICA DA CLOROFILA A
 FONTE: Adaptado de Lanfer-Marquez (2003)

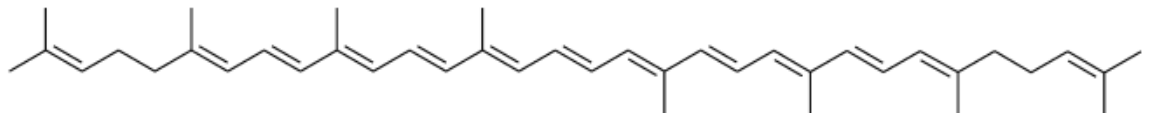


FIGURA 4 - ESQUELETO ACÍCLICA DO LICOPENO
 FONTE: adaptado de Schoefs (2002)

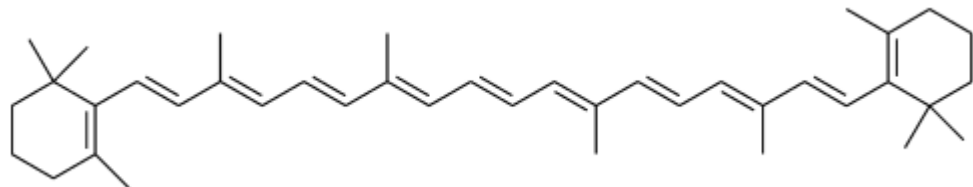


FIGURA 5 - ESTRUTURA DICÍCLICA DO β -CAROTENO
 FONTE: adaptado de Schoefs (2002)

Os estudos relatam que os carotenoides possuem alto valor nutricional, alguns são precursores da vitamina A, atuam como agentes profiláticos contra diversas doenças, sobretudo o câncer. Alguns carotenoides, como a luteína e a zeaxantina protegem o olho contra degeneração macular, a β -criptoxantina está associada à diminuição do risco de câncer de pulmão, e o consumo de produtos ricos em licopeno têm sido associados à proteção contra certos tipos de câncer, sobretudo o de próstata (BHAGAVATHY; SUMATHI, 2012; TIAN *et al.*, 2007).

Os carotenoides estão presentes na dieta humana em muitos alimentos como frutos e vegetais que possuam coloração amarelo-laranja que fornecem β - e α -caroteno, frutos laranjas que fornecem α -criptoxantina, vegetais de coloração verde escuro que fornecem luteína e tomates que fornecem licopeno. Devido a suas insaturações, são compostos sujeitos a mudanças principalmente por oxidação.

Fatores como luz, pH e temperatura podem influenciar no teor de carotenoides presente nos alimentos. Apesar do reconhecido papel benéfico dos carotenoides na saúde humana, não são considerados como nutrientes essenciais, e por isso, não possuem uma quantidade diária recomendada (*Dietary Reference Intake, DRI*) (RAO; RAO, 2007).

De um modo geral, frutos provenientes de palmeiras são ricos em carotenoides. Sganzerla (2010) estudando polpa de frutos de butiá (*B. eriosphata* e *B. capitata*) completamente maduros encontrou valores de carotenoides totais de 17,27 e 14,80 μg em β -caroteno por grama de amostra fresca. Enquanto isso, Beskow *et al.* (2015) estudando cinco genótipos de outro gênero *Butia* (*B. odorata* Barb. Rodr.) encontraram teores de carotenoides totais variando de 2,80 a 4,08 mg por 100 gramas de polpa fresca. O carotenoide presente em maior quantidade foi a β -criptoxantina, seguida pelo β -caroteno, licopeno, luteína e zeaxantina, presentes em menores quantidades (BESKOW *et al.*, 2015; SGANZERLA, 2010).

Medina *et al.* (2011) encontraram teores de carotenoides totais entre 3,9 – 11,34 μg de β -caroteno equivalente por grama de polpa fresca nos seis genótipos de araçá analisados. Ribeiro *et al.* (2014) analisando *P. cattleianum* Sabine relataram quase quatro vezes mais carotenoides totais na casca quando comparada com a polpa dos frutos (42 para 12 $\mu\text{g/g}$ de matéria seca). Os mesmos autores relataram a presença de 7 carotenoides, porém baixo conteúdo de vitamina A (0,58 – 1,19 μg atividade de retinol equivalente por g de matéria seca). Assim mesmo, outros autores consideraram os frutos de araçá vermelho como uma boa fonte de carotenoides (NORA *et al.*, 2014c; NORA *et al.*, 2014b).

Santos *et al.* (2013b) relataram a presença do β -caroteno e β -criptoxantina como os carotenoides mais importantes em frutos de gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg), completamente amadurecidos (123 e 93 $\mu\text{g.g}^{-1}$), seguido pelo α -caroteno e pela luteína (55 e 15 $\mu\text{g.g}^{-1}$) e por fim, pela violanxantina e o licopeno (3 e 0,9 $\mu\text{g.g}^{-1}$).

5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

5.1 RADICAIS LIVRES

O termo radical livre é definido como qualquer átomo ou molécula que apresente um ou mais elétrons desemparelhados em sua órbita externa. Esta configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, de meia-vida curta e quimicamente muito reativas (HALLIWELL, 1996).

Os radicais livres são formados durante processos fisiológicos de oxidação, podendo ser produzidos no citoplasma, nas mitocôndrias e nas membranas celulares (HALLIWELL, 1996; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Em condições fisiológicas, os radicais livres participam dos processos de fagocitose, de sinalização celular e também estão envolvidos na síntese de algumas proteínas (HALLIWELL, 1996). Todavia, os radicais livres, quando em desequilíbrio com a quantidade de antioxidantes (enzimáticos e não enzimáticos) presentes no organismo, podem provocar reações em cadeia que causam danos a um grande número de moléculas, e, conseqüentemente ao organismo.

Todas as formas de vida da Terra estão sujeitas aos efeitos oxidantes dos metabólicos reativos de oxigênio produzidos durante o metabolismo aeróbico (RIBEIRO *et al.*, 2005). Na natureza existem duas importantes substâncias que podem gerar radicais livres, o oxigênio no seu estado fundamental (O_2) e o óxido nítrico (NO). Embora o oxigênio seja um elemento vital para os organismos aeróbios, permitindo a utilização da energia proveniente de nutrientes pelo processo de fosforilação oxidativa, uma pequena fração do seu consumo mitocondrial é transformada em espécies reativas de oxigênio (VANNUCCHI *et al.*, 1998).

O monóxido de nitrogênio forma complexos nitrosílicos com heme-proteínas, compostos nitrosotiólicos (cisteína e glutatona) e de peroxinitrito. Pelo fato da molécula do oxigênio ser bi-radical (dois elétrons livres nos orbitais p antiligantes), ele reage preferencialmente com moléculas de configuração eletrônica semelhante. Como a maioria das moléculas possui ligações covalentes, o oxigênio fica impedido (por restrição de *spin*) de reagir. No entanto, ele pode dar origem a diversas espécies reativas por absorção de energia, por transferência de elétrons ou por redução unieletrônica do oxigênio à água, na qual a entrada de quatro elétrons na molécula de

oxigênio promove o aparecimento do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e do radical hidroxila (OH^{\cdot}) (ROVER JUNIOR; HÖEHR; VELLASCO, 2001). Quanto ao potencial de reatividade das espécies reativas de oxigênios (EROs), o radical hidroxila é o mais reativo e pode oxidar qualquer molécula biológica (necessita de somente mais um elétron para se estabilizar), enquanto, o peróxido de hidrogênio mais estável que o primeiro, pode permear membranas possibilitando a ocorrência de reações com alvos biológicos em compartimentos distantes do seu local de formação. O oxigênio singlete pode reagir com lipídeos da membrana, proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos, carboidratos e tióis.

Ainda as EROs podem combinar com outros átomos e formar outras espécies reativas como o óxido nítrico ($\cdot NO$) que por sua vez pode reagir novamente com as EROs, principalmente radical superóxido, gerando peroxinitrito ($OONO^{\cdot}$) e outros produtos que são muito tóxicos por causar nitração de proteínas e induzir a peroxidação lipídica (ROVER JUNIOR; HÖEHR; VELLASCO, 2001; SIES, 1993).

A defesa do organismo contra a toxicidade das espécies reativas de oxigênio pode acontecer por três mecanismos: prevenção de formação ou eliminação das espécies reativas de oxigênios formadas e reparo das moléculas modificadas (SIES, 1993).

A prevenção da formação das espécies reativas de oxigênio inclui mecanismo antioxidantes, como a restrição de *spin* do oxigênio que diminui a sua reatividade com biomoléculas, o transporte de oxigênio na forma ligada e não livre, a quelação de metais durante transporte e armazenamento, evitando a ocorrência da reação de Fenton (reação de Fe^{2+} com o H_2O_2), a eficiência da cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria que mantém a formação de EROs em nível controlado e a organização estrutural do DNA em cromatina (SIES, 1993). A eliminação das espécies reativas de oxigênios, também denominada de intercepção, é realizada através de mecanismos enzimáticos e não enzimáticos. Através da ação das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase, o organismo mantém a concentração das EROs dentro do limite fisiológico e através do sistema tiorredoxina regula o nível de alvos moleculares oxidados. A proteção antioxidante por mecanismos não enzimáticos é feita por moléculas que protegem alvos biológicos da oxidação, por apresentarem supressão da formação de radical livre (quelação de metais ou inibição de enzimas geradoras de radicais livres), ou eliminação de radicais

livres ou desativação, formando um produto estável ou ainda participação em processos de reparo. Existe uma variedade de moléculas com potencial para apresentar uma destas características, incluindo algumas do próprio organismo e outras exógenas, sintéticas ou naturais que podem ser ingeridos na dieta (como tocoferóis, ascorbato, carotenoides e compostos fenólicos). Os danos causados no DNA incluem injúrias oxidativas, modificação de bases, de açúcares e a formação de ligações cruzadas entre fitas duplas e simples e, neste caso, também existe um mecanismo de reparo (ROVER JUNIOR; HÖEHR; VELLASCO, 2001; SIES, 1993).

Dentre os antioxidantes mais comuns advindos de fontes naturais destacam-se os ácidos fenólicos (ácidos benzoicos e derivados, e ácidos cinâmicos e derivados), os taninos (hidrolisáveis como ácido gálico e elágico e os taninos condensados como polímeros de catequina e epicatequina), os flavonoides e os tocoferóis (ANGELO; JORGE, 2007; KING; YOUNG, 1999).

Medina *et al.* (2011) avaliando seis genótipos de araçá provenientes de Pelotas (Rio Grande do Sul, Brasil) encontraram alta atividade antioxidante *in vitro* (35 a 45 % de inibição do radical DPPH) para os frutos de araçá vermelho, enquanto o araçá amarelo apresentou menor atividade antioxidante (19 a 34 % de inibição do radical DPPH). Em ensaios de sobrevivência de leveduras para avaliar a atividade antioxidante, independentemente do solvente utilizado no extrato de araçá houve menor efeito citotóxico dos agentes estressantes e taxas de sobrevivência celular em torno de 80% (MEDINA *et al.*, 2011).

Fetter *et al.* (2010) avaliando a atividade antioxidante pelo método de DPPH em extrato metanólico encontraram teores de 3617, 7884 e 20324 µg TE por grama de amostra fresca para araçá amarelo, vermelho e pêra, respectivamente. Ribeiro *et al.* (2014) corroboraram com os demais autores e relataram para polpa e casca de frutos de *P. cattleianum* alta capacidade de inibição de radicais provavelmente devido ao alto teor de compostos fenólicos.

Ainda, para frutos de butiá completamente maduros, a atividade antioxidante encontrada foi de 237 mg TE por 100 gramas de amostra fresca (Sganzerla, 2010).

6 AROMA DOS ALIMENTOS

Pela ISO 5492 (1992) *flavor* é definido como a combinação complexa das sensações olfativas, gustativas e trigeminais percebidas durante a degustação. O *flavor* pode ser influenciado por reações táteis, térmicas, psicológicas e/ou sinestésicas. Assim, o termo *flavor* é simplificarmente definido como a sensação induzida pelo alimento quando é percebido pelos receptores táteis da boca, e pelos sentidos do paladar e do olfato (JELEN; MAJCHER; DZIADAS, 2012). Em português, este termo é usado similarmente, e define a sensação fisiológica da interação entre paladar (sabor) e olfato (odor), resultando no aroma, que é percebido pelo ser humano na ingestão de alimentos. Além deste termo, na pesquisa de aromas são utilizados os termos odor e odorante que merecem definição. O termo odor se refere à percepção experimentada quando uma ou mais substâncias químicas entram em contato com os receptores dos nervos olfativos. Já o termo odorante se refere a alguma substância química (composto odorante) no ar que é parte da percepção do odor (McGINLEY; McGINLEY, 1999).

A característica comum dos compostos que constituem o *flavor* ou aroma de um alimento, é a interação com o sistema olfativo humano induzindo sensações específicas de odor. Esta característica é responsável pela estimulação química dos sentidos humanos que são considerados decisivos no consumo e ingestão dos alimentos (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1988; ZELLNER *et al.*, 2008). Embora o paladar e o olfato estejam envolvidos na percepção destes compostos, a maioria das pesquisas têm sido realizadas por estudos de compostos constituintes do aroma (odoríferos) (JELEN; MAJCHER; DZIADAS, 2012).

A percepção do odor é considerada como a resposta aos compostos voláteis ativos que entram pelas narinas (ortonasal) e a percepção de aroma é o resultado da sensação percebida a partir de produtos voláteis que entram pela boca e pelo sistema respiratório (retronasal) (DUTCOSKI, 2013; van RUTH, 2001). Assim, o aroma característico dos alimentos é geralmente o resultado da percepção de dezenas ou centenas de complexas moléculas voláteis, principalmente hidrófobas encontradas em nível de traços (DIXON, HEWETT, 2000; GROSCH, 1994; ZELLNER *et al.*, 2008). Mesmo os compostos responsáveis pelo aroma que estão presentes em concentrações muito baixas, em nanograma ou picograma, influenciam na formação

do aroma característico do alimento e a sua percepção pelo ser humano depende do seu limite de detecção (*threshold*) (ZELLNER *et al.*, 2008).

Estes compostos voláteis interagem com um receptor humano denominado proteína G presente no epitélio olfativo da cavidade nasal e uma vez que o receptor é ativado, uma cascata de eventos é desencadeada para converter a informação fornecida pela estrutura química em estímulo sensorial (STEPHAN; BÜCKING; STEINHART, 2000, ZELLNER *et al.*, 2008). Para que estes compostos possam ativar o receptor, eles devem possuir peso molecular até 300 Da (JELEN; MAJCHER; DZIADAS, 2012).

A determinação de compostos importantes no aroma de interesse em matrizes alimentícias requer trabalho especializado de extração e preparação da amostra antes da análise instrumental. Dentre as etapas iniciais para o preparo da amostra, encontram-se a amostragem e homogeneização, seguida pela extração e a concentração dos compostos, e finalmente a análise instrumental do aroma dos alimentos. Na análise instrumental é necessário aplicar técnicas extremamente sensíveis como a cromatografia a gás combinada a um sistema de detecção (espectrometria de massas - EM) (RIDGWAY; LALLJIE; SMITH, 2007; ZAPATA; LÓPEZ; FERREIRA, 2013).

6.1 Aspectos gerais da determinação do aroma presente nos alimentos

Em alimentos, em torno de 12 mil compostos têm sido identificados, mas estima-se que somente 5% deste total tem papel significativo na formação do aroma do produto (GROSH, 2001). O estudo destes compostos que são responsáveis pelo aroma dos alimentos compreende as etapas de isolamento, concentração, separação, identificação e quantificação dos compostos voláteis (THOMAZINI; FRANCO, 2000).

O preparo da amostra é uma das etapas mais importantes na pesquisa de aromas e por isso é necessária cautela na escolha e execução do método de isolamento. O extrato ou isolado da amostra que será utilizado deve representar fielmente a composição do aroma presente no alimento e por isso, um método representativo para o isolamento dos compostos voláteis deve incluir os aspectos

qualitativos e quantitativos. Neste contexto, os extratos podem ser preparados diretamente a partir da amostra e representar a composição do alimento ou podem ser realizados através de *headspace* e representar a composição dos compostos voláteis liberados pela amostra em um sistema fechado (van RUTH, 2001).

Durante o preparo de amostras podem ocorrer reações enzimáticas e não enzimáticas, e por isso, condições amenas são normalmente empregadas na extração dos aromas de forma a evitar a formação de compostos indesejáveis (GROSCH, 1994). Além disso, muitas vezes são adicionados aditivos de forma a prevenir o crescimento microbiano e antioxidantes para diminuir a velocidade das reações enzimáticas (IBARZ *et al.*, 2006; UBEDA *et al.*, 2012) e conseqüentemente, os processos oxidativos, uma vez que ele ocorre em todos os organismos vivos, resultando na produção de radicais livres (O_2 , OH, H_2O_2) que surgem naturalmente durante o metabolismo e durante a respiração em organismos aeróbicos. Quando estes radicais são produzidos em excesso e não eliminados, podem atacar as moléculas mais próximas subtraindo elétrons e iniciando uma reação em cadeia onde a molécula deficiente de elétrons ataca outras moléculas, e assim continuamente (BERNADINI *et al.*, 2011).

A cromatografia a gás foi proposta por FULLER e colaboradores em 1964 e tem se mostrado um método interessante para separação, identificação e quantificação de compostos ativos do aroma a partir de amostras complexas (GROSCH, 1994). A aplicação desta técnica permite identificar uma grande quantidade de compostos, os quais por muitas vezes não são percebidos pelo nariz humano (van RUTH e CONNOR, 2001).

A importância dos compostos ativos no aroma está relacionada e é dependente da concentração nas quais eles se encontram nos alimentos e do limiar mínimo percebido pelo nariz humano (*threshold* aromático). A detecção por cromatografia a gás de um composto em maior quantidade não traduz que este composto seja de grande importância para a formação do aroma no alimento devido à diferença na relação intensidade/concentração dos compostos. Desta forma, as pesquisas foram direcionadas à determinação de compostos que contribuem significativamente para a formação do aroma no alimento, sendo a cromatografia a gás aliada à olfatosmetria uma técnica analítica que associa a capacidade de resolução de um capilar com a seletividade e a sensibilidade do nariz humano (GROSCH, 1994; van RUTH, 2001). A

FIGURA 6 mostra um cromatógrafo em fase gasosa aliado a olfatométrica e nele a coluna cromatográfica, separa os compostos do fluxo do extrato em dois fluxos. O primeiro fluxo vai para o detector físico, por exemplo detector de ionização de chama (DIC), e o outro fluxo vai para a saída, conhecida como *sniffing port* (ODO) (FIGURA 6 – 3), onde um painel sensorial treinado inala o fluxo e realizam observações (descrição e intensidade das zonas de aromas percebidas) de acordo com o método de treinamento. No início da metodologia de CG-O, a reprodutibilidade constituía um problema, uma vez que o painel sensorial relatava desconforto ocasionado pela inalação do gás quente e seco que eflua do cromatógrafo. Este problema foi solucionado pela combinação de um efluente de ar umidificado, reduzindo assim o desconforto nasal (ZELLNER *et al.*, 2008). A CG-O é considerada uma técnica de rastreio por permitir que o pesquisador conheça e determine as zonas eluídas pela coluna cromatográfica e percebidas pelo painel sensorial (BLACK, 2002; FERREIRA *et al.*, 2003; IBARZ *et al.*, 2006).

O uso de cromatografia a gás acoplado a olfatométrica (CG-O), juntamente com técnicas de cromatografia a gás acoplado a detecção dos compostos por espectrômetro de massa constituem as técnicas básicas para separação, identificação e quantificação de aromas ativos em alimentos (van RUTH, 2001; ZELLNER *et al.*, 2008).



FIGURA 6 – CROMATÓGRAFO EM FASE GASOSA (1) INJETOR; (2) CRONÓMETRO; (3) SNIFFING PORT – ODO
FONTE: O autor (2012)

Assim, a CG-O pode ser considerada como uma análise instrumental e também uma análise sensorial. Através dela é possível determinar com precisão, a descrição apropriada para caracterizar o estímulo, avaliando e medindo impressões, como um processo importante que permite a compreensão e quantificação das características sensoriais da amostra estudada (GROSCH, 1994, van RUTH, 2001, ZELLNER *et al.*, 2008).

6.2 Estudos de determininação de aroma em frutos

Uma fruta pode conter 100 tipos diferentes de compostos voláteis em concentrações normalmente maiores que 30 ppm e que diferem de acordo com o seu estágio de maturação, o tipo de cultivar, a forma de cultivo e sua composição química (quantidade de carboidratos, proteínas e lipídios, por exemplo) (JANZANTTI *et al.*, 2012; ZELLNER *et al.*, 2008).

Muitos estudos foram realizados na tentativa de prever os compostos de aroma, utilizando para isso o estudo de compostos voláteis por cromatografia a gás e espectrometria de massas (CG-MS) para frutos nativos das florestas brasileiras como araçá (FRANCO; SHIBAMOTO, 2000; PINO; QUIJANO, 2007), bacuri (BOULANGER CHASSAGNE; CROUZET, 1999), gabioba, cereja-do-rio-grande e pitanga (MARIN *et al.*, 2008), cupuaçu (FRANCO; SHIBAMOTO, 2000), murici (ALVES; FRANCO, 2003), pequi (MAIA; ANDRADE; SILVA, 2008), uvaia (MIYAZAWA, 2009), entre outros.

As informações obtidas por CG-EM são interessantes, no entanto, são incompletas, uma vez que é necessário a obtenção dos compostos realmente importantes para o aroma (CULLERÉ *et al.*, 2010). Assim, o uso da cromatografia a gás aliada à olfatometria adiciona informações aos métodos até então implementados e utilizados para tal finalidade. Informações como a intensidade, a frequência e a descrição dos compostos separados pela coluna cromatográfica no cromatógrafo à gás podem ser obtidas através da olfatometria.

Dentre os trabalhos utilizando CG-O disponíveis na literatura, é possível perceber que as informações relatadas indicam os compostos presentes no aroma que são mais importantes no aroma dos frutos e não necessariamente estão em maior quantidade. IBARZ *et al.* (2006) utilizando CG-O identificou compostos odoríferos como o óxido *cis*-rosa ou lactona como importantes para o aroma de uvas. UBEDA *et al.* (2012) na análise olfatométrica apresentou como odorantes mais importantes o furaneol, o γ -decalactona, o butanoato de etila, o hexanoato de etila, o ácido hexanoico e o (*Z*)-1,5-octadien-3-ona.

Para caracterizar diferenças entre o sistema de cultivo orgânico e tradicional nos compostos de aroma ativo de maracujá (JANZANTTI *et al.*, 2012). Algumas diferenças foram observadas entre o perfil aromático: 2-propenoato de etila, 2-metil-1-propanol, carbonato de dietila e hexanoato de etila foram três vezes maior na fruta orgânica enquanto que o acetato de butilo, hexanal, acetato de *cis*-3-hexenila e butanoato de *trans*-3-hexenila foram três vezes maior no fruto convencional. Hexanoato de etila, ésteres e álcoois saturados são descritos como notas 'frutal', 'doce', 'citros' e 'maracujá' e apresentaram maior intensidade na fruta orgânica. Além disso, acetato de 3-hexenilo (em suas configurações *cis* e *trans*) e alfa-copaeno, alfa-terpineol, o D-limoneno, *trans*-beta-ocimeno e delta-cadinene tiveram maior contribuição para o aroma do maracujá orgânico. Por outro lado, álcoois insaturados,

beta-mirceno e beta-linalol são descritos como notas de 'grama', 'enxofre' e 'maracujá' e foram maiores no fruto convencional.

Miyazawa (2009) estudando os compostos voláteis dos frutos de uvaia separados por cromatografia a gás de alta resolução e identificados por CG-EM, índices de retenção e comparação com padrões puros, encontrou 55 compostos voláteis, dos quais 43 foram identificados, compreendendo 19 terpenos, 16 ésteres, 3 álcoois, 1 cetona e 4 compostos pertencentes a outras classes químicas. Dentre os compostos majoritários estavam o butanoato de etila com 27,82% da área relativa total do cromatograma, hexanoato de etila com 20,04%, octanol com 8,56%, D-limoneno com 7,16% e vinilbenzeno com 6,57%.

É possível observar a importância da realização dos estudos de aroma de frutas e o detalhamento quanto aos parâmetros de intensidade, frequência e a descrição dos compostos precursores de aroma separados pela cromatografia a gás.

**CAPÍTULO 2 – CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS NUTRACÊUTICOS E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FRUTOS NATIVOS DA FLORESTA ATLÂNTICA EM
DIFERENTES ESTÁDIOS DE AMADURECIMENTO**

1 INTRODUÇÃO

Frutos são constantemente identificados em estudos epidemiológicos como fontes naturais de compostos antioxidantes, uma vez que podem atuar contra a produção excessiva de radicais livres associados com o aparecimento de várias doenças tais como câncer, artrite reumatóide, bem como nos processos degenerativos associados ao envelhecimento (ALI *et al.*, 2008). Várias pesquisas demonstraram que o risco de câncer diminui com o aumento no consumo de frutos. Ainda, o aumento no consumo de frutos está relacionado com os efeitos protetores contra problemas cardiovasculares e hipertensivos (BLASA *et al.*, 2010; HABAUZIT; MILENKOVIC; MORAND, 2014; HUANG; OU; PRIOR, 2005). Estes efeitos benéficos têm sido atribuídos à presença de vários compostos como vitaminas, flavonoides, antocianinas e outros compostos fenólicos em frutas (KAUR; KAPOOR, 2001; RIBOLI; NORAT, 2003).

A Mata Atlântica é um dos 25 ecossistemas biologicamente mais ricos do mundo e ameaçados do mundo (MYERS *et al.*, 2000). Para promover a conservação da biodiversidade neste ecossistema ameaçado atualmente tem sido feita uma identificação de produtos que podem ser utilizados de forma sustentável. Neste sentido, as frutas nativas da Mata Atlântica são conhecidas por sua grande variedade de cores, tamanhos, formas e características sensoriais únicas, porém com características químicas desconhecidas (ALMEIDA *et al.*, 2011). Muitas destas frutas são historicamente desvalorizadas e consumidas em pequenas quantidades pela população local. Sabe-se que muitas frutas exóticas apresentam compostos conhecidos pela sua atividade antioxidante que ajudam a prevenir doenças (BATTINO *et al.*, 2009; FU *et al.*, 2011; RIBOLI; NORAT, 2003), por isso, existe um aumento crescente do interesse pelo consumo destas frutas pela população e pela indústria de alimentos (NETZEL *et al.*, 2007).

Apesar da grande diversidade frutos nativos da Floresta Atlântica que são conhecidos, ainda existem poucos trabalhos científicos que revelam suas propriedades nutraceuticas ou seu efeito na saúde. Além disso, os dados existentes não são completos por que não contemplam todo o período de amadurecimento dos frutos que podem ser utilizados pela indústria de alimentos a medida que estejam disponíveis. Assim, existe uma área promissora para esta investigação fazendo com

que aumente a atenção do consumidor a partir dos possíveis benefícios relacionados à sua ingestão.

O objetivo do Capítulo 1 foi caracterizar os diferentes estádios de amadurecimento quanto a cor do epicarpo e a atividade antioxidante *in vitro* quantificada pelos métodos de ABTS (ácido 2, 2-azino-bis (3 etilbenzotiazolin-6-sulfônico) e DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e a sua correlação com os compostos fenólicos totais, antocianinas, flavonoides, carotenoides, clorofila da polpa dos frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabioba e uvaia.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL VEGETAL

Foram coletados de 300-400 g de frutos de araçá amarelo e vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine), gabioba (*Camponesia xantocarpa* O. Berg.) e uvaia (*Eugenia uvalha* C.), pertencentes a família das Mirtáceas e butiá (*Butia eriosphata* (Martius) Becari), da família Arecaceae em fragmentos remanescentes da Floresta Atlântica em Curitiba, Paraná, Brasil, conforme descrito na TABELA 1. Os frutos foram selecionados pela ausência de defeitos e pelo tamanho homogêneo medindo-se o diâmetro por paquímetro e utilizando como valores de referência: frutos de araçá amarelo, butiá, gabioba e uvaia medindo de 18 a 24 mm e frutos de araçá vermelho de 30 a 40 mm. Os frutos foram divididos em quatro estádios de amadurecimento de acordo com a cor da casca, sendo que os frutos de araçá amarelo, butiá, gabioba e uvaia foram divididos em cor verde, parcialmente amarelo, amarelo e amarelo escuro. Enquanto isso, o araçá vermelho também foi dividido em quatro estádios de maturação de acordo com a cor da casca, sendo verde, parcialmente vermelho, vermelho e roxo escuro. Os frutos foram imediatamente transportados para o laboratório.

TABELA 1 – GÊNERO, ESPÉCIE, LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA DE ARAÇÁ AMARELO, ARAÇÁ VERMELHO, BUTIÁ, GABIROBA, E UVAIA

Nome Comum	Espécies	Localização Geográfica (Latitude/ Longitude)
Araçá amarelo	<i>Psidium cattleianum</i> Sabine var. amarela	25°26'59"S, 49°14'8"W
Araçá vermelho	<i>Psidium cattleiam</i> Sabine var. vermelha	25°26'59"S, 49°14'8"W
Butiá	<i>Butia eriosphata</i> (Martius) Beccari	25°34'5"W, 49°18'53"W
Gabirolba	<i>Camponesia xanthocarpa</i> O. Berg.	25°36'9"S, 49°19'17"W
Uvaia	<i>Eugenia uvalha</i>	25°35'19"S, 49°19'19"W

2.2 CARACTERIZAÇÃO DOS ESTÁDIOS DE AMADURECIMENTO

Os frutos foram separados conforme a cor do epicarpo em quatro estádios de amadurecimento conforme os resultados mostrados pela TABELA 2. A coloração da superfície dos frutos foi avaliada em espectrofotômetro de reflectância MiniScan XE Plus (Hunter Associates Laboratory, Inc., Naperville, IL, E.U.A.). O iluminante primário selecionado foi D65 (luz do dia correlacionada a temperatura de cor de 6.500 K) e ângulo do observador de 10°. Antes de realizar as medidas o equipamento foi calibrado conforme instruções do fabricante. As leituras foram realizadas contra o fundo preto e o sistema de cor utilizada foi o CIE (*Commission Internationale de l'Eclairage*) $L^*a^*b^*$ (L^* = luminosidade; a^* positivo = tonalidade vermelha e a^* negativo = tonalidade verde; b^* positivo = tonalidade amarela; b^* negativo = tonalidade azul). Para esta medida foram coletados aleatoriamente dez frutos em cada lote.

