



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

CLEICE DALLA NORA

**CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE "IN VIVO" E EFEITO DO
PROCESSAMENTO NA ESTABILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE
ARAÇÁ VERMELHO E GUABIJU**

Porto Alegre
2012

CLEICE DALLA NORA

**CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE "IN VIVO" E EFEITO DO
PROCESSAMENTO NA ESTABILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE
ARAÇÁ VERMELHO E GUABIJU**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof^ª. Dra. Simone Hickmann Flores
Co-orientador: Prof^ª Dra. Erna Vogt de Jong

Porto Alegre
2012

CIP – Catalogação na Publicação

N822c Nora, Cleice Dalla
Caracterização, atividade antioxidante "in vivo" e efeito do processamento na estabilidade de compostos bioativos de araçá vermelho e guabiju. / Cleice Dalla Nora. – – Porto Alegre, 2012.

91f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

Orientador: Prof. Dra. Simone Hickmann Flores
Coorientador: Prof. Dra. Erna Vogt de Jong

Bibliografia

1.Processamento dos alimentos 2. Capacidade antioxidante 3.Antocianina. 4. Caratenóide 5. Araçá vermelho 6. Guabiju
I. Título. II. Flores, Simone Hickmann (orient.). III. Jong, Erna Vogt de (coorient.).

CDU 664:577.1

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS.

Cleice Dalla Nora

(Química de Alimentos – Universidade Federal de Pelotas)

**CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE "IN VIVO" E EFEITO DO
PROCESSAMENTO NA ESTABILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE
ARAÇÁ VERMELHO E GUABIJU**

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do grau de

MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA)

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, RS, Brasil.

Aprovada em:/...../.....

Homologada em:/...../.....

Pela Banca Examinadora:

Por:

Prof^ª. Dr^ª. Simone Hickmann Flôres
Orientadora – Dr^ª. em Engenharia de
Alimentos - PPGCTA/UFRGS

Prof. Dr. José Maria Wiest
Coordenador do Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia
de Alimentos (PPGCTA)

Prof^ª. Dr^ª. Erna Vogt de Jong
Co-orientadora – Dr^ª. em Ciência da
Nutrição - PPGCTA/UFRGS.

Banca: Prof^ª. Dr^ª. Gilberti Helena Hubscher Lopes -
Ciências Biológicas – PPG UFSM

Prof. Dr. Vitor Mafroi
Diretor do Instituto de Ciência e
Tecnologia de Alimentos.
ICTA/UFRGS

Banca: Prof^ª. Dr^ª. Lígia Damasceno Ferreira
Marczak – Dr^ª. Em Engenharia Mecânica –
Eng. Química - UFRGS.

Banca: Prof. Dr. Adriano Brandelli - Doutorado Em
Químicas - PPGCTA/ UFRGS.

Porto Alegre,

2012

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a minha mãe pelo seu
interesse em minha profissão, admiração e
confiança.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a cada um que passou em minha vida até hoje e nela contribuiu de alguma forma, pois estas pessoas fizeram-me querer ou não ter um pouco delas.

À querida orientadora Simone Hickmann Flôres, muito obrigada pelo apoio e pela oportunidade na realização deste trabalho. Foi muito importante você ter acreditado em mim.

À amabilíssima co-orientadora, Erna Vogt de Jong, que me aceitou de última hora e tomou-me como filha, obrigada pelo auxílio e pelos preciosos ensinamentos. Eles estarão guardados aqui, junto comigo, pra sempre!

Aos professores: Vitor Manfrói e André Jablonski, que me acolheram em seus laboratórios de maneira tão aberta e gentil, fazendo-me sentir em casa; Plinho Hertz que se demonstrou um grande amigo nessa jornada, com seu simples “oi”, mas sempre disposto a ajudar quando necessário, e, ao professor Alessandro de Oliveira Rios, presente nas inúmeras horas de dúvidas. Obrigada!

Aos laboratórios 210 pela compreensão e ajuda e, ao 213, em especial ao Roberval. Obrigada!

Às colegas e agora amigas Taís, Priscilla, Mariana e Sheila obrigada pelo prazer da companhia nas infinitas horas que passamos juntas, cumplicidade, risadas e pela ajuda além do emocional. Manteremos contato.

Aos demais colegas, obrigada pelos encontros e diálogos. Apesar das poucas oportunidades de reuniões, vocês proporcionaram ótimas memórias na minha vida.

Aos voluntários de alma: Daiane, que rapidamente passou de bolsista a amiga. Gostaria de agradecer o auxílio tão gratuito e amável; Cecília tua força, determinação, curiosidade e teimosia foram essenciais; Giceli tua disposição e meiguice me auxiliaram muito; Eduardo que sempre dava seu jeitinho de estar presente; Lucéia, Karla, Simone P. e Niara que foram mais que colegas, foram incentivadoras. A doação e o comprometimento de todos vocês foram essenciais à concretização deste trabalho.

À inesquecível Rosane Rodrigues, amiga dos porquês e por isso tão importante como mestre na minha graduação e hoje, inspiração. Obrigada!

À queridíssima colega Química de alimentos e amiga Denise Pacheco. Muito obrigada pelas tardes regadas a chimarrão onde discutíamos nossos relatórios, as reações possíveis e impossíveis.

À amiga Celita, pela admiração e extrema doação. Você é referência pra mim!

Em especial, agradeço a minha mãe e ao Tio Juca que forneceram os frutos, mas acima de tudo, agradeço pelo interesse e por ver de maneira tão clara e simples a beleza da pesquisa.

Ao meu irmão, que mesmo na sua simplicidade tem orgulho de mim. Obrigada!

E, por último, muito obrigada Hélder! Fostes além do esperado ao longo desses 24 meses. Suas palavras foram essenciais para que eu sofresse menos nos momentos de transtorno. Obrigada ainda por compartilhar comigo sua visão de vida a qual me fez entender muito mais de mim e do mundo.

RESUMO

O consumo de frutas está relacionado à baixa incidência de doenças crônico-degenerativas pela variedade de compostos que possuem a interação destes e seu potencial antioxidante. O processamento a partir dos alimentos *in natura* é necessário, tanto para preservação quanto para disponibilizar produtos sazonais durante todo o ano, no entanto se devem saber quais suas implicações. O araçá vermelho (*Psidium cattleianum* SABINE) e o guabiju (*Myrcianthes Pungens*) são pequenos frutos nativos do sul do Brasil. Sua composição físico-química, perfil de antocianinas, carotenóides e atividade antioxidante, através de dois métodos diferentes (DPPH e ABTS), foram investigados em frutos *in natura*, bem como o comportamento dos compostos bioativos e da atividade antioxidante em relação à secagem por ar quente a 70 °C, liofilização e congelamento. Foi também realizado um experimento com ratos Wistar para examinar o potencial antioxidante destes frutos contra a toxicidade do antitumoral cisplatina. O guabiju apresentou maior atividade antioxidante, teor de antocianinas e carotenóides do que o araçá vermelho, entretanto este fruto possui elevada quantidade de fibra. No guabiju *in natura* predominaram o β -caroteno e malvidina 3-glicosídeo, com 40,4 % e aproximadamente 60 % do total de carotenóides e antocianinas, respectivamente. No araçá vermelho *in natura* o carotenóide e a antocianina predominantes foram a β -criptoxantina, com 44,8 % e a cianidina 3-glicosídeo com 51,7 % do total. Frutos secos a 70 °C e os liofilizados tiveram maior atividade antioxidante pelo método DPPH, enquanto no ABTS o araçá vermelho seco a 70 °C e o guabiju congelado após 90 dias destacaram-se. No entanto, em relação aos compostos bioativos, nos dois frutos, a secagem por ar quente (70 °C) resultou nos menores teores de antocianinas e carotenóides. O congelamento por 30 e 90 dias aumentou as concentrações de carotenóides no araçá vermelho e guabiju, respectivamente. Para as antocianinas, os maiores teores foram encontrados no guabiju liofilizado e no araçá vermelho *in natura*. Em relação ao estudo com animais, os frutos nativos atuaram protegendo os animais contra os efeitos produzidos pela cisplatina, diminuindo os níveis de colesterol total (CT), LDL, LDL oxidado (LDL-ox) e os níveis de gordura no fígado.

Palavras-chave: Araçá vermelho, guabiju, carotenóides, antocianinas, atividade antioxidante, ratos *Wistar*.

ABSTRACT

The fruit consumption is related to the low incidence of chronic diseases by a variety of compounds that have the interaction of these and their antioxidant potential. The processing from fresh food is necessary, both for preservation and to provide seasonal products all year round, however you must know what its implications. The red guava (*Psidium cattleianum* SABINE) and guabiju (*Myrcianthes pungens*) are small native fruits southern Brazil. Its physical and chemical composition profile of anthocyanins, carotenoids and antioxidant activity, using two different methods (DPPH and ABTS), were investigated in fresh fruit, as well as the behavior of bioactive compounds and antioxidant activity in respect to air drying warm to 70 °C, freeze-drying and freezing. It was also carried out an experiment with rats to examine the antioxidant potential of fruit against the toxicity of antitumor cisplatin. The guabiju showed higher antioxidant activity, anthocyanins and carotenoids content than the red guava, but this fruit has high fiber content. In fresh guabiju β -carotene and malvidin 3-glucoside were predominant, with 40.4 % and approximately 60 % of total carotenoids and anthocyanins, respectively. In the fresh red guava predominant carotenoid and anthocyanin were β -cryptoxanthin, with 44.8 % and cyanidin 3-glucoside with hydrochloric 51.71 % of the total. Fruits dried at 70 °C and freeze-dried had higher antioxidant activity by DPPH method, while in the ABTS red guava dried at 70 °C and frozen after 90 days guabiju stood out. However, for bioactive compounds in the two fruits, hot air drying (70 °C) resulted in lower levels of anthocyanins and carotenoids. Freeze for 30 and 90 days increased the concentrations of carotenoids in red guava and guabiju, respectively. For anthocyanins, the highest levels were found in guabiju freeze dried and fresh red guava. Regarding the study of animals, fruits native acted protecting animals against the effects of cisplatin, reducing the levels of total cholesterol (TC), LDL and oxidized LDL (ox-LDL) levels of fat in the liver.

Keywords: Red guava, guabiju, carotenoids, anthocyanins, antioxidant activity, *Wistar* rats.

Lista de figuras

Figura 1.	Frutos de araçá vermelho.....	16
Figura 2.	Araçá vermelho cortado ao meio.....	16
Figura 3.	Frutos de guabiju.....	17
Figura 4.	Fórmula estrutural da cisplatina.....	20

Lista de Tabelas

Artigo 1

Tabela 1.	Composição Físico-química do araçá vermelho e do guabiju.....	31
Tabela 2.	Atividade Antioxidante pelos métodos ABTS (μM trolox / g de fruto seco) e DPPH (EC_{50} g de fruto seco / g DPPH) do araçá vermelho e do guabiju.....	33
Tabela 3.	Carotenóides encontrados para araçá vermelho e guabiju, tempos de retenção e concentração ($\mu\text{g}/100\text{g}$ de fruto em amostra seca).....	35
Tabela 4.	Antocianinas investigadas para o araçá vermelho e o guabiju, tempos de retenção e concentração ($\mu\text{g}/\text{g}$ de fruto em amostra seca).....	37

Artigo 2

Tabela 1.	Atividade Antioxidante (AA) pelos métodos ABTS (μM trolox / g de fruto seco) e DPPH (g de fruto seco / g DPPH) do araçá vermelho e do guabiju.....	49
Tabela 2.	Carotenóides por ordem de eluição encontrados para o araçá vermelho (<i>Psidium cattleianum</i> SABINE) e para o guabiju (<i>Myrcianthes Pungens</i>) com suas respectivas concentrações ($\mu\text{g}/100\text{g}$ de fruto seco).....	51
Tabela 3.	Antocianinas encontradas para o araçá vermelho (<i>Psidium cattleianum</i> SABINE) com suas respectivas concentrações ($\mu\text{g}/\text{g}$ de fruto em amostra seca).....	55
Tabela 4.	Antocianinas encontradas para o guabiju (<i>Myrcianthes Pungens</i>) com suas respectivas concentrações ($\mu\text{g}/\text{g}$ de fruto em amostra seca).....	55

Artigo 3

Tabela 1.	Physicochemical composition of freeze dried araçá vermelho and guabiju.....	70
Tabela 2.	Evaluation of the liver with respect to the amounts of fat (g/100g) and TBARS (nmol MDA/ g sample), for the animals that consumed the native fruits or otherwise.....	72
Tabela 3.	Profile of the enzymes aspartate amino transferase and alanine amino transferase, creatinine, urea and glucose in the blood of animals that consumed the native fruits or otherwise.....	73
Tabela 4.	Blood lipid profile for the animals that consumed native fruits or otherwise: Total cholesterol (TC), Triacylglycerols (TAG), and HDL, LDL and oxidized LDL cholesterols.....	74
Tabela 5.	Weights in the weight of the fasted rat.....	75

Tabela 6. Organs weight gain (WG), consumption and food efficiency coefficient (FEC) for the animals that consumed native fruits or otherwise.....	77
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 FRUTAS NATIVAS DO RIO GRANDE DO SUL	15
2.1.1 ARAÇÁ VERMELHO (PSIDIUM CATTLEYANUM SABINE)	15
2.1.2 GUABIJU (MYRCIANTHES PUNGENS)	16
2.2 COMPOSTOS ANTIOXIDANTES ENCONTRADOS EM FRUTAS	17
2.3 RADICAIS LIVRES	19
2.4 A CISPLATINA NA INDUÇÃO DE ESTRESSE OXIDATIVO	20
2.5 AÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES NO ORGANISMO	21
2.6 PROCESSAMENTO	22
3 OBJETIVOS	24
3.1 OBJETIVO GERAL	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4 ARTIGOS CIENTÍFICOS	25
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	65
6 REFERÊNCIAS	84

1 INTRODUÇÃO

As frutas e verduras adicionam compostos à dieta e, provavelmente, pela combinação destes e seu potencial antioxidante o consumo de frutas está relacionado com a baixa incidência de doenças crônico-degenerativas (CRAIG, 1970; RUXTON et al., 2006; VAN'T VEER et al., 2000).

A ingestão de compostos benéficos disponíveis em frutas que são capazes de atuar diminuindo o dano oxidativo direta ou indiretamente no organismo pode ser eficaz na manutenção do adequado funcionamento do organismo, permitindo menor risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, degenerativas e/ou neurológicas (LUE et al., 2010).

O equilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes no organismo é necessário e de fundamental importância uma vez que as espécies reativas oxidantes são formadas continuamente durante os processos metabólicos ou são formados a partir de fontes exógenas físicas e químicas. Tais espécies atuam como mediadores da transferência de elétrons em vários processos bioquímicos (HALLIWELL, 1995). Em concentração excedente ao normal, essas espécies são acumuladas e podem causar duas categorias de efeitos potencialmente importantes: a) danos celulares, ao atacar membranas, proteínas, polissacarídeos e ácidos nucleicos, com conseqüente prejuízo das funções vitais em diversos tecidos - adiposo, vascular, cerebral, muscular e hepático (MULLER, 2007), e b) ativação de caminhos de sinalização específicos, por exemplo, a geração mitocondrial de radical superóxido que normalmente seria produzido no citocromo III (FINKEL e HOLBROOK, 2000), e, dessa forma, ocasionar enfermidades (LUE et al., 2010).

Antioxidantes são substâncias que, quando presentes, mesmo em baixas concentrações comparadas ao substrato oxidável, retardam ou inibem significativamente a oxidação daquele substrato (HALLIWELL GUTTERIDGE, 2001), pois, entre outras funções, podem atuar como sequestrantes de radicais livres no organismo, reduzindo os riscos de doenças crônicas (LANGSETH, 2000). O estresse oxidativo, principalmente provocado pelo excesso de radicais livres, é uma das causas de determinadas patologias degenerativas (ROOSLER, 2007).

O aumento de interesse por compostos antioxidantes, provenientes de frutas e vegetais, tem estimulado a pesquisa sobre a variação que estes compostos podem sofrer durante o processamento e armazenamento (CONNOR et al., 2002; GARCIA-PEREZ et al., 2010), já que eles são sensíveis a muitos fatores como temperatura, luz e oxigênio, bem

como na minimização de estresses em relação a algumas drogas como, por exemplo, a cisplatina (STAHL E SIES, 2005).

O Brasil ocupa o terceiro lugar na produção mundial de frutas, com 40 milhões de toneladas anuais (IBRAF, 2011). No entanto, ainda existem inúmeras frutas nativas a serem exploradas economicamente. Dentre essas frutas pode-se destacar o araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) e o guabiju (*Myrcianthes pungens*).

O araçá vermelho é um fruto globoso, coroado por sépalas persistentes, de coloração vermelha, com muitas sementes pequenas circundadas por polpa macia e succulenta de cor esbranquiçada. Possui sabor doce-ácido muito agradável. O guabiju é um fruto globoso, de polpa succulenta e amarelada, sabor doce agradável e geralmente possui uma semente no centro, com coloração púrpura quando madura.

O Rio Grande do Sul possui um elevado número de frutíferas e, portanto, pode conter grande gama de compostos antioxidantes em suas frutas nativas, desse modo, a exploração destas e seus componentes tornam-se muito importantes para identificar quais são e de que forma agem estes na minimização do estresse oxidativo e dessa forma valorizar as espécies encontradas aqui (BRACK, 2007).