A parte comestível dos frutos, constituída de polpa e casca, em cada estágio de amadurecimento foi separada manualmente das sementes, mantendo a casca e congelada (-18 °C) e submetida a liofilização em liofilizador modulyod-230 (Thermo Electron Corporation, Milford, Massachusetts, EUA). Após seca a amostra foi triturada em moinho IKA A11® potência 160 W (Wilmington, EUA WERKE) e armazenados sob congelamento (-18 °C) até o uso nas análises de compostos bioativos e atividade antioxidante.

2.3 REAGENTES

Os reagentes utilizados foram: Folin-Ciocalteu, ABTS (ácido 2, 2–azino–bis(3 etilbenzotiazolin–6–sulfônico)), DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, U.S.A). Os padrões Trolox (6 – Hidroxi- 2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico), quercetina (98% grau cromatográfico) e ácido gálico foram adquiridos da Sigma (Steinheim, Germany); e BHT (2,6 Di-test-butyl-4-methylphenol) 99% foi adquirido da Merck (Darmstadt, Germany). Os demais reagentes foram utilizados em grau (P.A.): carbonato de sódio e persulfato de potássio (marca Neon), cloreto de alumínio hexaidratado, ácido clorídrico, acetona e ácido acético glacial marca Vetec (Rio de Janeiro, RJ, Brasil), álcool etílico (marca Fmaia) (Tucuruvi, SP, Brasil), álcool metílico (marca Dinâmica Química contemporânea) (Diadema, SP, Brasil) e nitrito de sódio (marca Synth) (Diadema, SP, Brasil).

2.4 EXTRAÇÃO DA AMOSTRA

A extração foi realizada conforme descrito por Qiu, Liu e Beta (1999) com modificações. 10 mL da mistura de solventes acetona/ água/ ácido acético glacial (70:29:1, v/v/v) foram adicionadas a 0,5 g de polpa dos frutos e extraído em ultra som Ultra Sonic Clear (Unique, Idaiatuba) por uma hora. Posteriormente, a mistura foi centrifugada a 16.900 x g por 25 minutos à 25 °C. O sobrenadante foi removido e extrato bruto utilizado para a determinação de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante. A extração foi realizada em triplicata.

2.5 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT)

O teor de compostos fenólicos totais (CFT) foi determinado por meio do método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965) modificado por Li *et al.* (2009). Resumidamente, 200 µL do extrato bruto previamente diluído foram adicionados ao reagente de Folin-Ciocalteu diluído 10 vezes em água destilada e recém-preparado. 1,9 mL de uma solução aquosa de carbonato de sódio (Na_2CO_3) (60 g L^{-1}) foi adicionado. Após 2 horas de reação a temperatura ambiente e ao abrigo da luz, a absorbância foi medida a 725 nm.

A quantificação foi determinada pela equação da curva de calibração, obtida para o padrão de ácido gálico em Folin-Ciocalteu nas concentrações de 20 a 200 µg ml^{-1} , plotando-se os valores de absorbância contra as concentrações e os resultados expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (GAE) por 100 g de matéria seca (MS).

2.6 DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para a determinação de atividade antioxidante dos frutos foram utilizados os métodos de DPPH e ABTS.

A determinação por DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) foi realizada conforme descrita pelo método de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) e modificada por Anton *et al.* (2008). Foram adicionados 3,9 mL de solução metanólica do reagente DPPH 60 µM a 100 µL de extrato bruto e após 30 minutos em repouso à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 515 nm. O álcool metílico foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro e o padrão com a solução extratora (acetona/ água/ ácido acético glacial, 70:29:1, v/v/v) foi utilizado para deduzir a absorbância obtida nas amostras. Curva padrão foi construída utilizando trolox em álcool etílico nas concentrações de 300 a 2000 µM e os resultados expressos em mM equivalente de trolox (TE) por 100 g de matéria seca (MS).

A determinação de atividade antioxidante pelo método ABTS (ácido 2, 2-azino-bis (3 etilbenzotiazolin-6-sulfônico)) foi realizada conforme descrita por Rufino *et al.* (2010). Uma solução de ABTS 7 mM em 145 mM de persulfato de potássio (oxidante químico) foi preparada na ausência de luz, 14 horas antes do uso e diluída em etanol até a absorvância de $0,70 \pm 0,02$ em 734 nm. Adicionou-se 30 μ L de amostra ou de padrão trolox em 3 mL de solução diluída de ABTS e a leitura realizada após 6 minutos de incubação a temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O álcool etílico foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro e o padrão com a solução extratora (acetona/ água/ ácido acético glacial, 70:29:1, v/v/v) foi utilizado para deduzir a absorvância obtida nas amostras.

A quantificação foi determinada pela equação da curva de calibração, obtida para o padrão trolox em álcool etílico nas concentrações de 300 a 2000 μ M e os resultados expressos em mM equivalente de trolox (TE) por 100 g de matéria seca (MS).

2.7 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS

A determinação de flavonoides totais foi realizada conforme descrito por Subhasree *et al.* (2009). 0,25 mL de extrato bruto (item 2.4) foi diluído com 1,5 mL de água destilada e adicionado de 150 μ L de solução aquosa de nitrito de sódio (NaNO_2) 5% (m/v). Após 5 minutos foram adicionados 300 μ L de solução aquosa de cloreto de alumínio ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 10% (m/v). Após a homogeneização, a mistura foi mantida em repouso por 6 minutos à temperatura ambiente e após isso, foram adicionados 1,0 mL de solução de NaOH 1 mol L^{-1} e o volume acertado para 5,0 mL com água destilada. A absorvância foi medida a 510 nm contra o branco (acetona/ água/ ácido acético glacial, 70: 29:1, v/v/v).

A quantificação foi determinada pela equação da curva de calibração, obtida para o padrão de quercitina nas concentrações 200 a 3000 μ g mL^{-1} , plotando-se os valores de absorvância contra as concentrações e os resultados expressos em g de equivalente de quercitina (EQ) por 100 g de matéria seca (MS).

2.8 DETERMINAÇÃO DE ANTOCIANINAS TOTAIS

A determinação de antocianinas totais foi realizada pela metodologia de Francis (1982). Misturou-se 1,0 g de amostra liofilizada com 30 mL de solução extratora constituída de etanol 95%:HCl 1,5 mol l⁻¹ (85:15, v/v). A amostra foi homogeneizada e mantida por uma noite (14 – 16 horas) à temperatura de 10 °C em refrigerador. O extrato foi filtrado e o volume completado para 100 mL e a absorbância lida a 535 nm. Os resultados foram calculados pela fórmula:

$$\text{Antocianinas totais (mg 100 g}^{-1}\text{ MS)} = (\text{FD} \times A_{535}) / 98,2$$

onde FD é o fator de diluição da amostra (g de frutos/ solução extratora), A_{535} é a absorbância medida a 535 nm.

2.9 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CAROTENOIDES TOTAIS

O teor de carotenoides totais foi determinado pelo método de Talcoot e Haword (1999). Adicionou-se solução extratora acetona: etanol (1:1, v/v), adicionada de 200 mg L⁻¹ de BHT, em almofariz e pistilo, a 1,0 g de amostra de polpa de frutos liofilizados e em 4 lavagens consecutivas para sua descoloração completa. O extrato foi filtrado e o volume acertado para 100 mL e a absorbância medida em espectrofotômetro em comprimento de onda de 470 nm. O teor de carotenoides totais foi calculado pela equação de Gross (1991):

$$\text{Carotenoides totais (}\mu\text{g/g MS)} = (A_{470} \times V \times 10^6) / (A^{1\%} \times 100 \times g)$$

onde A_{470} é a absorbância medida a 470 nm, V é o volume total do extrato (100 mL), $A^{1\%}$ é o coeficiente de extinção para a mistura de solventes (2500) e g é o peso da amostra em gramas.

2.10 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLOROFILA

O teor de clorofila foi determinado pelo método descrito por Bruinsma (1963). Em 1,0 g de amostra liofilizada, adicionou-se 30 mL de acetona 80% (v/v) e procedeu-se a homogeneização em almofariz com posterior filtração. O volume do sobrenadante foi acertado para 50 mL. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 645 e 663 nm e a clorofila total calculada pela equação de Engel e Poggiani (1990):

$$\text{Clorofila total } (\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}) = 20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663},$$

onde A_{645} é a absorbância medida a 645 nm e A_{663} é a absorbância medida a 663 nm.

2.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram reportados como média \pm desvio padrão da média. Os resultados obtidos foram analisados pelo teste de análise de variância (*one way ANOVA*) no *software* Statistica para Windows 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, USA). O teste de Tukey foi usado para indicar diferenças significativas entre médias para as amostras. O teste de correlação de Person foi usado para medir o grau de correlação entre os resultados obtidos entre as análises realizadas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 AVALIAÇÃO DA COR NOS ESTÁDIOS DE AMADURECIMENTO

Os resultados referentes aos parâmetros de cor L^* , a^* e b^* no epicarpo dos frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabiroba e uvaia durante o amadurecimento são mostrados na TABELA 2.

Durante o amadurecimento de araçá amarelo, butiá, gabioba e uvaia foi observado um aumento no parâmetro L^* (indicador de luminosidade) e no parâmetro b^* (que quando positivo indica a cor amarela). A alteração nos parâmetros de cor demonstra a mudança em decorrência do amadurecimento onde ocorre o desaparecimento da coloração verde e evolução da coloração amarela/laranja (FIGURAS 7 e 8). Este comportamento é similar ao que tem sido descrito para outros frutos como maracujá, cajá e banana, que apresentam esta mudança na coloração (verde ao início do amadurecimento e amarelo/ laranja ao final do amadurecimento) (FIGUEREDO *et al.*, 2013; MOURA *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2008; YANG *et al.*, 2009), entre outros frutos. Alterações nos parâmetros a^* e b^* ocorridas nos frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabioba e uvaia sugerem a ocorrência de fenômenos do amadurecimento que incluem degradação das clorofilas a e b, degradação de novos pigmentos, como os carotenoides e/ou flavonoides (HULME, 1971; PANTASTICO, 1975).

Nos frutos de araçá vermelho a diminuição no parâmetro L^* foi observada a partir do segundo estágio de amadurecimento (FIGURA 9). O parâmetro b^* diminuiu durante o amadurecimento combinado ao aumento no parâmetro a^* (-3,9 para +18,9). Os frutos de araçá vermelho exibiram a coloração verde no estágio 1, correspondente ao parâmetro a^* negativo, e a coloração vermelha escura no estágio 4, correspondente ao parâmetro a^* positivo. Esta alteração no parâmetro a^* já foi relatada em vários estudos de frutos que exibem esta mudança na superfície externa durante o amadurecimento, como é o caso de frutos de acerola (*Malpighia emarginata* DC.) (ADRIANO; LEONEL; EVANGELISTA, 2011) e gulupa (*Passiflora edulis* Sims. fo *edulis*) (JIMÉNEZ *et al.*, 2011).

TABELA 2 - VARIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE COR DO EPICARPO NOS FRUTOS DE ARAÇÁ AMARELO, VERMELHO, BUTIÁ, GABIROBA E UVAIA EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE AMADURECIMENTO

NOME COMUM	COR DO EPICARPO			ESTÁDIOS	COR ¹
	L*	a*	b*		
Araçá amarelo	34,18 ± 9,50 ^{aB}	-7,55 ± 2,39 ^{aA}	32,58 ± 9,58 ^{aB}	1	Verde
	45,25 ± 3,60 ^{bC}	-3,34 ± 1,34 ^{bA}	42,71 ± 2,47 ^{bC}	2	Parcialmente amarelo
	48,00 ± 4,38 ^{bBC}	0,57 ± 0,36 ^{cA}	44,86 ± 2,30 ^{bB}	3	Amarelo
	55,72 ± 5,55 ^{cD}	9,41 ± 1,91 ^{dA}	50,66 ± 4,79 ^{cC}	4	Amarelo escuro
Araçá vermelho	18,94 ± 4,13 ^{bA}	-3,89 ± 0,79 ^{aB}	22,61 ± 2,93 ^{cA}	1	Verde
	20,11 ± 2,97 ^{bA}	1,98 ± 1,85 ^{bB}	24,17 ± 1,67 ^{cA}	2	Parcialmente vermelho
	16,83 ± 3,24 ^{bA}	17,86 ± 2,40 ^{cC}	17,13 ± 2,56 ^{bA}	3	Vermelho
	5,97 ± 1,94 ^{aA}	18,92 ± 0,94 ^{cC}	6,65 ± 1,75 ^{aA}	4	Roxo escuro
Butia	36,17 ± 3,08 ^{aC}	-7,56 ± 1,38 ^{aA}	32,93 ± 1,50 ^{aB}	1	Verde
	44,42 ± 3,56 ^{bC}	-1,54 ± 1,26 ^{bA}	39,88 ± 2,43 ^{bBC}	2	Parcialmente amarelo
	45,30 ± 3,38 ^{cC}	3,99 ± 0,60 ^{cB}	45,27 ± 1,65 ^{cB}	3	Amarelo
	48,80 ± 1,10 ^{bcC}	13,95 ± 0,71 ^{dB}	43,58 ± 1,04 ^{cB}	4	Amarelo escuro
Gabirola	30,90 ± 3,07 ^{aB}	-7,76 ± 1,37 ^{aA}	30,44 ± 1,50 ^{aB}	1	Verde

	39,14 ± 3,55 ^{bB}	-1,74 ± 1,26 ^{bA}	37,40 ± 2,43 ^{bB}	2	Parcialmente amarelo
	40,03 ± 3,38 ^{cB}	3,79 ± 0,60 ^{cB}	41,09 ± 1,65 ^{cB}	3	Amarelo
	43,53 ± 1,09 ^{bB}	13,75 ± 0,71 ^{dB}	42,79 ± 1,04 ^{cB}	4	Amarelo escuro
Uvaia	33,74 ± 3,75 ^{aBC}	-7,45 ± 1,29 ^{aA}	32,78 ± 4,31 ^{aB}	1	Verde
	45,99 ± 5,91 ^{bC}	-3,29 ± 1,42 ^{bA}	47,70 ± 4,84 ^{bD}	2	Parcialmente amarelo
	53,80 ± 3,28 ^{cD}	0,19 ± 0,88 ^{cA}	55,83 ± 3,28 ^{cC}	3	Amarelo
	54,88 ± 6,83 ^{cD}	8,98 ± 2,91 ^{dA}	59,88 ± 6,54 ^{cD}	4	Amarelo escuro

¹ Baseado em observação visual; L* = Luminosidade; a* = tonalidade verde-vermelha; b* = tonalidade azul-amarela. Letras minúsculas representam diferença estatística (p<0.05) entre estádios de amadurecimento em cada fruto. Letras maiúsculas representam diferença estatística (p<0.05) no estádio de amadurecimento entre os frutos



FIGURA 7 - ESTÁDIOS DE AMADURECIMENTO DE FRUTOS DE ARAÇÁ AMARELO. DA DIREITA PARA A ESQUERDA: ESTÁDIO 1, ESTÁDIO 2, ESTÁDIO 3 E ESTÁDIO 4.

Fonte: O autor (2013)



FIGURA 8 - FRUTOS DE UVAIA DURANTE O AMADURECIMENTO: A – ESTÁDIO 1; B – ESTÁDIO 2; C – ESTÁDIO 3; D – ESTÁDIO 4.

Fonte: O autor (2013)



FIGURA 9 - FRUTOS DE ARAÇÁ VERMELHO. A - ESTÁDIO 1; B - ESTÁDIO 2; C - ESTÁDIO 3; D – ESTÁDIO 4.

Fonte: O autor (2013)

3.2 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT)

Os compostos fenólicos são produtos de metabolismo secundário das plantas (FARAH; DONANGELO, 2006). A contribuição dos compostos fenólicos para as características sensoriais e nutricionais dos vegetais já se encontra bem estabelecida (NYCHAS, 1995). Sabe-se que além dos fatores ambientais, o grau de maturação na colheita dos frutos também influencia no teor de compostos fenólicos totais (ZADERNOWSKI; NACZK; NESTEROWICZ, 2005).

A FIGURA 10 apresenta o teor de compostos fenólicos totais (CFT) da polpa dos frutos liofilizados de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabioba e uvaia durante os estádios de amadurecimento. Nos frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, gabioba e uvaia foi possível perceber que o teor de CFT reduziu progressivamente durante o amadurecimento. Este comportamento já havia sido relatado em outros frutos tropicais como acerola (*Malpighia emarginata* DC) (LIMA *et al.*, 2005), pitanga (*Eugenia uniflora* L.) (CELLI; PEREIRA-NETTO; BETA, 2011), goiaba (EL BULK; BABIKER; EL TINAY, 1997), carambola (ZAINUDIN *et al.*, 2014) e em outros frutos como framboesas vermelhas cv. Caroline (*Rubus idaeus* subsp.) (WANG; CHEN; WANG, 2009).

Os taninos são compostos fenólicos de alto peso molecular que têm seu conteúdo diminuído durante o amadurecimento dos frutos. Isto ocorre por que sua principal função está relacionada com a defesa contra patógenos e na detenção de herbívoros precipitando proteínas gluco salivares da cavidade oral o que ocasiona a perda do poder lubrificante impedindo o seu consumo quando os frutos estão verdes (BRUNETON, 1991; HARBONE, 1989; VOLZ, 2001). A redução progressiva no teor de CFT durante o amadurecimento dos frutos pode ter ocorrido pela diminuição dos taninos que não foram mensurados neste trabalho.

Em frutos de butiá, a redução progressiva aconteceu até o estágio 3 e foi seguida pelo aumento do teor de CFT do estágio 3 para o estágio 4. Este comportamento de redução progressiva, com posterior aumento já havia sido relatado em frutos de mirtilo das cultivares “Puru” e “Berkeley” (CASTREJÓN *et al.*, 2008), em

frutos de *Arbutus unedo* (OLIVEIRA *et al.*, 2011) e em frutos asiáticos conhecidos como durião (*Durio zibethinus* Murray) (HARUENKIT *et al.*, 2010).

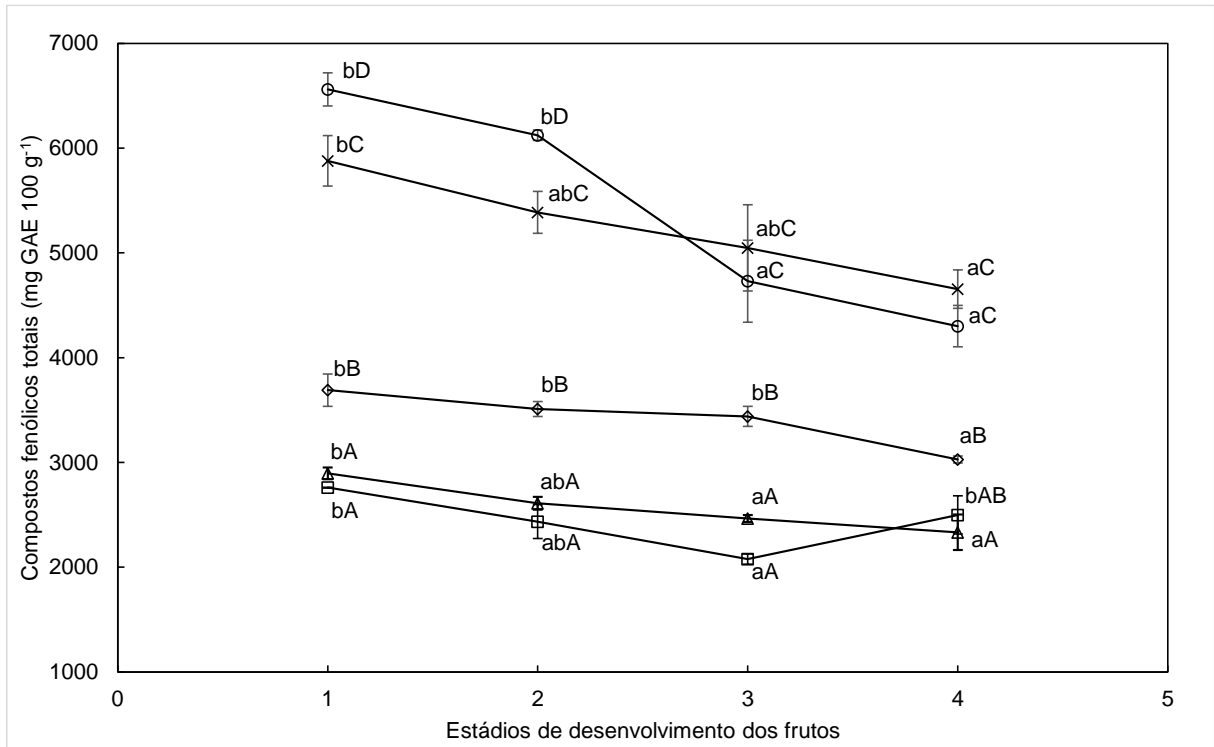


FIGURA 10 - VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DURANTE O AMADURECIMENTO DE FRUTOS DE ARAÇÁ AMARELO (x), ARAÇÁ VERMELHO (Δ), BUTIÁ (□), GABIROBA (○) E UVAIA (◇) (mg DE ÁCIDO GÁLICO.100g⁻¹ DE MATÉRIA SECA).

Letras minúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) nos estádios de amadurecimento em cada fruto. Letras maiúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) no estágio de amadurecimento entre os frutos.

Jiménez-Escrig *et al.* (2001) encontraram 2630 e 2620 mg GAE.100g⁻¹ MS para teores de CFT em frutos maduros de *Psidium guajava* e *Psidium acutangulum*, respectivamente. Neste trabalho, o teor de CFT de araçá vermelho, no estágio 4, foi ligeiramente menor (2332 mg GAE 100g⁻¹ MS), enquanto em araçá amarelo (4653 mg GAE 100g⁻¹ MS), foi quase duas vezes maior comparado com araçá vermelho e duas vezes maior quando comparado com outras duas espécies do gênero *Psidium* mencionadas.

Nos frutos de uvaia, o teor de CFT no estágio 4 (3028 mg GAE 100g⁻¹ MS) foi superior ao relatado anteriormente por Haminiuk *et al.* (2011) para o mesmo fruto (2409 mg GAE 100g⁻¹). Os compostos fenólicos, nas plantas, são sintetizados em resposta à variação dos fatores abióticos naturais como irradiação solar, luz UV, seca, nutrientes e estações do ano. Assim, estes compostos não estão diretamente

envolvidos no crescimento, desenvolvimento e reprodução dos organismos e por isso, são denominados de compostos de metabolismo secundário (MOLE; WATERMAN, 1988, GARTLAN *et al.*, 1980, GLYPHIS; PUTTICK, 1988). Além disso, tem-se demonstrado que fatores externos, como poluentes, podem interferir na síntese de compostos fenólicos causando mudanças no teor de CFT sintetizados em plantas (JORDAN *et al.*, 1991). Isto mostra que o local onde o indivíduo qual foi feita a coleta pode influenciar nas variações encontradas nos resultados obtidos neste trabalho quando se compara àqueles descritos pela literatura. Enquanto isso, o teor de CFT encontrado para os frutos de gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg.) (4301 mg GAE 100 g⁻¹ MS) foi próximo ao apresentado pela literatura para frutos de *C. pubescens* (4842 mg GAE 100g⁻¹ MS) (HAMINIUK *et al.* 2011).

Todas as polpas dos frutos apresentaram alto teor de CFT, independentemente do estágio de amadurecimento, em comparação com outros frutos como jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) (955 mg GAE 100g⁻¹ MS) (HAMINIUK *et al.*, 2011), durião Mon Thong (*Durio zibethinus* Murray) (130 - 430 mg GAE 100g⁻¹ MS) (HARUENKIT *et al.*, 2010) e seis variedades de mirtilo (KALT *et al.*, 2003) (1170 - 1960 mg GAE 100g⁻¹ MS). Os compostos fenólicos são importantes componentes da dieta por serem responsáveis por de uma grande variedade de propriedades farmacológicas, incluindo anti-alérgicas, anti-aterogênico, anti-inflamatória, antimicrobiana e efeitos antitrombóticos e por terem efeitos cardio-protetores e efeitos vasodilatadores (MANACH; MAZUR; SCALBERT, 2005). Mesmo com a grande variedade de frutos nativos presentes nos biomas encontrados no Brasil, poucos frutos são conhecidos nacional e internacionalmente como responsáveis por estas propriedades, exceto pelos frutos de açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.). O teor de CFT de frutos de açaí descrito pela literatura é de 3964 mg 100 g⁻¹ (COHEN *et al.*, 2009). Assim, observa-se que os frutos de gabioba e araçá amarelo possuem teor de CFT maior do que o encontrado para os frutos de açaí.

Não existe ainda uma quantidade recomendada de ingestão de CFT, seja por ausência destes dados nas tabelas em que constem dados de composição dos alimentos ou por inexistência de uniformidade de metodologia para identificação e quantificação destes compostos. Assim, Rufino *et al.* (2010) sugeriu uma classificação dos frutos quanto ao teor de CFT. Utilizando esta classificação neste trabalho em frutos no estágio 4 (ao final do amadurecimento quando estes frutos são comumente consumidos), temos: os frutos de butiá (2499 mg 100g⁻¹), araçá vermelho (2332 mg

100g⁻¹) e uvaia (3028 mg 100g⁻¹) classificados como frutos que possuem teores médios de CFT, enquanto os frutos de araçá amarelo (4653 mg 100g⁻¹) e gabioba (4301 mg 100g⁻¹) classificados como frutos com altos teores de CFT.

Os resultados dos teores de CFT deste trabalho para os frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabioba e uvaia mostram que estes frutos possuem de médio a alto teores de CFT, comparáveis a frutos nativos do Brasil conhecidos internacionalmente como fontes destes compostos, e, por isso, poderiam ser indicados para ingestão diária. Além disso, para os frutos estudados neste trabalho foi possível perceber que os compostos fenólicos variam conforme o amadurecimento.

3.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Nas FIGURAS 11 e 12 apresentam a atividade antioxidante de frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabioba e uvaia, obtida pelos métodos DPPH e ABTS, respectivamente.

A atividade antioxidante nos frutos de gabioba foi maior comparada com os frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá e uvaia. No método de DPPH, os frutos de gabioba não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os estádios 1 e 2 e, 3 e 4, enquanto entre os estádios 2 e 3 foi encontrada diferença significativa. Enquanto isso, no método do radical ABTS, não houve diferença significativa entre os estádios de amadurecimento.

Redução progressiva da atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS foi encontrada durante o amadurecimento dos frutos de araçá vermelho e uvaia. Comportamento semelhante já havia sido relatado para a atividade antioxidante pelo método de DPPH para outros frutos, como: pitanga (*Eugenia uniflora*) (CELLI; PEREIRA-NETTO, BETA, 2011), morangos (*Arbutus unedo* L.) (OLIVEIRA *et al.*, 2011) e nêspera (*Mespilus germanica* L.) (GRUZ *et al.*, 2011). A redução progressiva encontrada na atividade antioxidante destes frutos coincidiu com a redução progressiva encontrada para estes frutos no teor de CFT. Isto acontece por que os dois métodos utilizados para mensurar a atividade antioxidante (ABTS e DPPH) dos frutos neste trabalho, geram radicais livres quimicamente e, isto é consistente com a forma de atuação dos compostos fenólicos que capturam estes radicais livres

alterando a cor da solução que será medida espectrofotometricamente (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992).

Ainda, como mostrado nos dados presentes na TABELA 3, o teor de CFT apresentou correlação positiva com a atividade antioxidante pelos métodos de DPPH ($r = 0,69$) e ABTS ($r = 0,89$). Uma relação positiva entre os compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante já havia sido relatada por outros autores (ANGELO; JORGE, 2007; BATTINO *et al.*, 2009; HALLIWELL, 1996; THAIPONG *et al.*, 2006).

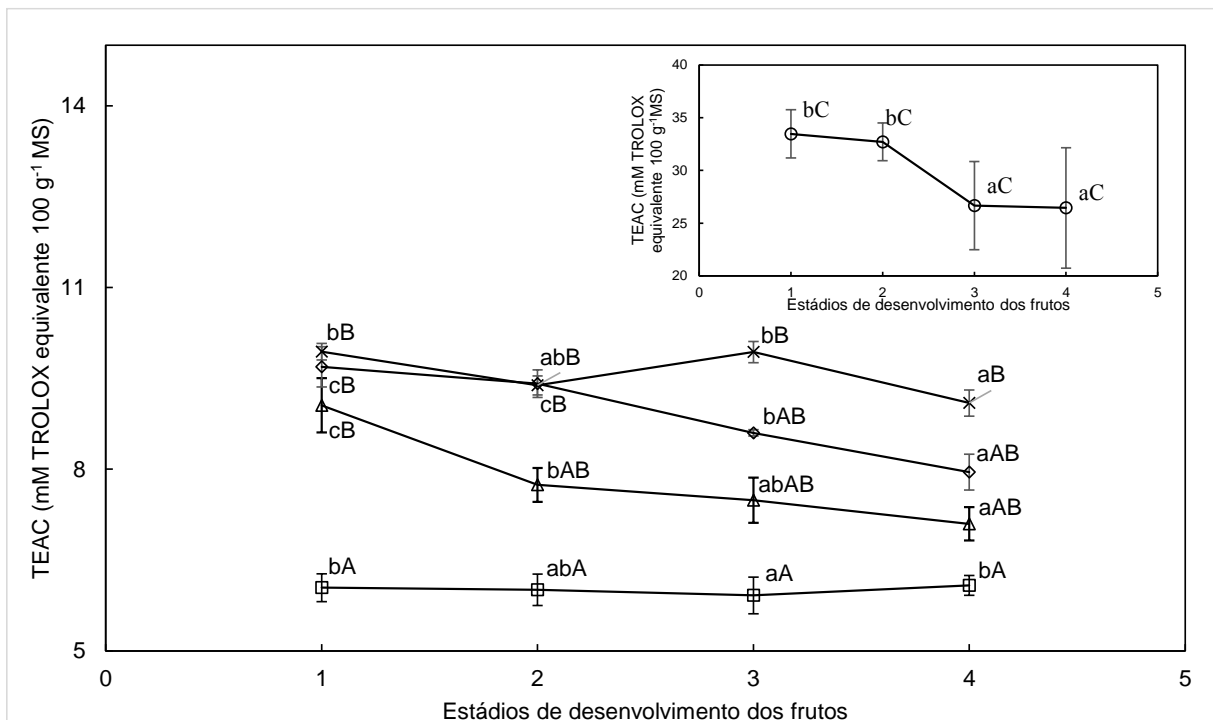


FIGURA 11 - VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE MEDIDA PELO MÉTODO DPPH DURANTE O AMADURECIMENTO DE FRUTOS DE ARAÇÁ AMARELO (x), ARAÇÁ VERMELHO (Δ), BUTIÁ (□), GABIROBA (○, inserto) E UVAIA (◇).

Letras minúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) nos estádios de amadurecimento em cada fruto. Letras maiúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) no estágio de amadurecimento entre os frutos.

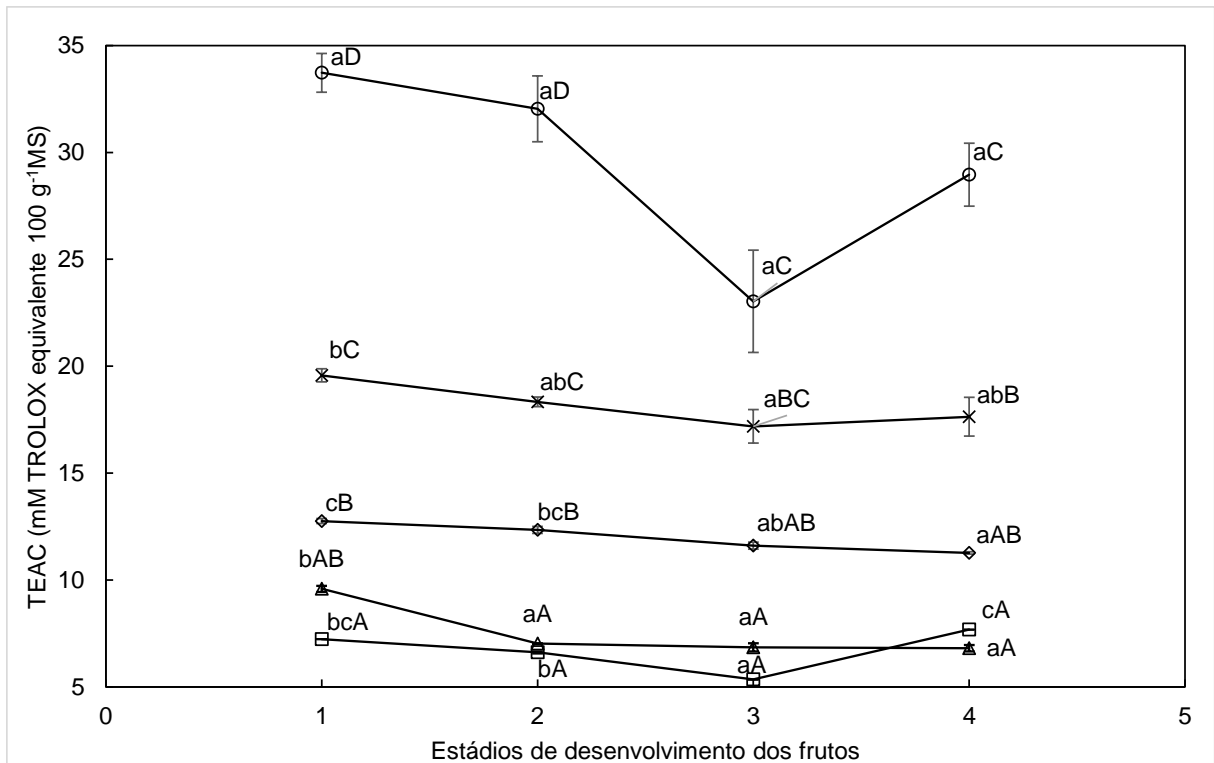


FIGURA 12 - VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE MEDIDA PELO MÉTODO DE ABTS DURANTE O AMADURECIMENTO DE FRUTOS DE ARAÇÁ AMARELO (x) ARAÇÁ VERMELHO (Δ), BUTIÁ (\square), GABIROBA (\circ) E UVAIA (\diamond) (mM TROLOX EQUIVALENTE.100g⁻¹ MS).

Letras minúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) nos estádios de amadurecimento em cada fruto. Letras maiúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) no estágio de amadurecimento entre os frutos.

Os frutos de mirtilo são popularmente conhecidos como detentores de alta atividade antioxidante e conseqüentemente, têm sido indicados para o consumo na dieta com finalidade de prevenção de doenças (PRIOR *et al.*, 1998; TARUSCIO; BARNEY; EXON, 2004). Neste trabalho, todos os frutos estudados apresentaram maior atividade antioxidante que a encontrada para cultivares de mirtilo (*Vaccinium corymbosum* L.) (CASTREJÓN *et al.*, 2008).

Rufino *et al.* (2010) avaliaram 18 frutos tropicais brasileiros com relação a atividade antioxidante. Utilizando esta sugestão, no nosso trabalho, a ordem decrescente da atividade antioxidante mensurada pelo método de DPPH para frutos completamente maduros foi: gabiroba > araçá amarelo = uvaia = araçá vermelho > butiá. Para o método de ABTS, a atividade antioxidante decrescente dos frutos foi: gabiroba > araçá amarelo = uvaia > butiá = araçá vermelho.

O coeficiente de correlação de Person para as análises realizadas neste trabalho está apresentado na TABELA 3. A correlação entre DPPH e ABTS foi alta ($r = 0,92$, $p < 0,01$). É esperado que esta correlação seja alta já que os dois métodos

utilizados são baseados na neutralização de radicais livres gerados por reagentes químicos. Alta correlação entre estes métodos já havia sido relatada por outros autores (RUFINO *et al.*, 2010; THAIPONG *et al.*, 2006; VILLA-RODRIGUEZ *et al.*, 2011).

Diferenças nos valores encontrados para os métodos de DPPH e ABTS, como foi observado para os frutos de araçá amarelo podem acontecer por que cada método fornece uma estimativa da capacidade antioxidante que é resultado das condições e reagentes utilizados. Por exemplo, o método de determinação de atividade antioxidante por DPPH por ser um radical livre estável que está disponível comercialmente, evita que o radical livre seja gerado de distintas formas pelo pesquisador (como ocorre com o método ABTS), facilitando seu uso (SUCUPIRA *et al.*, 2012). Além disso, a literatura relata outras diferenças entre estes dois métodos. Por exemplo, no método de DPPH a acessibilidade esférica é fator determinante da reação, ou seja, moléculas pequenas que tem um menor acesso ao sítio do radical podem apresentar uma maior atividade aparente quando comparada às moléculas maiores (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005). Ainda, no método o reagente DPPH não reage com flavonoides que não contém grupamentos OH no anel B e com ácidos benzênicos contendo o grupamento OH (ROGINSKY; LISSI, 2005) o que leva a subestimar a atividade antioxidante. Assim, dependendo da natureza química das moléculas antioxidantes, cada método poderá fornecer uma estimativa diferente para os frutos analisados. Por isso, a utilização de diferentes métodos ajuda a identificar variações nas respostas dos compostos extraídos dos frutos (VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008).

Alto coeficiente de correlação de Person (TABELA 3) foi encontrado para CFT-DPPH e CFT-ABTS ($r = 0,69$ e $r = 0,89$, $p < 0,01$, respectivamente). Macoris *et al.* (2012) e Vasco, Ruales e Kamal-Eldin (2008) reportaram alta correlação entre os compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de frutos. Os compostos fenólicos são multifuncionais como antioxidantes, pois atuam de diversas formas: neutralizando e combatendo os radicais livres, pela doação de um radical de hidrogênio de um grupo hidroxila (OH) da sua estrutura aromática, que possui a capacidade de suportar um elétron desemparelhado através do deslocamento deste ao redor de todo o sistema de elétrons da molécula e quelando metais de transição como Fe^{2+} e Cu^{+} , interrompendo a reação de propagação dos radicais livres na oxidação lipídica e

reparando lesões nas moléculas atacadas por radicais livres (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

TABELA 3 - COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE PEARSON (r) ENTRE OS COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ARAÇÁ AMARELO, ARAÇÁ VERMELHO, BUTIÁ, GABIROBA E UVAIA.

R	CFT	DPPH	ABTS	Antoc	Flavon	Clorof	Carot	L*	a*
DPPH	0,69*								
ABTS	0,89*	0,92*							
Antoc	-0,29	-0,31	-0,34						
Flavon	0,21	-0,36	-0,13	-0,04					
Clorofila	0,11	-0,01	0,01	-0,13	0,62*				
Carot	0,32	0,59*	0,52**	-0,48**	0,04	0,28			
L*	0,22	0,00	0,18	0,59*	0,11	-0,06	0,47**		
a*	-0,42	-0,14	-0,23	0,43**	-0,63*	-0,76*	-0,23	0,13	
b*	0,18	0,01	0,16	0,61*	0,07	-0,08	0,51**	0,98*	0,13

Antoc – antocianinas; Flavon – flavonoides; Clorof – clorofilas; Caroten – carotenoides; Betac – betacianinas; Betax – betaxantinas.

*Apresenta diferença significativa com $p < 0,01$.

** Apresenta diferença significativa com $p < 0,05$.

Os altos teores de CFT e a alta atividade antioxidante encontrados para as polpas dos frutos deste trabalho, demonstraram que frutos nativos da Floresta Atlântica possuem importância quando comparados com frutos que são conhecidos internacionalmente pela sua alta atividade antioxidante e pelo seu potencial funcional quando incluídos na dieta (como por exemplo açaí e mirtilo) e que são produzidos comercialmente. Assim, é possível observar que existe um potencial de exploração comercial destes frutos nativos da Floresta Atlântica, expandindo de um consumo pela população local das áreas remanescentes, que possuem indivíduos destas espécies nativas, para um consumo nível nacional e internacional.

3.4 CONTEÚDO DE FLAVONOIDES TOTAIS

Os resultados obtidos pelas análises de conteúdo de flavonoides totais dos frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabiroba e uvaia s apresentados na

TABELA 4. Dentre as funções dos flavonoides, sabe-se que são contribuintes para a pigmentação e para o aroma dos frutos, além de atuarem na defesa contra organismos patogênicos e na proteção contra os efeitos da radiação ultravioleta. Os flavonoides são reconhecidos por sua atividade antioxidante, devido a sua capacidade de reduzir a formação de radicais livres *in vitro* e de eliminar radicais livres produzidos pelos organismos (CAO; SOFIC; PRIOR, 1996). Estudos epidemiológicos evidenciaram os efeitos benéficos dos flavonoides quando inseridos na dieta humana contra doenças cardiovasculares, câncer e outras doenças crônicas não transmissíveis (BURDA, OLESZEK, 2001; COOK, SAMMAN, 1996; PIETTA, 2000).

Exceto para os frutos de butiá, o conteúdo de flavonoides totais diminuiu do estágio 1 para o estágio 4 em todos os frutos estudados: araçá vermelho (10,97 para 7,67 g EQ 100 g⁻¹ MS), araçá amarelo (22,51 para 8,28 g EQ 100 g⁻¹ MS), gabioba (10,33 para 4,43 g EQ 100 g⁻¹ MS) e uvaia (15,43 para 11,18 g EQ 100 g⁻¹ MS). Esta diminuição no conteúdo de flavonoides totais também foi observada em abacate (VILLA-RODRÍGUEZ *et al.*, 2011) e morangos (SHIN *et al.*, 2008). Foi possível perceber que houve uma relação positiva do conteúdo de flavonoides totais, teor de CFT e atividade antioxidante nos frutos de araçá vermelho, araçá amarelo, butiá e uvaia. Esta relação é explicada pela natureza química dos flavonoides que são compostos polifenólicos que possuem alta atividade antioxidante devido a presença do grupo catecol na sua molécula, a qual realiza a doação elétrons para estabilização das espécies reativas (MELO; GUERRA, 2002; WILLIAMS; SPENCER; RICE-EVANS, 2004).

As mudanças no teor de CFT e de flavonoides totais podem estar relacionadas com a expressão de genes que codificam determinadas enzimas biossintéticas de polifenóis, como fenilalanina amônia liase (PAL) e a polifenol oxidase (PPO) (AYAZ *et al.*, 2008; ORTEGA-GARCIA; PERAGON, 2009). A PAL é considerada responsável pela regulação da biossíntese de compostos fenólicos já que ela inicia a biossíntese de flavonoides pela desaminação da fenilalanina formando ácido cinâmico. E, por isso é considerada enzima reguladora do amadurecimento de frutos (JONES, 1984; GLEITZ *et al.*, 1991).

Em frutos de araçá vermelho e uvaia o conteúdo de flavonoides totais diminuiu significativamente do estágio 1 para 2, mas não houve diferença significativa entre os estádios 2 e 3 e, 3 e 4. Enquanto isso, no araçá amarelo o conteúdo de flavonoides totais diminuiu significativamente nos estádios 1 e 2 e, 3 e 4, mas não houve diferença

significativa entre os estádios 2 e 3. Em frutos de gabirola, não houve diferença significativa no conteúdo de flavonoides totais entre os estádios 1 e 2 e, 3 e 4, enquanto este conteúdo diminuiu significativamente entre os estádios 2 e 3. Nos frutos de araçá amarelo e gabirola, os resultados mostraram uma diminuição no conteúdo de flavonoides totais ao longo do amadurecimento e este comportamento já havia sido apontado para frutos de pitanga da variedade vermelha (*Eugenia uniflora*) (CELLI, 2010), mirtilo (*Vaccinium corymbosum* L.) (CASTREJÓN *et al.*, 2008) e carambola (ZAINUDIN *et al.*, 2014). Sabe-se que variações no conteúdo de flavonoides totais acontecem principalmente por diferenças na intensidade de radiação ultravioleta, temperatura, sazonalidade, disponibilidade hídrica e de nutrientes, e por ataque de patógenos das plantas (GOBBO-NETTO; LOPES, 2007).

TABELA 4 – CONTEÚDO DE FLAVONOIDES TOTAIS, ANTOCIANINAS TOTAIS, CAROTENOIDES TOTAIS, CLOROFILA TOTAL DE FRUTOS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE AMADURECIMENTO

Frutos /Estádios		Flavonoides totais (g EQ 100g ⁻¹)	Antocianinas totais (mg 100 g ⁻¹)	Carotenoides totais (mg 100 g ⁻¹)	Clorofila total (µg 100 g ⁻¹)
Araçá amarelo	1	22,51 ± 0,54 ^{cC}	43,11 ± 0,73 ^{bC}	75,02 ± 1,16 ^{dB}	16,95 ± 0,27 ^{dB}
	2	13,95 ± 1,58 ^{bC}	36,77 ± 4,30 ^{abC}	52,27 ± 0,50 ^{cB}	8,04 ± 0,67 ^{cB}
	3	13,28 ± 1,65 ^{bD}	32,47 ± 2,58 ^{aB}	44,13 ± 0,57 ^{bB}	4,41 ± 0,34 ^{bB}
	4	8,28 ± 1,49 ^{aB}	39,83 ± 0,64 ^{abC}	40,44 ± 0,83 ^{aB}	2,11 ± 0,04 ^{aB}
Araçá vermelho	1	10,97 ± 0,68 ^{bA}	17,76 ± 1,67 ^{aA}	37,07 ± 2,50 ^{cA}	13,16 ± 0,01 ^{dA}
	2	8,58 ± 0,48 ^{aA}	26,14 ± 2,00 ^{bB}	22,13 ± 0,50 ^{bA}	4,92 ± 0,35 ^{cA}
	3	7,67 ± 0,61 ^{aAB}	71,62 ± 0,73 ^{cC}	15,16 ± 0,33 ^{aA}	2,23 ± 0,38 ^{bA}
	4	7,77 ± 0,65 ^{aB}	216,00 ± 2,10 ^{dD}	12,84 ± 0,38 ^{aA}	1,25 ± 0,09 ^{aA}
Butiá	1	16,56 ± 1,01 ^{cB}	38,47 ± 0,16 ^{dB}	82,04 ± 1,55 ^{bB}	21,56 ± 0,16 ^{dC}
	2	10,50 ± 0,29 ^{abAB}	28,17 ± 0,28 ^{cB}	86,44 ± 0,83 ^{cC}	12,14 ± 0,18 ^{cC}
	3	8,83 ± 0,54 ^{aBC}	18,10 ± 1,12 ^{aA}	70,93 ± 1,43 ^{aC}	5,60 ± 0,26 ^{bC}
	4	12,29 ± 1,01 ^{bC}	24,55 ± 0,85 ^{bB}	143,02 ± 0,44 ^{dC}	3,27 ± 0,07 ^{aC}
Gabirola	1	10,33 ± 0,54 ^{bA}	17,99 ± 0,48 ^{dA}	184,13 ± 11,16 ^{bC}	12,15 ± 0,49 ^{cA}
	2	9,22 ± 0,43 ^{bA}	12,45 ± 0,42 ^{bA}	181,87 ± 0,29 ^{bE}	8,64 ± 0,14 ^{bB}
	3	5,75 ± 0,32 ^{aA}	14,60 ± 0,28 ^{cA}	191,64 ± 4,06 ^{bE}	8,87 ± 0,18 ^{bE}
	4	4,43 ± 0,60 ^{aA}	8,37 ± 0,32 ^{aA}	157,11 ± 2,76 ^{aD}	3,31 ± 0,38 ^{aC}
Uvaia	1	15,43 ± 0,74 ^{bB}	54,54 ± 2,32 ^{dD}	173,73 ± 2,84 ^{bC}	32,26 ± 0,61 ^{dA}
	2	13,04 ± 0,06 ^{aBC}	39,26 ± 0,16 ^{cC}	148,40 ± 0,22 ^{aD}	15,84 ± 0,12 ^{cD}

3	11,22 ± 0,83 ^{aCD}	30,21 ± 0,55 ^{bB}	167,69 ± 4,35 ^{bD}	7,62 ± 0,23 ^{bD}
4	11,18 ± 0,56 ^{aC}	23,76 ± 1,00 ^{aB}	176,76 ± 3,52 ^{bE}	2,84 ± 0,32 ^{aBC}

Média ± desvio padrão; n = 3.

Letras minúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) para os estádios de amadurecimento no mesmo gênero e espécie pelo teste de Tukey.

Letras maiúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre gêneros e espécies diferentes para cada estágio de amadurecimento pelo teste de Tukey.

Quanto ao conteúdo de flavonoides totais, os frutos de butiá apresentaram uma redução progressiva até o estágio 3, seguido por um aumento de 40% do estágio 3 para o 4 com diferença significativa entre estes estádios. Para frutos de durião (*Durio zibethinus* Murray) apesar da redução progressiva não ter sido encontrada, comportamento semelhante apontou um aumento de 80% no conteúdo de flavonoides totais quando o completo amadurecimento foi atingido (HARUENKIT *et al.*, 2010).

Os frutos de araçá amarelo apresentaram no primeiro estágio de amadurecimento o maior conteúdo de flavonoides totais. Organizando os frutos completamente maduros (estádio 4) em ordem decrescente quanto ao conteúdo total de flavonoides, temos: em destaque os frutos de butiá e uvaia com 12,3 e 11,2 g EQ 100 g⁻¹ MS, respectivamente; seguido por frutos de araçá amarelo e araçá vermelho com 8,3 e 7,8 g EQ 100 g⁻¹ MS, respectivamente; e por último, com o menor conteúdo de flavonoides totais os frutos de gabioba com 4,4 g EQ 100 g⁻¹ MS.

3.5 CONTEÚDO DE ANTOCIANINAS TOTAIS

Antocianinas são compostos pertencentes a classe dos flavonoides e constituem pigmentos importantes para flores e frutos principalmente por sua função de atração de agentes polinizadores e dispersores de sementes, além de proteger diversos tecidos da planta de processos oxidativos durante diversas etapas do ciclo de vida, principalmente em fases iniciais de crescimento (JACKMAN *et al.*, 1987; HARBORNE, 1967; HARBORNE; MABRY; MABRY, 1975). Antocianinas são solúveis em água, e na natureza estão associados a moléculas de açúcar, denominando-se então antocianidinas (OKUMURA; SOARES; CAVALHEIRO, 2002).

Pelos dados apresentados na TABELA 4, foi possível perceber que o conteúdo de antocianinas totais aumentou 12 vezes do estágio 1 para o estágio 4 nos frutos de araçá vermelho, sendo que o aumento foi mais acentuado no último estágio de amadurecimento (3 vezes maior que no estágio anterior). O maior teor de antocianinas no estágio maduro é justificado pelo aumento da síntese destes pigmentos que ocorre durante o seu amadurecimento, atingindo o valor máximo no fruto completamente maduro (GROSS, 1983). Este comportamento já havia sido descrito para frutos de pitanga vermelha e roxa (LIMA; MÉLO; LIMA, 2002). Além disso, o conteúdo de

antocianinas totais encontrado para araçá vermelho foi significativamente mais alto ($p < 0,05$) comparado com os frutos de araçá amarelo, butiá, gabioba e uvaia, independente do estágio de amadurecimento. O conteúdo de antocianinas totais encontrado para frutos de araçá vermelho ($216 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) foi comparável ao que havia sido encontrado para frutos de morango ($203 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) e framboesa ($229 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) (KÄHKÖNEN; HOPIA; HEINONEN, 2001).

Nos frutos de araçá vermelho, os parâmetros de cor L^* e b^* diminuíram e o parâmetro a^* aumentou do estágio 1 para o 4. Esta observação indicou a mudança de cor (verde para roxo escuro) durante o amadurecimento de araçá vermelho (TABELA 2). Assim, o acúmulo no conteúdo de antocianinas totais foi acompanhado do aumento no parâmetro a^* e isto já havia sido reportado para frutos de gulupa (JIMÉNEZ-ESCRIG *et al.*, 2011), morango e framboesa (KÄHKÖNEN; HOPIA; HEINONEN, 2001).

Diferente da tendência encontrada para frutos de araçá vermelho, em frutos de uvaia o conteúdo de antocianinas totais diminuiu durante o seu amadurecimento. Nos frutos de araçá amarelo, butiá e gabioba, não foi observada nenhuma tendência entre o conteúdo de antocianinas e os estágios de amadurecimento destes frutos. O conteúdo de antocianinas nos frutos de butiá diminuiu até o estágio 3 e aumentou deste estágio para o estágio 4. Este mesmo comportamento já havia sido relatado para o teor de CFT, conteúdo de flavonoides totais e a atividade antioxidante. Variações no conteúdo de antocianinas totais durante o amadurecimento para estes frutos pode ter sido afetada pela sua estabilidade por fatores como pH destes frutos, presença de enzimas, incidência de luz destes frutos quando ainda na árvore, exposição ao oxigênio durante o armazenamento, estrutura das antocianinas, e presença de outros compostos como flavonoides, proteínas e minerais (SCHWART; von ELBE; GIUSTI, 2010).

3.6 CONTEÚDO DE CAROTENOIDES TOTAIS

Os carotenoides são pigmentos lipossolúveis que atuam como pigmentos fotoprotetores na fotossíntese e como estabilizadores em membranas (KURZ; CARLE; SCHIEBER, 2008). Estudos apontam que a função antioxidante dos

carotenoides desempenha um papel importante na redução do risco de câncer, catarata, arteriosclerose e no processo de envelhecimento (SCHOEFS, 2002).

Pelos resultados apresentados na TABELA 4 para o conteúdo de carotenoides totais para a polpa dos frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabioba e uvaia nos estádios de amadurecimento foi possível perceber que exceto pelo último estágio de amadurecimento, a gabioba apresentou maior conteúdo de carotenoides totais (181 - 191 mg 100 g⁻¹), comparado com os outros frutos independente dos estádios de amadurecimento. Por outro lado, a polpa de araçá vermelho apresentou o menor conteúdo de carotenoides totais (12 – 37 mg 100 g⁻¹), com diferença significativamente ($p < 0,05$) comparado com a polpa dos frutos de araçá amarelo, butiá, gabioba e uvaia, independente do estágio de amadurecimento.

A polpa dos frutos de araçá amarelo e araçá vermelho apresentaram redução progressiva no conteúdo de carotenoides totais ao longo do processo de amadurecimento. Este comportamento já havia sido descrito para frutos de pitanga vermelha e roxa (LIMA; MÉLO; LIMA, 2002).

Organizando a polpa dos frutos completamente maduros (estádio 4) em ordem decrescente quanto ao teor de carotenoides totais temos: uvaia (176 mg 100g⁻¹) > gabioba (157 mg 100g⁻¹) > butiá (143 mg 100g⁻¹) > araçá amarelo (40 mg 100g⁻¹) > araçá vermelho (12 mg 100g⁻¹).

Frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabioba e uvaia apresentaram conteúdo de carotenoides totais maior que de outros frutos nativos crescidos no Brasil como jenipapo (*Genipa americana* L.) (23 mg 100 g⁻¹ MS), marolo (*Annona crassiflora* Mart.) (3 mg 100 g⁻¹ MS) e graviola (*Annona muricata* L.) (18 mg 100 g⁻¹ MS) (SOUZA *et al.*, 2012).

Khoo *et al.* (2008) avaliaram 14 frutos tropicais que são encontrados mas não consumidos com frequência na Malásia e relataram conteúdo de carotenoides totais médios entre 1,41 – 19,83 mg 100 g⁻¹. Neste trabalho para todos os frutos e independente do estágio de amadurecimento, com exceção de frutos de araçá vermelho, os teores de carotenoides totais foram de duas a nove vezes maiores que para todos os frutos da Malásia. Há evidências científicas do papel dos carotenoides na redução do risco de câncer, catarata, arteriosclerose e no processo de envelhecimento (PODSEDEK, 2007; RAO; RAO *et al.*, 2007). Outra importante função dos carotenoides é sua atuação como potentes antioxidantes já que possuem um sistema conjugado e rico em elétrons facilmente oxidáveis, atuando tanto na absorção

do oxigênio singlete quanto de radicais livres, para interromper as reações em cadeia onde estão envolvidos (SCHOEFS, 2002). Ainda, alguns carotenoides como luteína e zeaxantina, possuem atividade de provitamina A. Estudos epidemiológicos e clínicos mostraram que baixa ingestão ou baixa concentração desses carotenoides no plasma está associada com a degeneração macular. Estudos recentes sugerem que eles podem manter a saúde do coração por reduzirem os riscos de doenças cardiovasculares e protegem a pele dos danos causados por radiação UV (SANTOCONO *et al.*, 2007; MARINOVA; RIBAVORA, 2007).

Ainda, Khoo *et al.* (2008) relataram que alto conteúdo de carotenoides é coincidente com o aparecimento da coloração amarela nestes frutos. Os frutos nativos da Floresta Atlântica estudados neste trabalho de coloração amarela/ laranja (araçá amarelo, butiá, gabiroba e uvaia) quando completaram o amadurecimento (estádio 4) apresentaram maior conteúdo de carotenoides totais que frutos de araçá vermelho.

3.7 CONTEÚDO DE CLOROFILA TOTAL

As clorofilas são pigmentos que estão presentes nos cloroplastos de frutas e vegetais, onde desempenham importante função como pigmentos fotossintéticos (LANFER-MARQUEZ, 2003).

Os resultados obtidos para o conteúdo de clorofila total para os frutos de araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabiroba e uvaia foram apresentados na TABELA 4. Foi possível observar o declínio no conteúdo de clorofila total durante o amadurecimento dos frutos. A degradação deste pigmento em vários frutos é um indicador de amadurecimento (YANG *et al.*, 2009). Durante a maturação dos frutos, os cloroplastos e suas membranas tilacoides se desintegram, ocorrendo perda rápida da clorofila e da cor verde dos tecidos. Vários fatores podem atuar na degradação da clorofila, dentre eles, o pH, influenciado pelo acúmulo de ácidos orgânicos nos vacúolos, sistemas oxidativos e clorofilases (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O declínio no conteúdo de clorofila durante o amadurecimento já havia sido relatado para outros frutos como abacate (*Persea americana* Mill) (COX *et al.*, 2004), cherimoia (*Annona cherimola* Mill.) (CORDEIRO *et al.*, 2013) e maçãs (*Malus domestica*) (SOLOVCHENKO *et al.*, 2005).