A fim de estimular a exploração de recursos brasileiros indicando a potencialidade de frutos nativos e sua utilização em prol dos benefícios à saúde, este estudo objetivou avaliar a possível proteção que a dieta suplementada com estes frutos desempenhou contra os danos induzidos pelo fármaco cisplatina, bem como caracterizar o guabiju e o araçá vermelho quanto à composição físico-química, a atividade antioxidante e o perfil de compostos bioativos, como carotenóides e antocianinas tanto nas frutas *in natura* quanto nas que sofreram processamento de secagem por ar quente (70 °C), liofilização e congelamento, para avaliar quais implicações os processos geraram sob esses parâmetros.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FRUTAS NATIVAS DO RIO GRANDE DO SUL

As frutíferas nativas do Rio Grande do Sul, na sua maioria, possuem grande potencial para exploração econômica, uma vez que propiciam alta produtividade com baixo custo de implantação e manutenção, pouca utilização de defensivos agrícolas, sendo assim uma alternativa dentro da agricultura familiar e uma ótima opção para o cultivo orgânico, contribuindo para a manutenção da biodiversidade (MARIN et al., 2004).

Dentre as culturas de clima subtropical ou temperado do Sul do Brasil, algumas frutas vêm recebendo destaque, como o araçá (*Psidium cattleyanum*), no entanto, várias outras espécies, como é o caso do guabiju (*Myrcianthes pungens*), ainda continuam praticamente inexploradas. Algumas características botânicas das duas espécies nativas do Rio Grande do Sul, ambas da família *Myrtaceae*, que foram utilizadas neste estudo, serão evidenciadas a seguir.

2.1.1 ARAÇÁ VERMELHO (*Psidium Cattleyanum Sabine*)

Os frutos de araçá vermelho são comumente chamados de *strawberry guava* ou *purple guava* e *gavayavier prume*, na Inglaterra e França, respectivamente (SANCHOTENE, 1989). No Brasil, recebe o nome de araçá, araçá do mato, araçá do campo (MATOS, 1989). Pertence à família *Myrtaceae*, tendo como característica da espécie produzir pequenos frutos (SANCHOTENE, 1989), é encontrado, em estado nativo, desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul (MATOS, 1989), onde está entre as espécies nativas mais abundantes (RASEIRA e RASEIRA, 1990).

O araçazeiro frutifica em curto prazo (RASEIRA e RASEIRA, 1990) e possui resistência regular a doenças e pragas, o que o torna uma excelente opção para o cultivo (MANICA, 2000). Além disso, os frutos possuem alto teor de vitamina C, podendo ter de quatro a sete vezes mais do que os frutos cítricos (WILLE, 2004).

O araçazeiro é um arbusto, com altura de 3 a 6 m, de tronco liso e casca descamante, cujos frutos são amarelos ou vermelhos (LORENZI, 1992), sugerindo que a espécie possa ser dividida em dois morfotipos (ROCHA et al., 2008). Os frutos são bagas globosas, coroadas pelas sépalas persistentes (Figura 1), com polpa suculenta de cor esbranquiçada e

com muitas sementes (Figura 2), de sabor doce-ácido muito agradável; a maturação ocorre de janeiro a março (LORENZI, 2006; MIELKE, 1990; MATTOS, 1989).



Figura 1 – Frutos de Araçá vermelho
Fonte: Próprio autor, 2010.



Figura 2 - Araçá vermelho (parte interna)
Fonte: Próprio autor, 2010.

2.1.2 GUABIJU (*Myrcianthes Punges*)

Conhecida também como guabiroba-açu, guabiju-açu, guabiju-guaçu, guabira-guaçu, guavira-guaçu, pertence à família das *Myrtacea*. Distribui-se em seu “habitat” natural nas florestas de altitude e das bacias dos rios Paraná e Uruguai, de São Paulo ao Rio Grande do Sul (NATIVAS: GUABIJU, 2012).

A árvore pode chegar a 20 m de altura, com tronco acinzentado, de casca lisa. Os frutos são bagas arredondadas contendo de uma a duas sementes grandes, envolvidas por polpa espessa, amarelada, succulenta de sabor doce agradável e de casca grossa (Figura 3). Quando amadurece, nos meses de janeiro a fevereiro, é de cor roxo-escuro (púrpura) (MARCHIORI e SOBRAL, 1997; NATIVAS: GUABIJU, 2012).



Figura 3 – Frutos de Guabiju
Fonte: Próprio autor, 2010.

2.2 COMPOSTOS ANTIOXIDANTES ENCONTRADOS EM FRUTAS

Compostos típicos que possuem atividade antioxidante encontrados em frutos incluem a classe de fenóis, ácidos fenólicos e seus derivados, flavonóides, tocoferóis, fosfolípidios, aminoácidos, ácido fítico, ácido ascórbico, pigmentos e esteróis (XING e WHITE, 1996).

Durante o amadurecimento dos frutos alguns desses compostos são formados através de uma série de complexas reações bioquímicas (SPEIRS e BRADY 1991). Dentre estes compostos estão as antocianinas, que pertencem ao grupo dos compostos fenólicos, e os carotenóides. Ambos são metabólitos secundários das plantas e, como tais, capazes de protegê-las do estresse oxidativo (HOLST e WILLIAMSON, 2008), atuando como antioxidantes naturais (STAHL e SIES, 2003; WANG et al., 1997) e, dessa forma, são capazes de promover benefícios à saúde.

Ações benéficas destes compostos envolvem sua atividade na desativação de espécies reativas de oxigênio incluindo os radicais superóxidos (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxil (OH^\cdot) e o oxigênio singlete (1O_2) que são gerados como subprodutos normais do metabolismo. A não desativação de tais moléculas pode gerar estresse oxidativo, que pode produzir lesões bioquímicas e fisiológicas ocasionando danos em lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos e, eventualmente, resultam na morte da célula (ANDERSON, 1996).

As antocianinas são os compostos mais estudados dentre os flavonóides. É um grupo de pigmentos hidrossolúveis, amplamente distribuídos no reino vegetal (CONNOR et al., 2002; WANG e LIN, 2000) podendo variar seu espectro de cor do vermelho ao azul, ou púrpura (WU e PRIOR, 2005).

Segundo Volp et al. (2008) as antocianinas podem prevenir injúrias causadas pelos radicais livres de várias formas e uma delas é carrear diretamente o radical livre. As antocianinas são oxidadas pelos radicais livres, resultando em um radical menos reativo e mais estável através do poder de reação do grupo hidroxil das antocianinas com o radical livre (NIJVELDT et al., 2001).

Estudos sobre a atividade biológica demonstraram que antocianinas, assim como as antocianidinas, são poderosos antioxidantes agindo em diferentes sistemas (KÄHKÖNEN e HEINONEN, 2003) justamente pela capacidade de captar radicais livres. Além disso, estão associadas à prevenção de enfermidades cardiovasculares e circulatórias (STOCLET et al.,

2004; NESS e POWLES, 1997), cancerígenas (KATSUBE et al., 2003), no diabetes e no mal de Alzheimer (ABDILLE et al., 2005; ISHIGE et al., 2001; HERTOOG et al., 1997) e atividade antiinflamatória. Devido a estas várias propriedades biológicas, antocianinas – como muitos outros flavonóides – podem contribuir para a prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (WANG et al., 1999; KATSUBE et al., 2003).

Os carotenóides destacam-se dentro da classe dos terpenóides juntamente com o d-limoneno (MARTINÉZ-NAVARRETE et al., 2008), e, de maneira geral, podem ser divididos em carotenos e xantofilas. É uma classe de pigmentos lipofílicos amplamente distribuída nas plantas e em bactérias fotossintéticas (ROMANCHICK et al., 1997). Na dieta humana, frutas e vegetais constituem as principais fontes de carotenóides (JOHNSON, 2002), responsáveis pela coloração que vai do amarelo ao vermelho nos tecidos vegetais (OLIVER e PALOU, 2000).

A capacidade de ligar-se a radicais livres de um carotenóide depende principalmente do número de suas duplas ligações, sendo pouco influenciado pelos grupos de carotenóides (cíclico ou acíclico) ou pela natureza dos substitutos nos carotenóides, o que torna o licopeno um dos carotenóides naturais mais eficientes em ligar-se ao oxigênio (YAMAGUCHI et al., 1999).

Estas ligações duplas características fazem desses compostos potenciais antioxidantes, uma vez que suas moléculas são capazes de receber elétrons de espécies reativas, neutralizando os radicais (SHAMI e MOREIRA, 2004). O mecanismo pelo qual os carotenóides protegem os sistemas biológicos dos radicais depende da transferência de energia do oxigênio excitado para a molécula do carotenóide, onde a energia é dissipada por meio de rotações e vibrações do carotenóide no solvente (STAHL e SIES, 1999).

Essa desativação pode ocorrer por dois mecanismos: o primeiro consiste na associação direta com outra molécula formando compostos de degradação; e o segundo, através da desativação de espécies reativas, como o oxigênio singlete, pela transferência de energia sem prejuízos para a molécula de carotenóide que permanece com atividade antioxidante (RIOS et al., 2009).

Os carotenóides também demonstraram várias funções biológicas, sendo esses compostos responsáveis pela redução do risco de doenças degenerativas, prevenção catarata, redução da degeneração macular causada pelo envelhecimento e redução da incidência de doenças coronárias (KRINSKY, 1994).

2.3 RADICAIS LIVRES

Nas últimas décadas, foram realizadas inúmeras pesquisas para esclarecer o papel dos radicais livres em processos fisiopatológicos como: envelhecimento, câncer, aterosclerose, inflamação, Alzheimer, entre outros (SHAMI e MOREIRA, 2004).

Os radicais livres são átomos ou moléculas produzidas continuamente durante os processos metabólicos, atuam como mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas e desempenham funções relevantes no metabolismo. Produzidos durante o metabolismo celular e atividades funcionais, os radicais livres têm papel importante na sinalização celular, apoptose, expressão gênica e do transporte de íons (LUE et al., 2010).. No sistema biológico são altamente ativos para reagir com outras moléculas, devido seus elétrons desemparelhados. As principais fontes de radicais livres são as organelas citoplasmáticas que metabolizam o oxigênio, o nitrogênio e o cloro, gerando grande quantidade de metabólitos (SHAMI e MOREIRA, 2004).

O oxigênio participa de reações de óxido-redução e é o aceptor final de H^+ no metabolismo normal de mamíferos. As oxidações biológicas geram espécies reativas de oxigênio e radicais livres que podem provocar lesões celulares, muitas vezes irreparáveis (GOUVÊA, 2004).

O excesso de ataque dos ROS em ácidos nucleicos, cadeias laterais de aminoácidos e em ligações duplas de ácidos graxos insaturados causa estresse oxidativo que pode danificar DNA, RNA, organelas celulares como mitocôndria e membranas, proteínas e lipídios, provocando alterações da estrutura e função celulares e resultando em maior risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, degenerativas, neurológicas (GOUVÊA, 2004; LUE et al., 2010).

O estresse oxidativo, portanto, é caracterizado por uma intensa sobrecarga de radicais livres (FLORA, 2007), gerando o desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes (SIES, 1993) resultando no desequilíbrio entre a formação e a eliminação de ROS (VITVITSKY, 2006). Portanto, o estresse oxidativo ocorre pela insuficiência dos sistemas biológicos em neutralizar a formação excessiva de radicais livres resultando na indução de danos celulares e doenças (FLORA, 2007).

As lesões causadas nas células podem ser prevenidas ou reduzidas por meio da atividade de antioxidantes. Os antioxidantes podem agir diretamente na neutralização da

ação dos radicais livres ou participar indiretamente de sistemas enzimáticos com essa função (GOUVÊA, 2004).

Nos frutos, esta atividade antioxidante pode ser atribuída a vários compostos, cujos mecanismos incluem a prevenção da peroxidação lipídica, a capacidade sequestrante de radicais livres (LOPACZYNSKI e ZEISEL, 2001) e a capacidade de quelar íons metálicos (BARREIROS et al., 2006).

2.4 A CISPLATINA NA INDUÇÃO DE ESTRESSE OXIDATIVO

A cisplatina [*cis*-diaminodicloroplatina II, cDDP] possui estrutura química (Figura 4) formada por um complexo de metal pesado, que contém um átomo central de platina, cercado por dois átomos de cloro e duas moléculas de amônia na posição *cis* (CALABRESI e CHABNER, 1996).

O fármaco possui efeito antineoplásico e torna-se um composto altamente reativo, capaz de alquilar as bases púricas e pirimídicas do DNA, através de reação intracelular, na qual as moléculas de cloro na posição *cis* são substituídas por água ou grupos hidroxil (HALABE et al., 1991).

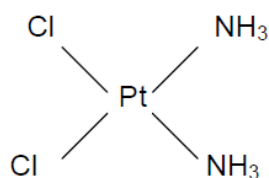


Figura 4 – Fórmula estrutural da cisplatina
Fonte: Sendão, 2004.

Entretanto, a cisplatina possui efeitos colaterais como nefrotoxicidade, ototoxicidade e neurotoxicidade, supressão da medula óssea, efeitos gastrintestinais e mutagenicidade (WEIJL et al., 1997), além da geração de radicais livres através da interação com o DNA e pela peroxidação lipídica (MASUDA, et al, 1994).

A cisplatina ataca preferencialmente o DNA, onde ocorre lesão de forma que este se torna inviável para a divisão, ocorrendo morte celular com conseqüente regressão do tumor. Portanto, a cisplatina é um fármaco citotóxico que age de maneira não dependente do ciclo celular, afetando as células em qualquer fase do ciclo, sendo classificado como de fase não específica (SIMON, 1990).

A utilização da quimioterapia com a cisplatina leva à queda dos níveis de antioxidantes plasmáticos dos pacientes, sugerindo falha no mecanismo de defesa antioxidante contra o estresse oxidativo. Essa diminuição dos níveis pode estar relacionada ao baixo consumo de antioxidantes na dieta pelos pacientes diminuindo a proteção no organismo e assim resultando no desequilíbrio oxidativo e geração do estresse oxidativo (WEIJL et al., 2004).

Vários compostos antioxidantes da dieta têm sido testados para minimizar os efeitos citotóxicos da cisplatina (SHIMEDA et al., 2005). Os antioxidantes da dieta poderiam atuar como quimioprotetores, prevenindo contra os efeitos colaterais das espécies reativas de oxigênio (ROS) – que podem causar danos a proteínas (GRACY et al., 1999), lipídeos (FRAGA et al., 1987) e ácidos nucleicos (RICHTER et al., 1988) – e o desenvolvimento de cânceres secundários, relacionados com as mutações induzidas pelo estresse oxidativo no DNA (ELSEENDOORN et al., 2001).

2.5 AÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES NO ORGANISMO

As espécies ativas de oxigênio (EAO), quando formadas, ao reagirem com biomoléculas causam diferentes tipos de danos biológicos que podem levar à morte celular. Os organismos aeróbios desenvolveram diferentes tipos de defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas, prevenindo a formação de EAO, bem como mecanismos para reparar os danos causados. A defesa do organismo vai desde a prevenção da formação das EAO, a interceptação dos radicais formados e a reparação das células danificadas (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2001).

Na prevenção da formação das EAO, os sistemas que previnem a formação de EAO são considerados biomoléculas ligantes de metais (Fe e Cu) chamados quelantes. A presença de proteínas quelantes é de vital importância aos seres vivos, porque protegem as células dos processos oxidativos catalisados por íons metálicos. As enzimas que controlam os níveis de EAO são a superóxido dismutase, que pode sequestrar o O_2 , a glutatona, e a catalase, que podem decompor o H_2O_2 , resultando na formação de água (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2001).

Já na interceptação dos radicais formados ocorre desativação das EAO, os quais são destruídos de forma a impedir a oxidação posterior de outras moléculas. As substâncias antioxidantes, como tocoferóis e carotenóides, que se combinam com um radical livre são

chamadas sequestrantes de radicais livres, levando à formação de um não radical ou de um radical menos ativo (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2001).

Quanto à reparação das células danificadas, enzimas, como a fosfolipase, removem o ácido graxo peroxidado da membrana lipídica, que é substituído por ácido graxo normal (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2001).

2.6 PROCESSAMENTO

As frutas são muito perecíveis justamente pelo grande teor de umidade que possuem. Muitas, ainda não comercializadas, estão disponíveis somente em pequenos períodos e para que possam ser disponibilizadas o ano todo necessitam ser processadas.

O processamento pode afetar de maneira mínima ou máxima a qualidade do produto. Várias são as mudanças que um alimento pode sofrer durante o processamento, armazenamento e distribuição, desde alterações no aspecto físico e estrutural até reações bioquímicas que envolvem a degradação de substâncias nutritivas (KAREL, et al., 1993; ROOS e KAREL, 1991).

Secagem é o termo utilizado quando se refere à retirada de umidade de uma substância, é um processo comum e muito útil na conservação dos alimentos. No entanto, a secagem é dependente de muitas variáveis.

A secagem por ar, em particular, é um processo antigo onde, para evaporar a umidade, o sólido a ser seco é exposto a um fluxo contínuo de ar quente. Os produtos obtidos por esse processo podem ter a vida de prateleira estendida por um ano, porém a qualidade inicial pode ser parcial ou drasticamente reduzida (RATTI, 2001).