O declínio no conteúdo de clorofila total foi mais significativo para frutos de uvaia e de araçá vermelho, seguido pelos frutos de araçá amarelo e de butiá e finalmente pelos frutos de gabioba. O declínio do conteúdo de clorofila total foi acompanhado do aumento do valor do parâmetro a^* mostrado pelo valor negativo nos frutos verdes, e um valor positivo nos frutos completamente maduros. Conforme esperado, o coeficiente de Person (TABELA 3, $r = -0,76$, $p < 0,01$) negativo mostrou uma relação inversa entre o conteúdo de clorofila total e o valor do parâmetro a^* , ou seja, enquanto o conteúdo de clorofila total diminui o parâmetro a^* aumenta. Comportamento semelhante ao encontrado neste trabalho havia sido descrito para frutos de gabioba (*Campomanesia pubescens*) (SILVA *et al.*, 2009).

Nos frutos de araçá vermelho foi possível perceber que houve diminuição do conteúdo de clorofila total. Ao mesmo tempo houve aumento no conteúdo de antocianinas totais. Este comportamento coincide com a mudança de cor nestes frutos, onde ocorre a mudança de cor verde (parâmetro a^* negativo) para a cor roxo escuro (parâmetro a^* positivo). COX *et al.* (2004) relataram esta diminuição no conteúdo de clorofila e aumento no conteúdo de antocianinas totais durante o amadurecimento de abacates. Ainda, estes autores relacionaram a mudança no conteúdo destes pigmentos com a mudança de cor dos abacates.

Em frutos e vegetais que possuem coloração amarela quando maduros, normalmente ocorre o desaparecimento da clorofila e o desmascaramento de xantofilas e carotenos (CHEN; RAMASWAMY, 2002). Neste trabalho, principalmente pelo alto conteúdo de carotenoides totais, este comportamento foi demonstrado para os frutos de araçá amarelo, butiá, gabioba e uvaia. Este comportamento já havia sido relatado para frutos de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) (LIMA *et al.*, 2005) e araçá (*Psidium* sp.) (DANTAS *et al.*, 2013).

4 CONCLUSÕES

Durante o amadurecimento dos frutos nativos da Floresta Atlântica estudados neste trabalho observou-se que a mudança de cor (alteração nos parâmetros a^* e b^*) que coincidiu com a alteração dos pigmentos como no caso dos caratonoides totais para frutos de araçá amarelo, butiá, gabioba e uvaia, e antocianinas totais para os

frutos de araçá vermelho. Estes pigmentos possuem atividade antioxidante e são importantes responsáveis por propriedades nutraceuticas. Todos os frutos nativos da Floresta Atlântica estudados neste trabalho apresentaram alto teor de compostos fenólicos (2000 - 7000 mg GAE.100 g⁻¹) e, exceto para butiá, este teor é reduzido progressivamente durante o amadurecimento. Frutos de gabioba apresentaram o maior teor de carotenoides totais e a maior atividade antioxidante. Os frutos de araçá vermelho mostraram uma relação positiva entre o amadurecimento e o teor de antocianinas que foi aumentado em 12 vezes do estágio 1 para o estágio 4. Foi possível observar que a quantidade de compostos bioativos e atividade antioxidante mudaram de acordo com o estágio de amadurecimento dos frutos.

No geral, os frutos nativos da Mata Atlântica, araçá amarelo, araçá vermelho, butiá, gabioba e uvaia, apresentaram alta atividade antioxidante e alto teor de compostos de interesse para a saúde humana. Isso demonstra o potencial desses frutos para enriquecer a dieta humana e para a extração de pigmentos de interesse na indústria de alimentos. Isto fará com que ocorra um aumento do consumo e irá valorizá-los; tornando-os cada vez mais populares.

**CAPÍTULO 3 – CARACTERIZAÇÃO DO AROMA DOS FRUTOS NATIVOS DA
FLORESTA ATLÂNTICA**

1 INTRODUÇÃO

O sabor e aroma característico de frutas exóticas é um dos atributos mais atraentes para os consumidores. A enorme diversidade de frutas exóticas representa uma área promissora para pesquisas sobre aromas, com propriedades sensoriais inusitadas (LASEKAN; ABBAS, 2012).

Atualmente, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos no sentido de caracterizar os compostos voláteis de uma grande quantidade de frutos (LASEKAN; ABBAS, 2012). As frutas tropicais possuem sabor e aroma atraentes e isso caracteriza um estímulo ao consumo por todo o mundo. As indústrias de alimentos estão sendo atraídas pela grande variedade de aromas disponíveis em virtude da necessidade de caracterizar os compostos precursores de aromas em frutas (FRANCO; JANZANTTI, 2005).

A informação dos compostos de aroma obtidos por cromatografia a gás e espectrometria de massas (GC - MS) é interessante, mas não indica que os compostos são, de fato odorantes importantes no aroma. É importante ter em conta a real contribuição dos compostos voláteis para o aroma, porque cada componente tem um limiar de aroma diferente (Campo *et al.*, 2009). Portanto, a fim de identificar estes odorantes ativos e sua importância no aroma do araçá amarelo e vermelho, um estudo de cromatografia de olfatométrica gasosa-olfatometria (GC -O) é necessário.

O objetivo deste trabalho foi utilizar a GC-O e a cromatografia multidimensional (GC-O-GC-O-MS) para caracterizar os compostos precursores do aroma de duas variedades de araçá (amarelo e vermelho) e determinar os compostos odorantes mais importantes para o aroma destas amostras. Além disso, caracterizou-se o perfil de aromas destas frutas por meio de análise sensorial descritiva.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 REAGENTES

Os reagentes utilizados foram: diclorometano (grau de pureza 99,5%) e metanol (grau de pureza 99,85%) marca Vetec (Rio de Janeiro, Brazil). A resina utilizada como fase sólida foi a Lichrolut® EN (resina apolar) colocada no cartucho de polipropileno (0,8 cm de diâmetro interno, 3,0 mL de volume interno) marca Merck (Darmstadt, Germany). Os padrões utilizados foram: cis-3-hexenol, hexanal, 1,8-cineol, hexanoato de etila, linalol, ácido hexanóico, didrocinamato de etila, cinamato de etila, 2,6-nonadienal e butanoato de metila obtidos a partir de Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Uma solução de *n*-alcanos (C₈-C₂₈), 10 mg L⁻¹ em diclorometano, foi usada para calcular o índice de retenção linear (LRI) para cada analito nas mesmas condições cromatográficas para as duas colunas usadas neste trabalho. A partir do tempo de eluição de cada alcano foi possível calcular os índices de retenção linear de cada composto isolado das polpas dos frutos.

2.2 MATERIAL VEGETAL

Os frutos maduros de araçá vermelho, araçá amarelo, butiá, gabioba e uvaia foram coletados de dezembro de 2011 a março de 2012, em Curitiba (Paraná, Brasil) e imediatamente transportadas para o laboratório na Universidade Federal do Paraná. Os frutos foram lavados em água destilada e polpa com casca foi separada manualmente da semente. Em 100 gramas de polpa adicionou-se 5 g de ácido ascórbico e 0,4 g de NaF (IBARZ *et al.*, 2006) e homogeneizou-se por 5 minutos em triturador *mixer* (Britânia, Curitiba, Brasil) e manteve-se congelada (-18 °C) até a extração de compostos voláteis. No caso dos frutos de araçá amarelo e vermelho, esta polpa também foi utilizada para a realização da análise sensorial descritiva.

2.3 CROMATOGRAFIA A GÁS-OLFATOMETRIA

2.3.1 Preparo do extrato

Os compostos voláteis foram extraídos de 100 g de polpa dos frutos foram aprisionados por um sistema *purge-and-trap* como descrito por Ferreira *et al.* (2009). O *trap* representado pela fase sólida de polipropileno em um tubo (0,8 cm de diâmetro interno, 3,0 mL de volume) empacotado com 400 mg de resinas LiChrolut EN. O cartucho foi colocado no topo do extrator contendo a polpa de frutos preparada a temperatura constante de 37 °C mantida em banho-maria e controlada por termômetro, onde um fluxo de nitrogênio controlado (500 mL min^{-1}) passou pelo sistema durante 100 minutos. Os compostos voláteis liberados pela polpa dos frutos foram aprisionados pelo cartucho e então eluidos com 3,2 mL de diclorometano contendo 5% de metanol (SAN-JUAN *et al.*, 2010). Antes da análise em CG-O o extrato foi concentrado com nitrogênio puro até volume final de 200 μL . A FIGURA 13 mostra o sistema de *purge-and-trape* utilizada para a extração dos compostos odoríferos neste trabalho.



FIGURA 13 - SISTEMA DE *PURG-AND-TRAPE* UTILIZADO PARA A EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ODORÍFEROS NESTE TRABALHO

FONTE: O autor (2012)

2.3.2 Análise por cromatografia a gás-olfatometria (CG-O)

O extrato concentrado foi utilizado para análise por CG-O. A análise foi realizada usando um cromatógrafo a gás Trace GC (ThermoQuest SpA, Milão, Itália), equipado com um detector de ionização de chama (DIC) e uma *sniffing port* (Detector olfativo Outlet Kit, ODO-1), (SGE, Ringwood, Austrália), ligados por um divisor de fluxo na saída da coluna. A coluna utilizada foi uma DB-WAX (polietileno glicol, 30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e 0,5 µm de espessura do filme) (J & W Scientific, Folsom, CA, EUA) e uma pré-coluna (3 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno) (Supelco Inc., Bellefonte, PA, EUA). O gás de arraste foi o H₂ a uma vazão de 3,5 mL min⁻¹ e uma pressão de 52 kPa. Uma amostra de 1 µL foi injetado no modo *splitless* (1 minuto). Injector e detector foram mantidos a temperatura de 250 °C. Programação da coluna: temperatura inicial de 40 °C durante 5 minutos e, rampa de 4 °C min⁻¹ até 100 °C, seguida de rampa de 3,5 °C min⁻¹ até 220 °C e permanência nesta por 15 minutos. Para evitar a condensação na *sniffing port*, um reostato foi acoplado. Uma equipe sensorial composta por cinco julgadores com experiência em olfatometria (três mulheres e dois homens, com idade entre 26-45 anos) foi utilizada neste estudo. O tempo da análise olfatométrica foi de aproximadamente 18 minutos para cada julgador e restrito a apenas uma sessão por dia. Os julgadores foram instruídos a indicar a intensidade de cada estímulo aromático percebido usando uma escala de 4 pontos (0 = não detectado, 1 = fraco, 2 = claro, mas não intenso, 3 = intenso) (FERREIRA *et al.*, 2003). Em seguida, a frequência modificada (FM em %) foi calculada de acordo com a equação proposta por Dravnieks (1985):

$$FM (\%) = (F(\%) \times I (\%))^{1/2},$$

onde F (%) representa a frequência de detecção de um aroma percebido, expressa como um percentual do número total de julgadores, e I (%) é a intensidade média, expressa uma percentagem do máximo de intensidade. Os odorantes foram identificados por comparação de seus odores e índice de retenção linear cromatográfica (LRI) na coluna DB- Wax com a base de dados disponível na literatura.

2.3.3 Identificação por cromatografia bidimensional de compostos não identificados

Quando os compostos odorantes não puderam ser identificados pela combinação de descrição aromática e LRI (índice de retenção linear) a cromatografia bidimensional foi utilizada. Uma alíquota de 15 μL do extrato concentrado foi injetado no cromatógrafo bidimensional (CG-O-CG-O-EM). Este sistema consiste de dois cromatógrafos a gás independentes CP 3800 (Varian Inc., Walnut Creek, CA, EUA), interligados por uma linha de transferência mantida a 200 °C equipada com um sistema de válvula Deans (Valco Instruments, Houston, TX, EUA), duas *sniffing port* e dois detectores: ionização em chama (DIC) e espectrômetro de massas (EM). Cromatógrafo 1 estava equipado com uma coluna DB-Wax (polietileno glicol, 30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e 0,5 mm de espessura do filme) (J & W Scientific, Folsom, CA, E.U.A.). Programação da coluna: temperatura inicial de 40 °C durante 5 minutos e, rampa de 4 °C min^{-1} até 100 °C, seguida de rampa de 8 °C min^{-1} até 220 °C e permanência nesta por 15 minutos. Inicialmente, o extrato concentrado foi monitorado por olfatomia no Cromatógrafo 1 para selecionar o tempo de retenção correspondente a fração de compostos do aroma não identificados e para realizar o 'corte' na corrida cromatográfica e então, transferi-lo para o Cromatógrafo 2. Este cromatógrafo foi equipado com uma coluna FactorFour-VF-5MS (polimetilsiloxano-5% difenil, 30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e 1 μm de espessura do filme) (Varian Inc., Walnut Creek, CA, EUA). No forno do Cromatógrafo 2, a fração isolada foi aprisionada em uma unidade refrigerada com CO_2 . Neste cromatógrafo, o fluxo foi monitorado por olfatomia ao mesmo tempo que a detecção com a espectrometria de massas (EM) foi realizada. Dois minutos depois do 'corte' no primeiro cromatógrafo, o fluxo de CO_2 foi removido e simultaneamente aconteceu a ativação da temperatura no segundo forno. Programação da coluna: rampa de 8 °C min^{-1} até 200 °C, seguida de rampa de 50 °C min^{-1} até 300 °C e permanência nesta por 15 minutos. Os parâmetros do detector de EM foram os seguintes: a temperatura da linha de transferência foi de 170 °C, *ion trap* a 150 °C e *trap emission* em 10 mA. Detector de ionização de chama (DIC) e dados de EM foram registradas e processadas utilizando o software 6.3, equipado com NIST 2.0 (U.S. National Institute of Standards and Technology, 2008) e *MS Libray* (NIST,

Gaithersburg, MD, U.S.A.). A identificação dos odorantes foi realizada através de uma comparação dos odores percebidos pelos julgadores, índices de retenção lineares nas colunas cromatográficas DB-WAX e DB-5, e espectros de massas.

2.4 ANÁLISE SENSORIAL

Uma comparação sensorial descritiva foi realizada entre as duas variedades de araçá estudadas neste trabalho com a finalidade de detectar diferenças entre seus aromas. A equipe sensorial foi composta de oito mulheres e três homens com idade entre 23-40 anos, pertencentes à equipe do Laboratorio de Analisis del Aroma y Enologia (Zaragoza, Espanha) e com longa experiência em análise sensorial. Os julgadores participaram de sete sessões específicas de treinamento com duração de 1 h. Na primeira sessão, as polpas foram submetidas a dois testes triangulares o painel sensorial deve identificar a amostra diferente entre três amostras apresentadas (sendo duas amostras iguais e uma amostra diferente) de polpas de araçá amarelo e vermelho para certificar que era possível encontrar diferenças entre as duas polpas estudadas (FIGURA 14) (AENOR, 1997). Na segunda sessão, os julgadores puderam expor de forma livre os descritores do aroma das polpas de araçá amarelo e vermelho, conforme a ficha sensorial mostrada na FIGURA 15. A partir dos descritores apresentados na sessão anterior, foram selecionados àqueles mais frequentes entre os que foram apontados pelos julgadores e a partir disto foram selecionados os padrões para cada descritor que foram apresentados na TABELA 5. Na terceira e quarta sessões os padrões anteriormente escolhidos foram apresentados aos julgadores para confirmar a semelhança entre eles e os descritores (FIGURA 16). Outra sessão foi realizada para avaliar a capacidade dos julgadores em identificar as diferentes intensidades dos padrões escolhidos para os descritores (FIGURA 17).

Data: _____ Nome: _____

Na sua frente, existem três frascos âmbar codificados com números aleatórios de três dígitos. Por favor, aspire cada frasco e indique qual deles é diferente e explique as diferenças observadas.

Diferenças: _____

Muito obrigada!

FIGURA 14 - FICHA UTILIZADA PARA O TESTE TRIANGULAR DAS POLPAS DE ARAÇÁ AMARELO E VERMELHO

FONTE: AENOR, 1997

Nas sessões 5, 6 e 7, os julgadores indicaram a intensidade de cada descritor utilizando a ficha sensorial mostrada na FIGURA 18. Em todas as sessões as polpas de araçá amarelo e vermelho foram apresentadas em frascos âmbar codificados (30 g, a 20 °C).

Data: _____ Nome: _____

Na sua frente, existem dois frascos âmbar codificados com números aleatórios de três dígitos. Por favor, aspire cada frasco e faça a descrição do seu aroma (descrição livre).

_____ Descrição: _____

_____ Descrição: _____

Muito obrigada!

FIGURA 15 - FICHA UTILIZADA NA ANÁLISE SENSORIAL PARA A DESCRIÇÃO LIVRE DAS POLPAS DE ARAÇÁ AMARELO E VERMELHO PELOS JULGADORES

FONTE: AENOR, 1997

Data: _____ Nome: _____

Na sua frente, existem cinco séries de aromas em frascos âmbar codificados com números aleatórios de três dígitos. Por favor, aspire cada frasco e identifique o aroma e ordene os frascos em ordem crescente de intensidade de aroma.

Descritor 1: _____

Descritor 2: _____

Descritor 3: _____

Descritor 4: _____

Descritor 5: _____

Muito obrigada!

FIGURA 16 - FICHA UTILIZADA NA ANÁLISE SENSORIAL PARA CONFIRMAR OS PADRÕES DOS DESCRITORES ANTERIORMENTE ESCOLHIDOS PELOS JULGADORES

FONTE: AENOR, 1997

Data: _____ Nome: _____

Na sua frente, existem cinco séries de aromas em frascos âmbar codificados com números aleatórios de três dígitos. Por favor, aspire cada frasco e ordene os frascos em ordem crescente de intensidade de aroma.

Doce: _____

Verde: _____

Tomate: _____

Cítrico: _____

Fruta tropical: _____

Muito obrigada!

FIGURA 17 - FICHA UTILIZADA NA ANÁLISE SENSORIAL PARA TREINAR OS JULGADORES NAS DIFERENTES INTENSIDADES DOS PADRÕES ANTERIORMENTE ESCOLHIDOS
FONTE: AENOR, 1997

Data: _____ Nome: _____

Na sua frente, existem cinco séries de aromas com dois frascos âmbar codificados com números aleatórios de três dígitos. Por favor, aspire cada frasco e indique a intensidade dos descritores. Antes de começar, aspire as referências para cada descritor.

0 = não detectado

1 = aroma de baixa intensidade

2 = aroma de média intensidade

3 = aroma de alta intensidade

Doce: _____

Verde: _____

Tomate: _____

Cítrico: _____

Fruta tropical: _____

Muito obrigada!

FIGURA 18 - FICHA UTILIZADA NA ANÁLISE SENSORIAL PARA IDENTIFICAR A INTENSIDADE DE CADA DESCRITOR ANTERIORMENTE ESCOLHIDO PELOS JULGADORES.
FONTE: AENOR, 1997

TABELA 5 - PADRÕES UTILIZADOS COMO REFERÊNCIA DE AROMA NA ANÁLISE SENSORIAL

Descritor	Composição do padrão	Descrição
Verde	20,0 mL de (Z)-3-hexenol 400 mg L ⁻¹	Verde, grama
Cítrico	5,0 mL suco de limão + 15,0 mL de água	Cítrico, ácido
Fruta tropical	10,0 mL néctar de abacaxi + 10,0 mL suco tropical "Pascual Biofrutos"	Abacaxi, manga
Tomate	5,0 g de tomate + 15,0 mL de água	Tomate
Doce	10,0 mL of xarope de abacaxi + 10,0 mL de xarope de fruta	Fruta doce, damasco

2.5 ANÁLISE QUANTITATIVA

Um cromatógrafo a gás GC- 450 combinado com um espectrômetro de massas *ion trap* Saturn 2200 (Varian Inc., Walnut Creek, CA, EUA) foi utilizado para análise quantitativa. Condições cromatográficas: coluna cromatográfica DB-WAXetr (polietileno glicol, 60 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de filme) (J & W Scientific, Folsom, EUA), foi precedida por uma pré-coluna desativada (3 m de comprimento, 0,25 mm de espessura) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA). O gás de arraste foi o hélio, a uma taxa de 1,5 mL min^{-1} . Dois microlitros do extrato foram injetados em modo *splitless* em 2,6 min tempo de *splitless*. A temperatura inicial do injetor foi de 40 °C por 0,3 min, e depois aumentou até 250 °C a 200 °C min^{-1} e foi mantida nesta temperatura durante 153 minutos. Programação da coluna: inicialmente a 40 °C por 3 min^{-1} , com rampa de 2 °C min^{-1} até 220 °C e mantida assim durante 90 min. As soluções contendo os padrões puros em diferentes concentrações, descritos no item 2.1, foram injetados no cromatógrafo. Os fatores de resposta foram calculados utilizando para isso, a concentração do composto injetado e a área obtida a partir de cada concentração e estes fatores utilizados para cada classe de compostos encontrada para os frutos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DAS VARIEDADES DE *PSIDIUM CATTLEIANUM* (ARAÇÁ AMARELO E ARAÇÁ VERMELHO)¹

Na realização da análise sensorial, os testes triangulares confirmaram a existência de diferenças significativas ($p < 0,01$) entre o aroma liberado pelas polpas de araçá amarelo e vermelho. Após estes testes, a equipe sensorial gerou cinco

¹ Artigo aceito para publicação no periódico *Food Chemistry* (10.1016/j.foodchem.2014.05.028)

termos descritivos para caracterizar as polpas de araçá amarelo e vermelho através de análise descritiva sensorial: cítrico, verde, frutos tropicais, doce e tomate. A intensidade destes descritores para cada polpa de fruta foi indicada pela equipe sensorial utilizando os padrões de referência descritos na TABELA 5. As médias obtidas pelas três sessões são apresentadas na FIGURA 19. Foram encontradas diferenças significativas para os descritores de fruta tropical e tomate entre araçá amarelo e vermelho. O descritor fruta tropical teve intensidade significativamente mais elevada ($p < 0,05$) na polpa de araçá amarelo e o descritor tomate foi significativamente mais elevada para a polpa de araçá vermelho. O perfil semelhante para as polpas de araçá amarelo e vermelho foi encontrado para o descritor cítrico, verde e doce. Estes dados confirmam os resultados do teste triangular preliminar em que, mesmo as variedades compartilhando alguns descritores, diferenças significativas são encontradas no perfil do aroma destas frutas.

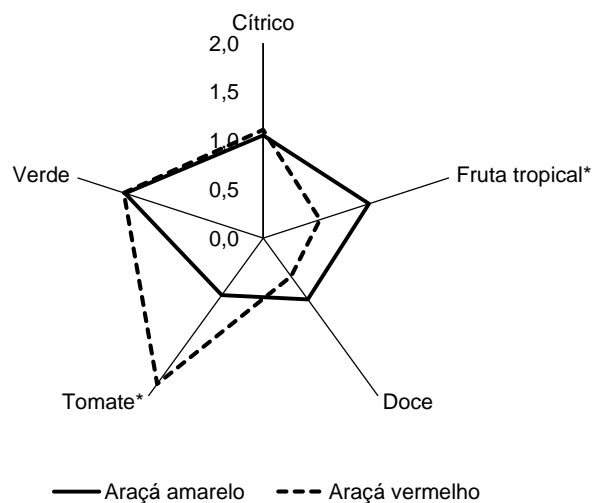


FIGURA 19 - GRÁFICO ARANHA DE INTENSIDADE DOS DESCRITORES ENCONTRADOS NA POLPA DE ARAÇÁ AMARELO E VERMELHO PELO PAINEL SENSORIAL.

*Descritores seguidos por asterisco possuem diferença significativa a $p < 0,05$.

Após a análise sensorial, foi realizada a análise por cromatografia a gás-olfatométrica do extrato concentrado das polpas de araçá amarelo e vermelho. Os compostos de aroma encontrados em ambas as polpas de araçá amarelo e vermelho foram apresentados na TABELA 6. Esta tabela apresenta o índice de retenção linear nas colunas cromatográficas DB-WAX e VF-5MS, a descrição dos odorantes encontrados e sua identidade química, a intensidade e a frequência percebida para cada odorante (expresso como FM (%)) e o método de identificação para cada

odorante. Apenas os odorantes que atingiram a FM (%) superior a 15% foram incluídas nesta tabela. Assim, 23 odorantes foram encontrados, sendo 16 odorantes para aração vermelho e 17 para aração amarelo. Entre eles, apenas 10 odorantes foram encontrados para ambas variedades. A identificação dos compostos encontrados por olfatosmetria foi realizado por CG-EM e CG-O-CG-O-EM. A cromatografia bidimensional permitiu a identificação da maioria dos odorantes previamente encontrados pela olfatosmetria, de acordo com seus Índices de Retenção Linear nas colunas cromatográficas DB-WAX e VF-5MS e, quando necessário, da comparação com os padrões disponíveis conforme descritos no item 2.1. No entanto, 4 odorantes não puderam ser identificados. Os resultados da análise quantitativa dos odorantes encontrados para polpa de aração amarelo e aração vermelho são mostradas pela TABELA 7.

De acordo com os dados apresentados na TABELA 6, o composto que teve a maior FM (%) foi o (Z)-3-hexenal com 84 e 82%, no aração amarelo e vermelho, respectivamente. Este aldeído é formado pela oxidação de ácido linoleico durante ruptura celular e tem um descritor conhecido como verde na análise olfatosmetrica. Ele foi encontrado em aração amarelo e vermelho por Vernin *et al.* (1998), mas não foi encontrado por Pino, Marbot e Vázquez (2001), embora isso possa ser devido à degradação provocada pelo método de preparação da amostra. (Z)-3-hexenal tem demonstrado ser um composto predominante no aroma de outros frutos, como goiaba (STEINHAUS *et al.*, 2009) e groselha (HEMPFLING *et al.*, 2013). Embora os dados de CG-O não suportem esta hipótese (as intensidades FM foram semelhantes nas duas variedades de polpa de aração), a análise quantitativa (apresentados na TABELA 7) mostrou uma quantidade maior de (Z)-3-hexenal no aração vermelho. (Z)-3-hexenal é o odorante mais ativo no tomate e, por essa razão, este composto provavelmente é o responsável pelas diferenças encontradas no descritor "tomate" na análise sensorial realizada anteriormente. Outros dois compostos relacionados com (Z)-3-hexenal foram encontrados na CG-O: o produto de sua isomerização, o (E)-2-hexenal, encontrado com 40% e 31% de FM, respectivamente, em aração amarelo e aração vermelho; e o seu álcool correspondente, (Z)-3-hexenol, detectado apenas em aração vermelho. Estes compostos, assim como o (Z)-3-hexenal, foram descritos na olfatosmetria como 'grama' e 'herbáceo'. Outros aldeídos como (E,Z)-2,6-nonadienal e hexenal também foram identificados nas polpas dos frutos de aração. (E,Z)-2,6-nonadienal, importante no odor da família Cucurbitaceae (BEAULIEU; GRIMM, 2001),

foi detectado apenas no araçá amarelo. Entre os aldeídos quantificados, (*E*)-2-hexenal foi a mais abundante, com mais de 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ em ambas as polpas de araçá (TABELA 7), consistente com o que foi encontrado anteriormente para araçá vermelho (0,27 ppm) por Pino, Marbot e Vázquez (2001). Além disso, (*Z*)-3-hexenal e hexanal foram encontrados em quantidades e foram maiores em araçá vermelho. Uma composição predominante de aldeídos voláteis C_6 em frutos foi previamente associada com imaturidade (BEAULIEU; GRIMM, 2001; CHYAU; CHEN; WU, 1992). No entanto neste trabalho, os frutos de araçá amarelo e vermelho encontravam-se maduros quando houve o isolamento de compostos de aroma e por isso é possível considerar que os aldeídos presentes representam compostos de importância no aroma destes frutos.

Além de aldeídos, mais 3 compostos contendo o grupo carbonila ou compostos da classe cetona foram encontrados: 2-pentanona, 1-octen-3-ona e (*Z*)-1,5-octadien-3-ona. O produto da oxidação lipídica, 1-octeno-3-ona foi percebido com FM de 49% na polpa de ambas as variedades de araçá e descrito na olfatométrica como cogumelo. 1-octen-3-ona não havia sido relatado em estudos anteriores sobre *P. cattleianum*. Este composto já havia sido descrito como um importante odorante no aroma de frutos de *Viburnum opulus* (KRAUJALYTĖ; LEITNER; VENSKUTONIS, 2012). (*Z*)-1,5-octadien-3-ona foi encontrado em ambas variedades com a FM de 59 e 61%, respectivamente. Este composto foi descrito como gerânio e foi anteriormente relatado com alta intensidade em frutos de morangos (UBEDA *et al.*, 2012).

TABELA 6 - ÍNDICE DE RETENÇÃO LINEAR NAS COLUNAS CROMATÓGRAFICAS, DESCRITORES OLFATOMETRICOS, IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS E FM (%) DOS ODORANTES ISOLADOS DO HEADSPACE DAS POLPAS DE ARAÇÁ AMARELO E VERMELHO.

LRI DB- WAX	LRI VF- 5MS	Compostos	FM (%)		Descrição do odor
			Araçá amarelo	Araçá vermelho	
1006		2-pentanona ^d		23	Frutal
1019	<900	Butanoato de metila ^a	37	26	Frutal
1082	<900	Pentanoato de metila ^a		23	Floral, doce
1091	<900	Hexanal ^a	31	26	Gramma, verde
1101	<900	Acetato de butila ^a		23	Floral
1115		n.i.	37		Verde, tostado
1147	<900	(Z)-3-hexenal ^a	84	82	Gramma, herbáceo
1217	1027	1,8-cineol ^a	69	75	Menta, eucalipto
1252	<900	(E)-2-hexenal ^a	40	31	Verde
1315	1004	1-octen-3-ona ^a	49	49	Cogumelo
1388	1064	(Z)-1,5-octadien-3-ona ^c	59	61	Gerânio
1405	<900	(Z)-3-hexenol ^a		28	Gramma
1568	1115	Linalool ^a	28	71	Floral, limão
1602	1167	(E,Z)-2,6-nonadienal ^c	49		Pepino, melão
1640	1111	n.i.	71	57	Queimado
1652	796	Ácido butírico ^a	23		Ranço
1739		Acetato de 3 mercaptohexil ^d	23		Fresco, Cítrico
1780		n.i.	26		Cítrico, Fresco
1794	1222	Nerol ^b	28		Frutal cítrico, verde
1862	1020	Ácido hexanoico ^a	45	23	Ranço, suor
2039	1629	(E)-Nerolidol ^a		40	Frutal, floral
2082	1496	Cinamato de metila ^a	16		Fruta cítrica, goiaba
2152		n.i.		23	Picante, queimado

LRI Índice de retenção linear; n.i., composto não identificado

^a Identificação baseada na retenção cromatográfica em colunas DB-WAX and VF-5MS, odor, dados do espectro de massas e confirmado por injeção de padrão.

^b Identificação baseada na retenção cromatográfica em colunas DB-WAX and VF-5MS, odor, e confirmada com injeção de padrão de referência.

^c Identificação baseada na retenção cromatográfica em colunas DB-WAX and VF-5MS e descrição do odor como descrito na literatura.

^d Identificação baseada na retenção cromatográfica em colunas DB-WAX, odor e confirmado por injeção do padrão de referência.

TABELA 7 - CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTOS DE AROMA DO ARAÇÁ AMARELO E VERMELHO

LRI DB-WAX	Compostos	$\mu\text{g kg}^{-1}$ de polpa	
		Araçá amarelo	Araçá vermelho
1006	2-pentanona	<1	4,3
1019	Butanoato de metila	1,6	1,6
1091	Hexanal	28,2	63,9
1101	Acetato de butila	4,1	9,4
1147	(Z)-3-hexenal	34,3	56,8
1217	1,8-cineol	166,2	377,6
1252	(E)-2-hexenal	101,2	151,0
1405	(Z)-3-hexenol	41,1	74,9
1568	Linalool	3,8	160,9
1652	Ácido butírico	3,2	<1
1854	Ácido hexanoico	10,5	8,1
2039	Nerolidol	7,2	32,4

Outra importante classe de compostos voláteis no aroma de frutos são os ésteres. Os ésteres são descritos como compostos de maior importância no aroma de vários frutos (LASEKAN; ABBAS, 2012). Este comportamento não foi observado nas variedades de araçá estudadas neste trabalho. Somente 5 ésteres foram encontrados na análise olfatométrica, e nenhum deles alcançou FM acima de 40% (TABELA 6). Entre os ésteres identificados: butanoato de metila encontrado em ambas as variedades de araçá, enquanto pentanoato de metila e acetato de butila foram encontrados apenas em araçá vermelho. Cinamato de metila, relatado como responsável pela nota 'cítrica' em óleo de goiaba (STEVENS; BREKKE; STERN, 1970), foi encontrado apenas em araçá amarelo. O outro éster foi o acetato de 3-mercaptopexila que foi encontrado apenas em araçá amarelo e descrito como responsável pelo aroma de maracujá (JANZANTI *et al.*, 2012). Este composto pode ser responsável pelas diferenças observadas entre o araçá amarelo e vermelho quanto ao descritor de frutos tropicais (BURDOCK; FENAROLI, 2010) na análise sensorial descritiva mostrada na FIGURA 19.

Finalmente, quatro zonas de odor não puderam ser identificadas, como mostrado na TABELA 6. Destes, vale ressaltar o composto responsável pelo índice de retenção linear 1640 na coluna DB-WAX, descrito pela nota 'queimado', com FM de 71% e 57% para araçá amarelo e vermelho, respectivamente. Foi possível localizar esta zona de odor no cromatógrafo bidimensional e a partir daí, obter o índice de retenção linear na coluna VF - 5MS (LRI 1111). O espectro de massas do pico associado ao tempo de retenção foi mostrado na FIGURA 20. Não foi possível sugerir compostos presentes nas bibliotecas de EM, mas a intensidade do fragmento de 99 m/z sugere a estrutura de uma δ -lactona.

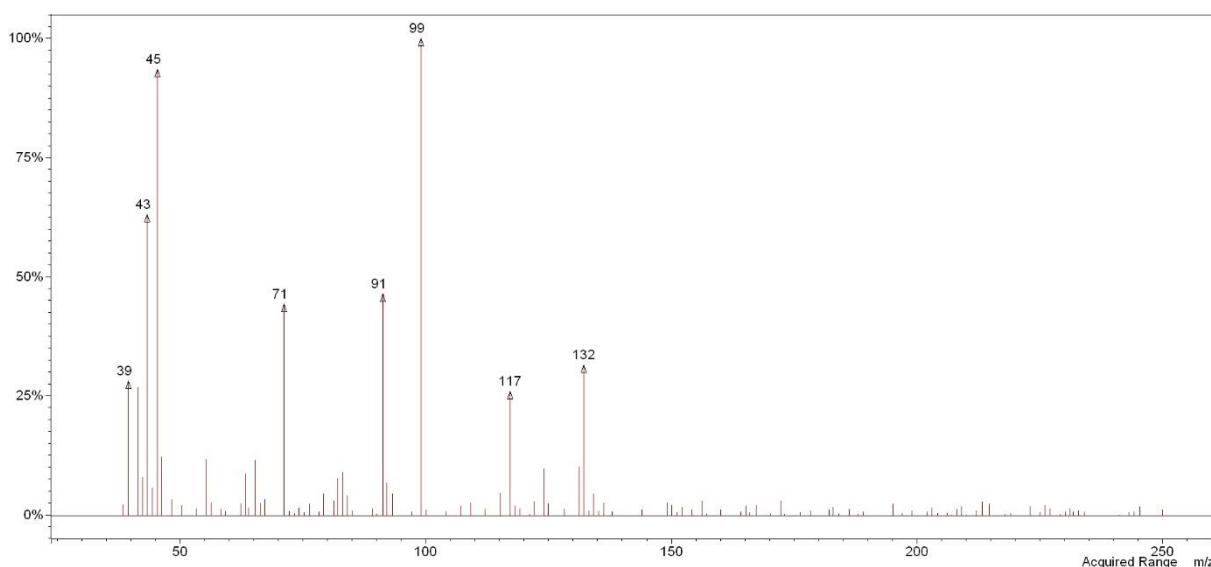


FIGURA 20 - ESPECTRO DE MASSAS DO COMPOSTO NÃO IDENTIFICADO LRI DB-WAX 1640 E VF-5MS 1111

Dos 23 compostos de aroma de araçá amarelo e vermelho detectados neste trabalho, 13 não haviam sido previamente relatados na literatura para o *P. cattleianum* Sabine (PINO; MARBOT; VÁZQUEZ, 2001), enquanto 9 foram identificados pela primeira vez por CG-O-CG-EM (pentanoato de metila, (*Z*)-3-hexenal, 1-octen-3-ona, (*Z*)-1,5-octadien-3-ona, (*E,Z*)-2,6-nonadienal, ácido butírico, acetato de 3-mercaptohexil, nerol, e cinamato de metila).

3.2 CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS CONSTITUINTES DO AROMA DE FRUTOS DE BUTIÁ, GABIROBA E UVAIA

A partir da análise por cromatografia a gás-olfatometria do extrato concentrado isolado das polpas de butiá, gabiroba e uvaia foram obtidos os resultados que compõem a TABELA 8. A tabela mostra o índice de retenção linear nas colunas cromatográficas DB-WAX e VF-5MS, a descrição dos odorantes encontrados e sua identidade química, a intensidade e a frequência percebida para cada odorante (expresso como FM (%)) e o método de identificação para cada odorante. Apenas os odorantes que atingiram a FM (%) superior a 15% foram incluídas nesta tabela. Foram encontrados 24, 16 e 16 compostos odorantes para a polpa dos frutos de butiá, gabiroba e uvaia, respectivamente. A identificação dos compostos encontrados por olfatometria, foi realizada utilizando CG-EM e CG-O-CG-O-EM. A cromatografia bidimensional permitiu a identificação da maioria dos odorantes previamente encontrados pela olfatometria, de acordo com seus Índices de Retenção Linear nas colunas cromatográficas DB-WAX e VF-5MS. No entanto, 8 odorantes não puderam ser identificados, sendo que dois destes compostos (índice de retenção linear 1115 e 1640) já haviam sido relatados para araçá amarelo e vermelho (EGEA *et al.*, 2014). O composto com índice linear 1640 (FIGURA 20) foi descrito pela nota 'queimado' em polpa de frutos de butiá, gabiroba e uvaia, com FM de 65, 71 e 84% para estes frutos. Os resultados da análise quantitativa dos odorantes encontrados para polpa de frutos de butiá, gabiroba e uvaia são mostrados na TABELA 9.

A polpa de frutos de butiá e de gabiroba tiveram 12 compostos constituintes do aroma em comum (entre os 24 e 16 compostos encontrados, respectivamente) enquanto entre butiá e uvaia foram encontrados 10 compostos em comum no aroma (entre os 24 e 16 compostos encontrados, respectivamente). Entre os 16 compostos encontrados no aroma de polpa de frutos de gabiroba, 8 foram encontrados para uvaia. Por isso, foi possível perceber uma semelhança entre frutos de butiá e gabiroba e de butiá e uvaia quanto a variedade de compostos encontrados no aroma da polpa dos frutos de butiá, gabiroba e uvaia.

Na FIGURA 21 estão as classes de compostos encontradas para os frutos de butiá, gabiroba e uvaia. A classe dos compostos de ésteres foi a classe de compostos mais representativa encontrada no aroma de frutos de butiá (mais de 50% dos compostos encontrados) e de gabiroba (mais de 46 % dos compostos encontrados). Em frutos de uvaia a classe de ésteres dividiu importância com a classe de terpenos (aproximadamente 25% dos compostos encontrados para cada uma).

TABELA 8 - ÍNDICE DE RETENÇÃO LINEAR NAS COLUNAS CROMATOGRÁFICAS, DESCRITORES OLFATOMETRICOS, IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS E FM (%) DOS ODORANTES ISOLADOS DO HEADSPACE DAS POLPAS DE BUTIÁ, GABIROBA E UVAIA.

LRI DB-WAX	LRI VF-5MS	Compostos	FM (%)			Descritores olfatométricos
			Butia	Gabiroba	Uvaia	
1006		2-pentanona ^d		26		Frutal, morango
1019	<900	Butanoato de metila ^a	23	26		Frutal
1115		n.i.			63	Verde, tostado
1022	<900	Propionato de etila ^c	23	35		Doce, cítrico
1041	<900	2-metil butanoato de metila ^c	61	66	28	Doce, morango, frutal
1059	<900	Butanoato de etila ^a	57			Frutal, doce, éster
1076		Isovalerato de etila ^a			20	Menta
1091	<900	3-Butanoato de etila		31		
1091	<900	Hexanal ^a			40	Gramma, verde
1101	<900	Acetato de butila ^a	57			Floral
1134	938	Valerato de etila ^a	40			Verde, frutal
1147	<900	(Z)-3-hexenal ^a	84	28		Gramma, herbáceo
1195		Pentanoato de etila ^a			31	Verde
1213		Hexanoato de metila ^a	42			Frutal, doce, erva-doce
1217	1027	1,8-cineol ^a	20	91	42	Menta, eucalipto
1246		Hexanoato de etila ^a	84			Frutal, doce
1252	<900	(E)-2-hexenal ^a	28			Verde
1255		(Z)-β-ocimeno ^c			57	Cítrico
1315	1004	1-octen-3-ona ^a	82		63	Cogumelo
1353	1004	6-metil-5-hepten-2-ona	37			Queimado, arbóreo
1366		n.i.		32		Cítrico, erva-dice
1388	1064	(Z)-1,5-octen-3-ona ^c	91	71	82	Coco, lactona
1405	<900	(Z)-3-hexenol ^a	35		69	Gramma
1410		n.i.		26		Canela
1470		(E)-óxido de linalool ^a		35	53	Floral, verde, arbóreo
1524		Benzaldeído ^a	20		32	Frutal
1568	1115	Linalool ^a	42	67		Floral, limão
1597		n.i.		20		Menta, verde

1640	1111	n.i.	65	71	84	
1739		3-Acetato de mercaptoexila ^d	28	93		Fresco, cítrico
1794	1222	Nerol ^b		26		Frutal, cítrico
1800		n.i.			35	Verde, queimado
1856		Geraniol ^b	51	42	33	Floral, verde
1870		Diidrocínamato de metila ^a	31	49		Verde, floral
1884		n.i.	23			Verde
1909		Diidrocínamato de etila ^a	65			Floral, doce
2073		Furaneol		32	88	Doce, canela, açúcar tostado
2117		m-cresol			35	Tostado, queimado
2145	1253	Ácido nonanoico ^a	46			Verde, mofado
2168		Cinamato de etila ^a	55	51	26	Flor branca, fresco
2196		n.i.		20		Frutal, amêndoa
2240		Ácido decanoico	23		26	Ranço, gordura

LRI Índice de retenção linear

^a Identificação baseada na retenção cromatográfica em colunas DB-WAX and VF-5MS, odor, dados do espectro de massas e confirmação por injeção de padrão.

^b Identificação baseada na retenção cromatográfica em colunas DB-WAX and VF-5MS, odor e confirmação por injeção de padrão.

^c Identificação baseada na retenção cromatográfica em colunas DB-WAX e odor como descrito na literatura.

^d Identificação baseada na retenção cromatográfica em colunas DB-WAX, odor e confirmação por injeção de padrão de referência.

TABELA 9 - CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTOS DE AROMA DE FRUTOS DE BUTIÁ, GABIROBA E UVAIA.

LRI DB-WAX	Compostos	$\mu\text{g kg}^{-1}$ de polpa		
		Butiá	Gabiroba	Uvaia
1019	Butanoato de metila	21648,69	<1	
1059	Butanoato de etila	11891,67		
1101	Acetato de butila	15059,54		
1147	(Z)-3-hexenal	3,71	3,96	
1213	Hexanoato de metila	1289,61		
1217	1,8-cineol	9036,97	220631,10	10538,99
1246	Hexanoato de etila	218929,26		
1252	(E)-2-hexenal	18729,29		
1405	(Z)-3-hexenol			107765,53
1568	Linalool		28162,55	
1652	Ácido butírico			
1794	Nerol		0,71	
1854	Ácido hexanoico			
1856	Geraniol		1,23	
1870	Metil diidrocinamato	3,25		
2039	Nerolidol			
2145	Ácido nonanoico	8631,29		
2168	Cinamato de etila	14,20		

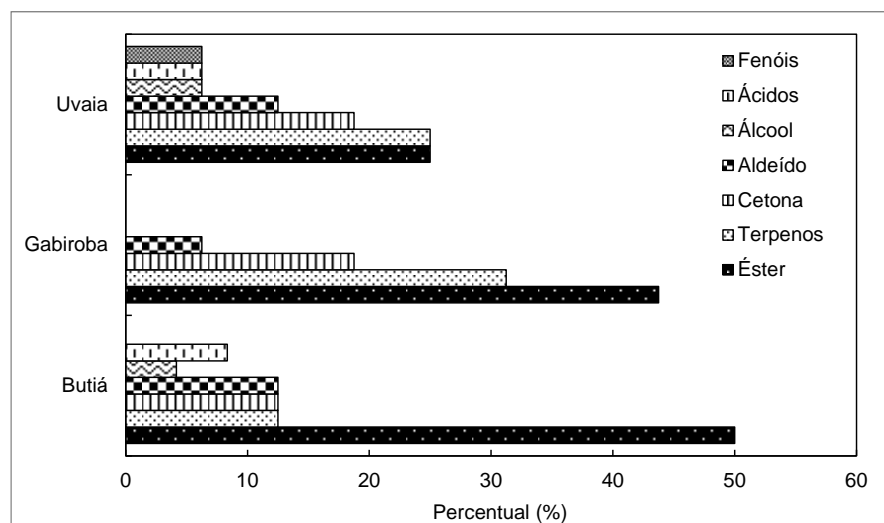


FIGURA 21 - CLASSES DE COMPOSTOS CONSTITUINTES DO AROMA ENCONTRADAS NOS FRUTOS DE BUTIÁ, GABIROBA E UVAIA.

De acordo com a TABELA 8, em frutos de butiá, o hexanoato de etila, pertencente a classe dos ésteres, foi um dos compostos de maior importância, com FM de 84% e também foi o composto majoritário quantitativamente (218,9 mg kg⁻¹ (TABELA 9). Além do hexanoato de etila, ésteres de menor intensidade contribuíram de forma secundária na formação do aroma de frutos de butiá, entre eles: 2-metil butanoato de metila (FM de 61%), butanoato de etila e acetato de butila (57%), hexanoato de metila (42%), valerato de etila (40%), butanoato de metila e propionato de etila (FM de 23%), 3-acetato de mercaptoexila (28%) (compostos tiois) e os cinamatos (conhecidos pelo seu descritor “doce” e “floral”): diidrocinaurato de etila (65%), cinamato de etila (55%) e didrocinaurato de metila (31%). Ainda, foi possível observar que o butanoato de metila esteve presente em quantidade maior (21,6 mg kg⁻¹) que o butanoato de etila (11,8 mg kg⁻¹), no entanto este último teve maior contribuição no aroma dos frutos de butiá (57 para 23%, respectivamente) (TABELA 8). Isto provavelmente aconteceu devido ao baixo *threshold* do butanoato de etila (HEMPFLING *et al.*, 2013). No aroma de frutos de groselha o butanoato de metila apresentou-se quantitativamente maior que o butanoato de etila, assim mesmo, o butanoato de etila apresentou maior importância para o aroma percebido neste fruto (HEMPFLING *et al.*, 2013).

Nos frutos de gabioba, o composto identificado com maior intensidade foi um éster, o acetato de 3-mercaptoexila com FM de 93% (TABELA 8). Os mercaptanos são responsáveis pelo descritor ‘frutas tropicais’ e alguns desta família já foram identificados em frutos de maracujá e em variedades de araçá (EGEA *et al.*, 2014). Entre os ésteres de menor intensidade, foram encontrados: 2-metil butanoato de metila (66%), cinamato de etila (51%), deidrocinaurato de etila (49%), propionato de etila (35%), 3-butanoato de etila (31%) e butanoato de metila (26%).

Na polpa de frutos de uvaia, os ésteres identificados tiveram baixa intensidade e frequência, resultando em baixa FM (20 a 31%) e por sua vez, em compostos de menor impacto no aroma. Entre eles, foram encontrados: pentanoato de etila (FM de 31%), 2-metil butanoato de metila (FM de 28%), cinamato de etila (26%) e isovalerato de etila (FM de 20%) (TABELA 8).

Os ésteres são produzidos pela reação de ácidos carboxílicos e álcoois. São associados ao amadurecimento de frutos e têm sido descritos no aroma de frutos exóticos como compostos de maior importância. O aroma dos ésteres é descrito como “frutal” ou associado a algum fruto em específico (LASEKAN; ABBAS, 2012, TRESSL,

DRAWERT, 1973). Dentre os ésteres, os cinamatos são compostos derivados dos ácidos cinâmicos e são intermediários da via metabólica de compostos fenólicos. Os cinamatos voláteis foram inicialmente identificados no aroma de banana e são conhecidos por serem responsáveis pelo aroma frutal e doce importante para uma grande variedade de frutos (PÉREZ; SANZ, 2008).

O (*Z*)-3-hexenal, da classe dos aldeídos, possui o descritor conhecido como 'verde' na análise olfatométrica. Neste trabalho, o (*Z*)-3-hexenal, juntamente com o hexanoato de etila, foram os compostos mais importantes para o aroma de polpa de frutos de butiá (FM de 84%). Outros aldeídos de menor impacto no aroma, como o (*Z*)-2-hexenal (FM de 28%) (produto da isomerização do (*Z*)-3-hexenal) e o benzaldeído (FM de 20%) foram identificados, totalizando 13% dos compostos encontrados no aroma da polpa de butiá (FIGURA 20). O (*Z*)-3-hexenal foi o único aldeído identificado em frutos de gabioba com FM de 28%. Este composto foi anteriormente identificado como o odorante com maior intensidade (FM) para as variedades de araçá (EGEA *et al.*, 2014) e goiaba (STEINHAUS *et al.*, 2009). O álcool correspondente a este aldeído foi identificado em frutos de butiá e uvaia, o (*Z*)-3-hexenol, com FM de 35 e 69%. Este composto é responsável pelo descritor "grama".

Em frutos de uvaia, os aldeídos encontrados (o hexenal com 40% e o benzaldeído com 32%) possuíram FM < 50%, mostrando contribuição secundária no aroma destes frutos.

Para frutos de uvaia, a classe de terpenos, representou juntamente com a classe de ésteres, 50% dos compostos encontrados (FIGURA 21). No entanto, os terpenos, com FM mais baixa, assim como os ésteres mostraram-se secundários no aroma de uvaia: o (*Z*)- β -ocimeno (FM de 57%), óxido de linalool (FM de 53%), 1,8-cineol (FM de 42%), e o geraniol (FM de 33%) (TABELA 8).

O 1,8-cineol, conhecido pelo descritor 'menta' e 'eucalipto', importante monoterpene formador de aroma de frutos, foi o segundo composto com maior intensidade (FM de 91%) para os frutos de gabioba, seguido pelo linalool com FM de 67 % (TABELA 8). Esta classe, terpenos, representou a segunda classe mais importante com 33% dos compostos encontrados nestas frutas (FIGURA 21). Quantitativamente, o 1,8-cineol e o linalool foram os compostos mais representativos em frutos de gabioba (220,6 e 28,1 mg kg⁻¹) (TABELA 9). Ainda desta classe, foram encontrados o geraniol (FM de 42%), óxido de linalool (FM de 35%) e o nerol (FM de 26%). Estes últimos terpenos são conhecidos por apresentarem descritores

conhecidos como 'floral' e 'frutal'. Em aroma dos frutos de butiá, os terpenos encontrados foram: geraniol (51%), linalool (42%) e 1,8-cineol (FM de 20%).

No aroma dos frutos de uvaia, o furaneol com FM de 88% foi o composto de maior intensidade (TABELA 8). Este composto é produto do metabolismo de carboidratos e foi identificado pela primeira vez como produto da reação de Maillard (PÉREZ, SANZ, 2008). É um dos compostos mais importantes no aroma de morango e foi descrito como composto que possui baixo *threshold* (LAVIÐ *et al.*, 2002; BUECHI; DEMOLE; THOMAS, 1973; ULRICK *et al.*, 1995). O furaneol também é o responsável por representar o aroma de fresco em variedades de abacaxi (TOKITOMO *et al.*, 2005). Além disso, sabe-se que a sua concentração aumenta conforme aumenta a evolução do amadurecimento atingindo o máximo quando este período se finaliza (LAVIÐ *et al.*, 2002). Outra cetona que foi encontrada com alta intensidade foi (*Z*)-1,5-octen-3-ona, encontrada para frutos de butiá, gabirola e uvaia nas intensidades de 91, 71 e 82%. Este composto é responsável pelo descritor 'coco' e 'lactona' e já havia sido identificado como importante no aroma de frutos de morango (UBEDA *et al.*, 2012) e secundários em araçá amarelo e araçá vermelho (EGEA *et al.*, 2014). Ainda, para frutos de butiá e de uvaia, a 1-octen-3-ona foi identificada com FM de 63 e 82% e é responsável pelo descritor de 'cogumelo' (TABELA 8). Este composto já havia sido relatado para araçá amarelo e vermelho (EGEA *et al.*, 2014), néctar de caju (VALIM; ROUSEFF; LIN, 2003), morangos (UBEDA *et al.*, 2012) e frutos de *Viburnum opulus* (KRAUJALYTÉ *et al.*, 2012).

Polpa de frutos de gabirola apresentaram 13% dos compostos de seu aroma na classe das cetonas, dentre eles, furaneol (FM de 32%) responsável pelo descritor 'doce' e 2-pentanona (FM de 26%) responsável pelo descritor 'frutal'.

No aroma de polpa de frutos de uvaia foi encontrado um composto da classe dos fenóis voláteis, o *m*-cresol (FM de 35%), que possui o descritor conhecido como tostado e queimado. Este composto já havia sido encontrado no aroma de óleo essencial de laranja (HOGNADOTTIR; ROUSEFF, 2003), uva (IBARZ *et al.*, 2006) e morangos (UBEDA *et al.*, 2012).

Por fim, os ácidos encontrados para aroma de frutos de butiá e uvaia foram o ácido decanóico com FM de 23 e 26%, respectivamente, e, o ácido nonanóico que foi encontrado somente para butiá (FM de 46%). Estes compostos são responsáveis por notas desagradáveis como 'ranço' e 'mofado'.

Os compostos encontrados para frutos de gabirola, (*Z*)-3-hexenal, (*E*)-2-hexenal e butanoato de etila (84, 28 e 28% de FM, respectivamente), já haviam sido encontrados para o aroma de groselha e são caracterizados por notas 'verde' ou 'frutal' (HEMPFLING *et al.*, 2013). Os compostos: butanoato de etila, butanoato de etil-2-metila, hexanoato de etila, hexanoato de metila, 1-octen-3-ona, (*Z*)-1,5-octen-3-ona, linalool, furaneol e m-cresol já haviam sido relatados para o aroma de frutos de morango (UBEDA *et al.*, 2012).

Assim, foi possível perceber que o aroma de frutos de butiá, gabirola e uvaia, apesar de apresentarem compostos em comum, apresentaram diferenças marcantes no que se trata de compostos de maior intensidade e maior relevância para o aroma global. Aroma de frutos de butiá foi claramente caracterizado pela presença de ésteres, destacando-se o hexanoato de etila como o de maior importância. No aroma de frutos de gabirola, apesar do composto de maior intensidade ser um éster (acetato de 3-mercaptoexila), o aroma destes frutos foi marcado pela presença de terpenos como 1,8-cineol e linalool. Por fim, o furaneol, ainda que não encontrado quantitativamente como apresenta baixo *threshold* foi o composto mais importante no aroma ativo de frutos de uvaia.

4 CONCLUSÕES

O estudo de aroma dos frutos nativos da Floresta Atlântica mostrou que entre os compostos mais importantes estão: (*Z*)-3-hexenal para polpa de frutos de araçá amarelo e vermelho, acetato de 3-mercaptoexila para frutos de gabirola, hexanoato de etila para frutos de butiá e furaneol para frutos de uvaia.

A comparação realizada pela análise sensorial descritiva entre as duas variedades de araçá demonstrou que as variedades amarela e vermelha são diferenciadas pela intensidade dos descritores de frutos tropicais e tomate. Pode dizer-se que o aroma de araçá é o resultado da interação de 23 compostos odorantes, e que é dominado pela presença de numerosos aldeídos e cetonas, entre os quais (*Z*)-3-hexenal é o odorante mais intenso. Monoterpenos oxigenados e 1,8-cineol em ambas as variedades de araçá e linalool em araçá vermelho foram encontrados e são importantes na composição do aroma percebido destes frutos. Exceto pelo acetato de

3-mercaptoexila, que poderia desempenhar um papel na nota de 'frutos tropicais' (descriptor relatado na análise sensorial descritiva) em araçá amarelo, os ésteres não mostraram grande relevância no aroma nestes frutos.

Aroma dos frutos de butiá, gabioba e uvaia, quando comparados entre si, mostraram perfis distintos. Enquanto 24 compostos somam o aroma de frutos de butiá, somente 16 compõem o aroma de polpa de frutos de gabioba e uvaia, respectivamente. Para a polpa de frutos de butiá e gabioba a maior quantidade de compostos encontrados foram da classe dos ésteres, enquanto para a uvaia apresentaram a mesma quantidade de compostos na classe dos ésteres e terpenos.

Uma vez conhecidos estes compostos responsáveis pelo aroma, em maior ou menor quantidade e importância para o aroma dos frutos, é possível aplicar em produtos alimentícios ou fármacos com finalidade de caracterização, padronização, reconstituição e mascaramento de aromas favorecendo e/ou diversificando os produtos existentes no mercado. Assim, este estudo deverá contribuir para uma maior utilização desses frutos pela indústria de alimentos por disseminar as características de frutos presentes na Mata Atlântica não somente regionalmente, mas em outras regiões, gerando maior interesse pelo aroma característico e atraente. Ainda, o aumento do interesse por estes frutos nativos, poderia aumentar a conscientização com relação a conservação da biodiversidade pela exploração sustentável das reservas existentes.

REFERÊNCIAS

ADRIANO, E.; LEONEL, S.; EVANGELISTA, R. M. Qualidade de fruto de aceroleira cv. Olivier em dois estádios de maturação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 541-545, 2011.

AENOR. Asociación Española de Normalización y Certificación. **Recopilación de Normas UNE - Análisis Sensorial**. Madrid, 1997.

ALI, S. S.; KASOJU, N.; LUTHRA, A.; SINGH, S.; SHARANABASAVA, H.; SAHU, A.; BORA U. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. **Food Research International**, v. 41, n. 1, p. 1-15, 2008.

ALVARENGA, F. Q.; MOTA, B. C. F.; LEITE, M. N.; FONSECA, J. M. S.; OLIVEIRA, D. A.; ROYO, V. A.; SILVA, M. L. A.; ESPERANDIM, V.; BORGES, A.; LAURENTIZ, R. S. In vivo analgesic activity toxicity and phytochemical screening of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Psidium cattleianum* Sabine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n.1, p. 280-284, 2013.

ALVES, G.L.; FRANCO, M.R.B. Headspace gas chromatography-mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich). **Journal of Chromatography A**, v. 985, n. 1-2, p. 297-301, 2003.

AMARANTE, C. V. T.; MEGGUER, C. A. Qualidade pós-colheita de frutos de butiá em função do estágio de maturação na colheita e do manejo da temperatura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 1, p. 46 – 53, 2008.

ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V.U. **As frutos silvestres brasileiras: uvaia**. Rio de Janeiro: Globo, 1988.

ANDLAUER, W.; FURST, P. Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. **Food Research International**, v. 35, n.2-3, p. 171-176, 2002.