A secagem por liofilização à vácuo é um dos melhores métodos de remoção da água em comparação aos demais métodos de secagem (GENIN e RENÉ, 1995), pois essa secagem ocorre através da sublimação de um produto congelado e, devido a ausência de água líquida e as baixas temperaturas necessárias para o processo, a maioria das reações de deterioração e microbiológicas diminuem sua velocidade. Além disso, o estado sólido da água durante a liofilização protege a estrutura primária e a forma dos produtos com redução mínima de volume. No entanto, apesar do produto ter excelente qualidade, esse processo possui grande desvantagem em relação aos demais, pelo alto custo na fabricação de desidratados (RATTI, 2001).

Outro processo usual de preservação é o congelamento, no qual também é utilizado temperaturas mais baixas que indisponibilizam a água reduzindo a taxa de crescimento

microbiano e transformações químicas. O congelamento, assim como os demais processos, aumenta a vida de prateleira (TREGUNNO E GOFF, 1996), porém também traz desvantagens, como ruptura na estrutura das células (KERR, 2004) que pode formar exudados líquidos após o tratamento e perda de nutrientes.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi caracterizar quimicamente e avaliar o efeito antioxidante "in vivo" de frutas nativas do Rio Grande do Sul, tais como guabiju (*Myrcianthes pungens*) e araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar a composição físico-química das frutas "in natura" e liofilizadas.
2. Avaliar a capacidade antioxidante de cada uma das frutas.
3. Identificar e quantificar o perfil de compostos fitoquímicos tais como carotenóides e antocianinas.
4. Verificar qual das espécies nativas tem maior eficácia na minimização do estresse oxidativo "in vivo".
5. Verificar o comportamento das duas espécies nativas em relação ao processamento tais como de secagem em secador de tambor, liofilização e congelamento, quanto à atividade antioxidante e o perfil de compostos fitoquímicos.

4 ARTIGOS CIENTÍFICOS

4.1 Caracterização e perfil de compostos bioativos de araçá vermelho (*Psidium cattleianum* SABINE) e guabiju (*Myrcianthes Pungens*). O artigo será formatado, traduzido e enviado para revista *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

4.2 Efeito do processamento na estabilidade de compostos bioativos de araçá vermelho (*Psidium cattleianum* SABINE) e guabiju (*Myrcianthes Pungens*). O artigo será formatado, traduzido e enviado para revista *Journal of Food Composition and Analysis*.

4.3 Antioxidant action of guabiju (*Myrcianthes Pungens*) and red guava (*Psidium Cattleianum* SABINE) against cisplatin-induced toxicity in rats. O artigo será formatado e enviado para revista *Food and chemical toxicology*.

4.1 Caracterização e perfil de compostos bioativos de araçá vermelho (*Psidium cattleianum* SABINE) e guabiju (*Myrcianthes Pungens* (O. Berg) D. Legrand)

Cleice Dalla Nora^{*1,2}, Alessandro de Oliveira Rios^{*1}, Plinho Francisco Hertz^{*1}, André Jablonski^{*3}, Erna Vogt de Jong^{*1}, Simone Hickmann Flôres^{*1}

^{*1} *Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Bento Gonçalves Avenue, n. 9500, CP 15090, CEP 91501-970, Porto Alegre (RS, Brasil).*

^{*2} *Corresponding author: cleicenator@gmail.com*

^{*3} *Departamento de Engenharia de Minas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Bento Gonçalves, n. 9500, CEP 91501-970, Porto Alegre (RS, Brasil).*

Resumo

O araçá vermelho (*Psidium cattleianum* SABINE) e o guabiju (*Myrcianthes Pungens*) são pequenos frutos nativos do sul do Brasil. A composição físico-química de ambos foi investigada, tendo, o araçá vermelho, destaque quanto ao teor de fibra alimentar. O perfil de antocianinas e carotenóides desses frutos foi avaliado pela primeira vez, destacando-se o guabiju com os maiores teores. Nesse fruto o β -caroteno e malvidina 3-glicosídeo obtiveram 40,4 % e aproximadamente 60 % do total de carotenóides e antocianinas, respectivamente. No araçá vermelho o carotenóide e a antocianina predominantes foram a β -criptoxantina com 44,8 % e a cianidina 3-glicosídeo com 51,7 % do total. O guabiju ainda teve atividade antioxidante mais elevada. Assim como os demais frutos, o guabiju e o araçá vermelho adicionam à dieta compostos que podem agir em sinergismo e diminuir o risco de doenças crônicas degenerativas, como antocianinas, carotenóides, vitaminas, minerais, entre outros. Estes frutos nativos surgem como alternativa aos tradicionalmente consumidos, justamente, pela grande quantidade de compostos bioativos aliados a procura do mercado por novas fontes desses compostos.

Palavras-chave: Araçá vermelho, guabiju, carotenóides, antocianinas, atividade antioxidante.

1 Introdução

Frutos e verduras possuem compostos saudáveis, que adicionam à dieta além do sabor, minerais, vitaminas, substâncias bioativas e fibras. Estudos comprovam que o consumo de frutos está relacionado com a baixa incidência de doenças crônicas degenerativas (Van't Veer et al., 2000).

Nos frutos, os pigmentos naturais como antocianinas e carotenóides, são responsáveis pela cor e possuem propriedades terapêuticas, biológicas e preventivas, sendo que a ingestão de tais compostos está relacionada à redução de várias doenças crônico-degenerativas, justamente pelas suas características antioxidantes (Seeram e Nair, 2002; Stahl e Sies, 2005). O Brasil possui uma grande variedade de frutos. No entanto, ainda existem inúmeros frutos nativos pouco explorados economicamente e dentre esses se pode destacar o araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) e o guabiju (*Myrcianthes pungens*). O araçá vermelho é um fruto coroadado por sépalas persistentes, de coloração vermelha, com muitas sementes pequenas circundadas por polpa macia, envolvidas por uma polpa suculenta de cor esbranquiçada, além disso, possui sabor doce-ácido muito agradável. O guabiju é um fruto de polpa suculenta e amarelada, sabor doce agradável e geralmente possui uma semente no centro. Quando maduro, apresenta coloração púrpura.

A fim de estimular a exploração de recursos brasileiros indicando a potencialidade de frutos nativos e sua utilização em prol dos benefícios à saúde, este estudo objetivou caracterizar o guabiju e o araçá vermelho quanto à composição físico-química, a atividade antioxidante e o perfil de compostos bioativos, como carotenóides e antocianinas.

2 Material e Métodos

2.1 Amostras e preparo

As amostras de guabiju utilizadas foram provenientes da região de Viamão (30° 04' 52" sul, 51° 01' 24" oeste, 111 m altitude) e foram colhidas no mês de fevereiro de 2011. As amostras de araçá vermelho foram colhidas na cidade de Estrela Velha (29° 10' 36" sul, 53° 09' 33" oeste, 394 m altitude), em março do mesmo ano ambas as cidades localizadas no estado do Rio Grande do Sul (Brasil). Os frutos foram incorporados no Herbário ICN (UFRGS), sob o número de coletor de C. Dalla Nora 172539 e 172540 para o guabiju e para o araçá vermelho respectivamente. Foram selecionados os frutos maduros e sem danos na casca, que foram armazenados sob refrigeração (5 °C) até o início das análises. Para tanto os frutos foram homogeneizados em microprocessador (Arno Performa Magiclean Duetto). O araçá-vermelho foi triturado integralmente, enquanto para o guabiju foi retirada a semente, para posterior homogeneização (casca e a polpa).

2.2 Métodos

2.2.1 Caracterização Físico-Química

Para determinação da composição centesimal foram realizadas as análises de teor de umidade (estufa a 105 °C), resíduo mineral fixo (mufla a 550 °C), extrato-etéreo (Soxhlet) e proteína bruta (Kjeldahl, usando o fator de conversão 5,75), segundo métodos da AOAC (1997). A fibra alimentar foi determinada pelo método enzimático-gravimétrico, através de kit da Sigma-Aldrich (Total Dietary Fiber Assay Kit (TDF-100A) e Total Dietary Fiber Assay Control Kit (TDF-C10).

Os glicídios redutores e totais foram determinados pelo método de Lane-Eynon (1934) e os açúcares não redutores foram obtidos pela diferença dos totais pelos redutores multiplicado pelo fator de conversão 0,95.

A acidez titulável total (ATT) foi determinada por titulação, o pH das amostras em potenciômetro (Quimis, Modelo 400A), o teor de sólidos solúveis totais (SST) por refratometria (Atago Modelo Digital Atago ® pal-3) de acordo com AOAC (1997).

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos, como média e desvio padrão, em relação a 100g de amostra seca.

2.2.2 Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada pela metodologia baseada em seqüestrar o radical DPPH, segundo Brand-Williams et al. (1995) e pelo método ABTS (Kuskoski et al., 2005), adaptado pela Embrapa Agroindústria Tropical. O extrato foi obtido através da extração com metanol (50 %) e acetona (70 %), usando três diferentes diluições.

Para o método DPPH, uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato reagiu com 3,9 mL de radical DPPH. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Amersham, Modelo Uv Vis Ultrospec-3100 Pro Amersham Bioscience) a 515 nm após 34 minutos e os resultados foram expressos em g de fruto seco / g DPPH.

Para o método ABTS, uma alíquota de 30 µL de cada diluição do extrato reagiu com 3,0 mL de radical ABTS e a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Amersham, Modelo Uv Vis Ultrospec-3100 Pro Amersham Bioscience) em 734 nm após 6 minutos. Os resultados foram expressos como a µM trolox / g de fruto seco. Todos os resultados foram expressos em relação a 100 g de amostra seca.

2.3 Perfil de Carotenóides

O extrato de carotenóides foi preparado de acordo com Mercadante e Rodriguez-Amaya (1998). As etapas principais foram extração dos pigmentos com acetona e saponificação com metanol 10 % KOH durante uma noite à temperatura ambiente. Após a

remoção do álcali, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Fisatom, Modelo 801) ($T < 25\text{ }^{\circ}\text{C}$), seco em um fluxo de nitrogênio e armazenados no freezer ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) para posterior quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência. Para a análise, o extrato concentrado foi diluído em éter terc-metil-butílico (MTBE- J. T. Baker., Cas. number 1634-04-4, pureza 99,96 %), colocado em ultrassom (Unique, modelo USC 1400) por 15 minutos e filtrado em filtro (Millex LCR 0,45 μm , 13 mm) para posterior injeção no cromatógrafo.

2.2.3 Perfil de Antocianinas

O extrato de antocianinas foi preparado de acordo com Zanatta et al. (2005) com algumas modificações onde a extração dos pigmentos foi obtida com 1 % ácido clorídrico concentrado em metanol em temperatura ambiente. Após o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Fisatom, Modelo 801) ($T < 38\text{ }^{\circ}\text{C}$), seco em um fluxo de nitrogênio e armazenado no freezer ($-10\text{ }^{\circ}\text{C}$) para posterior quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para a análise, o extrato concentrado foi diluído em metanol (J.T.Baker., Cas. number 67-56-1, pureza 99,99 %), colocado em ultrassom (Unique, modelo USC 1400) por 15 minutos e filtrado em filtro (Millex LCR 0,45 μm , 13 mm) para posterior injeção no cromatógrafo.

2.2.4 Condições Cromatográficas

As análises de CLAE foram realizadas em cromatógrafo Agilent 1100 Series equipado com sistema quaternário de bombeamento de solventes (Waters série 2695) e detector UV/Vis (Waters série 2487 Dual I).

Para análise de carotenóides foi utilizada uma coluna de fase polimérica revertida C30 YMC (modelo CT99SO3– 2546WT) 250 μm x 4,6 μm (tamanho das partículas de 3 μm), eluição gradiente com fase móvel de água / metanol / terc-metil-butílic-éter (MTBE) a partir de 5:90:5, atingindo 0:95:5 em 12 minutos, 0:89:11 em 25 minutos, 0:75:25 em 40 minutos e, finalmente, 00:50:50 depois de 60 minutos, com vazão de 1 mL/min a 33 $^{\circ}\text{C}$ (Zanatta e Mercadante, 2007). Para a análise de antocianinas foi utilizada uma coluna C18 Shim-pack CLC-ODS, 250 μm x 4,6 μm (tamanho das partículas de 3 μm) usando como fase móvel o gradiente linear de acetonitrila / 4 % ácido fosfórico a partir de 15:85, atingindo 20:80 em 12 minutos, com uma vazão de 1 mL/min a 29 $^{\circ}\text{C}$, segundo Zanatta et al. (2005).

Os espectros foram conduzidos entre 250 e 600 nm e os cromatogramas processados em comprimento de onda fixo de 450 nm para carotenóides e 520 nm para antocianinas. A

identificação foi realizada comparando os tempos de retenção dos picos obtidos para o padrão e para as amostras, analisados sob as mesmas condições.

A quantificação foi realizada através da construção de curvas padrões para os carotenóides e para as antocianinas, nas seguintes faixas de concentrações para os carotenóides: β -caroteno (Sigma-Aldrich, Cas number 7235-40-7) de 5 a 50 mL; luteína (Indofine Chemical Company, Cas number 127-40-2) de 1 a 65 mL; criptoxantina (Sigma-Aldrich, Cas number 472-70-8) de 4 a 100 mL; zeaxantina (Fluka Analytical, Cas number 7488-99-5) de 1 a 40 mL; α -caroteno (Fluka Analytical, Cas number 144-68-3) de 2 a 25 mL. E, para as antocianinas: cianidina 3-5-di-glicosídeo ou cianina clorídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 2611-67-8) de 17 a 84 mL; delphinidina 3- β -D-glicosídeo (Santa Cruz Biotechnology, Cas number 6906-38-3) de 7 a 120 mL; pelargonidina 3-5-di-glicosídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 17334-58-6) de 39 a 98 mL; cianidina 3-glicosídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 7084-24-4) de 38 a 380 mL; malvidina 3-5-di-glicosídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 16727-30-3) de 19 a 310 mL; pelargonidina 3-glicosídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 18466-51-8) de 5 a 49 mL; malvidina 3-glicosídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 7228-78-6) de 15 a 107 mL; delphinidina clorídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 528-53-0) de 5 a 28 mL; cianidina clorídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 528-58-5) de 4 a 21 mL; pelargonidina clorídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 134-04-3) de 6 a 73 mL; malvidina clorídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 643-84-5) de 3 a 37 mL; peonidina clorídeo (Santa Cruz Biotechnology, Cas number 13401-0) de 3 a 40 mL.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) são, respectivamente, para: β -caroteno $6,53 \times 10^{-2}$ e $10,89 \times 10^{-2}$; luteína $6,9 \times 10^{-3}$ e $1,15 \times 10^{-2}$; zeaxantina $9,56 \times 10^{-2}$ e $1,59 \times 10^{-2}$; α -caroteno $1,97 \times 10^{-2}$ e $3,28 \times 10^{-2}$; cianidina 3-5-di-glicosídeo ou cianina clorídeo $7,55 \times 10^{-7}$ e $1,26 \times 10^{-6}$; delphinidina 3- β -D-glicosídeo $4,23 \times 10^{-7}$ e $7,19 \times 10^{-7}$; pelargonidina 3-5-di-glicosídeo $4,92 \times 10^{-8}$ e $8,20 \times 10^{-8}$; cianidina 3-glicosídeo $9,37 \times 10^{-8}$ e $1,56 \times 10^{-7}$; malvidina 3-5-di-glicosídeo $4,13 \times 10^{-7}$ e $6,89 \times 10^{-7}$; pelargonidina 3-glicosídeo $9,47 \times 10^{-8}$ e $1,48 \times 10^{-7}$; malvidina 3-glicosídeo $6,53 \times 10^{-7}$ e $1,09 \times 10^{-6}$; delphinidina clorídeo $1,72 \times 10^{-7}$ e $2,86 \times 10^{-7}$; cianidina clorídeo $1,51 \times 10^{-7}$ e $2,52 \times 10^{-7}$; pelargonidina clorídeo $1,23 \times 10^{-7}$ e $2,85 \times 10^{-7}$; malvidina clorídeo $5,52 \times 10^{-8}$ e $9,20 \times 10^{-8}$; peonidina clorídeo $9,35 \times 10^{-8}$ e $1,56 \times 10^{-7}$.

2.3 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA e para diferença entre as médias foi aplicado o teste de Tukey a 5 % de significância, pelo Software Statistica 10.

3 Resultados e discussão

3.1 Composição Físico-Química

Os resultados das análises físico-químicas do araçá vermelho e do guabiju encontram-se na Tabela 1. As diferenças na umidade entre os frutos analisadas podem ser explicadas pelas diferentes espécies. Em estudo com araçá vermelho, Santos et al. (2007), obtiveram valores inferiores de umidade (79,6 %) ao encontrados neste estudo. Essa diferença, no entanto, pode ser devido a fatores como origem, localização de plantio, condições ambientais, entre outros que contribuem para a variação de composição do fruto (Scott e Eldridge, 2005).