ANDRADE, D. R. M.; HELM, C. V.; MAZZA, C. A.; MAZZA, M. C. M. Avaliação da composição química do araçá em duas localidades no sul do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22., 2012, Bento Gonçalves. **Anais do XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura**. Rio Grande do Sul, 2012, p. 4964-4967.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ANTON, A. A.; ROSS, K. A.; BETA, T.; GARY FULCHER, R.; ARNTFIELD, S. D. Effect of pre-dehulling treatments on some nutritional and physical properties of navy and pinto beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 5, p. 771–778, 2008.

ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable fruits commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1124-1131, 2004.

AYAZ, F. A.; DEMIR, O.; TORUN, H.; KOLCUOGLU, Y.; COLAK, A. Characterization of polyphenoloxidase (PPO) and total phenolic contents in medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit during ripening and over ripening. **Food Chemistry**, v. 106, n. 1, p. 291–298, 2008.

BARREIROS, L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113 – 123, 2006.

BATTINO, M.; BEEKWILDER, J.; DENOYES-ROTHAN, B.; LAIMER, M.; MCDUGALL, G. J.; MEZZETTI, B. Bioactive compounds in berries relevant to human health. **Nutrition Reviews**, v. 67, n. 1, p. S145–S150, 2009.

BEAULIEU, J. C.; GRIMM, C. C. Identification of volatile compounds in cantaloupe at various developmental stages using solid phase microextraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 1345-1352, 2001.

BEHLING, E.; SENDÃO, M.; FRANCESCATO, H.; ANTUNES, L.; BIANCHI, M. Flavonoide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.

BERNARDINI, R.D.; HARNEDY, P.; BOLTON, D.; KERRY, J.; O'NEILL, E.; MULLEN, A.M.; HAYES, M. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, p. 1296–1307, 2011.

BESKOW, G. T.; HOFFMANN, J. F.; TEIXEIRA, A. M.; FACHINELLO, J. C.; CHAVES, F. C.; ROMBALDI, C. V. Bioactive and yield potential of jelly palms (*Butia odorata* Barb. Rodr.). **Food Chemistry**, v. 172, p. 699-704, 2015.

BHAGAVATHY, S.; SUMATHI, P. Evaluation of antigenotoxic effects of carotenoids from green algae *Chlorococcum humicola* using human lymphocytes. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 2, p. 109-117, 2012.

BIODIVERSITY HOTSPOTS. Disponível em: <
http://www.biodiversityhotspots.org/xp/hotspots/atlantic_forest/Pages/default.aspx>.
Acesso em: 17/09/2010.

BLANK I. **Flavor, Fragrance, and Odor Analysis**. New York: Marcel Dekker, 2002.

BLASA, M.; GENNARI, L.; ANGELINO, D.; NINFALI, P. **Fruit and vegetable antioxidants in health**. In: R. R. Watso; V. R. Preedy (Eds.), *Bioactive foods in promoting health: fruits and vegetables* (pp. 37-58). San Diego: Academic Press, 2010.

BOULANGER, R.; CHASSAGNE, D.; CROUZET, J. Free and bound flavor components of Amazonian fruits. 1: Bacuri. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 14, n. 5, p. 303-311, 1999.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 19, de 30 de abril de 1999. **Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem**. Brasília, 1999d

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 2, de 07 de janeiro de 2002. **Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e probióticos isolados com alegação de Propriedade funcional e ou de Saúde**. Diário Oficial da União, 2002.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. **Food Chemistry**, v. 58, n. 1-2, p. 103-109, 1997.

BRIGHENTI, F. L.; LUPPENS, S. B.; DELBEM, A. C.; DENG, D. M.; HOOGENKAMP, M. A.; GAETTI-JARDIM, E. Jr.; DEKKER, H. L.; CRIELAARD, W.; TEN CATE, J. M. Effect of *Psidium cattleianum* leaf extract on *Streptococcus mutans* viability, protein expression and acid production. **Caries Research**, v. 42, n. 2, p. 148-154, 2008.

BRUINSMA, J. The quantitative analysis of chlorophylls A and B in plant extracts. **Photochemistry and Photobiology**, v. 2, n. 2, p. 241–249, 1963.

BRUNETON, J. **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia**, Ed. Acribia,SA: Espanha, 1991.

BUECHI, G.; DEMOLE, E.; THOMAS, A. F. Syntheses of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydrofuran-3-one (furanol) a flavor principle of pineapple and strawberry. **Journal of Organic Chemistry**, v. 38, n. 1, p.123-125, 1973.

BURDA, S.; OLESZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 2774-2779, 2001.

BURDOCK, G.A., FENAROLI, G. **Fenaroli's handbook of flavor ingredients**, 6th ed., CRC Press, Boca Raton, 2010.

CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 11, p. 3426–3431, 1996.

CASTREJÓN, A. D. R.; EICHHOLZ, I.; ROHN, S.; KROH, L. W.; HUYSKENS-KEIL, S. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**, v. 109, n. 3, p. 564–572, 2008.

CELLI, G. B. **Comportamento fisiológico e bioquímico de frutos da pitangueira** (*Eugenia uniflora* L.): características de interesse para o consumo humano. 149f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

CELLI, G. B.; PEREIRA-NETTO, A. B.; 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**, v. 44, n. 8, p. 2442–2451, 2011.

CHAVES, C. L.; FERREIRA, P. I.; PALUDO, G. F.; BERNARDI, A. P.; MANTOVANI, A.; BORTOLUZZI, R.L.C. Espécies nativas de Myrtaceae em fragmentos de floresta ombrófila mista, no município de Ponte Alta, Santa Catarina. **Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil**, 13 a 17 de setembro de 2009, São Lourenço – MG.

CHEN, C. R.; RAMASWAMY, H. S. Color and texture change kinetics in ripening bananas. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v. 35, n. 5, p. 415-419, 2002.

CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. **American Society for Clinical Nutrition**, v. 81, p. 223S-229S, 2005.

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

CHYAU, C.-C.; CHEN, S.-Y.; WU, C.-M. Differences of volatile and nonvolatile constituents between mature and ripe guava (*Psidium guajava* Linn) fruits. **Journal of Agricultural Chemistry**, v. 40, n. 5, p. 846-849, 1992.

COELHO DE SOUZA, G.; HAAS, A. P. S.; VON POSER, G. L.; SCHAPOVAL, E. E. S.; ELISABETSKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the South of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, n. 1, p. 135 – 143, 2004.

COHEN, K. O.; MATTIETTO, R. A.; CHISTÉ, R. C.; OLIVEIRA, M. S. P. Caracterização físico-química e funcional da polpa extraída de frutuso de cultivar de açáizero BRS Pard. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 70**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2009.

COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids – chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Nutritional Biochemistry**, v. 7, n.2, p. 66-76, 1996.

CORDEIRO, N.; SOUSA, L.; FREITAS, N.; GOUVEIA, M. Changes in the mesocarp of *Annona cherimola* Mill. 'Madeira' during postharvest ripening. **Postharvest Biology and Technology**, v. 85, p. 179-184, 2013.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v.5, p.512, 1974.

COX, K. A.; MCGHIE, T. K.; WHITE, A.; WOOLF, A. B. Skin colour and pigment changes during ripening of 'Hass' avocado fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 31, p. 287-294, 2004.

CULLERÉ, L.; FERREIRA, V.; CHEVRET, B.; VENTURINI, M.E.; SÁNCHEZ-GIMENO, A.C.; BLANCO, D. Characterisation of aroma active compounds in black truffles (*Tuber melanosporum*) and summer truffles (*Tuber aestivum*) by gas chromatography-olfactometry. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 300-306, 2010.

DAL MAGRO, N. G.; COELHO, S. R. M.; HAIDA, K. S.; BERTÉ, S. D.; MORAES, S. S. Comparação físico-química de frutos congelados de *Butia erospatha* (Mart.) Becc do Paraná e Santa Catarina – Brasil. **Revista Varia Scientia**, v. 6, n. 11, p. 33-42, 2006.

DANTAS, A. L.; SILVA, S. M.; LIMA, M. A. C.; DANTAS, R. L.; MENDONÇA, R. M. N. Bioactive compounds and antioxidant activity during maturation of strawberry guava fruit. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 4, p. 805–814, 2013.

DECKER, E. A. Phenolics: prooxidants or antioxidants?. **Nutrition Review**, v. 55, n. 11, p. 396-407, 1997.

DESOTI, V. C.; MALDANER, C. L.; CAELETTO, M. S.; HEINZ, A. A.; COLHEO, M. S.; PIATI, D.; TIUMAN, T. S. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arquivos de Ciência da Saúde de UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 3-13, 2011.

DE PAULI, P. A. **Avaliação da composição química, compostos bioativos e atividade antioxidante em cogumelos comestíveis**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2010.

DIXON, J.; HEWETT, E. W. Factors affecting apple aroma/flavour volatile concentration: a review. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 28, n. 3, p.155-173, 2000.

DRAVNIÉKS, A. **Atlas of odor character profiles**. Philadelphia: ASTM, p. 354. 1985.

DREHMER, A. M. F.; AMARANTE, C. V. T. Conservação pós-colheita de frutos de araçá-vermelho em função do estágio de maturação e temperatura de armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 322-326, 2008.

DONADIO, L.C. Study of some Brazilian Myrtaceae in Jaboticabal – SP. **Acta Horticultura**, v. 452, p. 181-183, 1997.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 2013.

EGEA, M. B.; PEREIRA-NETTO, A. B.; CACHO, J.; FERREIRA, V.; LOPEZ, R. Comparative analysis of aroma compounds and sensorial features of strawberry and lemon guavas (*Psidium cattleianum* Sabine). **Food Chemistry**, v. 164, n. 1, p. 272-277.

ENGEL, V.L.; POGGIANI, F. Estado nutricional de folhas de mudas de essências nativas em função de diferentes graus de sombreamento. In: Congresso Florestal Brasileiro, 6. 1990. **Anais Congresso Florestal Brasileiro**. p. 76. (vol.2).

ESTELA, F. A.; Mudanças durante a maturação de uvaia (*Eugenia uvalla* Cambess). In: XX Congresso Brasileiro de Fruticultura. 54th Annual Meeting of the Iiteramerican Society for tropical, 2008. Vitória, ES. **Anais do XX Congresso Brasileiro de Fruticultura**, 2008. CD-ROM.

EL BULK, R. E.; BABIKER, E. F. E.; EL TINAY, A. H. Changes in chemical composition of guava fruits during development and ripening. **Food Chemistry**, v. 59, n. 3, p. 395–399, 1997.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 23-36, 2006.

FERREIRA, V.; PET'KA, J.; AZNAR, M.; CACHO, J. Quantitative gas chromatography – olfactometry. Analytical characteristics of a panel of judges using a simple quantitative scale as gas chromatography detector. **Journal of Chromatography A**, v. 1002, n. 1-2, p. 169-178, 2003.

FERREIRA, V.; SAN JUAN, F.; ESCUDEIRO, A.; CULLERÉ, L.; FERNÁNDEZ-ZURBÁNO, P.; SAENZ-NAVAJAS, M. P.; CACHO, J. Modeling quality of premium spanish red wines from gas chromatography-olfactometry data. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7490-7498, 2009.

FETTER, M. R.; VIZZOTTO, M.; CORBELINI, D. D.; GONZALEZ, T. N. Propriedades funcionais de araçá-amarelo, araçá-vermelho (*Psidium cattleyanum* Sabine) e araçá-pêra (*P. acutangulum* D. C.) cultivados em Pelotas/RS. **Brazilian Journal Food Technology**, IIISSA, p. 92-95, 2010.

FIGUEIREDO, L. P.; DIAS, M. V.; VALENTE, W. A.; BORGES, S. V.; PEREIRA, A. G. T.; PEREIRA, P. A. P.; QUEIROZ, F. Influence of process parameters on the color and texture of passion fruit albedo preserved in syrup. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 116-121, 2013.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982, p. 181–207.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9 ed. São Paulo: Atheneu, 1999.

FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. **Aroma e Sabor de Alimentos: Temas Atuais**. São Paulo: Editora Varela, 2004. 246p.

FRANCO, M.R.B.; SHIBAMOTO, T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-caja (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*), and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 4, p. 1263-1265, 2000.

FU, L.; XU, B.-T.; XU, X.-R.; GAN, R.-Y.; ZHANG, Y.; XIA, E.-Q.; LI, H.-B. Antioxidant capacities and total phenolic content of 62 fruits. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 345-350, 2011.

GAETTI-JARDIM Jr., E.; LANDUCCI, L. F.; ARAFAT, O. K. K.; RANIERI, R. V.; RAMOS, M. M. B.; CIESIELSKI, F. I. N.; SCHWEITZER, C. M.; OKAMOTO, A. C. Antimicrobial activity of six plant extracts from the Brazilian savanna on periodontal pathogens. **International Journal of Odontostomatology**, v. 5, n. 3, p. 249-256, 2011.

GARTLAN, J. S.; McKEY, D. B.; WATERMAN, P. G.; MBI, C.N.; STRUTSAKE, T. T. A comparative study of the phytochemistry of two African Rain Forest. **Biochemical System Ecology**, v. 8, p.401-422. 1980.

GLEITZ, J.;SCHNITZLER, J. P.;STEIMLE, D.;SEITZ, H. U. Metabolic changes in carrot cells in response to simultaneous treatment with ultraviolet light and a fungal elicitor. **Planta**, v. 184, n. 3, p.362-367, 1991.

GLYPHIS, J. P.; PUTTICK, G. M. Phenolics in some Southern African Mediterranean shrubland plants. **Phytochemistry**, v. 27, n. 3, p. 743-751, 1988.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOUVEIA, J. P. G.; ALMEIDA, F. A. C.; MEDEIROS, B. G. S.; RIBEIRO, C. F. A.; SILVA, M. M. Maturação de goiaba (*Psidium guajava* L.) mediante parâmetros físico-químicos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 1, p.85-94, 2003.

GROSCH, W. Determination of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis (AEDA) and calculation of odour activity values (OAVs). **Flavour Fragrance Journal**, v. 9, p. 147-158, 1994.

GROSCH, W. Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. **Chemical Senses**, v. 26, n. 5, p. 533-545, 2001.

GROSS, J. **Pigments in vegetables, chlorophylls and carotenoids**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991.

GROSS, J.; IKAN, R.; ECKHARDT, G. Carotenoids of the fruit of *Averrhoa carambola*. **Phytochemistry**, v. 22, n. 6, p. 1479-1481, 1983.

GRUZ, J.; AYAZ, F. A.; TORUN, H.; STRNAD, M. Phenolic acid content and radical scavenging activity of extracts from medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit at different stages of ripening. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 271-277, 2011.

HABAUZIT, V.; MILENKOVIC, D.; MORAND, C. **Vascular protective effects of fruit polyphenols**. In: R. R. Watson, V. R. Preedy & S. Zibadi (Eds), Polyphenols in human health and disease (pp. 875-893). San Diego: Academic Press, 2014.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review Nutrition**, v. 16, p. 33-50, 1996.

HALLIWELL, B.; RAFTER, J.; JENNER, A. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not?. **American Society for Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 268S-276S, 2005.

HAMINIUK, C. W. I.; PLATA-OVIEDO, M. S. V.; GUEDES, A. R.; STAFUSSA, A. P.; BONA, E.; CARPES, S. T. Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 7, p. 1529–1537, 2011.

HARBORNE, J. B. **Comparative biochemistry of the flavonoids**. Academic Press: London, 1967.

HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J.; MABRY, H. **The flavonoids**. Academic Press: New York, 1975.

HARUENKIT, R.; POOVARODOM, S.; VEARASILP, S.; NAMIESNIK, J.; SLIWKA-KASZYNSKA, M.; PARK, Y.-S.; HEO, B.-G.; CHO, J.-Y.; JANG, H. G.; GORINSTEIN, S. Comparison of bioactive compounds, antioxidant and antiproliferative activities of Mon Thong durian during ripening. **Food Chemistry**, v. 118, n. 3, p. 540–547, 2010.

HASLER, C. M. Functional food: their role in disease prevention and health promotion **Food Technology**, v. 52, p. 63-70, 1998;

HELDT, H.-W.; HELDT, F. **Plant Biochemistry**. 3 ed. Elsevier: California, 2005.

HEMPFLING, K.; FASTOWSKI, O.; KOPP, M.; NIKFARDJAM, M.P.; ENGEL, K.-H. Analysis and sensory evaluation of gooseberry (*Ribes uva crispa* L.) volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 26, p. 6240-6249, 2013.

HERTOG, M. G. L.; CHAPMAN, G. W.; KATAN, M. B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 40, n. 12, p. 2379-2383, 1992.

HOGNADOTTIR, A.; ROUSEFF, R. L. Identification of aroma active compounds in orange essence oil using gas chromatography - olfactometry and gas chromatography - mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 998, n. 1-2, p. 201-211, 2003.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

HULME, A. C. **The biochemistry of fruits and their products**. Vol.1. New York: Academic Press, 1971.

HUNGENHOLTZ, J.; SMID, E. J. Nutraceutical production with food-grade microorganisms. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, n. 5, p. 497-507, 2002.

IBARZ, M.J.; FERREIRA, V.; HERNÁNDEZ-ORTE, P.; LOSCOS, N.; CACHO, J. Optimization and evaluation of a procedure for the gas chromatographic-mass spectrometric analysis of the aromas generated by fast acid hydrolysis of flavor precursors extracted from grapes. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, n. 1-2, p. 217-229, 2006.

International Organization for Standardization. **Standard 5492**. Terms relating to sensory analysis. ISO, 1992.

JACKMAN, R. L.; YADA, R. Y.; TUNG, M. A.; Speers, R. A. Anthocyanins as food colorants. **Journal of Food Biochemistry**, v. 11, n. 3, p. 201, 1987.

JANZANTTI, N.S.; MACORIS, M.S.; GARRUTI, D.S.; MONTEIRO, M. Influence of the cultivation system in the aroma of the volatile compounds and total antioxidant activity of passion fruit. **LWT Food Science and Technology**, v. 46, n. 2, p. 511-518, 2012.

JELEN, H. H.; MAJCHER, M.; DZIADAS, M. Microextraction techniques in the analysis of food flavor compounds: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 738, p. 13-26, 2012.

JIMÉNEZ, A. M.; SIERRA, C. A.; RODRÍGUEZ-PULIDO, F. J.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; HEREDIA, F. J.; OSORIO, C. Physicochemical characterisation of gulupa (*Passiflora edulis* Sims. fo *edulis*) fruit from Colombia during the ripening. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1912–1918, 2011.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; RINCÓN, M.; PULIDO, R.; SAURA-CALIXTO, F. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5489–5493, 2001.

JOLY, A.B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1993.

JONES, D. H. Phenylalanine ammonia-lyase: Regulation of its induction, and its role in plant development. **Phytochemistry**, v. 23, n. 7, p.1349-1359, 1984.

JORDAN, D. N.; GREEN, T. H.; CHAPPELKA, A. H.; LOCKABY, B. G.; MELDAHL, R.S.; GJIRSTAD, D. H. Response of total tannins and phenolics in loblolly pine foliage exposed to ozone and acid rains. **Journal Chemical Ecology**, v. 17, n. 3, p. 505-513, 1991.

KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; HEINONEN, M. Berry phenolics and their antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 8, p. 4076–4082, 2001.

KALT, W.; LAWAND, C.; RYAN, D. A. J.; MCDONALD, J. E.; DONNER, H.; FORNEY, C. F. Oxygen Radical Absorbing Capacity , Anthocyanin and phenolic content of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) during ripening and storage. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 128, n. 6, p. 917–923, 2003.

KASDALLAH-GRISSA, A.; MORNAGUI, B.; AOUANI, E.; HAMMAMI, M.; EL MAY, M.; GHARBI, N.; KAMOUN, A.; EL-FAZAÂ, S. Resveratrol, a red wine polyphenol, attenuates ethanol-induced oxidative stress in rat liver. **Life Sciences**, v. 80, n. 12, p. 1033-1039, 2007.

KHOO, H. E.; ISMAIL, A.; MOHD-ESA, N.; IDRIS, S. Carotenoid content of underutilized tropical fruits. **Plant Foods Human Nutrition**, v. 63, n. 4, p. 170-175, 2008.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, n. 2, p. 213-218, 1999.

KLAFKE, J. Z.; SILVA, M. A.; PANIGASAS, T. F.; BELLI, K. C.; OLIVEIRA, M. F.; BARICHELLOB, M. M.; RIGOC, F. K.; ROSSATO, M. F.; SANTOS, A. R. S.; PIZZOLATTI, M. G.; FERREIRA, J.; VIECILI, P. R. N. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on biochemical, hematological and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic patients. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 299–305, 2010.

KONCZAK, I.; ZHANG, W. Anthocyanins – more than nature’s colours. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 5, p. 239-240, 2004.

KRAUJALYTĖ, V.; LEITNER, E.; VENSKUTONIS, P. R. Chemical and sensory characterisation of aroma of *Viburnum opulus* fruits by solid phase microextraction-gas chromatography. **Food Chemistry**, v. 132, n. 2, p. 717-723, 2012.

KURZ, C.; CARLE, R., SCHIEBER, A. HPLC-DAD-MSn characterisation of carotenoids from apricots and pumpkins for the evaluation of fruit product authenticity. **Food Chemistry**, v. 110, n. 2, p. 522-530, 2008.

KWAK, K.; JUKES, D. J. Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. **Food Control**, v. 12, n. 2, p. 99-1-7, 2001.

LANFER-MARQUEZ, U. M. O papel da clorofila na alimentação humana: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 3, p. 227-242, 2003.

LASEKAN, O.; ABBAS, K. A. Distinctive exotic flavor and aroma compounds of some exotic tropical fruits and berries: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 8, p. 726-735, 2012.

LAVID, N.; SCHWAB, W.; KAFKAS, E.; KOCH-DEAN, M.; BAR, E.; LARKOV, O.; RAVID, U.; LEWINSOHN, E. J. Aroma biosynthesis in strawberry: s-

adenosylmethionine: furaneol o-methyltransferase activity in ripening fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 14, p. 4025-4030, 2002.

LEGRAND, C.D. **Myrtaceae catharinense novae**. *Sellowia*, v. 8, p. 71-79, 1957.

LI, W.; HYDAMAKA, A.W.; LOWRY, L.; BETA, T. Comparison of antioxidant capacity and phenolic compounds of berries, chokecherry and seabuckthorn. **Central European Journal of Biology**, v. 4, n. 4, p. 499-506, 2009.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. Fenólicos e carotenoides totais em pitanga. **Scientia Agrícola**, v. 59, n. 3, p. 447-450, 2002.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; PRAZERES, F. G.; MUSSER, R. S.; LIMA, D. E. S. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 565-568, 2005.

LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira Agrocência**, v. 13, n. 3, p. 291-297, 2007.

LORENZI, H.; BACHER, L.B.; LACERDA, M.T.C de; SARTORI, S.F. **Frutos brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, p. 210-211, 2006.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M.; COSTA, J.T.M.; CERQUEIRA, L.S.C.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2004.

MACORIS, M. S.; DE MARCHI, R.; JANZANTTI, N. S.; MONTEIRO, M. The influence of ripening stage and cultivation system on the total antioxidant activity and total phenolic compounds of yellow passion fruit pulp. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 9, p. 1886-1891, 2012.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, M. H. L. Aroma volatiles of pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 7, p. 574-576, 2008.

MANACH, C.; MAZUR, A.; SCALBERT, A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. **Current Opinion in Lipidology**, v. 16, n. 1, p. 77-84, 2005.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Society for Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-47, 2004.

MARINOVA, D.; RIBAROVA, F. HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 5, p. 370-374, 2007.

MARIN, R.; APEL, M.; LIMBERGER, R.P.; RASEIRA, M.C.B.; PEREIRA, J.F.M.; ZUANAZZI, J.A.S.; HENRIQUES, A.T. Volatile components and antioxidante activity

from some Myrtaceous fruits cultivated in Southern Brazil. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 2, p. 172-177, 2008.

MARKMAN, B. E. O.; BACCHI, E. M.; KATO, E. T. M. Antiulcerogenic effects. **Journal Ethnopharmacology**, v. 94, p. 55–57, 2004.

MARTINEZ-VALVERDE, L.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.

MATTOS, J. R. **Estudo pomológico dos frutos indígenas do Rio Grande do Sul**. Oficinas Gráficas da Imprensa Oficial, Porto Alegre, 1954.

MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains**. CRC Press, London, 1993, 362p.

McGINLEY, C. M.; McGINLEY, M. A. The Gray Line between odor nuisance and health effects. In: **92st Annual Meeting And Exhibition Sant Louis Of Air And Waste Management Association**. 1999. Disponível em CD-ROM.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Consumer test and in-house panel acceptance tests. In: MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. Florida: CRC Press Inc; 1988.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim SBCTA**, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MENEZES, T.E.C.; DELBEM, A.C.B.; BRIGHENTI, F.L.; OKAMOTO, A. C.; GAETTI-JARDIM Jr., E. Protective efficacy of *Psidium cattleianum* and *Myracrodruon urundeuva* aqueous extracts against caries development in rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, p. 300-305, 2010.

MIYAZAWA, T. M. **Compostos voláteis da uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess)**. 97f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2009.

MOLE, S.; WATERMAN, P.G. Light-induced variation in phenolic levels in foliage of Rain-Forests plants. II. Potential significance to herbivores. **Journal Chemical Ecology**, v. 14, p. 23-34, 1988.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.

MOURA, F. T.; SILVA, S. M.; MARTINS, L. P.; MENDONÇA, M. N. Evolução do crescimento e da maturação de frutos de cajazeira (*Spondias monbin* L.). **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, v. 47, p. 231-233, 2003.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 333, p. 853-858, 2000.

NETZEL, M.; NETZEL, G.; TIAN, Q.; SCHWARTZ, S.; KONCZAK, I. Native Australian fruit – a novel source of antioxidants for food. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 8, n. 3, p. 339-346, 2007.

NORA, C. D.; DANELLI, D.; SOUZA, L. F.; RIOS, A. O.; JONG, E. V.; FLÔRES, S. Protective effect of guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand) and red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) against cisplatin-induced hypercholesterolemia in rats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 3, 2014a.

NORA, C. D.; JABLONSKI, A.; RIOS, A. O.; HERTZ, P. F.; JONG, E. V.; FLÔRES, S. H. The characterisation and profile of bioactive compounds in red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand). **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49, n. 8, p. 1842-1849, 2014b.

NORA, C. D.; MÜLLER, C. D.-R.; BONA, G. S.; RIOS, A. O.; HERTZ, P. F.; JABLONSKI, A.; JONG, E. V.; FLÔRES, S. H. Effect of processing on the stability of bioactive compounds from red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 34, n. 1, p. 18-25, 2014c.

NYCHAS, G. J. E. **Natural antimicrobials from plants**. In: GOULD, G. W. (ed.). *New methods of food preservation*. Londres: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 59-87.

O'BYRNE, D. J.; DEVRAJ, S.; GRUNDY, S. M.; JIALAL, I. Comparison of the antioxidant effects of concord grape juice flavonoids and α -tocopherol on markers of oxidative stress in healthy adults. **American Society for Clinical Nutrition**, Maryland, v. 76, n. 6, p.1367-1374, 2002.

OKUMURA, F.; SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Identificação de pigmentos naturais de espécies vegetais utilizando-se cromatografia em papel. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 680-683, 2002.

OLDONI, T. L. C. **Prospecção e identificação de compostos bioativos de subprodutos agroindustriais**. 163 p. Tese (Doutorado em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, 2010.

OLIVEIRA, I.; BAPTISTA, P.; MALHEIRO, R.; CASAL, S.; BENTO, A.; PEREIRA, J. A. Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1401-1407, 2011.

ORTEGA-GARCIA, F., PERAGON, J., Phenylalanine ammonia-lyase, polyphenoloxidase, and phenol concentration in fruits of *Olea europaea* L. cv Picual,

Verdial, Arbequina, and Frantoio during ripening. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 57, n. 21, p. 10331–10340, 2009.

PANTASTICO, E. R. B. **Postharvest physiology handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables**. 560 p. West Port: Avi, 1975.

PENNINGTON, J. A. T. Food composition databases for bioactive food components. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, n. 4, p. 419-434, 2002.

PÉREZ, A. G.; SANZ, C. Formation of fruit flavor. In: BRÜCKNER, B; WYLLIE; S. G. **Fruit and vegetable flavour: recent advances and future prospects** (pp.40-70). Boca Raton: CRC Press, 2008.

PFANDER, H. Carotenoids: a overview. **Methods in Enzymology**, v. 213, p. 851, 1971.

PIETTA, P.-G. Flavonoids as antioxidants. **Journal Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.

PINO, J. A.; MARBOT, R. Volatile flavor constituents of acerola (*Malpighia emarginata* DC.). **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 12, p.5880-5882, 2001.

PINO, J.A.; MARBOT, R.; VÁZQUEZ, C. Characterization of volatiles in strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 12, p. 5883-5887, 2001.

PINO, J.A.; QUIJANO, C.E. Volatile compounds of arazá fruit (*Eugenia stipitata* McVaught). **Revista CENIC Ciencias Químicas**, v. 38, n. 3, p. 363-366, 2007.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of brassica vegetables: a review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 40, n. 1, p. 1-11, 2007.

PRIOR, R. L.; CAO, G. H.; MARTIN, A.; SOFIC, E.; MCEWEN, J.; O'BRIEN, C.; LISCHNER, N.; EHLENFELDT, M.; KALT, W.; KREWER, G.; MAINLAND, C. M. ¶ Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of *Vaccinium* Species. **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 7, p. 2686-2693, 1998.

QIU, Y.; LIU, Q.; BETA, T. Antioxidant activity of commercial wild rice and identification of flavonoid compounds in active fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7543-7551, 2009.

QUINÁIA, S. P.; FERREIRA, M. Determination of ascorbic acid in pharmaceutical formulations and tropical juices by means of spectrophotometric titration. **Revista Ciências Exatas Naturais**, v. 9, n. 1, p. 41-50, 2007.