Tabela 1 – Composição Físico-química do araçá vermelho e do guabiju

	Araçá vermelho	Guabiju
Umidade	81,56±0,02	80,79±0,13
Resíduo mineral fixo*	5,01±0,02	3,07±0,01
Proteína*	3,77±0,03	2,90±0,02
Extrato etéreo*	0,34±0,01	0,28±0,01
Açúcares totais*	26,79±0,20	64,57±0,63
Glicídeos não redutores*	4,05±0,14	28,51±0,46
Glicídeos redutores*	22,53±0,06	34,55±0,05
Fibra alimentar*	55,31±0,27	32,38±0,16
Sólidos Solúveis (°Brix)	6,03±0,05	15,00±0,10
Acidez titulável (% ácido cítrico)	1,19±0,01	0,12±0,01
pH	3,35±0,02	4,60±0,01
Relação °Brix/Acidez	5,07	125,00

*Valores em g/100g de amostra seca.

Todas as análises foram feitas em triplicata e os resultados estão expressos em amostra seca.

O valor encontrado para o resíduo mineral fixo do araçá vermelho, neste estudo, foi quase três vezes maior do que o valor encontrado por Santos et al. (2007) (1,8 g/100 g de amostra seca). Quanto ao guabiju, este possui valores de resíduo mineral fixo superior a frutos nativos do cerrado, como a guabiroba e o caju-do-cerrado (Silva et al., 2008). Em estudo comparativo com espécies nativas, foi encontrado para o araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) potássio, cálcio, fósforo, magnésio, enxofre, sódio, manganês, ferro, zinco, boro e cobre em ordem decrescente (Kinupp, 2008), indicando que tanto araçá vermelho quanto o guabiju podem contribuir como fonte de minerais para a dieta, pois o corpo os excreta diariamente e essa reposição diária é feita por meio da alimentação.

Em relação à proteína, o valor encontrado para o araçá vermelho foi semelhante (Tabela 1) ao encontrado por Kinupp (2008) em seu estudo (3,7 g/100g em amostra seca), enquanto para Santos et al. (2007) o valor encontrado foi inferior para o araçá vermelho (3,0

g/100g em amostra seca). A quantidade de proteína encontrada para o guabiju foi semelhante à quantidade encontrada na guabiroba (2,9 g/100g em amostra seca) em estudo realizado por Silva et al. (2008) com frutos do cerrado.

Geralmente, frutos e hortaliças apresentam baixos teores de lipídeos, o que condiz com o presente estudo.

O guabiju caracterizou-se como um fruto doce, pois, obteve altos teores de açúcares, sólidos solúveis e de pH e menores de acidez. A quantidade de sólidos solúveis no guabiju pode variar de 15 a 19 °Brix segundo Marin (2008), justificando sua popularidade como um fruto doce. O teor de sólidos solúveis do araçá vermelho, no entanto, é baixo, em concordância com a acidez e o pH, caracterizando-o como um fruto mais ácido. Santos et al. (2007) encontraram em seu estudo valor similar para o pH de araçás vermelhos (3,3) sendo que o pH ácido favorece a estabilidade do ácido ascórbico (Henshall,1981). No entanto, foram observados valores mais elevados para sólidos solúveis (SS) (10,1) e menores de acidez total (AT) (0,3) (Santos et al. 2007). Corroborando com os resultados de Santos et al. (2007), o açúcar total do araçá vermelho continha maior quantidade de açúcares redutores. Estes mesmos autores observaram que o teor de açúcares encontrado para o araçá vermelho foi superior ao do presente estudo, chegando a 38,2 g/100 g em amostra seca de açúcar total e 35,2 g/100 g em amostra seca de açúcar redutor. Ao contrário do araçá vermelho, o guabiju possui quase a metade de seus açúcares totais formados por açúcares não redutores (Tabela 1).

A relação SS/AT é uma das melhores formas de avaliação do sabor, sendo mais representativa do que a quantificação isolada de açúcares e de acidez, evidenciando o equilíbrio entre esses dois componentes. As análises realizadas mostraram alta relação SS/AT para o guabiju, fato que favorece a aceitação por parte do consumidor já que caracteriza o fruto por um sabor agradável.

O araçá vermelho possui teores maiores do que 55 % de fibra, valor semelhante ao encontrado por Silva et al. (2008) em outra variedade de araçá e mais do que o dobro do encontrado por Santos et al. (2007) (22,2 g/100 g em amostra seca) em estudo com araçá vermelho. Os resultados de fibra alimentar para araçá vermelho também foram superiores aos encontrados por Santos et al. (2007) para o araticum (49,5 g/100 g em amostra seca). O guabiju teve aproximadamente 33 % de fibra alimentar apresentando valor superior a frutos como o caju-do-cerrado (31,7 g/100 g em amostra seca) e guabiroba (12,1 g/100 g em amostra seca) (Silva et al. 2008).

3.2 Atividade Antioxidante

Os resultados para a atividade antioxidante do araçá vermelho e do guabiju encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 – Atividade Antioxidante pelos métodos ABTS ($\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco) e DPPH (EC_{50} g de fruto seco / g DPPH) do araçá vermelho e do guabiju

	Atividade Antioxidante	
	$\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco	EC_{50} g de fruto seco / g DPPH
Araçá vermelho <i>in natura</i>	150,2 \pm 14,1 ^b	16713,2 \pm 304,7 ^b
Guabiju <i>in natura</i>	205,3 \pm 0,5 ^a	6921,4 \pm 3,8 ^a

Valores em g/100g de amostra seca.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as amostras ($P < 0,05$).

Os valores encontrados para a atividade antioxidante demonstraram diferença significativa para os frutos, pelos dois métodos investigados tendo os maiores valores de atividade antioxidante o guabiju.

Compostos fenólicos, majoritariamente antocianinas e flavonóides, encontram-se presentes na casca de frutos e são responsáveis pelas cores azul, púrpura e vermelha (Mazza, 2000). Fetter et al. (2010) apontaram alta correlação entre a atividade antioxidante o teor de compostos fenólicos em estudo com várias espécies de araçás. Isto representa uma característica muito importante, pois sustenta que quanto maior o teor de compostos fenólicos no fruto, maior a atividade antioxidante, podendo indicar melhor proteção para o organismo quando estes frutos forem ingeridos.

Do mesmo modo que os compostos fenólicos, a vitamina C apresenta propriedades antioxidantes (Bianchi e Antunes, 1999). O araçá vermelho possui altos valores de vitamina C (Wille, 2004), no entanto estudos demonstraram que a vitamina C, na presença de metais de transição, pode atuar como uma molécula pró-oxidante e gerar H^2O^2 e radicais OH^\cdot (Odin, 1997).

Os flavonóides, através do mecanismo de complexação, podem reagir com metais e impedir que estes participem e/ou acelerem a degradação de vitamina C, funcionando como protetores, além disso, podem interromper a cadeia de oxidação do ácido ascórbico, ao agir como receptores dos radicais livres formados (Henshall, 1981). Porém, o efeito ascorbato poupador dos compostos fenólicos ocorre quando polifenóis têm maior potencial redox em relação ao ácido ascórbico (Miller e Rice-Evans, 1997). Esses fatos podem ter contribuído para a maior atividade antioxidante do guabiju em relação ao araçá vermelho.

A quantidade de compostos fenólicos em frutos depende da espécie, da variedade, do meio ambiente, do estado fisiológico e das condições climáticas (Scalbert e Williamson, 2000), bem como da seletividade das polifenoloxidasas quanto às antocianinas, devido as suas estruturas (Zhang et al., 2005). Esses fatores podem ter contribuído ainda para diferenças na atividade antioxidante entre os dois frutos.

Leong e Shui (2002) em um estudo comparativo entre ameixa, morango, carambola, goiaba, uva, maçã, manga, kiwi, melão, mamão, abacate, coco, melancia, banana, laranja, sapoti e rambutan perceberam que a capacidade antioxidante variou de acordo com a espécie, sendo encontrado menor valor para sapoti (0,06 %), e maior para rambutan (70,2 %).

Gardener et al. (2000) ao compararem sucos de laranja, maçã, abacaxi e uva, constataram que a vitamina C foi responsável por grande parte da capacidade antioxidante no suco de laranja; nos sucos da maçã e abacaxi, a maior contribuição foi decorrente da quantidade de fenóis. Todos esses estudos comprovam que a atividade antioxidante depende da matriz, dos compostos presentes e da interação destes.

Muitos compostos lipofílicos e hidrofílicos são encontrados em *berries*, cujas propriedades biológicas têm sido atribuídas aos altos níveis e ampla diversidade de compostos fenólicos. No entanto, um só composto ou componente pode não ser o único responsável pelas propriedades biológicas benéficas e sim, um efeito complementar, aditivo e/ou sinérgico resultante dos diversos componentes. Além dos compostos fenólicos, podem-se destacar os pigmentos naturais, antocianinas e os carotenóides, presentes nestes frutos. O efeito protetor destes compostos está relacionado ao seu poder antioxidante, pois os compostos fenólicos, incluindo as antocianinas, possuem a capacidade de doar hidrogênios ou elétrons aos radicais livres (Rice-Evans et al., 1996) e os carotenóides são considerados excelentes desativadores de oxigênio singlete (Di Mascio et al., 1989).

3.3 Perfil de Carotenóides

Na Tabela 3, encontram-se os carotenóides identificados e quantificados para araçá vermelho e guabiju, com seus respectivos tempos de retenção e concentração ($\mu\text{g}/100\text{ g}$ de fruto).

Tabela 3 - Carotenóides encontrados para araçá vermelho e guabiju, tempos de retenção e concentração ($\mu\text{g}/100\text{g}$ de fruto em amostra seca)

Pico	Carotenóides	Tempo de retenção (min)	Concentração ($\mu\text{g}/100\text{g}$ de fruto em amostra seca)	
			Araçá vermelho	Guabiju
1	All- <i>trans</i> -luteína	17,77 – 18,07	557,8 \pm 104,2 ^b	1022,2 \pm 5,7 ^a
2	Zeaxantina	20,82 – 21,17	137,5 \pm 6,6 ^a	126,7 \pm 14,2 ^a
3	β -Criptoxantina	31,55 – 31,88	1029,9 \pm 46,4 ^b	1634,4 \pm 63,9 ^a
4	α -caroteno	38,26 – 38,44	60,8 \pm 1,7 ^b	192,9 \pm 9,6 ^a
5	β -caroteno	42,70 – 42,88	512,6 \pm 16,7 ^b	2012,8 \pm 98,4 ^a
Total			2298,6	4989,0

*Valores em g/100g de amostra seca.

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$).

Todas as análises foram feitas em duplicata e os resultados estão expressos em amostra seca.

No araçá-vermelho a maior concentração foi do carotenóide β -criptoxantina, representando 44,8 % dos carotenóides encontrados no fruto. De Rosso e Mercadante (2007) também relataram esse carotenóide como majoritário em tamarillo e dovalis.

No guabiju, o β -caroteno destacou-se com 40,4 % do total dos carotenóides, semelhante ao encontrado por Ferreira (2010) para a amora-preta, onde esse carotenóide foi majoritário com 39,6 % do total e na acerola com 71,6 % do total, conforme De Rosso e Mercadante (2005).

Para o guabiju, o somatório de carotenóides foi mais do que duas vezes superior ao encontrado no araçá-vermelho, justificado pela maior contribuição individual dos pigmentos, fato que pode ter contribuído para a atividade antioxidante total deste ser maior, somada a capacidade antioxidante do β -caroteno de sequestrar radicais livres com grande eficiência (Bianchi e Antunes, 1999).

A quantidade de carotenóides para os frutos aqui estudados é superior a frutos tropicais não tradicionais como umbu (341,3 $\mu\text{g}/100$ g de amostra seca), bacuri (1140,7 $\mu\text{g}/100$ g de amostra seca), murici (1269,0 $\mu\text{g}/100$ g de amostra seca) e uvaia (1285,6 $\mu\text{g}/100$ g de amostra seca). O guabiju, ainda foi superior a mangaba (4347,8 $\mu\text{g}/100$ g de amostra seca) (Rufino et al., 2010).

Marinova e Ribarova (2007), em estudo com *berries*, a quantidade encontrada dos cinco carotenóides aqui investigados em amostra preta fresca foi de 440 $\mu\text{g}/100$ g para amora-preta e 370 $\mu\text{g}/100$ g para framboesa. Em mirtilo havia 290 $\mu\text{g}/100$ g, sendo que o α -caroteno ficou abaixo do limite de detecção. Para groselha preta, vermelha e morangos os carotenóides somados chegaram a 280 $\mu\text{g}/100$ g, 45 $\mu\text{g}/100$ g e 26 $\mu\text{g}/100$ g respectivamente. O α -caroteno e β -criptoxantina, para os três frutos, ficaram abaixo do

limite de detecção e, a zeaxantina, no caso do morango, não foi encontrada. Esse estudo demonstra que o guabiju e o araçá vermelho são boas fontes de carotenóides quantitativamente e qualitativamente quando comparado a outros *berries*, pois mesmo *in natura* as quantidades encontradas foram superiores tanto para o guabiju (958,4 µg/100 g) como para o araçá vermelho (423,8 µg/100 g), exceto quando comparado com a amora.

Alguns carotenóides, tais como o β-caroteno, α-caroteno e β-criptoxantina são capazes de ser convertidos em vitamina A, desempenhando, desta forma importante papel nutricional, já que em muitas populações os vegetais e frutos ricos em carotenóides são a principal fonte dessa vitamina (Olson, 1989). Estudos comprovam que esses compostos são responsáveis pela diminuição do risco de doenças degenerativas, prevenção da catarata, redução da degeneração macular causada pelo envelhecimento e redução de doenças coronárias (Krinsky, 1994).

Usando a conversão de Bauernfeind (1972) foram encontrados valores de vitamina A, (expressa em retinol equivalente (RE)), para o araçá vermelho e para o guabiju de 181,8 e 512,0 RE, respectivamente. Em sucos de laranja/cenoura na proporção 80/20, armazenados a -40 °C por 150 dias, Cortés et al. (2005) encontraram valores variando de 44,8 a 468,3 RE.

Os diferentes perfis encontrados para os frutos devem-se a diferenças nas matrizes analisadas, de acordo com Scott e Eldridge (2005) e o acúmulo de carotenóides é dependente, além da espécie vegetal, de fatores ambientais externos, como características climáticas, que envolvem incidência de luz, temperatura e solo (Zanatta e Mercadante, 2007).

3.4 Perfil de Antocianinas

Para o araçá vermelho, foram encontradas apenas três antocianinas (Tabela 4), totalizando 685,8 µg/g de fruto em amostra seca, sendo elas: cianidina clorídeo, malvidina 3-glicosídeo e cianidina 3-glicosídeo. Esta última destacou-se no fruto com 51,7 % do total. Zanatta et al. (2005) em um estudo com camu-camu, também encontraram essa antocianina como predominante, com 89,5 % do total na fruto, dentre as cinco antocianinas encontradas. Em estudo com cultivares de groselha Wu et al. (2004), encontraram para essa mesma antocianina quantidade que variaram de aproximadamente 48 a 66 % nos cultivares, enquanto para bagas de sabugueiro os teores desta antocianina chegaram a aproximadamente 54 %, estando em ambos os frutos de forma majoritária.

Tabela 4 – Antocianinas investigadas para o araçá vermelho e o guabiju, tempos de retenção e concentração ($\mu\text{g/g}$ de fruto em amostra seca)

Pico	Antocianinas	Tempo de retenção (min)	Concentração ($\mu\text{g/g}$ de fruto em amostra seca)	
			Araçá vermelho	Guabiju
1	Cianidina-3,5-di-O-glicosídeo	nd	nd	nd
2	Delfinidina-3- β -D-glicosídeo	4101-4110	nd	4249,3 \pm 70,1
3	Pelargonidina 3-5-diglicosídeo	nd	nd	nd
4	Cianidina 3-O-glicosídeo	5050-5089	354,7 \pm 45,1 ^b	134,6 \pm 1,1 ^a
5	Malvidina 3-5-diglicosídeo	nd	nd	nd
6	Pelargonidina 3-O-glicosídeo	nd	nd	nd
7	Delfinidina	nd	nd	nd
8	Malvidina 3-O-glicosídeo	6.281-6.289	243,6 \pm 2,1 ^b	7223,5 \pm 82,5 ^a
9	Cianidina	7.495-7.499	87,6 \pm 5,8 ^b	232,7 \pm 18,4 ^a
10	Pelargonidina	nd	nd	nd
11	Malvidina	8.939-8.940	nd	111,2 \pm 5,4
11	Peonidina	8.939-8.940	nd	195,2 \pm 89,5

nd: not detected

Malvidina coeluiu com Peonidina.

Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$).

Todas as análises foram feitas em duplicata e os resultados estão expressos em amostra seca.

As antocianinas encontradas para o guabiju em ordem decrescente de concentração foram: malvidina 3-O-glicosídeo > delfinidina-3- β -D-glicosídeo > cianidina clorídeo > peonidina clorídeo > cianidina 3-O-glicosídeo > malvidina clorídeo. Em relação às antocianinas malvidina e peonidina, as condições não foram adequadas para separar os picos, que eluíram com o mesmo tempo de retenção. Em novas condições testadas foi possível identificar e separar os dois compostos. No entanto aqui estão expressos os valores em um ou outro composto, uma vez que a soma dessas duas antocianinas levaria a superestimação dos valores. No guabiju, além da variedade maior de antocianinas, estas se encontraram em maiores concentrações do que o valor encontrado no araçá vermelho, totalizando 11951,3 com a malvidina ou 12035,3 $\mu\text{g/g}$ de fruto em amostra seca com a peonidina.

A malvidina 3-O-glicosídeo juntamente com a delfinidina-3- β -D-glicosídeo destacaram-se com, aproximadamente, 60 % e 35 % do total das antocianinas, respectivamente. Estudos apontam que a malvidina 3-O-glicosídeo e a delfinidina-3-glicosídeo estão presentes em grandes quantidades em mirtilos (Kader et al., 1996; Skrede et al., 2000).

Os teores aqui encontrados, para o total de antocianinas de araçá vermelho (685,9 $\mu\text{g/g}$ de amostra seca) e guabiju (11951,3 $\mu\text{g/g}$ de fruto seco se malvidina ou 12035,3 $\mu\text{g/g}$

de fruto seco se peonidina) são maiores do que o encontrado para groselha vermelha (552,1 µg/g de amostra seca) (Wu et al., 2004). Tendo guabiju os maiores teores, este ainda foi superior a quatro cultivares de framboesa, sendo eles *Heritage* com 2044,0 µg/g de amostra seca, *Autumn bliss* com 2521,4 µg/g de amostra seca, *Rubi* com 5343,7 µg/g de amostra seca e *Zeva* com 7120,0 µg/g de amostra seca (De Ancos et al., 2000). Ainda o guabiju teve teores superiores a frutos de groselha preta cultivar *Ukraine* (11566,3 µg/g de amostra seca) (Wu et al., 2004).

Muitos fatores podem influenciar a composição das antocianinas. Diferenças entre cultivares podem ter influências quantitativas e qualitativas, enquanto o amadurecimento pode ocasionar aumento dos pigmentos (Baldi et al., 1995; Boyles, 1993). Fatores ambientais, como luz e temperatura, também já foram citados por influenciar o perfil de antocianinas (Giusti et al., 1998).

Atenção tem sido dada as antocianinas quanto ao seu papel na saúde, uma vez que o aumento de fontes desses compostos vem sendo relacionado com a redução do risco de doenças degenerativas (Seeram e Nair, 2002) justamente pela capacidade antioxidante destes (Wang et al., 1997).

4 Conclusão

Pelos resultados obtidos verificou-se que o araçá vermelho é uma boa fonte de fibra e, juntamente com o guabiju, são excelentes fontes de carotenóides superando alguns frutos como a framboesa.

A relação de SS/AT encontrada para o guabiju favorece seu consumo e aceitação pela sua doçura, já o teor de sólidos solúveis, pH e acidez do araçá vermelho o evidencia como um fruto indicado ao processamento.

O guabiju destacou-se pelo maior teor tanto de antocianinas quanto de carotenóides fatores que podem ter colaborado, juntamente com os demais componentes, para a maior atividade antioxidante desse fruto.

Esse estudo apresentou novas opções de frutos, aos tradicionalmente consumidos e revelando a potencialidade de seus compostos bioativos.

5 Referências Bibliográficas

AOAC. **Official Method of Analysis**. In Official Methods of Analysis (18th ed). Gaithersburg, MD: AOAC International. 1997.

BAUERNFEIND, J.C. Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 20, p. 456-473, May. 1972

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Free radicals and the main dietary antioxidants. **Revista Nutrição**, Campinas, v.12, n.2, p.123-130, maio/ago. 1999.

BALDI, A.; ROMANI, A.; MULINACCI, N.; VINCIERI, F. F.; CASETTA, B. HPLC/MS application to anthocyanins of *Vitis Vinifera* L. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.43, p.2104-2109. 1995.

BOYLES, M. J.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanin composition of red raspberry juice: Influences of cultivar, processing, and environmental factors. **Journal of Food Science**, v.58, p.1135-1141. 1993.

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

CORTÉS, C.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A.; TORREGROSA, F. Changes in carotenoids including geometrical isomers and ascorbic acid content in orange–carrot juice during frozen storage. **European Food Research Technology**, v.221, p.125–131. 2005.

DE ANCOS, B.; IBÁÑEZ, E.; REGLERO, G.; CANO, M. P. Frozen Storage Effects on Anthocyanins and Volatile Compounds of Raspberry Fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.873-879. 2000.

DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid composition of two Brazilian genotypes of acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) from two harvests. **Food Research International**, v.38, p.1073–1077. 2005.

DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. HPLC-PDA-MS/MS of anthocyanins and carotenoids from dovyalis and tamarillo fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.55, n.22, p.9135-3141. 2007.

DI MASCIO, P.; KAISER, S.; SIES, H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Archives of Biochemistry and Biophysical**, v.274, p.532–538. 1989.

FETTER, M. DA R.; VIZZOTTO, M.; CORBELINI, D. D.; GONZALEZ, T. G. Propriedades funcionais de araçá-amarelo, araçá-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) e araçá-pera (*P. acutangulum* D.C.) cultivados em Pelotas/RS. **Brazilian Journal of food Technology**. 2010. Disponível em:
http://www.ital.sp.gov.br/bj/artigos/especiais/2010/artigos_bjb_v70ne/16_bjft_v13ne_13e0114.pdf. Acesso em 6 de set. 2011.

FERREIRA, D. S.; DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Compostos bioativos presentes em amora-preta (*Rubus* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v.32, n.3, p.664-674, Set. 2010.

GARDENER, P. T.; WHITE, T. A. C.; MCPHAIL, D. B.; DUTHIE, G. G. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potencial of fruit juices. **Food Chemistry**, v.68, p.471-474. 2000.

GIUSTI, M. M.; RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; BAGGETT, J. R.; REED, G. L.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanin pigment composition of red radish cultivars as potential food colorants. **Journal of Food Science**, v.63, p.219-224. 1998.

HENSHALL, J. D. **Ascorbic acid in fruit juices and beverage**. In: Counsell, J.N.; Hornig, D.H. Vitamin C (ascorbic acid). Applied Science Publishers, London and New Jersey, 1981.

KADER, F.; ROVEL, B.; GIRARDIN, M.; METCHE, M. Fractionation and identification of the phenolic compounds of Highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum*, L.). **Food Chemistry**, v.55, p.35-40. 1996.

KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.4, p.846-857, out.-dez. 2008.

KRINSKY, N. I. The biological properties of carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**. v.66, p. 1003-1010. 1994.

KUSKOSKI, M.; ASUERO, A.; TRONCOSO, A. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726-732. 2005.

LANE, J. H.; EYNON, L. **Determination of reducing sugars by Fehling's solution with methylene blue indicador**, Norman Rodge, 1934. 8p.

LEONG, L. P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, v.76, p.69-75. 2002.

MARIN, R.; APEL, M. A.; LIMBERGER, R. P.; RASEIRA, M. C. B.; PEREIRA, J. F. M. ZUANAZZI, J. Â. S.; HENRIQUES, A. T. Volatile Components and Antioxidant Activity from some Myrtaceous Fruits cultivated in Southern Brazil. **Latin American Journal of Pharmacy**. v.27, n.2, p.172-7. 2008.

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

- MAZZA, G. **Health aspects of natural colors**. In G. J. Lauro, F. J. Francis (Eds.), *Natural food and colorants science and technology*, New York: Marcel Decker. 2000. p.289–314.
- MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.1, p.128-130. 1998.
- MÜLLER, L.; FRÖHLICH, K.; BÖHM, V. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (aTEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. **Food Chemistry**, v.129, p.139-148. 2011.
- ODIN, A.P. Vitamins as antimutagens: advantages and some possible mechanisms of antimutagenic action. **Mutation Research**, Amsterdam, v.386, n.1, p.39-67. 1997.
- OLSON, J. A. Biological actions of carotenoids. **Journal of Nutrition**, v.119, p.94-95, 1989.
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology Medicine**, Amsterdam, v.20, n.7, p.933-956, 1996.
- RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, n.121, p.996–1002. 2010.
- RUXTON, C.; GARDNER, E.; WALKER, D. Can pure fruit and vegetable juices protect against cancer and cardiovascular disease too? A review of the evidence. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v.57, p.249–272. 2006.
- SANTOS, M. S.; PETKOWICZ, C. L. O.; NETTO, A. P.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A.; CARNEIRO, E. B. B. Propriedades reológicas de doce em massa de araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.1, n. 2, p.104-116. 2007.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v.130, p.2073–2085. 2000.
- SCOTT, C. E.; ELDRIDGE, A. L. Comparison of carotenoid content in fresh, frozen and canned corn. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, p.551–559. 2005.
- SEERAM, N. P.; NAIR, M. Inhibition of lipid peroxidation and structure-activity-related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.5308–5312. 2002.

SKREDE, G.; WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). **Journal of Food Science**, v.65, p.357–364. 2000.

STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1740, p.101–107. 2005.

SILVA, M. R.; LACERDA, D. B. C. L.; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.6, p.1790-1793, set. 2008.

VAN'T VEER, P., JANSON, M., KLERT, M., KOK, F. Fruits and vegetables in the prevention of cancer and cardiovascular disease. **Public Health Nutrition**, v.3, p.103–107. 2000.

WANG, H.; CAO, G. H.; PRIOR, R. L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.304–309. 1997

WILLE, G. M. F. C. Desenvolvimento de tecnologia para a fabricação de doce em massa com Araca-Pera (*Psidium acutangulum* D. C.) para o pequeno produtor. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 6, p.1360-1366. 2004.

WU, X.; GU, L.; PRIOR, R. L.; MCKAY, S. Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and their antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.26, p.7846–7856. 2004.

ZANATTA, C. F.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu–camu (*Myrciaria dubia*) **Food Chemistry**, v.101, p.1526–1532. 2007.

ZANATTA, C. F.; CUEVAS, E.; BOBBIO, F.O.; WINTERHALTER, P.; MERCADANTE, A.Z. Determination of anthocyanins from camu–camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS and NMR. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.53, n.24, p.9531-9535. 2005.

ZHANG, Z.; PANG, X.; XUEWU, D.; JI, Z.; JIANG, Y. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. **Food Chemistry**, v.90, p.47–52. 2005.

4.2 Efeito do processamento na estabilidade de compostos bioativos de araçá vermelho (*Psidium cattleianum* SABINE) e guabiju (*Myrcianthes Pungens*).

Cleice Dalla Nora^{*1,2}, Cecília Dal-Ri Müller^{*1}, Gicele Sbardelotto de Bona^{*1}, Alessandro de Oliveira Rios^{*1}, Plinho Francisco Hertz^{*1}, André Jablonski^{*3}, Erna Vogt de Jong^{*1}, Simone Hickmann Flôres^{*1}

^{*1} Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Bento Gonçalves Avenue, n. 9500, CP 15090, CEP 91501-970, Porto Alegre (RS, Brasil).

^{*2} Corresponding author. E-mail address: cleicenator@gmail.com

^{*3} Departamento de Engenharia de Minas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Bento Gonçalves Avenue, n. 9500, CEP 91501-970, Porto Alegre (RS, Brasil).

Resumo

O processamento a partir dos alimentos *in natura* está cada vez mais sendo utilizado, tanto para preservação quanto para disponibilização de produtos sazonais durante todo o ano. Aliado a isso, está o crescente interesse por compostos bioativos provenientes de frutas, como, por exemplo, antocianinas e carotenóides que são capazes de desempenhar importante papel no organismo. No entanto, o processamento pode afetar em parte ou totalmente a qualidade de um produto alimentício. Neste estudo foi avaliado o efeito do processamento na atividade antioxidante de frutos nativos do Rio Grande do Sul (Brasil), sendo eles araçá vermelho (*Psidium cattleianum* SABINE) e guabiju (*Myrcianthes Pungens*), bem como nos teores de carotenóides e antocianinas. Ambos os frutos demonstraram-se boas fontes de carotenóides e antocianinas, no entanto o guabiju superou os teores de compostos bioativos encontrados no araçá vermelho quando *in natura*, e, desta forma, este fruto obteve maiores teores destes compostos após os processamentos o que também levou o fruto a ter maior atividade antioxidante nos dois métodos avaliados. No método DPPH, os frutos secos a 70 °C e liofilizados tiveram atividade antioxidante significativamente maior, enquanto para o ABTS o araçá vermelho seco a 70 °C e o guabiju congelado após 90 dias destacaram-se com os maiores teores, embora o araçá vermelho seco não tenha diferido significativamente do araçá vermelho liofilizado. O processamento atuou de forma diferente nos frutos. O processo de secagem por ar quente (70 °C) em ambos os frutos resultou nos menores teores de antocianinas e carotenóides, sendo este processo para o guabiju o único capaz de diminuir os teores de carotenóides, enquanto no araçá vermelho, o congelamento por 90 dias também afetou estes compostos, havendo decréscimo. Entretanto, o congelamento atuou nos frutos aumentando as concentrações de carotenóides, o de 30 dias foi favorável ao araçá vermelho e o de 90 dias ao guabiju. O processo de liofilização foi benéfico para ambos os frutos restando o teor de carotenóides. Para as antocianinas, os maiores teores foram encontrados no guabiju liofilizado e no araçá vermelho *in natura*, onde nenhuma forma de processamento foi capaz de manter ou aumentar os teores de antocianinas, tendo a secagem os menores

teores. No guabiju, o congelamento foi benéfico, pois foi capaz de conservar ou aumentar os teores de antocianinas, estando somente a secagem relacionada ao decréscimo de antocianinas neste fruto.

Palavras-chave: Atividade antioxidante, Carotenóides, Antocianinas, Araçá vermelho, Guabiju

1 Introdução

Estudos demonstram que o consumo de frutos está relacionado a baixa incidência de doenças crônico-degenerativas devido a presença de compostos bioativos com capacidade antioxidante (Van't Veer et al., 2000). Conseqüentemente, o interesse por estes compostos aliada a natureza sazonal dos frutos tem estimulado a pesquisa sobre sua estabilidade durante o processamento e armazenamento (Garcia-Perez et al., 2010).

Antocianinas e carotenóides são compostos bioativos com características antioxidantes. As antocianinas que são a forma glicosilada das antocianidinas, pertencem a classe dos flavonóides, sendo solúveis em água e responsáveis pelas cores laranja, vermelha e azul de muitos vegetais e frutos. Somente seis das dezesseis antocianidinas já identificadas ocorrem frequentemente em diferentes vegetais: cianidina, pelargonidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina (Wu e Prior, 2005a; b).

Os carotenóides são compostos lipofílicos comumente encontrados em plantas, sendo potentes antioxidantes e esta característica está associada a sua capacidade de desativar radicais livres (Di Mascio et al., 1989). Os carotenóides são responsáveis pelas cores do amarelo ao vermelho e os mais comumente encontrados em vegetais são luteína, zeaxantina, β -criptoxantina, α -caroteno e β -caroteno (Scott e Eldridge, 2005).

A capacidade antioxidante de frutos e vegetais muda consideravelmente de acordo com a presença de compostos bioativos tais como as antocianinas e os carotenóides, contudo a quantidade destes compostos tem-se demonstrado importante fator na atividade antioxidante (Hassimotto et al., 2005).

O processamento pode agir de diferentes formas em relação a estabilidade dos compostos bioativos presentes nos alimentos. O congelamento pode levar ao acréscimo ou decréscimo de tais compostos (De Ancos et al., 2000). O aquecimento ocasiona a ruptura da matriz alimentar, o que pode propiciar o aumento da extração de muitos fitoquímicos e melhorar a qualidade nutricional de vegetais (Pellegrini et al., 2010), bem como diminuir a quantidade destes fitoquímicos (Ball, 2006). A liofilização também pode, assim como a secagem, aumentar ou diminuir os teores de compostos bioativos (Wu et al., 2010).

Particularmente, para alimentos com altos valores de compostos bioativos, a escolha do método correto para a conservação torna-se muito importante para se obter sucesso na operação, uma vez que o processamento pode afetar parcial ou totalmente a qualidade de um produto. Várias mudanças físicas, químicas e/ou biológicas podem ocorrer durante o processamento ou armazenamento, podendo tais alterações estar relacionadas a perda da cor, devido a degradação dos pigmentos, como os carotenóides e antocianinas, até a perda de substâncias nutritivas.

Neste estudo avaliou-se a atividade antioxidante, o teor de carotenóides e antocianinas do araçá vermelho (*Psidium cattleianum* SABINE) e guabiju (*Myrcianthes Pungens*) *in natura* e após os processos de secagem por ar quente, liofilização e congelamento.

2 Materiais e métodos

2.1 Preparo das amostras

As amostras de guabiju utilizadas foram provenientes da região de Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil (30° 04' 52" sul, 51° 01' 24" oeste, 111 m altitude), colhidas no mês de fevereiro de 2011 e as amostras de araçá vermelho foram coletadas na cidade de Estrela Velha, Rio Grande do Sul, Brasil (29° 10' 36" sul, 53° 09' 33" oeste, 394 m altitude), colhidas em março do mesmo ano, ambas as cidades localizadas no estado do Rio Grande do Sul (Brasil). Os frutos foram incorporados no Herbário ICN (UFRGS), sob o número de coletor de C. Dalla Nora 172539 e 172540 para o guabiju e para o araçá vermelho respectivamente. Foram selecionados os frutos maduros e sem danos na casca.