RAMIREZ. M. R.; HENRIQUES, A. T.; RASEIRA, M. C. B.; ZUANAZZI, J. A. Estudo fitoquímico das frutas de *Psidium cattleianum* Sabine e *Eugenia pyriformis* Cambess.

In: Sociedade Brasileira de Quimica. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009. Fortaleza, CE. **Anais do 32ª RASBQ**, 2009. CD-ROM.

RAO, A. V.; RAO, L. G. Carotenoids and human health. **Pharmacological Research**, v. 55, n. 3, p. 207-216, 2007.

RASEIRA, A.; RASEIRA, M.C.B. "Ya-cy", cultivar de araçazeiro lançada pela EMBRAPA/CPACT. **Hirti Sul**, v. 3, n. 1, p. 37-39, 1994.

REITZ, R. **Palmeiras**. In: Flora Ilustrada Catarinense: Herbário "Barbosa Rodrigues". Itajaí, SC, 1974. 189 p.

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

RIBEIRO, A. B.; CHISTÉ, R. C.; FREITAS, M.; SILVA, A. F.; VISENTAINER, J. V.; FERNANDES, E. *Psidium cattleianum* fruit extracts are efficient in vitro scavengers of physiologically relevant reactive oxygen and nitrogen species. **Food Chemistry**, v. 165, p. 140-148, 2014.

RIBEIRO, S. M. R.; QUEIROZ, J. H.; PELUZO, M. C. G.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L. P.; QUEIROZ, M. E. L. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience Journal**, v. 21, n. 3, p. 133-149, 2005.

RIBOLI, E.; NORAT, T.; Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 78, p. 559S-569S, 2003.

RIDGWAY, K., LALLJIE, S. P.D.; SMITH, R. M. Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods. **Journal of Chromatography A**, v. 1153, n. 1-2, p. 36-53, 2007.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v.92, p. 235-254, 2005.

ROSA, L.; CASTELLANI, T. T.; REIS, A. Biologia reprodutiva de *Butia Capitata* (Martius) Beccari var. *odorata* (Palmae) na restinga do município de Laguna, SC. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, n. 3, 1998.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, p. S105-S110, 2002.

ROVER JÚNIOR, L.; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.

RUFINO, M. D. S. M.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of

18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010.

SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. **Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2011.

SANDOVAL, E. R; GARZÓN, P. B. Evaluación del proceso de cocción para obtener un confite duro a partir de pulpa de araza (*Eugenia stipitata*). **Revista Ingeniería e Investigación**, v. 29, n. 2, p. 35-41, 2009.

SANTOCONO, M.; ZURRIA, M.; BERRETTINI, M.; FEDELI, D.; FALCIONI, G. Lutein, zeaxanthin and astaxanthin protect against DNA damage in SK-N-SH human neuroblastoma cells induced by reactive nitrogen species. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 88, n. 1, p. 1-10, 2007.

SANTOS, M. S.; PETKOWICZ, C. L. O.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A.; CARNEIRO, E. B. B. Caracterização do suco de araçá vermelho (*Psidium cattelyanum* Sabine) extraído mecanicamente e tratado enzimaticamente. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 29, supl., p. 617-621, 2007.

SANTOS, M. S.; CARNEIRO, P. I. B.; WOSIASCKI, G.; PETKOWICZ, C. L. O.; CARNEIRO, E. B. B. Caracterização físico-química, extração e análise de pectinas de frutos de *Campomanesia xanthocarpa* B. (gabioba). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 1, p. 101 - 106, 2009.

SANTOS, M. S. **Impacto do processamento sobre as características físico-químicas, reológicas e funcionais de frutos de gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg)**. 148f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

SANTOS, M. S.; CORREIA, C. H.; PETKOWICZ, C. L. O.; CANDIDO, L. M. B. Quantification of major bioactive phytochemicals in the gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg) juice. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 35, n. 4, p. 783-787, 2013a.

SANTOS, M. S.; LIMA, J. J.; PETKOWICZ, C. L. O.; CANDIDO, L. M. B. Chemical characterization and evaluation of the antioxidante potential of gabioba jam (*Campomanesia xanthocarpa* Berg). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 1, p. 73 – 82, 2013b.

SAN-JUAN, F.; PET'KA, J.; CACHO, J.; FERREIRA, V.; ESCUDEIRO, A. Producing headspace extracts for the gas chromatography-olfactometric evaluation of wine aroma. **Food Chemistry**, v. 123, n. 1, p. 188-195, 2010.

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

SCALON, S. P.Q.; SCALON FILHO, H; RIGONI, M.R. armazenamento e germinação de sementes de uvaia *Eugenia uvalha* Cambess. Lavras: **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 6, p.1228-1234, 2004.

SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidante capacity and phenolic contents in fruit. **Journal of Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 207 - 213, 2005.

SCHOEFS, B. Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n. 11, p. 361–371, 2002.

SCHWARTZ, S. J.; LORENZO, T. V. Chlorophyll in foods. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 1-17, 1990.

SCHWART, S. J.; von ELBE, J. H.; GIUSTI, M. M. Corantes. In: DAMODARN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. (Ed.) **Química de alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 445 – 498.

SCUDELLER, V.; MARTINS, F. R.; SHEPHERD, G. J. Distribution and abundance of arboreal species in the atlantic ombrophilous dense forest in Southeastern Brazil. **Plant Ecology**, Netherlands, v. 152, n. 2, p. 185-199, 2001.

SEMA. Espécies da flora ameaçada de extinção no estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: **Secretaria do Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Sul**, 2014. Disponível em:
http://www.sema.rs.gov.br/conteudo.asp?cod_menu=4&cod_conteudo=8991.
Acesso em: 05 de janeiro de 2015.

SGANZERLA, M. **Caracterização físico-química e capacidade antioxidante do butiá**. 105f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

SHAHIDI F, JANITHA P.K., WANASUNDARA P.D. Phenolic antioxidants. **Critical Review Food Science Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SHIN, Y.; RYU, J. A.; LIU, R. H.; NOCK, J. F.; WATKINS, C. B. Harvest maturity, storage temperature and relative humidity affect fruit quality, antioxidant contents and activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, n. 2, p. 201–209, 2008.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 215, n. 2, p.213-219, 1993.

SILVA, C. V.; BILIA, D. A.; MALUF, A. M.; BARBEDO, C. J. Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess. – Myrtaceae). **Revista Brasileira Botânica**, v. 26, n. 2, p. 213-221, 2003.

SILVA, E. P.; VILAS BOAS, E. V. B.; RODRIGUES, L. J.; SIQUEIRA, H. H. Caracterização física, química e fisiológica de gabioba (*Campomanesia pubescens*) durante o desenvolvimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 4, p. 803-809, 2009.

SILVA, F. G. Métodos analíticos para caracterização físico-química da uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess). In: XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2008, Belo Horizonte. **Anais do XXI XBCTA**, 2008. CD-ROM.

SILVA, T. V.; RESENDE, E. D.; VIANA, A. P.; PEREIRA, S. M. F.; ALMEIDA CARLOS, L.; VITORAZI, L. Determinação da escala de coloração da casca e do rendimento em suco do maracujá-amarelo em diferentes épocas de colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 880-884, 2008.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICH, P. R. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. Ed. Universidades/UFRGS/Ed da UFSC, 2 ed., 2000.

SIRÓ, I.; KÁPOLNA, E.; KÁPOLNA, B.; LUGASI, A. Functional Food. Product development, marketing and consumer acceptance – A review. **Appetite**, v. 51, p. 456-467, 2008.

SOLOVCHENKO, A. E.; CHIVKUNOVA, O. B.; MERZLYAK, M. N.; GUDKOVSKY, V. A. Relationships between chlorophyll and carotenoid pigments during on-and off-tree ripening of apple fruit as revealed non-destructively with reflectance spectroscopy. **Postharvest Biology and Technology**, v. 38, n. 1, p. 9-17, 2005.

SOUSA, L.P.; SOBRAL, M. E.G. Morfotipos do araçazeiros, *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae) no estado do Paraná. In: Pedrosa-Macedo, J. H.; DaMolin, A.; Smith, C. W. (orgs.). **O Araçazeiro: Ecologia e Controle Biológico**. FUPEF, 2007. P. 19-28.

SOUZA, V. R.; PEREIRA, P. A. P.; QUEIROZ, F.; BORGES, S. V.; CARNEIRO, J. DE D. S. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 381–386, 2012.

STEINHAUS, M.; SINUCO, D.; POLSTER, J.; OSORIO, C.; SCHIEBERLE, P. Characterization of the key aroma compounds in pink guava (*Psidium guajava* L.) by means of aroma re-engineering experiment and omission test. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 7, p. 2882-2888, 2009.

STEPHAN, A.; BÜCKING, M.; STEINHART, H. Novel analytical tools for food flavours. **Food Research International**, v. 33, n. 3-4, p. 199-209, 2000.

STEVENS, K. L.; BREKKE, J. E.; STERN, D. J. Volatile constituents in guava. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 18, n. 4, p. 598-599, 1970.

STIEVEN, A. C.; MAGESTI, E. E.; FERRAZ, C. **Avaliação de vitamina C em uvaia, compreando três métodos distintos**. In: VII Simpósio Latino Americano de Ciências dos Alimentos, 2007, Campinas, SP. Anais do VII SLACA, 2007. CD-ROM.

STIEVEN, A. C.; MOREIRA, J. J. S.; SILVA, C. F. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess): avaliação das atividades microbianas e antioxidante. **Eclética Química**, v. 34, n. 3, 2009.

SUBHASREE, B.; BASKAR, R.; LAXMI KEERTHANA, R.; LIJINA SUSAN, R.; RAJASEKARAN, P. Evaluation of antioxidant potential in selected green leafy vegetables. **Food Chemistry**, v. 115, n. 4, p. 1213–1220, 2009.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G. COSTA, J. N. Métodos para a determinação de atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

TALCOTT, S. T.; HOWARD, L. R. Phenolic autoxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 5, p. 2109–2115, 1999.

TARUSCIO, T. G.; BARNEY, D. L.; EXON, J. Content and profile of flavonoid and phenolic acid compounds in conjunction with the antioxidant capacity for a variety of northwest Vaccinium berries. **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 10, p. 3169- 3176, 2004.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZAVALLLOS, L.; BYRNE, D. H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6-7, p. 669-675, 2006.

THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Boletim da SBCTA**, v. 34, n. 1, p. 52-59, 2000.

THURMAN, E.M.; MILLS, M.S. **Solid-phase extraction: principles and practice**. John Wiley & Sons, Inc., 1998.

TIAN, B.; XU, Z., SUN, Z., LIN, J., HUA, Y. Evaluation of the antioxidant effects of carotenoids from *Deinococcus radiodurans* through targeted mutagenesis, chemiluminescence, and DNA damage analyses. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 17, n. 6, p. 902-911, 2007.

TRESSL, R.; DRAWERT, F. Biogenesis of banana volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 21, n. 4, p. 560-565, 1973.

TOKITOMO, Y.; STEINHAUS, M.; BÜTTNER, A.; SCHIEBERLE, P. Odor-active constituents in fresh pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) by quantitative and sensory evaluation. **Biosci. Biotechnol. Biochem**, v. 69, n. 7, p. 1323–1330, 2005.

UBEDA, C.; SAN-JUAN, F.; CONCEJERO, B.; CALLEJÓN, R.M.; TRONCOSO, A.M.; MORALES, M.L.; FERREIRA, V.; HERNÁNDEZ-ORTE, P. Glycosidically bound aroma compounds and impact odorants of four strawberry varieties. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 60, n. 24, p. 6095-6202, 2012.

ULRICK, D.; HOBERG, E.; RAPP, A.; KECKE, S. Analysis of strawberry flavor – discrimination of aroma types by quantification of volatile compounds. **Z Lebensm UNters Forsch**, v. 205, n. 3, p. 217-220, 1995.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental/BRASILFOODS (1998). **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos-USP**. Versão 5.0. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tabela>. Acesso em: 07.05.2014.

VALIM, M. F.; ROUSEFF, R. L.; LIN, J. Gas Chromatographic-Olfactometric Characterization of aroma compounds in two types of cashew apple nectar. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 4, p. 1010-1015, 2003.

VALLILO, M.I.; MORENO, P.R.H.; OLIVEIRA, E.; LAMARDO, L.C.A; GARBELOTTI, M.L. Composição química dos frutos de *Campomanesia xanthocarpa* Berg – Myrtaceae. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, supl., p.231-237, 2008.

VANNUCCHI, H.; MOREIRA, E. A. M.; CUNHA, D. F.; JUNQUEIRA-FRANCO, M. V. M.; BERNARDES, M. M.; JORDÃO-JÚNIOR, A. A. Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante. **Medicina**, v. 31, p. 31-44, 1998.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, n. 4, p. 816–823, 2008.

van RUTH, S. M. Methods for gas chromatography-olfactometry: a review. **Biomolecular Engineering**, v. 17, n. 4-5, p. 121 – 128, 2001.

van RUTH, S.M.; O'CONNOR, C.H. Evaluation of three gas chromatography-olfactometry methods: comparison of odour intensity-concentration relationships of eight volatile compounds with sensory headspace data. **Food Chemistry**, v. 74, p. 341-347, 2001.

VENDRUSCOLO, G. S.; MENTZ, I. A. Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa. Porto Alegre. Rio Grande do Sul, Brasil, Iheringia. **Série Botânica**, v. 61, p. 83-103, 2006.

VENDRUSCOLO, G. S.; SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, I. A. Etnobotânica no Rio Grande do Sul: Análise comparativa entre o conhecimento original e atual sobre as plantas medicinais nativas. **Pesquisa Botânica**, v. 56, p. 285-322, 2005.

VERNIN, G.; VERNIN, C.; PIERIBATTESTI, J. C.; ROQUE, C. Analysis of the volatile compounds of *Psidium cattleianum* Sabine fruit from Reunion Island. **Journal Essential Oil Research**, v. 10, n. 4, p. 353-362, 1998.

VILLA-RODRÍGUEZ, J. A.; MOLINA-CORRAL, F. J.; AYALA-ZAVALA, J. F.; OLIVAS, G. I.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of “Hass” avocado. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1231–1237, 2011.

VOLZ, T. J.; CLAUSEN, T. P. Tannins in *Puccinellia arctica*: possible deterrents to herbivory by Canada geese. **Journal of Chemical Ecology**, v. 27, n. 4, p. 725-732, 2001

WANG, S. Y.; CHEN, C.; WANG, C. Y. The influence of light and maturity on fruit quality and flavonoid content of red raspberries. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 676–684, 2009.

WILLE, G. M. F. C.; MACEDO, R. E. F.; MASSON, M. L.; STERTZ, S. C.; NETO, R. C.; LIMA, J. M. Desenvolvimento de tecnologia para a fabricação de doce em massa com araçá-pera (*Psidium acutangulim* D. C.) para o pequeno produtor. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 6, p. 1360-1366, 2004.

WILLIAMS, R. J.; SPENCER, J. P.; RICE-EVANS, C. Flavonoids: Antioxidants or signalling molecules?. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 36, n. 7, p. 838-849, 2004.

YANG, X.T.; ZHANG, Z.-Q.; JOYCE, D.; HUANG, X.-M.; XU, L.-Y.; PANG, X.-Q. Characterization of chlorophyll degradation in banana and plantain during ripening at high temperature. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 383-390, 2009.

ZADERNOWSKI, R.; NACZK, M.; NESTEROWICZ, J. Phenolic acid profiles in some small berries. **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 2118-2124, 2005.

ZAINUDIN, M. A. M.; HAMID, A. A.; ANWAR, F.; OSMAN, A.; SAARI, N. Variation of bioactive compounds and antioxidant activity of carambola (*Averrhoa carambola* L.) fruit at different ripening stages. **Scientia Horticulturae**, v. 172, p. 325-331, 2014.

ZAPATA, J.; LÓPEZ, R.; FERREIRA, V. **Estrategias automáticas para el análisis de compuestos volátiles**: SPME e ITEX. Deutschland: Publicia, 2011.

ZELLNER, B. d’A.; DUGO, P.; DUGO, G.; MONDELLO, L. Gas chromatography – olfactometry in food flavour analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1186, n. 1-2, p. 123-143, 2008.

APÊNDICES

APÊNDICE A – RESUMOS PUBLICADOS EM ANAIS DE EVENTOS

Anexo A.1 – EGEEA, M. B.; PEREIRA-NETTO, A. B. Effect of aminoethoxyvinilglycine, an inhibitor of ethylene biosynthesis, on firmness and color pattern of fruits of *Butia eriosphata* and *Psidium cattleianum*. In: XIII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, 2011, Búzios. **Brazilian Journal of Plant Physiology** (Impresso). Londrina: Brazilian Society of Plant Physiology, 2011. v. 23.



CERTIFICADO

XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL
XIV REUNIÃO LATINO-AMERICANA DE FISILOGIA VEGETAL
MUDANÇAS CLIMÁTICAS GLOBAIS: DO GENE À PLANIA

MARIANA BURANELO EGEEA

apresentou o trabalho "EFFECT OF AMINOETHOXYVINILGLYCINE, AN INHIBITOR OF ETHYLENE BIOSYNTHESIS, ON FIRMNESS AND COLOR PATTERN OF FRUITS OF BUTIA ERIOSPHATHA AND PSIDIUM CATTLEIAM" (POSTER) no XIII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal e na XIV Reunião Latinoamericana de Fisiologia Vegetal, promovidos pela Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal - SBFV, em Búzios-RJ, de 19 a 22 de setembro de 2011.

Olga T. Tavares Machado
Dra. Olga Tavares Machado
Presidente dos Eventos.

Ricardo Bressan-Smith
Dr. Ricardo Enrique Bressan-Smith
Presidente da SBFV

REALIZAÇÃO:



Anexo A.2 - EGEA, M. B.; PEREIRA-NETTO, A. B. Prospection for natural sources of nutraceuticals in fruits of the Atlantic rain forest. In: 16th World Congress of Food Science and Technology, 2012, Foz do Iguaçu. **Anais do16th IUFOST World Congress of Food Science and Technology, 2012**

Certificate of Appreciation
16th IUFOST | World Congress of Food Science and Technology

We certify that the paper entitled
PROSPECTION FOR NATURAL SOURCES OF NUTRACEUTICALS IN FRUITS OF THE ATLANTIC RAIN FOREST
authored by
Egea, M. B.; Pereira-Netto, A. B.

was presented in the Poster Session at the 16th World Congress of Food Science and Technology :
“Addressing Global Food Security and Wellness through Food Science and Technology”, held at Foz do Iguaçu, Parana, Brazil, on August 5 - 9, 2012.





Associação de Fomento à Pesquisa em Alimentos

UNICAMP

UFPA



Glaucia Maria Pastore
Chair



Della B. Rodriguez-Amaya
Scientific Committee Chair

Doc 1.3aaa 97c6.8174 48a9.292d cba1.9d3e

Anexo A.3 - EGEA, M. B.; PEREIRA-NETTO, A. B. Teores de compostos fenólicos totais de frutas nativas da Mata Atlântica em diferentes estádios de maturação. In: IEPEAL - Encontro do Programa de Engenharia de Alimentos - UFPR, 2013, Curitiba. **IEPEAL - Encontro do Programa de Engenharia de Alimentos - UFPR, 2013.**



Certificada

Certificamos que o trabalho intitulado
**TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DE FRUTAS NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA
 EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

de autoria de

EGEA, M. B.; PEREIRA-NETTO, A. B.

foi apresentado em formato de pôster no

I Encontro do Programa de Engenharia de Alimentos / UFPR - EPEAL

realizado no dia 12 de abril de 2013, conforme programa no verso.

promovido pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos - PPGEAL
 da Universidade Federal do Paraná - UFPR.



Curitiba, PR, 12 de abril de 2013.


ROSEMARY HOFFMANN RIBANI
 Coordenadora do TC/PPGEAL

Anexo A.4 - EGEA, M. B.; PEREIRA-NETTO, A. B.; CACHO, J.; LOPEZ, R. Characterisation of aroma active compounds in native fruits of the Atlantic rain forest: red and yellow araçá fruits, butiá fruit, gabioba fruit and uvaia. In: 10th Wartburg Symposium on Flavor Chemistry & Biology, 2013, Eisenach. **10th Wartburg Symposium on Flavor Chemistry & Biology, 2013.**



10th Wartburg Symposium on Flavor Chemistry & Biology

April 16th – 19th, 2013, Eisenach, Germany

Prof. Dr. Thomas Hofmann – Prof. Dr. Dietmar Krautwurst – Prof. Dr. P. Schieberle

rinlopez@gmail.com

Dr. Ricardo Lopez
Lab for Flavor Analysis and Enology (I3A)
Faculty of Sciences
Universidad de Zaragoza
E-50.009 Zaragoza
SPAIN

Address for correspondence:
Institute of Food Chemistry
Technical University of Munich
Lise-Meitner-Str. 34
85354 Freising, Germany

E-mail: Wartburg@Lrz.tum.de
Homepage: www.Wartburg.congress-services.com
Phone: +49-8161-71-2932

10/05/2013

Certificate

This is to certify that Dr. Ricardo Lopez attended the 10th Wartburg Symposium on Flavor Chemistry and Biology from April 16th to April 19th, 2013.

In addition, he presented a poster entitled:

"Characterization of active compounds of the aroma of 5 fruits native to the Atlantic rain forest".

Yours sincerely

(Univ.-Prof. Dr. P. Schieberle)



**10th Wartburg Symposium
on Flavor Chemistry & Biology**

April 16th – 19th, 2013, Eisenach, Germany

Prof. Dr. Thomas Hofmann – Prof. Dr. Dietmar Krautkorn – Prof. Dr. Peter Schieberle

**Program
&
Abstracts**

Eisenach

April 16th – April 19th, 2013

Piero Ligori

¹CSIRO, PO Box 350, Glen Osmond, SA
5064, Australia, paul.bossolaco@csiro.au
²The University of Adelaide, School of
Agriculture, Food and Wine, PMB 1, Glen
Osmond, SA, 5084,
Australia,
paul.bossolaco@adelaide.edu.au

The Solanaceae family is diverse and
comprises both important food plants,
such as tomato, chillies, potato and
eggplant, as well as more notorious
plant species, such as mandrake,
deadly nightshade and tobacco [1].
The eight species of kangaroo apple,
which are unique to Australia, New
Zealand and Papua New Guinea, also
belong to the *Solanum* genus. [2]

The leaves and fruit, especially unripe
fruit, of kangaroo apples contain high
levels of solasodine and other
alkaloids of interest to the
pharmaceutical industry as steroid
precursors. As such, the taxonomy,
physiology and distribution of kangaroo
apples have been well studied. [1,2]
However, when fully ripe, the fruit of
several kangaroo apple species can be
eaten raw or cooked, and contributed
to the diets of Aborigines and Maoris
[1].

All kangaroo apples have succulent
fruit; four species produce yellow or
orange-red coloured berries and four
species produce green berries.
Interestingly, distinct aromas have
been reported for mature fruit of
different species, for example: 'sweet,
ripe strawberries' for *S. aviculare*;
'fruity' for *S. simile*; and 'stale
tomatoes' and 'sweet, tropical fruit' for
S. linearifolium. [1] Surprisingly, the
flavour profiles of kangaroo apples
have not been investigated.

In this study, mature fruits from seven
species of kangaroo apples were
sourced and the volatile profiles
determined using head-space solid-
phase microextraction gas
chromatography-mass spectrometry
(HS-SPME GC-MS). A comparison of
the key volatile compounds detected in
each species will be presented.

The isolated volatiles were identified
through Gas Chromatography-
Olfactometry (GC-O) and a two-
dimensional GC-O-GC-O-MS
systems. GC-O analysis allowed the
identification of 57 major different
compounds contributing to the aroma
of the fruits, including esters,
aldehydes, monoterpenes, ketones,
alcohols, furanones and phenols. The
aroma profiles were significantly
different among the five different fruits.
Butia fruits presented a higher amount
of volatiles with ester functional groups
compared with other fruits studied.
Although the presence of furanone has
been reported for many different fruits,
in this work the contribution of this
compound to the aroma was
significantly only in uvaia fruit. (Z)-3-
hexenal was the most important active
compound in the aroma of red and
yellow araçá. 3-methylbutyl acetate
and eucalyptol were the most
important compounds contributing to
the aroma of the gabroba fruit. The
characterization of the aroma profile
carried out in this study has allowed us
to unequivocally identify most of the
volatile compounds responsible for the
aroma of the five fruits and therefore is
the most comprehensive

characterization of the aroma profile of
tropical fruits from the Atlantic rain
forest.

(46)

Comparison of ion sources and
ionisation conditions for the CE-ESI-
HRMS analysis of flavour molecules in
blue cheese

Stephania Bull, Joanne Coffey, Gordon
Ross*, John Lee* and JAMES
MARSHALL

WALTHAM Centre for Pet Nutrition, MARS
FIELD, WALTHAM-on-the-Wolds,
Leicestershire, LE14 4RT, UK; * Agilent
Technologies UK
james_marshall@effwin.com

Many known flavour compounds are
low molecular weight molecules with a
range of polarities and volatilities.
There is no universal analysis method
which covers all chemical entities that
may be important for flavour
perception or which may be
chemometric markers for differences in
flavour of foods. Researchers
generally rely on combinations of gas
chromatography (GC) and liquid
chromatography (LC) based
techniques for the analysis of volatile
compounds (odorants) and non-volatile
(tastants) [1,2].

Capillary electrophoresis (CE) may
offer additional complementary
selectivity because of the way analytes
are separated. Many well known
tastants are ionic compounds, (organic
acids, amino acids, nucleosides etc.)
which can be separated on the basis of
mass to charge ratio, and CE is
theoretically an efficient way to
separate compounds with such
properties [3]. CE-MS may therefore
be less prone to ion suppression
(suppression of analyte ionization by
matrix interference) than LC-MS, due
to high separation efficiency and lower
sample injection volume [3].

Mixtures of standard compounds
including nucleotides and amino acids,
and samples of a locally produced blue
cheese, were analyzed by CE-MS.
Blue cheese was the matrix selected
for investigation as it is both a popular
foodstuff and a microbial culture which
was therefore likely to contain many
flavour compounds derived from
primary and secondary metabolites.
Ionisation of the standard compounds
and components of the blue cheese
samples was investigated using the
Agilent ESI (electrospray ionization)
and Agilent Jetstream (AJS) ESI ion
sources in both positive and negative
ion modes with a variety of sheath
liquid chemistries across the pH range.
The relationship between the ion
source, sheath liquid solution

APÊNDICE B – ARTIGO PUBLICADO EM PERIÓDICO



Contents lists available at ScienceDirect

Food Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodchem

Comparative analysis of aroma compounds and sensorial features of strawberry and lemon guavas (*Psidium cattleianum* Sabine)



Mariana Buranelo Egea^{a,b}, Aducto Bellarmino Pereira-Netto^{c,d}, Juan Cacho^e, Vicente Ferreira^e, Ricardo Lopez^{e,*}

^a Graduate Program in Food Engineering, Paraná Federal University, 81531-980 Curitiba, PR, Brazil

^b CAPES Foundation, Ministry of Education of Brazil, 70040-020 Brasília, DF, Brazil

^c Department of Botany-SCB, Paraná Federal University, 81531-970 Curitiba, PR, Brazil

^d Paraná Centre for Scientific and Educational Research on Medicinal Plants, Paraná Federal University, 81531-970 Curitiba, PR, Brazil

^e Laboratory for Flavor Analysis and Enology, Aragon Institute of Engineering Research, I3A, Department of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, Universidad de Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 February 2014

Received in revised form 6 May 2014

Accepted 11 May 2014

Available online 16 May 2014

Keywords:

Fruit aroma compounds

Descriptive sensorial analysis

Gas chromatography–olfactometry

Myrtaceae

Psidium cattleianum

ABSTRACT

The aroma of strawberry and lemon guava fruits (*Psidium cattleianum* Sabine) was studied by sensory analysis, gas chromatography–olfactometry (GC-O) and quantitative analysis. Volatiles released from the pulps were collected in a trapping system consisting of LiChrolut EN resins and eluted with dichloromethane/methanol. In total, 23 odour zones were detected by GC-O, of which 16 were found in the extract from the strawberry guava pulp and 17 in the extract from the lemon guava pulp. Among the compounds identified, only 10 were common to both strawberry and lemon guavas. The descriptive sensorial analysis differentiated between the aroma profiles of the strawberry guava pulp with the descriptor “tomato” and the lemon guava pulp with the descriptor “tropical fruit”. The typical aroma of the guava fruits was dominated by the presence of numerous aldehydes and ketones among which (Z)-3-hexenal was the most intense odorant, while 1,8-cineole and linalool were also revealed as important aroma constituents.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

One approach now being used to promote biodiversity conservation in threatened ecosystems, such as the Atlantic rainforest, is the identification of products that can be sustainably harvested. Fruits native to the Atlantic rainforest are known to possess unique sensorial features, although their chemical properties are mainly unknown (Myers, Mittermeier, Mittermeier, da Fonseca, & Kent, 2000). The enormous diversity of little-studied exotic fruits, especially tropical ones, represents a promising area for research into aromas with unusual sensory properties that can attract the interest of consumers. For this reason, a great deal of attention has been directed towards the characterisation of the volatile profile of a wide variety of exotic fruits over the past several decades (Lasekan & Abbas, 2012). This category of exotic fruits includes *Psidium cattleianum* Sabine. This fruit is small and round; when ripe, the skin is red or yellow, a feature used to characterise the strawberry guava and lemon guava varieties, respectively. The

edible part of the fruit is acid in flavor, mucilaginous and fragrant (Haminiuk, Sierakowski, Vidal, & Masson, 2006). The strawberry guava and lemon guava fruits are typically wild-harvested and mainly consumed as juice, jellies and confectionery. These fruits are a source of natural antioxidants and antimicrobial and antiproliferative agents. They are often used for the treatment of diseases like diarrhoea (De Souza, Haas, von Poser, Schapoval, & Elisabetsky, 2004; Medina et al., 2011).