Os frutos foram analisados *in natura* e armazenados por 30 e 90 dias. Após o período de 30 dias os frutos foram submetidos ao processo de liofilização ou secagem, sendo a amostra congelada por 30 dias o controle em relação aos processos. Para a liofilização, os frutos foram inicialmente congelados em Ultrafreezer (Liotop) (-80 °C) por 24h e colocados em liofilizador (L 101, Marca Liotop) (-54 °C). Imediatamente após a retirada do liofilizador, foram embalados a vácuo (Embaladora Seladora A Vácuo F 200 Flash, Marca Fastvac) em sacos de polietileno e congelados novamente (-10 °C) até o momento das análises. Para a secagem foi utilizado um secador de bandejas por convecção à temperatura constante (70 °C) onde as amostras foram dispostas uniformemente sobre uma bandeja, com o ar quente passando de forma perpendicular a esta, com velocidade de 0,72 m/s, sendo os frutos secos até variação inferior a 5mg/g amostra. Imediatamente após o resfriamento as amostras foram embaladas a vácuo em sacos de polietileno e congeladas (-10 °C).

Para as análises as amostras processadas foram trituradas em microprocessador (Arno Performa Magiclean Duetto) até obtenção de um pó fino. O araçá vermelho foi triturado integralmente, enquanto para o guabiju foi retirada a semente para posterior homogeneização (casca e a polpa).

2.2 Métodos

2.2.1 Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada pela metodologia baseada em seqüestrar o radical DPPH, segundo Brand-Williams et al. (1995) e pelo método ABTS (Kuskoski et al., 2005), adaptado pela Embrapa Agroindústria Tropical. O extrato foi obtido através da extração com metanol (50 %) e acetona (70 %), usando três diferentes diluições.

Para o método DPPH uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato reagiu com 3,9 mL de radical DPPH. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Amersham, Modelo Uv Vis Ultrospec-3100 Pro Amersham Bioscience) a 515 nm após 34 minutos e os resultados foram expressos em g de fruto seco / g DPPH.

Para o método ABTS, uma alíquota de 30 µL de cada diluição do extrato reagiu com 3,0 mL de radical ABTS e a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Amersham, Modelo Uv Vis Ultrospec-3100 Pro Amersham Bioscience) em 734 nm após 6 minutos. Os resultados foram expressos como a µM trolox / g de fruto seco.

2.2.2 Perfil de Carotenóides

O extrato de carotenóides foi preparado de acordo com Mercadante e Rodriguez-Amaya (1998). As etapas principais foram extração dos pigmentos com acetona e saponificação com metanol 10 % KOH durante uma noite a temperatura ambiente. Após a remoção do álcali, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Fisatom, Modelo 801) ($T < 25\text{ }^{\circ}\text{C}$), seco em fluxo de nitrogênio e armazenados no freezer ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) para posterior quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência. Para a análise, o extrato concentrado foi diluído em éter terc-metil-butílico (MTBE- J. T. Baker, Cas. number 1634-04-4, pureza 99,96 %), colocado em ultrassom (Unique, modelo USC 1400) por 15 minutos e filtrado em filtro (Millex LCR 0,45 µm, 13 mm) para posterior injeção no cromatógrafo.

2.2.2 Perfil de Antocianinas

O extrato de antocianinas foi preparado de acordo com Zanatta et al. (2005) com algumas modificações onde a extração dos pigmentos foi obtida com 1 % ácido clorídrico

concentrado em metanol em temperatura ambiente. Após o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Fisatom, Modelo 801) ($T < 38\text{ }^{\circ}\text{C}$), seco em fluxo de nitrogênio e armazenado no freezer para posterior quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência. Para a análise, o extrato concentrado foi diluído em metanol (J.T.Baker., Cas. number 67-56-1, pureza 99,99 %), colocado em ultrassom (Unique, modelo USC 1400) por 15 minutos e filtrado em filtro (Millex LCR 0,45 μm , 13 mm) para posterior injeção no cromatógrafo.

2.2.3 Condições Cromatográficas

As análises de CLAE foram realizadas em cromatógrafo Agilent 1100 Series equipado com sistema quaternário de bombeamento de solventes (Waters série 2695) e detector UV/Vis (Waters série 2487 Dual I).

Para análise de carotenóides foi utilizada uma coluna de fase polimérica revertida C30 YMC (modelo CT99SO3– 2546WT) 250 μm x 4,6 μm (tamanho das partículas de 3 μm), eluição gradiente com fase móvel de água / metanol / terc-metil-butil-éter (MTBE) a partir de 5:90:5, atingindo 0:95:5 em 12 minutos, 0:89:11 em 25 minutos, 0:75:25 em 40 minutos e, finalmente, 00:50:50 depois de 60 minutos, com vazão de 1 mL/min a 33°C (Zanatta e Mercadante, 2007). Para a análise de antocianinas foi utilizada uma coluna C18 Shim-pack CLC-ODS, 250 μm x 4,6 μm (tamanho das partículas de 3 μm) usando como fase móvel o gradiente linear de acetonitrila / 4 % ácido fosfórico a partir de 15:85, atingindo 20:80 em 12 minutos, com uma vazão de 1 mL/min a 29 °C, segundo Zanatta et al. (2005).

Os espectros foram conduzidos entre 250 e 600 nm e os cromatogramas processados em comprimento de onda fixo de 450 nm para carotenóides e 520 nm para antocianinas. A identificação foi realizada comparando os tempos de retenção dos picos obtidos para o padrão e para as amostras, analisados sob as mesmas condições.

A quantificação foi realizada através da construção de curvas padrões para os carotenóides e para as antocianinas, nas seguintes faixas de concentrações para os carotenóides: β -caroteno (Sigma-Aldrich, Cas number 7235-40-7) de 5 a 50 mL; luteína (Indofine Chemical Company, Cas number 127-40-2) de 1 a 65 mL; criptoxantina (Sigma-Aldrich, Cas number 472-70-8) de 4 a 100 mL; zeaxantina (Fluka Analytical, Cas number 7488-99-5) de 1 a 40 mL; α -caroteno (Fluka Analytical, Cas number 144-68-3) de 2 a 25 mL. E, para as antocianinas: cianidina 3-5-di-glicosídeo ou cianina clorídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 2611-67-8) de 17 a 84 mL; delphinidina 3- β -D-glicosídeo (Santa Cruz

Biotechnology, Cas number 6906-38-3) de 7 a 120 mL; pelargonidina 3-5-di-glicosídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 17334-58-6) de 39 a 98 mL; cianidina 3-glicosídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 7084-24-4) de 38 a 380 mL; malvidina 3-5-di-glicosídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 16727-30-3) de 19 a 310 mL; pelargonidina 3-glicosídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 18466-51-8) de 5 a 49 mL; malvidina 3-glicosídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 7228-78-6) de 15 a 107 mL; delphinidina clorídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 528-53-0) de 5 a 28 mL; cianidina clorídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 528-58-5) de 4 a 21 mL; pelargonidina clorídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 134-04-3) de 6 a 73 mL; malvidina clorídeo (Sigma-Aldrich, Cas number 643-84-5) de 3 a 37 mL; peonidina clorídeo (Santa Cruz Biotechnology, Cas number 13401-0) de 3 a 40 mL.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) são, respectivamente, para: β -caroteno $6,53 \times 10^{-2}$ e $10,89 \times 10^{-2}$; luteína $6,9 \times 10^{-3}$ e $1,15 \times 10^{-2}$; zeaxantina $9,56 \times 10^{-2}$ e $1,59 \times 10^{-2}$; α -caroteno $1,97 \times 10^{-2}$ e $3,28 \times 10^{-2}$; cianidina 3-5-di-glicosídeo ou cianina clorídeo $7,55 \times 10^{-7}$ e $1,26 \times 10^{-6}$; delphinidina 3- β -D-glicosídeo $4,23 \times 10^{-7}$ e $7,19 \times 10^{-7}$; pelargonidina 3-5-di-glicosídeo $4,92 \times 10^{-8}$ e $8,20 \times 10^{-8}$; cianidina 3-glicosídeo $9,37 \times 10^{-8}$ e $1,56 \times 10^{-7}$; malvidina 3-5-di-glicosídeo $4,13 \times 10^{-7}$ e $6,89 \times 10^{-7}$; pelargonidina 3-glicosídeo $9,47 \times 10^{-8}$ e $1,48 \times 10^{-7}$; malvidina 3-glicosídeo $6,53 \times 10^{-7}$ e $1,09 \times 10^{-6}$; delphinidina clorídeo $1,72 \times 10^{-7}$ e $2,86 \times 10^{-7}$; cianidina clorídeo $1,51 \times 10^{-7}$ e $2,52 \times 10^{-7}$; pelargonidina clorídeo $1,23 \times 10^{-7}$ e $2,85 \times 10^{-7}$; malvidina clorídeo $5,52 \times 10^{-8}$ e $9,20 \times 10^{-8}$; malvidina clorídeo $9,35 \times 10^{-8}$ e $1,56 \times 10^{-7}$.

2.3 Análise Estatística

Os resultados foram comparados utilizando análise de variância (ANOVA). Para determinar as diferenças entre os produtos médias foi utilizado o teste de Tukey ($p < 0,05$) pelo Software Estatística 10.

3 Resultados e Discussão

3.1 Atividade Antioxidante (AA)

A atividade antioxidante em relação aos dois métodos analisados, para os frutos encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Atividade Antioxidante (AA) pelos métodos ABTS ($\mu\text{Mtrolox} / \text{g}$ de fruto seco) e DPPH (g de fruto seco / g DPPH) do araçá vermelho e do guabiju

		Atividade Antioxidante (AA)	
Processo		ABTS ($\mu\text{Mtrolox} / \text{g}$ de fruto seco)	DPPH EC_{50} (g de fruto seco / g DPPH)
Araçá vermelho	<i>In natura</i>	150,2 \pm 14,1 ^c	16713,2 \pm 304,7 ^a
	Congelado 30 dias	114,0 \pm 0,7 ^c	14984,6 \pm 123,2 ^a
	Congelado 90 dias	199,4 \pm 12,0 ^b	16014,7 \pm 1204,0 ^a
	Liofilizado	207,2 \pm 14,8 ^{ab}	548,4 \pm 12,9 ^b
	Seco por ar quente (70 °C)	248,6 \pm 11,8 ^a	604,8 \pm 18,0 ^b
Guabiju	<i>In natura</i>	205,3 \pm 0,5 ^b	6921,4 \pm 3,8 ^b
	Congelado 30 dias	224,7 \pm 0,6 ^b	7880,0 \pm 62,0 ^a
	Congelado 90 dias	424,5 \pm 8,6 ^a	4822,5 \pm 400,1 ^c
	Liofilizado	265,1 \pm 5,0 ^b	496,2 \pm 14,2 ^d
	Seco por ar quente (70 °C)	260,2 \pm 40,0 ^b	428,5 \pm 11,2 ^d

Letras diferentes nas colunas indicam diferenças significativas entre os tratamentos em cada fruto ($P < 0,05$). Todas as análises foram feitas em duplicata e os resultados estão expressos em amostra seca.

O método ABTS mede a AA de uma gama de carotenóides e compostos fenólicos, determinados pela descoloração do ABTS através da medida da redução do radical com a inibição percentual de absorbância a 734 nm (Re at al., 1999). No método DPPH, a medida é dada pelo decréscimo da absorbância a 515 nm através da captura do radical livre pela amostra. No entanto, carotenos e xantofilas não reagem frente ao radical livre DPPH (Müller et al., 2011). Portanto, devido à sensibilidade de cada método utilizado aliada a diferença entre as matrizes analisadas, os resultados produzidos podem ser divergentes.

Em relação aos métodos ABTS e DPPH, para o araçá vermelho, os frutos secos e liofilizados obtiveram a maior AA, embora o araçá vermelho liofilizado não tenha diferido do congelado aos 90 dias pelo método ABTS. Em relação ao guabiju, para o método antioxidante ABTS, a maior AA foi encontrada no fruto congelado por 90 dias, enquanto para o DPPH, os frutos secos e liofilizados destacaram-se (Tabela 1).

Entre o araçá vermelho e o guabiju *in natura*, para o método DPPH, este último fruto teve valores 58 % maiores de AA, enquanto para o ABTS essa diferença foi de aproximadamente de 26 %, possivelmente, pela diferente composição das matrizes aliada à sensibilidade de cada método. O araçá vermelho e o guabiju *in natura* tiveram maior AA pelos dois métodos quando comparados a de frutos não tradicionais, como açaí (94,97 $\mu\text{Mtrolox} / \text{g}$ de fruto seco e 28817,61 g de fruto seco / g DPPH), cajá yellow mombim (57,35 $\mu\text{Mtrolox} / \text{g}$ de fruto seco e 69095,99 g de fruto seco / g DPPH), caju cashew apple (85,50 $\mu\text{Mtrolox} / \text{g}$ de fruto seco e 54519,08 g de fruto seco / g DPPH) e umbu (52,06 $\mu\text{Mtrolox} / \text{g}$ de fruto seco e 58462,81 g de fruto seco / g DPPH). O guabiju ainda foi

superior a frutos como carnaúba (36,52 $\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco e 12112,63 g de fruto seco / g DPPH), jambolão (196,69 $\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco e 20033,11 g de fruto seco / g DPPH), mangaba (158,70 $\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco e 36793,48 g de fruto seco / g DPPH) e uvaia (168,22 $\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco e 30345,79 g de fruto seco / g DPPH) (Rufino et al., 2010).

Em relação à alta atividade antioxidante após secagem dos frutos, recentes pesquisas sugerem que polifenóis parcialmente oxidados podem apresentar uma maior AA do que fenóis não oxidados (López-Nicolas et al., 2010). Aliado a tal fato, a secagem leva à formação de novos compostos com alta AA. Isso ocorre essencialmente na reação de Maillard onde a formação e acúmulo de derivados possuem grau variável de AA, podendo melhorar estas propriedades após o tratamento com temperaturas como a usada nesse estudo (70 °C) (Que et al., 2008; Miranda et al., 2009). No caso da reação de Maillard, a alta AA está geralmente associada a formação de melanoidinas marrons (Manzocco et al., 2001), no entanto a formação de redutonas e enaminois também podem contribuir para o aumento da AA (Ledl e Schleiche, 1990). No presente estudo foi possível perceber, após a secagem, um escurecimento visual das amostras reforçando o fato citado.

Quanto ao congelamento, o aumento da AA pode ser explicado pela ruptura e descompactação dos tecidos, que pode ter facilitado o contato com o solvente, aliada à composição química e reações durante o congelamento dos frutos. De Ancos et al. (2000), em estudo com cultivares de framboesa (-20 °C) mostrou aumentos de 5 a 17 % no total de antocianinas em dois cultivares analisados após congelamento por um ano.

O processo de liofilização é considerado uns dos melhores métodos de desidratação, onde ocorre a eliminação da água por sublimação no produto congelado mantendo as características do alimento. Porém, em relação a AA, esse tipo de processamento não diferiu dos frutos que sofreram secagem por ar quente (Tabela 2). O araçá vermelho e o guabiju quando comparados com frutos tropicais liofilizados, apresentaram valores de atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH superiores pelos dois métodos analisados a frutos como: açaí (64,50 $\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco e 598,00 g de fruto seco / g DPPH), bacuri (18,10 $\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco e 6980,00 g de fruto seco / g DPPH), cajá (40,70 $\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco e 1064,00 g de fruto seco / g DPPH), caju (79,40 $\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco e 906,00 g de fruto seco / g DPPH), carnaúba (16,4 $\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco e 4877,00 g de fruto seco / g DPPH), jambolão (125,00 $\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco e 938,00 g de fruto seco / g DPPH), mangaba (65,60 $\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco e 890,00 g de fruto seco / g DPPH), e umbu (137 $\mu\text{Mtrolox}$ / g de fruto seco e 933,00 g de fruto seco / g DPPH) pelos

método ABTS e DPPH e gurguri (136 μM trolox / g de fruto seco), murta (166 μM trolox / g de fruto seco), puçá-coroa-de-frade (161 μM trolox / g de fruto seco) e uva g de fruto seco) somente pelo método ABTS (Rufino et al., 2010).

3.2 Carotenóides

A quantidade de carotenóides para guabiju foi maior do que a encontrada para o araçá vermelho em ambos os processos (Tabela 2). No entanto, ambos os frutos demonstram-se boas fontes de carotenóides.