Several studies have previously reported on the chemical composition of *P. cattleianum*. The first study on the volatile profile of red and yellow guava fruits was carried out in Japan (Shiota, Minami, & Tsuneya, 1980). After that, Vernin reported on the identification of numerous volatile compounds from guava fruits cultivated on Reunion Island (Vernin, Vernin, Pieribattesti, & Roque, 1998). More recently, a report on the chemical composition comparison between yellow and red guava fruits from Brazil has shown that β -caryophyllene is the main component in the essential oils of both fruits (Biegelmeyer et al., 2011). However, none of these studies applied a sensory-directed technique to evaluate the relative importance of the volatiles reported for the fruit aroma. To the best of our knowledge, the only data on sensorial

* Corresponding author. Tel.: +34 876553330; fax: +34 976761292.

E-mail address: riclopez@unizar.es (R. Lopez).

significance of volatile compounds in guavas was obtained by gas chromatography–olfactometry (GC–O) of strawberry guava harvested in Cuba (Pino, Marbot, & Vázquez, 2001). Although 204 compounds were identified in this later study, no clear ranking of their importance to the aroma was determined.

Despite the studies cited above, it is still unknown which compounds are responsible for the aroma of lemon and strawberry guavas. Here, we report on the use of a GC–O–GC–O–MS system, a sensory-directed technique, for the characterisation of the volatile profile of fruits from two varieties of *P. cattleianum* from Brazil. The same technique has also been applied to elucidate the relative importance of each volatile compound to the aroma of these fruits.

2. Material and methods

2.1. Reagents

Solvents: Dichloromethane (99.5% purity) and methanol (99.85% purity) were purchased from Vetec Química Fina Ltda (Rio de Janeiro, Brazil). Lichrolut® EN resins and polypropylene cartridges (0.8 cm internal diameter, 3 mL internal volume) were supplied by Merck (Darmstadt, Germany). Standards: (Z)-3-hexen-1-ol, linalool, 1,8-cineole, nerolidol, (Z)-3-hexenal, hexanal, 2,6-nonadienal, butyric and hexanoic acid, ethyl hexanoate, ethyl dihydrocinnamate, ethyl cinnamate, butyl acetate, methyl butanoate and 2-pentanone were purchased from Sigma–Aldrich (Steinheim, Germany). An alkane solution (C₈–C₂₈), 10 mg L⁻¹ in dichloromethane, was used to calculate the linear retention indices (LRI) for each analyte.

2.2. Plant materials

Four kilograms of fruits of the strawberry guava and lemon guava varieties of *P. cattleianum* Sabine (Myrtaceae) were harvested in February 2012 in Curitiba, Parana State (Brazil). The criterion used to characterise ripeness for the fruits used in this trial was skin colour; this is the criterion usually applied by the local population of the Atlantic rainforest to characterise ripeness. Strawberry guava and lemon guava fruits were considered ripe when skin colour was deep purple and deep yellow, respectively. These colours were related to the ratio of red to green colour (*a**) for the strawberry guava, ranging from 17.98 to 19.86 according to the CIE system (Commission Internationale de l'Eclairage). For the yellow guava, the deep yellow colour considered for the purpose of characterisation of ripe fruits was related to the ratio of yellow to blue colour (*b**, CIE system) ranging from 17.98 to 19.86.

The ripe fruits were washed with distilled water and afterwards pulps were mechanically removed for analysis. The pulps (100 g) were homogenised for 5 min with a blender (Britânia, Curitiba, Brazil) after the addition of 5 g ascorbic acid and 0.4 g sodium fluoride. The homogenates were then frozen and kept at –18 °C until the extraction of volatile compounds and the descriptive sensorial analysis were carried out.

2.3. Gas chromatography–olfactometry study

2.3.1. Preparation of the extract

The volatile compounds from 100 g of pulp were collected using a previously described trapping system (Ferreira, San Juan, Escudero, & Culleré, 2009). Briefly, the trapping system consisted of a standard polypropylene solid-phase extraction tube containing 400 mg of LiChrolut EN resin (Merck, Darmstadt, Germany). The cartridge was placed on top of a gas extraction vessel which contained the pulp. The gas extraction vessel was kept in a water bath at 37 °C and a nitrogen stream (500 mL min⁻¹) was flushed through the

vessel during 100 min. Volatile compounds released in the vessel headspace were trapped in the cartridge and later eluted with 3.2 mL of dichloromethane in 5% methanol (San-Juan, Pet'ka, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2010). The extract was then concentrated under a 100% nitrogen stream to a final volume of 200 µL.

2.3.2. Sensorial analysis of fruit pulp

The sensory panel consisted of eight females and three males ranging from 23 to 40 years-old, all belonging to the laboratory staff and with long experience in sensory analysis. The panellists attended seven specific 1-h training sessions. In the first session, the pulps were subjected to two triangle tests (AENOR, 1997), carried out to make sure that the sensory panel was able to detect differences. In the second session, the panellists created descriptive terms for the pulps. In the third and fourth sessions, different aroma standards were presented and discussed by the panellists. The resulting six aroma terms are shown in Table 1. These terms were used for further descriptive analysis. In the fifth, sixth and seventh sessions, the panellists scored the intensity of each attribute using a 4-point scale (0 = non-detectable; 1 = weak, hardly recognisable note; 2 = clear but not intense note; 3 = intense note). Throughout the sensorial analysis, guava pulps (30 g, at 20 °C) were presented in coded amber glass vials.

2.3.3. GC–O analysis

The concentrated extract (Section 2.3.1) was used for GC–O analysis. The analyses were carried out using a Trace GC gas chromatograph (ThermoQuest S.p.A., Milan, Italy), equipped with a flame ionisation detector (FID) and a sniffing port (Olfactory Detector

Outlet Kit (ODO-1); SGE, Ringwood, Australia) connected by a flow splitter to the column exit. The column used was a DB-WAX (30 m × 0.32 mm I.D., 0.5 µm film thickness; J&W Scientific, Folsom, CA) with a pre-column (3 m × 0.32 mm I.D.; Supelco Inc., Bellefonte, PA). The carrier gas was H₂ at a rate of 3.5 mL min⁻¹ and a pressure of 52 kPa. A 1-µL sample was injected in splitless mode at 1 min splitless time. Injector and detector were both kept at 250 °C. The oven temperature was held initially at 40 °C for 5 min and then increased to 100 °C at 4 °C min⁻¹. Afterwards, the temperature was increased to 220 °C at 3.5 °C min⁻¹ and finally kept for 10 min at 220 °C. To prevent condensation of high-boiling compounds at the sniffing port, the port was heated with a laboratory-made rheostat. A panel of five expert judges (three women and two men, with ages ranging from 26 to 45) from the laboratory staff with extensive experience in GC–O analysis was used in this study. Sniffing time was approximately 18 min and each judge took part in one session per day. Panellists were asked to score the intensity of each odour stimulus using a 4-point scale (0 = not detected, 1 = weak, 2 = clear but not intense note, 3 = intense note) (Ferreira, Petka, Aznar, & Cacho, 2003). Afterwards, the modified frequency (MF) was calculated (Dravnieks, 1985),

$$MF (\%) = [F \times I]^{1/2}$$

where *F* is the detection frequency of an aromatic attribute, expressed as a percentage of the total number of judges, and *I* is

Table 1
Aroma reference standards used in this trial and their composition.

Term	Composition	Definition
Green	20 mL of solution of 400 mg L ⁻¹ (Z)-3-hexen-1-ol	Green, grass
Citric	5 mL lemon juice + 15 mL of water	Citrus, acid
Tropical fruit	10 mL pineapple nectar + 10 mL tropical juice "Pascual Biofrutas"	Pineapple, mango
Tomato	5 g of tomato + 15 mL of water	Tomato
Sweet	10 mL of pineapple syrup + 10 mL of fruit syrup	Sweet fruit, apricot

the average intensity, expressed as a percentage of the maximum intensity. The odorants were identified by a comparison of their odours and chromatographic retention index (LRI) on the DB-WAX column.

2.3.4. Identification of unknown compounds

Fifteen microlitres of the concentrated extracts were injected in a two-dimensional GC–O–GC–O–MS system. The system consisted of two independent CP 3800 gas chromatographs (Varian Inc., Walnut Creek, CA) interconnected by a thermo-regulated transfer line kept at 200 °C, equipped with a Deans valve switching system (Valco Instruments, Houston, TX), two olfactory ports, and flame ionisation and mass spectrometry detectors. Chromatograph 1 was equipped with a DB-WAX column (30 m × 0.32 I.D., 0.5 µm film thickness; J&W Scientific). The oven temperature was held initially at 40 °C for 5 min and then increased to 100 °C at 4 °C min⁻¹. It was then increased to 220 °C at 8 °C min⁻¹ and finally kept for 15 min at 220 °C. Initially, the GC–O extract was monitored by olfactometry in the first chromatograph to select the fraction containing the target odorant. Later, selective heart-cuttings were used to isolate the unknown odorant. The odorants were then transferred to the second chromatograph equipped with a Factor-Four VF-5MS column (30 m × 0.32 mm I.D., 1 µm film thickness; Varian Inc.). In the oven of the second chromatograph, the isolated odorants were trapped using a CO₂ cryotrapping unit and monitored by olfactometry with simultaneous mass spectrometry

(MS) detection. Two minutes after the heart-cutting, the CO₂ flow was removed simultaneously with the activation of the temperature program of the second oven (8 °C min⁻¹ up to 200 °C, and then 50 °C min⁻¹ up to 300 °C). The MS parameters were: transfer line at 170 °C, ion trap at 150 °C and trap emission current at 10 µA. A mass range of *m/z* 35–250 was recorded at 1 scan per s. Flame ionisation detector (FID) and MS data were registered and processed using Workstation 6.30 software, equipped with NIST 2.0 MS library (NIST, Gaithersburg, MD). The identification of the odorants was carried out by a comparison of their odours, chromatographic linear retention indices, on both DB-WAX and VF-5MS columns, and MS spectra with those of pure chemical standards, when available.

2.4. Quantitative analysis

A GC-450 gas chromatograph combined with a Saturn 2200 impact ion-trap mass spectrometer (Varian Inc.) was used for quantitative analysis. A DB-WAXetr (60 m × 0.25 mm I.D., 0.25 µm film thickness; J&W Scientific) was preceded by a deactivated pre-column (3 m × 0.25 mm I.D.; Agilent Technologies, Santa Clara, CA). The carrier gas was He, at a rate of 1.5 ml min⁻¹. Two microlitres of the extract were injected in splitless mode at 2.6 min splitless time. The initial temperature of the injector was held at 40 °C for 0.3 min, and then increased to 250 °C at 200 °C min⁻¹. The temperature was finally kept for 153 min at 250 °C. The oven temperature was held initially at 40 °C for 3 min. It was then increased to 220 °C at 2 °C min⁻¹ and kept at 220 °C for 90 min.

Quantification was carried out using a specific response factor (RF) for each compound. Response factors were calculated based on a dichloromethane solution containing pure compounds that was added to both strawberry and lemon guava extracts at expected levels. Extracts spiked or not with the pure compounds were concentrated and analysed in the same way as described in Section 2.3.1. The response factors were obtained as:

$$RF = \frac{\text{Mass of added analyte}}{\text{Area analyte}_{\text{spiked}} - \text{Area analyte}_{\text{non-unspiked}}}$$

And mass of analytes in the extracts was calculated as:

$$\text{Mass of analyte} = RF \times \text{Area analyte}_{\text{non-unspiked}}$$

Then, the determined amounts were divided by the initial mass of pulp and expressed as µg kg⁻¹.

3. Results and discussion

The preliminary triangle tests confirmed the existence of significant differences ($p < 0.01$) between the aroma of strawberry guava and lemon guava pulps. After these tests, a sensory panel generated 5 descriptive terms to characterise the strawberry and lemon guava pulps through sensory descriptive analysis: citric, green, tropical fruit, sweet and tomato. The intensity of these descriptors for each pulp was measured by the panel with the help of aroma references. The average results for three sessions are shown in Fig. 1. Significant differences were found for the tropical fruit and tomato descriptors between the strawberry guava and lemon guava pulps. The tropical fruit descriptor scored significantly higher ($p < 0.05$) for the lemon guava pulp while the tomato descriptor was significantly higher for the strawberry guava pulp. A common profile was found for the citric, green and sweet descriptors with no significant differences between the pulps of the two varieties of guava fruit. These data confirmed the results of the preliminary triangle test in that, although both varieties

share a common odour profile, there are significant differences in their aromas.

After the sensory analysis, a GC–O analysis of the strawberry and lemon guava pulps was carried out. Table 2 shows the active aroma compounds found for both pulps. The table provides the chromatographic retention data, the odour description, the chemical identity of the odorant responsible for the odour, the olfactometric scores (expressed as *MF*(%)) and the identification method for each of the different aromatic compounds detected in the olfactometric experiments. Only those odorants that reached an *MF* higher than 15% in at least one of the samples are included in the table. After this adjustment, the total number of odour zones identified was 23, of which 16 were found for the strawberry guava and 17 for the lemon guava pulp. Among these odour zones, only 10 were common to both strawberry and lemon guavas. For

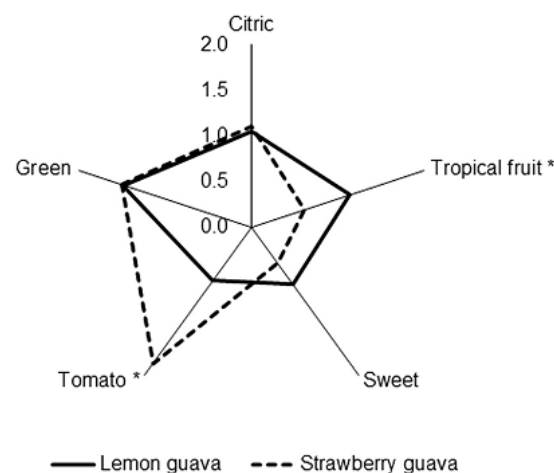


Fig. 1. Diagram showing the average sensory ratings for the fruit pulp of the strawberry guava and lemon guava (three repetitions). Descriptors followed by asterisk are significantly different at $p < 0.05$.

identification purposes, the extracts were analysed by GC–MS and GC–O–GC–O–MS. The combination of dual chromatography with mass spectrometry allowed most of the odour zones to be attributed to the corresponding chemical compound with several degrees of reliability, depending on the mass spectra, the linear retention indices (LRIs) on DB-WAX and VF-5MS columns, and comparisons with standards, when available. However, 4 odour zones remained unidentified. The results of the quantitative analysis of the aroma compounds released by the strawberry and lemon guava pulps are shown in Table 3.

According to the MF list in Table 2, the most powerful odorant in the guava fruits was (*Z*)-3-hexenal with 84% and 82% in the lemon guava and strawberry guava, respectively (Table 2). This aldehyde is formed by enzymatic oxidation of linoleic acid during cell breaking and it has a characteristic green leaf odour. (*Z*)-3-Hexenal has been demonstrated to be a predominant compound in the aroma of other fruits, such as pink guava (Steinhaus, Sinuco, Polster, Osorio, & Schieberle, 2009) and gooseberry (Hempfling, Fastowski, Kopp, Pour Nikfardjam, & Engel, 2013). It was found in Japanese lemon and strawberry guavas (Vernin et al., 1998), but surprisingly not in Reunion Island strawberry guava (Pino et al., 2001), although this could be due to degradation caused by the sample preparation method. (*Z*)-3-Hexenal is the most active odorant in tomato (Buttery, Teranishi, & Ling, 1987) and for this reason it could be expected that it would be the compound responsible for the

“tomato” descriptor in the present study. Although the GC–O data did not fit this hypothesis (the MF intensities were similar for both pulps, likely due to saturation of the response), the quantitative analysis (Table 3) did report a much larger quantity of (*Z*)-3-hexenal in the strawberry guava. Two compounds related with (*Z*)-3-hexenal were found in the GC–O experiment. Its isomerization product, (*E*)-2-hexenal, was found with 40% and 31% MF scores in the lemon guava and strawberry guava, respectively, while its

Table 3

Comparative profile of volatile compounds released by the fruit pulp of lemon guava and strawberry guava. Only those compounds with concentrations above $1 \mu\text{g kg}^{-1}$ and previously identified in Table 2 are reported.

LRI DB-WAX	Compound	$\mu\text{g kg}^{-1}$ pulp	
		Lemon guava	Strawberry guava
1006	2-Pentanone	<1	4.3
1019	Methyl butanoate	1.6	1.6
1091	Hexanal	28.2	63.9
1101	Butyl acetate	4.1	9.4
1147	(<i>Z</i>)-3-Hexenal	34.3	56.8
1217	1,8-Cineole	166.2	377.6
1252	(<i>E</i>)-2-Hexenal	101.2	151.0
1405	(<i>Z</i>)-3-Hexenol	41.1	74.9
1568	Linalool	3.8	160.9
1652	Butyric acid	3.2	<1
1854	Hexanoic acid	10.5	8.1
2039	Nerolidol	7.2	32.4

corresponding alcohol, (*Z*)-3-hexen-1-ol, was detected only in strawberry guava. Both compounds were also described by the sniffers with the same grass, herbaceous descriptors as (*Z*)-3-hexenal. Among the quantified aldehydes, (*E*)-2-hexenal was the most abundant, at more than $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ in both pulps (Table 3), although still below the 0.27 ppm reported previously in strawberry guava

(Pino et al., 2001). In addition, (*Z*)-3-hexenal and hexanal were also released in significant amounts, with larger quantities in the strawberry guava pulp. A predominant composition of C_6 aldehydes in fruit volatile profiles has been previously associated with immaturity (Beaulieu & Grimm, 2001; Chyau, Chen, & Wu, 1992). However, the fruits used in the present study were at a mature state at the moment of analysis, which suggests an important role of these compounds in the aroma of mature guava fruit.

Table 2

Gas chromatography retention data, olfactometry description, chemical identification and MF(%) for odorants identified in strawberry guava and lemon guava pulp.

LRI DB-WAX	LRI VF-5MS	Compound	MF (%)		Odour descriptor
			Lemon guava	Strawberry guava	
1006		2-Pentanone ^d		23	Fruity
1019	<900	Methyl butanoate ^a	37	26	Fruity
1082	<900	Methyl pentanoate ^a		23	Flowery, sweet
1091	<900	Hexanal ^a	31	26	Grass, green
1101	<900	Butyl acetate ^a		23	Flowery
1115		n.i.	37		Green, toasted
1147	<900	(<i>Z</i>)-3-Hexenal ^a	84	82	Grass, herbaceous
1217	1027	1,8-Cineole ^a	69	75	Minty, eucalyptus
1252	<900	(<i>E</i>)-2-Hexenal ^a	40	31	Green
1315	1004	1-Octen-3-one ^a	49	49	Mushroom
1388	1064	(<i>Z</i>)-1,5-Octadien-3-one ^c	59	61	Geranium
1405	<900	(<i>Z</i>)-3-Hexen-1-ol ^a		28	Grass
1568	1115	Linalool ^a	28	71	Flowery, lemon
1602	1167	(<i>E,Z</i>)-2,6-nonadienal ^c	49		Cucumber, melon
1640	1111	n.i.	71	57	Burnt
1652	796	Butyric acid ^a	23		Rancid
1739		3-Mercaptohexyl acetate ^d	23		Fresh, citrus
1780		n.i.	26		Citrus, fresh
1794	1222	Nerol ^b	28		Citrus fruity, green
1862	1020	Hexanoic acid ^a	45	23	Rancid, sweaty
2039	1629	(<i>E</i>)-Nerolidol ^a		40	Fruity, flowery
2082	1496	Methyl cinnamate ^a	16		Citrus fruit, guava
2152		n.i.		23	Spicy, burnt

LRI, linear retention index.

n.i., not identified.

^a Identification based on the similarity of observed chromatographic retention on DB-WAX and VF-5MS columns, odour, mass spectrometric data and confirmed by injection of the pure reference standard.

^b Identification based on the similarity of observed chromatographic retention on DB-WAX and VF-5MS columns, odour and confirmed by injection of the pure reference standard.

^c Observed chromatographic retention on DB-WAX and VF-5MS columns and odour description data were similar to those reported in the literature.

^d Identification based on the similarity of observed chromatographic retention on DB-WAX column, odour and confirmed by injection of the pure reference standard.

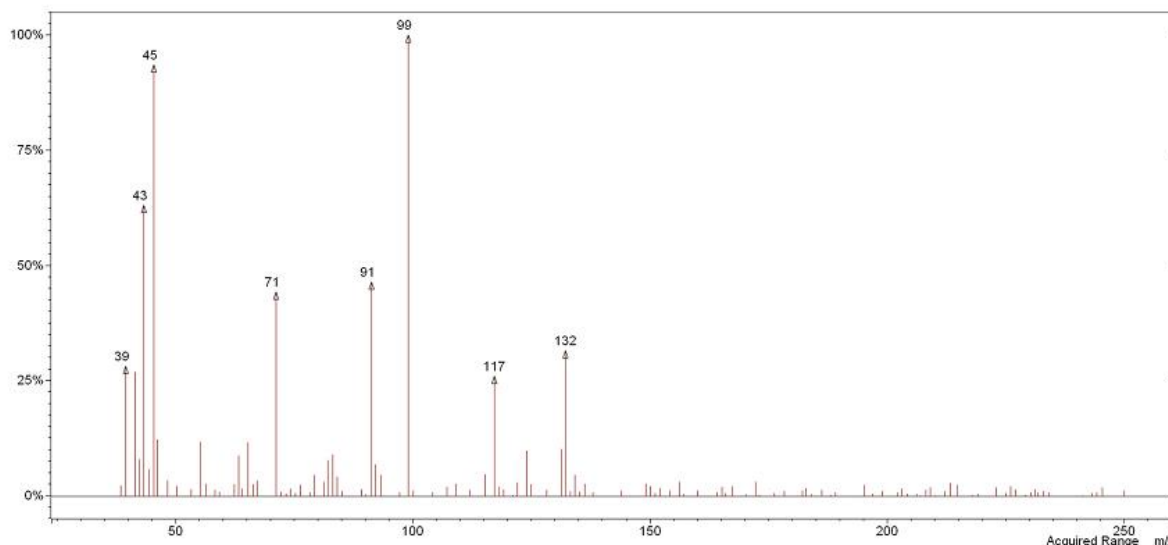


Fig. 2. Mass spectrum corresponding to odour zone found at LRI (DB-WAX) 1640 and isolated at LRI 1111 (VF-5MS) in the strawberry guava extract with the GC–O–GC–MS system.

Three oxygenated monoterpenes, linalool, 1,8-cineole, and nerol, and one sesquiterpene, (*E*)-nerolidol, were perceived by GC–O (Table 2). 1,8-Cineole was detected with a high intensity of 69% and 75% MF for the lemon and strawberry guava, respectively. It was the compound with the highest concentration of those listed in Table 3. This compound has been reported previously in strawberry guava in similar concentrations (Pino et al., 2001) and also in high concentrations in other Brazilian fruits such as *Psidium guajava* (Chyau et al., 1992). Due to its high content, 1,8-cineole could be a net contributor to the aroma of guava fruits. However, it did not dominate the sensory perception as its characteristic camphoraceous odour was not chosen in the sensory descriptive analysis. Linalool was also detected in the GC–O experiment, although in this case with clear differences between both guavas. While in the strawberry guava it was the second most abundant volatile, at $161 \mu\text{g kg}^{-1}$, its concentration in the lemon guava was only $3.8 \mu\text{g kg}^{-1}$. Linalool has also been described previously in lemon and strawberry guavas (Pino et al., 2001; Vermin et al., 1998). In the concentrations reported in Table 3, it may be responsible for the aroma difference between the two varieties of guava found in this work.

Five esters were found in the olfactometric experiment but none of them reached an MF above 40% (Table 2). It is worth mentioning 3-mercaptohexyl acetate, that was detected only in the lemon guava. Due to its characteristic passion fruit aroma, this compound could be responsible for the differences observed between the lemon guava and strawberry guava in the tropical fruit descriptor in Fig. 1.

Finally, 4 odour zones remained unidentified, as shown in

Table 2. Of these, one is worth mentioning because of its high MF. The odour zone corresponding to the LRI of 1640 in the DB-WAX column was described as “burnt”, with 71% and 57% MF for the lemon guava and the strawberry guava, respectively. The odour zone was reanalysed in the multidimensional chromatograph and it was possible to locate it by olfactometric detection in the VF-5MS column (LRI 1111). The mass spectrum of the peak at the same retention time is shown in Fig. 2. No significant matches were found in the MS library but the intensity of the *m/z* 99 fragment suggests the structure of a δ -lactone.

Of the 23 aroma compounds of strawberry and lemon guava detected in this work, 13 had not been reported previously in the

literature for *P. cattleianum* Sabine while 9 were identified for the first time by GC–O–GC–MS (methyl pentanoate, (*Z*)-3-hexenal, 1-octen-3-one, (*Z*)-1,5-octadien-3-one, (*E,Z*)-2,6-nonadienal, butyric acid, 3 mercaptohexyl acetate, nerol and methyl cinnamate).

4. Conclusion

The aroma profile of lemon guava and strawberry guava has been studied by descriptive sensorial analysis and GC–O–GC–MS for the first time. The work presented here has shown that strawberry guava and lemon guava are differentiated by the intensity of the tropical fruit and tomato descriptors. It can be said that the flavour of guava fruit is the result of the interaction of about 23 odorants, and that it is dominated by the presence of numerous aldehydes and ketones among which (*Z*)-3-hexenal is the most intense odorant. Oxygenated monoterpenes, including 1,8-cineole in both varieties of guava fruits and linalool in strawberry guava, have been found to be important aroma compounds. Apart from 3-mercaptohexyl acetate, which could play a role in the tropical fruit note of lemon guava, esters seem to be of little relevance for the aroma of these fruits. The characterisation of the aroma compounds of the guava fruits presented in this study is expected to contribute to a larger utilisation of these fruits by the food industry and also to the conservation of biodiversity in the Atlantic rainforest.

Acknowledgements

The authors thank the CAPES Foundation for a fellowship granted to the senior author. The Brazilian authors thank CNPq-Brazil, Fundação Araucária and the Paraná Centre for Scientific and Educational Research on Medicinal Plants, Paraná-Brazil, for financial support.

References

- AENOR (1997). *Análisis sensorial*. Madrid: AENOR.
- Beaulieu, J. C., & Grimm, C. C. (2001). Identification of volatile compounds in cantaloupe at various developmental stages using solid phase microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1345–1352.

- Biegelmeier, R., Mello Andrade, J. M., Aboy, A. L., Apel, M. A., Dresch, R. R., Marin, R., et al. (2011). Comparative analysis of the chemical composition and antioxidant activity of red (*Psidium cattleianum*) and yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) strawberry guava fruit. *Journal of Food Science*, 76, C991–C996.
- Buttery, R. G., Teranishi, R., & Ling, L. C. (1987). Fresh tomato aroma volatiles: A quantitative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35, 540–544.
- Chyau, C. C., Chen, S. Y., & Wu, C. M. (1992). Differences of volatile and nonvolatile constituents between mature and ripe guava (*Psidium guajava* Linn.) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 846–849.
- De Souza, G. C., Haas, A., von Poser, G. L., Schapoval, E., & Elisabetsky, E. (2004). Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 90, 135–143.
- Dravnieks, A. (1985). *Atlas of odor character profiles*. Philadelphia, PA: ASTM.
- Ferreira, V., Petka, J., Aznar, M., & Cacho, J. (2003). Quantitative gas chromatography–olfactometry. Analytical characteristics of a panel of judges using a simple quantitative scale as gas chromatography detector. *Journal of Chromatography A*, 1002, 169–178.
- Ferreira, V., San Juan, F., Escudero, A., & Culleré, L. (2009). Modeling quality of premium spanish red wines from gas chromatography–olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 7490–7498.
- Haminiuk, C. W. I., Sierakowski, M. R., Vidal, J. R. M. B., & Masson, M. L. (2006). Influence of temperature on the rheological behavior of whole araçá pulp (*Psidium cattleianum* sabine). *LWT – Food Science and Technology*, 39, 427–431.
- Hempfling, K., Fastowski, O., Kopp, M., Pour Nikfardjam, M., & Engel, K.-H. (2013). Analysis and sensory evaluation of gooseberry (*Ribes uva crisa* L.) volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 6240–6249.
- Lasekan, O., & Abbas, K. A. (2012). Distinctive exotic flavor and aroma compounds of some exotic tropical fruits and berries: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52, 726–735.
- Medina, A. L., Haas, L. I. R., Chaves, F. C., Salvador, M., Zambiasi, R. C., da Silva, W. P., et al. (2011). Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. *Food Chemistry*, 128, 916–922.
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., da Fonseca, G. A. B., & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853–858.
- Pino, J. A., Marbot, R., & Vázquez, C. (2001). Characterization of volatiles in strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5883–5887.
- San-Juan, F., Pet'ka, J., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2010). Producing headspace extracts for the gas chromatography–olfactometric evaluation of wine aroma. *Food Chemistry*, 123, 188–195.
- Shiota, H., Minami, T., & Tsuneya, T. (1980). Aroma constituents of guava-like fruits. *Koryo*, 128, 35–39.
- Steinhaus, M., Sinuco, D., Polster, J., Osorio, C., & Schieberle, P. (2009). Characterization of the key aroma compounds in pink guava (*Psidium guajava* L.) by means of aroma re-engineering experiments and omission tests. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 2882–2888.
- Vernin, G., Vernin, C., Pieribattesti, J. C., & Roque, C. (1998). Analysis of the volatile compounds of *Psidium cattleianum* Sabine fruit from Reunion Island. *Journal of Essential Oil Research*, 10, 353–362.