Tabela 2 - Carotenóides por ordem de eluição encontrados para o araçá vermelho (*Psidium cattleianum* SABINE) e para o guabiju (*Myrcianthes Pungens*) com suas respectivas concentrações ($\mu\text{g}/100\text{g}$ de fruto seco)

		Concentração ($\mu\text{g}/100\text{g}$ de fruto em amostra seca)				
		<i>In natura</i>	Congelado 30 dias	Congelado 90 dias	Liofilizado	Seco por ar quente (70 °C)
1	Araçá vermelho	557,8 \pm 104,2 ^{bc}	853,7 \pm 42,3 ^{ab}	507,2 \pm 147,6 ^{cd}	923,1 \pm 14,1 ^a	188,8 \pm 7,3 ^d
2		137,5 \pm 6,6 ^b	180,9 \pm 8,4 ^a	111,7 \pm 6,7 ^c	176,7 \pm 3,3 ^a	93,1 \pm 3,5 ^c
3		1029,8 \pm 46,4 ^a	925,0 \pm 41,7 ^a	575,2 \pm 27,5 ^c	791,0 \pm 14,7 ^b	450,4 \pm 10,7 ^c
4		60,8 \pm 1,7 ^{ab}	62,1 \pm 3,0 ^a	47,2 \pm 2,1 ^c	53,1 \pm 1,7 ^{bc}	16,7 \pm 0,6 ^d
5		512,6 \pm 16,7 ^a	431,1 \pm 4,0 ^b	377,0 \pm 12,9 ^c	499,4 \pm 16,2 ^a	144,0 \pm 0,7 ^d
Total		2298,6	2453,0	1618,2	2443,3	893,0
1	Guabiju	1022,2 \pm 5,7 ^b	896,5 \pm 15,4 ^c	1239,1 \pm 18,5 ^a	905,3 \pm 20,2 ^c	295,8 \pm 5,3 ^d
2		126,7 \pm 14,2 ^{bc}	151,1 \pm 1,8	243,8 \pm 4,0 ^a	102,3 \pm 3,6 ^{cd}	99,3 \pm 3,5 ^{cd}
3		1634,4 \pm 63,9 ^{ab}	1270,2 \pm 57,6 ^c	1733,9 \pm 13,3 ^a	1446,1 \pm 72,3 ^b	697,0 \pm 0,2 ^d
4		192,9 \pm 9,6 ^a	160,1 \pm 6,1 ^b	146,2 \pm 0,7 ^b	181,0 \pm 0,7 ^a	84,0 \pm 0,2 ^c
5		2012,8 \pm 98,4 ^b	2296,3 \pm 15,6 ^a	1908,4 \pm 17,5 ^b	1936,7 \pm 20,2 ^b	979,7 \pm 13,9 ^c
Total		4989,0	4773,91	5271,3	4571,3	2155,8

1 - All-*trans*-luteína; 2 - Zeaxantina; 3 - β -Criptoxantina; 4 - α -caroteno ; 5 - β -caroteno.

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos (P < 0,05).

Todas as análises foram feitas em duplicata e os resultados estão expressos em amostra seca.

O guabiju e o araçá vermelho mantiveram o total de carotenóides das amostras *in natura* após os tratamentos de congelamento por 30 dias e após o processo de liofilização. Contudo os dois frutos demonstraram perdas de carotenóides após o processo de secagem por ar quente. Em relação ao tratamento de congelamento por 90 dias, para o guabiju houve aumento em relação a amostra congelada por 30 dias, enquanto no araçá vermelho foi detectado um decréscimo (Tabela 4).

Em relação a quantidade encontrada nos frutos *in natura* (Tabela 4), o acúmulo de carotenóides é influenciado por vários fatores externos, como as diferentes condições climáticas ao qual cada fruto esteve submetido (Zanatta e Mercadante, 2007). Neste caso, as diferentes regiões de proveniência, expuseram os frutos, por sua vez, a diferentes condições.

No araçá vermelho a β -criptoxantina foi o maior composto *in natura* e nos processos de congelamento por 30 dias, congelado por 90 dias e secagem a 70 °C com 44,8 %, 37,7 %, 35,6 % e 50,4 % do total de carotenóides, respectivamente. Na liofilização, este carotenóide teve a segunda maior concentração com 32,3 % do total, seguido da luteína com 37,8 % do total de carotenóides. No guabiju o β -caroteno foi predominante (40,4 %, 48,1 %, 36,2 %, 42,4 % e 45,5 % no fruto *in natura*, congelado por 30 dias, congelado por 90 dias, liofilizado e seco, respectivamente) (Tabela 4).

Em frutos de cajá e nectarina a β -Criptoxantina destaca-se com 90,9 e 70,9 % seguido do β -caroteno com 7,5 e 20 % do total respectivamente (Godoy e Rodriguez-Amaya, 1994). O β -caroteno é o carotenóide majoritário encontrado em frutos de acerola, destacando-se com quantidades variando de 70 a 91 % do total (De Rosso e Mercadante 2005). O α -caroteno geralmente acompanha o β -caroteno, porém em concentrações menores, como no estudo com acerolas onde este caroteno teve entre 1,18 a 2,53 % do total (Porcu e Rodriguez-Amaya, 2006).

No araçá vermelho os carotenóides menos estáveis ao processo de secagem por ar quente foram o α e o β -caroteno. Os demais, *all-trans*-luteína, zeaxantina e β -criptoxantina, apesar de serem afetados significativamente na secagem, onde tiveram os menores teores, não diferiram do tratamento de congelamento por 90 dias. No guabiju, todos os carotenóides tiveram seus teores diminuídos significativamente, havendo decréscimo de 71,1 % de luteína, 21,65 % zeaxantina, 57,4 % de β -criptoxantina, 56,4 % de α -caroteno e 51,3 % de β -caroteno, respectivamente. Contudo a zeaxantina, também teve decréscimo após a liofilização (19,3 %) (Tabela 4). O decréscimo de todos os carotenóides em ambos os frutos indicaram que a secagem por ar quente pode ocasionar perdas destes importantes compostos bioativos.

Assim como neste estudo, outros também verificaram decréscimos em α e o β -caroteno. Provesi et al. (2011) verificaram decréscimos de 17,9 e 16,9 %, respectivamente, em abóboras cozidas a vapor por 20 minutos a 100 °C, enquanto valores de perdas similares foram encontrados em sucos de laranja após pasteurização e concentração (Gama e Sylos, 2007). A estabilidade desses carotenóides depende de outros fatores como, o resíduo de oxigênio dissolvido na amostra, temperatura durante o armazenamento (Vásquez-Caicedo et al., 2007) e a matriz em que estão contidos.

A estabilidade das xantofilas é comprometida no aquecimento devido a sua estrutura química com a presença de oxigênio na molécula (De Sá e Rodriguez-Amaya, 2004). Perdas de 81,9 % do teor de luteína já foram detectadas em abóboras após o cozimento (Provesi et al., 2011).

Em estudo com mangas Chen et al. (2007) verificaram a grande instabilidade de zeaxantina ao aquecimento, não encontrando este carotenóide após secagem ou em tratamentos combinados com a secagem a 60 °C por 20 h. Diferentemente deste estudo, onde este carotenóide foi detectado, no entanto, em concentrações significativamente menores, tendo decréscimo de 32,3 % e 48,6 % no araçá vermelho e 21,7 % e 34,3 % no guabiju em relação a amostra fresca e amostra congelada por 30 dias, respectivamente.

A diminuição dos carotenóides na secagem pode ser explicada pela temperatura de 70 °C utilizada no processo. O tratamento térmico pode diminuir o conteúdo de carotenóides nos alimentos pela sua natureza propensa à degradação ou isomerização (Maiani et al., 2009), ainda a temperatura pode favorecer a inativação da enzima lipoxigenase e, dessa forma, originam-se hidroperóxidos que se decompõem nas formas radicais peroxil e alcóxil responsáveis pela degradação destes pigmentos (Ball, 2006).

A diminuição do teor de carotenóides no congelamento por 90 dias do araçá vermelho (Tabela 4), no entanto, pode ter ocorrido devido a matriz analisada aliada as diferenças de comportamento dos carotenóides em relação ao tempo de congelamento (Cortés et al., 2005; Rodriguez-Amaya, 1997).

Estudo com suco de laranja/cenoura numa proporção 80/20 % congelado a -40 °C demonstrou o diferente comportamento dos carotenóides dependente do tempo de congelamento. Neste estudo a β -criptoxantina teve aumento em seus teores entre 25 e 40 dias, onde teve sua maior concentração, inclusive ultrapassando os teores do composto majoritário, a luteína. Esta, por sua vez, teve seus teores diminuídos dos 25 até 50 dias, oscilando até os 60 dias onde teve grande aumento, tornando-se outra vez majoritária. A zeaxantina atingiu a sua maior concentração, assim como o araçá vermelho, por volta dos 30

dias. Ao final de 132 dias, nove dos quatorze carotenóides analisados tiveram aumento significativo, entre eles o α - e o β -caroteno (Cortés et al., 2005).

Em estudo com castanhas colhidas em dois anos diferentes e congeladas a 0 °C por 90 dias após a colheita, o teor total de carotenóides diminuiu 48,9 % em um dos cultivares e 33,0 % no outro enquanto o teor de luteína diminuiu 62,5 e 26,9 %, o de β -caroteno 40 e 12,5 % e os carotenóides minoritários de 44,4 e 33,3 % quando comparado a amostra *in natura* (Do Carmo et al., 2010).

Em relação ao aumento nos teores de carotenóides durante o congelamento para o guabiju, congelado por 90 dias, e para o araçá vermelho, congelado por 30 dias (Tabela 4), as matrizes analisadas (Rodríguez-Amaya, 1997), o tempo de congelamento aliado as diferenças no comportamento dos carotenóides durante o congelamento (Cortés et al., 2005) podem influenciar na retenção dos carotenóides após congelamento. Ainda, a biossíntese de carotenóides pode continuar após a colheita, desde que o material seja mantido intacto, pois preservará, dessa forma, o sistema enzimático responsável pela carotenogênese, sendo fator determinante ainda a matriz (Rodríguez-Amaya, 1997). Aliada a esses fatores, o aumento desses compostos ainda pode ter ocorrido devido à ruptura e descompactação dos tecidos, o que facilitaria o contato do solvente e melhoraria a extração no momento da análise (Kerr, 2004).

A liofilização foi capaz de manter a quantidade total de carotenóides em ambos os frutos em relação a amostra congelada por 30 dias (Tabela 4), pois é capaz de diminuir as reações químicas evitando degradação dos antioxidantes pela retirada da umidade (Larrauri et al., 1998). No entanto, provavelmente pelas diferenças das matrizes e da natureza dos carotenóides, estes reagiram de diferentes formas após a liofilização. A luteína foi o único carotenóide mantido em ambos os frutos e a zeaxantina ainda foi mantida no araçá vermelho. No guabiju a zeaxantina e o β -caroteno sofreram redução significativa enquanto no araçá vermelho a β -criptoxantina e o α -caroteno tiveram decréscimos significativos. O β -caroteno teve seus teores aumentados significativamente após a liofilização para o araçá vermelho, enquanto a β -criptoxantina e o α -caroteno para o guabiju.

3.3 Antocianinas

O perfil de antocianinas encontradas para o araçá vermelho e para o guabiju estão expressas nas Tabelas 3 e 4, respectivamente, por ordem de eluição.

Tabela 3 – Antocianinas encontradas para o araçá vermelho (*Psidium cattleianum* SABINE) com suas respectivas concentrações ($\mu\text{g/g}$ de fruto em amostra seca)

	Concentração ($\mu\text{g}/100\text{g}$ de fruto em amostra seca)				
	<i>In natura</i>	Congelado 30 dias	Congelado 90 dias	Liofilizado	Seco por ar quente (70 °C)
Cy-3-gli	354,7 \pm 45,1 ^a	223,3 \pm 2,8 ^b	33,6 \pm 3,1 ^{cd}	101,1 \pm 0,5 ^c	11,3 \pm 1,8 ^d
Mv-3-gli	243,6 \pm 2,1 ^a	238,4 \pm 24,8 ^a	211,6 \pm 0,5 ^{ab}	165,4 \pm 10,7 ^b	Nd
Cy	87,6 \pm 5,8 ^b	35,3 \pm 1,37 ^c	101,1 \pm 0,7 ^a	43,1 \pm 2,1 ^b	Nd
Total	685,9	497,0	346,3	309,6	11,3

Cy 3-gli: Cianidina 3-glicosídeo; Mv 3-gli: Malvidina 3-glicosídeo; Cy: Cianidina clorídeo

nd: not detected

Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$).

Todas as análises foram feitas em duplicata e os resultados estão expressos em amostra seca.

Tabela 4 – Antocianinas encontradas para o guabiju (*Myrcianthes Pungens*) com suas respectivas concentrações ($\mu\text{g/g}$ de fruto em amostra seca)

	Concentração ($\mu\text{g}/\text{g}$ de fruto em amostra seca)				
	<i>In natura</i>	Congelado 30 dias	Congelado 90 dias	Liofilizado	Seco por ar quente (70 °C)
Dp-3-gli	4249,3 \pm 70,7 ^c	5770,8 \pm 183,9 ^b	6080,9 \pm 141,4 ^b	7761,0 \pm 98,9 ^a	194,0 \pm 26,1 ^d
Cy-3-gli	134,6 \pm 1,4 ^b	156,8 \pm 0,4 ^{ab}	194,6 \pm 24,4 ^a	164,8 \pm 13,7 ^{ab}	70,4 \pm 6,6 ^c
Mv-3-gli	7223,5 \pm 82,5 ^a	7024,2 \pm 2728,6 ^{ab}	5430,2 \pm 15,6 ^b	7208,0 \pm 285,8 ^{ab}	391,3 \pm 0,0 ^c
Cy	232,7 \pm 18,4 ^{ab}	291,3 \pm 74,6 ^a	150,8 \pm 2,8 ^{bc}	125,0 \pm 3,4 ^{bc}	22,2 \pm 2,8 ^c
Mv	111,2 \pm 5,4 ^{ab}	130,9 \pm 26,73 ^a	68,5 \pm 3,11 ^b	67,6 \pm 1,2 ^b	13,4 \pm 1,8 ^c
Pn	195,2 \pm 89,5 ^{ab}	232,1 \pm 47,78 ^a	118,9 \pm 1,48 ^b	119,1 \pm 1,3 ^b	26,0 \pm 0,1 ^c
Total					
Mv	11951,3	13374,0	11925,0	15326,4	691,3
Pn	12035,3	13475,2	11975,4	15377,9	703,9

Dp 3-gli: Delfinidina 3- β -D-Glicosídeo; Cy 3-gli: Cianidina 3-glicosídeo; Mv 3-gli: Malvidina-3-glicosídeo;

Cy: Cianidina clorídeo; Mv: Malvidina clorídeo; Pn: Peonidina clorídeo.

Malvidina coeluiu com Peonidina.

Letras diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$).

Todas as análises foram feitas em duplicata e os resultados estão expressos em amostra seca.

Não foram encontradas, tanto para o araçá vermelho quanto para o guabiju, as antocianinas cianidina-3,5-di-glicosídeo, pelargonidina 3-5-di-glicosídeo, malvidina 3,5-diglicosídeo, pelargonidina 3-glicosídeo, delfinidina clorídeo, pelargonidina clorídeo.

O total de antocianinas encontrado no guabiju foi maior do que o encontrado para o araçá no fruto *in natura* e também em todos os processos justamente pela maior variedade

de antocianinas presentes no fruto (Tabelas 3 e 4). Vários fatores podem influenciar a composição das antocianinas. Diferenças entre cultivares alteram teores de maneira quantitativa e qualitativa enquanto o amadurecimento pode ocasionar o aumento de pigmentos (Baldi et al., 1995; Boyles e Wrolstad, 1993). Fatores ambientais, como luz e temperatura, também já foram citados por influenciar o perfil de antocianinas (Giusti et al., 1998).

A maior quantidade de antocianinas, encontrada no araçá vermelho, foi na amostra *in natura*, principalmente pela contribuição de cianidina 3-glicosídeo, que se destacou com 51,7 % do total das antocianinas. Esta antocianina também foi a única encontrada após o processo de secagem (Tabela 3). Zanatta et al. (2005) estudando camu-camu, também encontraram tal antocianina como predominante, com 89,5 % do total no fruto *in natura*, dentre as cinco antocianinas detectadas. Nas cultivares de groselha esta antocianina destacou-se variando aproximadamente de 48 a 66 % nos cultivares, enquanto para baga de sabugueiro, a cianidina 3-glicosídeo atingiu teores de aproximadamente 54 % (Wu et al., 2004). Na amostra congelada por 30 e 90 dias e na liofilizada a malvidina 3-glicosídeo destacou-se, com 48,0, 67,7 e 53,4 % do total, respectivamente.

Para o guabiju, nas amostras *in natura*, congelada por 30 dias e seca por ar quente a maior contribuição foi dada pela antocianina malvidina 3-glicosídeo, com aproximadamente 60, 52 e 57 % do total do fruto respectivamente. Nas amostras congelada por 90 dias e liofilizada a delphinidina 3- β -D-glicosídeo destacou-se com aproximadamente 51 % e 50 % do total (Tabela 4).

Em variedades de uvas, tais como merlot, vranec, cabernet sauvignon e pinot noir a malvidina 3-glicosídeo é predominante com teores de aproximadamente 38 a 67 % (Dimitrovska et al., 2011). A variedade merlot ainda possui a delphinidina 3-glicosídeo como o segundo composto mais abundante, enquanto nas demais variedades os teores variam de 3,1 a 4,5 %. Em mirtilos, a malvidina 3-glicosídeo apresentou-se de forma majoritária seguida da delphinidina 3-glicosídeo (Kader et al., 1996; Skrede et al., 2000).

O processo de congelamento foi diferente para os frutos (Tabelas 3 e 4). O araçá vermelho congelado teve redução após 30 dias de congelamento, sendo esta mais acentuada aos 90 dias (27,5 % em relação a amostra congelada por 30 dias e 54,4 % em relação a amostra *in natura*). Diferente do araçá vermelho, o guabiju, teve seus teores aumentados no congelamento. O aumento chegou a 12 % após 30 dias, tendo, aos 90 dias de congelamento decréscimo dos teores, assemelhando-se aos teores da amostra *in natura*.

Em estudos com quatro variedades de framboesa *in natura* e congelados (-20 °C) por 360 dias o teor de antocianinas das variedades teve diferentes perfis. Os maiores e menores teores, respectivamente, para a variedade *Autumn Bliss* foi aos 0 e 180 dias de congelamento, para variedade *Rubi* quando *in natura* e 180 dias de congelamento, a variedade *Zeva* quando *in natura* e 270 dias de congelamento e a variedade *Heritage* aos 0 dias de congelamento e *in natura*. Aos 90 dias de congelamento, as variedades *Autumn Bliss*, *Rubi* e *Zeva*, tiveram decréscimo de 13,5 %, 18,0 % e 14,8 % respectivamente, enquanto a variedade *Heritage* teve seus teores elevados 12,5 %. No final do estudo, duas variedades, *Rubi* e *Zeva*, tiveram seus teores diminuídos em relação a amostra *in natura*, enquanto as *Autumn Bliss* e *Heritage*, tiveram seus teores aumentados (De Ancos et al., 2000).

A estabilidade das antocianinas no fruto ainda depende da concentração inicial destas no fruto *in natura*, aliada a outros fatores, como pH, ácidos orgânicos e conteúdo de açúcares. Altas concentrações iniciais de antocianinas, altos teores de sólidos solúveis e baixo pH, contribuiriam para a preservação do teor total de antocianinas no congelamento (Boyles e Wrolstad, 1993; Wrolstad et al., 1993). Oszmianski et al. (2009), ao estudar morangos, durante seis meses de armazenamento congelado (-20 °C), verificaram que o conteúdo de compostos fenólicos, incluindo antocianinas como cianidina 3-glicosídeo, nas amostras decresceram entre 17,8 % e 36,5 % nas variedades analisadas. Estudo com cerejas apontou perdas de antocianinas de 66 % no congelamento por três meses a -23 °C, enquanto após seis meses essa degradação chegou a 87 % (Chaovanalikit e Wrolstad, 2004).

Ainda, para o araçá vermelho, podem ter ocorrido perdas no congelamento/descongelamento pela sensibilidade do fruto, que possui casca frágil. Este fato pode ter facilitado a ruptura desta e a oxidação pela ação enzimas endógenas presentes nos tecidos das plantas, como glicosidases, polifenoloxidasas e peroxidases (Francis, 1989). Além disso, a degradação no araçá vermelho pode ser causada pela sua composição química. Estudos apontam a cianidina-3-glicosídeo como uma das mais reativas durante o processamento (De Ancos et al., 2000).

O acréscimo do teor de antocianinas do guabiju (Tabela 3) durante o congelamento pode ter ocorrido devido à biossíntese que continua no fruto durante o armazenamento ou o aumento da disponibilidade de antocianinas livres como já encontrado em framboesas por Liaqat et al. (2011) amoras-preta por Basiouny (1995) e laranja vermelha por Lo Piero et al. (2005). Durante o armazenamento, ácidos orgânicos, através da interconversão com

carboidratos, podem fornecer esqueletos de carbono para a síntese de fenólicos, incluindo antocianinas (Kalt et al., 1999).

A secagem por ar quente diminuiu os níveis de antocianinas sendo encontrado para a aração vermelho somente a cianidina-3-glicosídeo, tendo degradação maior do que 98 %. No guabiju, a malvidina-3-glicosídeo foi a antocianina que esteve presente em maior quantidade após a secagem. Nesse fruto a degradação foi de aproximadamente 94 % (Tabelas 3 e 4).

As altas temperaturas e concentrações de oxigênio na secagem por ar quente levam à rápida degradação das antocianinas pela oxidação e condensação dos compostos fenólicos (Asami et al., 2003). Em estudos com duas variedades de ameixas secas, a secagem por ar quente a 60 e 85 °C levou a total destruição da cianidina 3-rutinosídeo presente em uma das variedades enquanto na outra permaneceram apenas traços desta antocianina (Piga et al., 2003). Em estudo com duas variedades de amoras pretas secas observou-se perdas de 56 % e 84 % após secagem por ar quente (Wu et al., 2010).

A liofilização, também não foi eficiente para manter os níveis de antocianinas no aração vermelho (Tabela 3). As amostras liofilizadas após 30 dias de congelamento, tiveram redução de 54,9 % o total de antocianinas em relação a amostra *in natura* e 37,3 % na amostra congelada por 30 dias. No entanto, para o guabiju (Tabela 3), o processo de liofilização após o congelamento, demonstrou-se uma boa opção, pois foi capaz de reter os níveis da antocianina malvidina 3-glicosídeo, majoritária no fruto. Em relação ao aumento da delphinidina 3- β -D-glicosídeo, provavelmente deve ter ocorrido maior facilidade do contato do solvente com a amostra aumentando a extração desta antocianina (Asami et al., 2003).

Estudo com duas variedades de amoras preta liofilizadas demonstraram que as diferenças da composição pode influenciar em acréscimos ou perdas após a liofilização. Na variedade *Evergreen* houve aumento de 5,5 % das antocianinas, enquanto a variedade *Marion* teve decréscimo de 25 % nas antocianinas (Wu et al., 2010).

4 Conclusão

Pelos resultados obtidos nas análises pode-se concluir que os frutos estudados são boas fontes de carotenóides e antocianinas. O guabiju destacou-se em relação ao aração vermelho tendo *in natura* maior teor tanto de antocianinas quanto de carotenóides o que provavelmente favoreceu seus maiores teores após processamento. Fato esse que ainda favoreceu a maior atividade antioxidante deste fruto em ambos os métodos utilizados e em todos os processos, inclusive *in natura*.

Em relação ao processamento, não existe um método ideal para ambos os frutos devido à diferente composição destes. Os teores de carotenóides somente diminuíram após a secagem para o guabiju, enquanto para o araçá vermelho houve decréscimo após secagem e congelamento por 90 dias.

O processamento teve maior influência para o araçá vermelho principalmente em relação as antocianinas, onde o processo de congelamento, liofilização e secagem, diminuíram a quantidade destes compostos.

No guabiju, o congelamento foi benéfico aumentando ou mantendo os teores de antocianinas, enquanto a liofilização nesse fruto foi capaz de aumentá-los, provavelmente pela facilidade do contato com o solvente, sendo estes degradados somente após a secagem.

5 Referências Bibliográficas

ASAMI, D. K.; HONG, Y.; BARRETT, D. M.; MITCHELL, A. E. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried Mari-onberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.51, p.1237-1241. 2003.

BALDI, A.; ROMANI, A.; MULINACCI, N.; VINCIERI, F. F.; CASETTA, B. HPLC/MS application to anthocyanins of *Vitis Vinifera* L. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.43, p.2104-2109. 1995.

BALL, G. F. M. **Vitamins in foods: analysis, bioavailability, and stability**. Boca Raton: CRC Press, 2006. 785 p.

BOYLES, M. J.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanin composition of red raspberry juice: Influences of cultivar, processing, and environmental factors. **Journal of Food Science**, v.58, p.1135-1141. 1993.

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

BASIOUNY, M. F. Ethylene evolution and quality of blackberry fruit as influenced by harvest time and storage intervals. **Acta Horticulturae**, p.195-204. 1995.

CONNOR, A. M.; LUBY, J. J.; HANCOCK, J. F.; BERKHEIMER, S.; HANSON, E. J. Changes in Fruit Antioxidant Activity among Blueberry Cultivars during Cold-Temperature Storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.893-898. 2002.

CHAOVANALIKIT, A.; WROLSTAD, R. E. Total Anthocyanins and Total Phenolics of Fresh and Processed Cherries and Their Antioxidant Properties. **Journal of Food Science**, v.69, n.1, p.67-72. 2004.

CHEN, J. P.; TAI, C. Y.; CHEN, B. H. Effects of different drying treatments on the stability of carotenoids in Taiwanese mango (*Mangifera indica* L.) **Food Chemistry**, v.100, p. 1005–1010. 2007.

CORTÉS, C.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A.; TORREGROSA, F. Changes in carotenoids including geometrical isomers and ascorbic acid content in orange–carrot juice during frozen storage. **European Food Research Technology**, v.221, p.125–131. 2005.

DE ANCOS, B.; IBAÑEZ, E.; REGLERO, G.; CANO, M. P. Frozen Storage Effects on Anthocyanins and Volatile Compounds of Raspberry Fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.873-879. 2000.

DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid composition of two Brazilian genotypes of acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) from two harvests. **Food Research International**, v.38, p.1073–1077. 2005.

DE SÁ, M. C.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Optimization of HPLC quantification of carotenoids in cooked green vegetables – Comparison of analytical and calculated data. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.17, p.37–51. 2004.

DIMITROVSKA, M.; BOCEVSKA, M. ; DIMITROVSKI, D.; MURKOVIC, M. Anthocyanin composition of Vranec, Cabernet Sauvignon, Merlot and Pinot Noir grapes as indicator of their varietal differentiation. **European Food Research Technology**, v.232, p.591–600. 2011.

DI MASCIO, P.; KAISER, S.; SIES, H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Archives of Biochemistry and Biophysical**, v.274, p.532–538. 1989.

DO CARMO, M.; DE VASCONCELOS, B. M.; NUNES, F.; VIGUERA, C. G.; BENNETT, R. N.; ROSA, E. A. S.; FERREIRA-CARDOSO, J. V. Industrial processing effects on chestnut fruits (*Castanea sativa* Mill.) 3. Minerals, free sugars, carotenoids and antioxidant vitamins. **International Journal of Food Science and Technology**, v.45, p.496–505. 2010.

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v.28, p.273-314. 1989.

GAMA, J. J. T.; SYLOS, C. M. Effect of thermal pasteurization and concentration on carotenoid composition of brazilian valencia orange juice. **Food Chemistry**, v.100, p.1686–1690. 2007.

- GARCIA-PEREZ, J. V.; GARCÍA-ALVARADO, M. A.; CARCEL, M. A.; MULET, A. Extraction kinetics modeling of antioxidants from grape stalk (*Vitis vinifera* var. Bobal): Influence of drying conditions. **Journal of Food Engineering**, v.101, p.49–58. 2010.
- GIUSTI, M. M.; RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; BAGGETT, J. R.; REED, G. L.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanin pigment composition of red radish cultivars as potential food colorants. **Journal of Food Science**, v.63, p.219-224. 1998.
- GODOY, H. T.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Occurrence of cis-Isomers of Provitamin A in Brazilian Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, p.1306-1313. 1994.
- HASSIMOTTO, N. M. A.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary vegetables, fruits and commercial frozen fruits pulp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.8, p.2928-2935. 2005.
- KADER, F.; ROVEL, B.; GIRARDIN, M.; METCHE, M. Fractionation and identification of the phenolic compounds of Highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum*, L.). **Food Chemistry**, v.55, p.35–40. 1996.
- KALT, W., FORNEY, C. F., MARTIN, A., PRIOR, R. L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.4638–4644. 1999.
- KERR, W. L. 2004. **Texture in frozen foods**. In Handbook of Frozen Foods, (Y. H. Hui, P. Cornillon, I. G. Legaretta, M. H. Lim, K. D. Murrell, and W. K. Nip, eds.) pp. 149–168, Marcel Dekker, Inc., New York, NY.
- KUSKOSKI, M.; ASUERO, A.; TRONCOSO, A. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726–732. 2005.
- LARRAURI, J. A.; SANCHEZ-MORENO, C.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.2694–2697. 1998.
- LEDL, F.; SCHLEICHER, E. New aspects of the Maillard reaction in foods and in human body. **Angew. Chemistry International**. v.29, p.565- 594. 1990.
- LEJAA, M.; MARECZEKA, A.; BENB, J. Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage, **Food Chemistry**, v.80, p.303–307. 2003.
- LIAQAT A.; SVENSSON, B.; ALSANIUS, B. W.; OLSSON, M. E. Late season harvest and storage of Rubus berries—Major antioxidant and sugar Levels. **Scientia Horticulturae**, v.129, p.376–381. 2011.

LÓPEZ-NICOLAS, M. J.; GARCÍA-CARMONA, F. Enzymatic and Nonenzymatic Degradation of Polyphenols. In: **Fruit and vegetables Phytochemicals** (editado por L. de la Rosa, E. Alvarez-Parrilla and G. González-Aguilar). Iowa: Wiley-Blackwell Publishing, 2010. p.101–103.

LO PIERO, A. R.; PUGLISI, I.; RAPISARDA, P.; PETRONE, G. Anthocyanins accumulation and related gene expression in red orange fruit induced by low temperature storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.9083–9088. 2005.

MAIANI, G.; PERIAGO, C. M. J.; CATASTA, G.; TOTI, E.; GOÑI, C.I.; BYSTED, A.; GRANADO-LORENCIO, F.; OLMEDILLA-ALONSO, B.; KNUTHSEN, P.; VALOTI, M.; BÖHM, V.; MAYER-MIEBACH, E.; BEHSNILIAN, D.; SCHLEMMER, U. Carotenoids: actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. **Molecular Nutrition and Food Research**, Weinheim, v.53, suppl. 2, p.194-218, Sep. 2009.

MANZOCCO, L.; CALLIGARIS, S.; MASTROCOLA, D.; NICOLI, M.; LERICI, C. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods, **Trends in Food Science and Technology**, v. 11, p. 340– 346. 2001.

MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.1, p.128-130. 1998.

MIRANDA, M.; MAUREIRA, H.; RODRÍGUEZ, K.; VEGA-GÁLVEZ, A. Influence of temperature on the drying kinetics, physicochemical properties, and antioxidant capacity of Aloe Vera (*Aloe Barbadensis* Miller) gel. **Journal of Food Engineering**, v.91, p.297–304. 2009.

MÜLLER, L.; FRÖHLICH, K.; BÖHM, V. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (aTEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. **Food Chemistry**, v.129, p.139-148. 2011.

OSZMIANSKI, J.; WOJDYTO, A.; KOLNIAK, J. Effect of L-ascorbic acid, sugar, pectin and freeze–thaw treatment on polyphenol content of frozen strawberries. **Food Science and Technology**, v.42, p.581–586. 2009.

PADDA, M. S.; PICHA, D. H. Effect of low temperature storage on phenolic composition and antioxidant activity of sweetpotatoes, **Postharvest Biology and Technology**, v.47, p.176–180. 2008.

PELLEGRINI, N.; CHIAVARO, E.; GARDANA, C.; MAZZEO, T.; CONTINO, D.; GALLO, M.; RISO, P.; FOGLIANO, V.; PORRINI, M. Effect of different cooking methods

on color, phytochemical concentration, and antioxidant capacity of raw and frozen Brassica vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.4310-4321. 2010.

PIGA, A.; DEL CARO, A.; CORDA, G. From Plums to Prunes: Influence of Drying Parameters on Polyphenols and Antioxidant Activity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.51, p.3675-3681. 2003.

PORCU, O. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Variation in the carotenoid composition of acerola and its processed products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.86, p.1916–1920. 2006.

PROVESI, J. G.; DIAS, C. O.; AMANTE, E. R. Changes in carotenoids during processing and storage of pumpkin puree. **Food Chemistry**, v.128, p.195–202. 2011.

QUE, F.; MAO, L.; FANG, X.; WU, T. Comparison of hot airdrying and freeze-drying on the physicochemical properties and antioxidant activities pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch) flours, **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.1195–1201. 2008.

RAPISARDA, P.; LO BIANCO, M.; PANNUZZO, P.; TIMPANARO, N. Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], **Postharvest Biology and Technology**, v.49, p.348–354. 2008.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, Nos. 9/10, p.1231–1237. 1999.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods**. Washington, DC: OMNI, 1997. 93 p.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE.; 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, p.996–1002. 2010.

SCOTT, C. E.; ELDRIDGE, A. L. Comparison of carotenoid content in fresh, frozen and canned corn **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, p.551–559. 2005.

SKREDE, G.; WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). **Journal of Food Science**, v.65, p.357–364. 2000.

VAN'T VEER, P., JANSON, M., KLERT, M., KOK, F. Fruits and vegetables in the prevention of cancer and cardiovascular disease. **Public Health Nutrition**, v.3, p.103–107. 2000.

VÁSQUEZ-CAICEDO, A. L.; SCHILLING, S.; CARLE, R.; NEIDHART, S. Impact of packaging and storage conditions on colour and b-carotene retention of pasteurised mango purée. **European Food Research Technology**, v.224, p.581– 590. 2007.

WROLSTAD, R. E.; MCDANIEL, M. R.; DURST, R. W.; MICHAELS, N.; LAMPI, K. A.; BEAUDRY, E. G. Composition and sensory characterization of red raspberry juice concentrated by direct-osmosis or evaporation. **Journal of Food Science**, v.58, p.633-637. 1993.

WU, X.; PRIOR, R. L. Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the United States: Fruits and berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.7, p.2589-2599. 2005a.

WU, X.; PRIOR, R. L. Identification and characterization of anthocyanins by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-Tandem mass spectrometry in common foods in the United States: vegetables, nuts, and grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.8, p.3101-3113. 2005b.

WU, X.; GU, L.; PRIOR, R. L.; MCKAY, S. Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and their antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.26, p.7846–7856. 2004.

WU, R.; FREI, B.; KENNEDY, J. A.; ZHAO, Y. Effects of refrigerated storage and processing technologies on the bioactive compounds and antioxidant capacities of ‘Marion’ and ‘Evergreen’ blackberries. **Food Science and Technology**, v.43, p.1253-1264. 2010.

ZANATTA, C. F.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu–camu (*Myrciaria dubia*) **Food Chemistry**, v.101, p.1526–1532. 2007.

ZANATTA, C. F.; CUEVAS, E.; BOBBIO, F.O.; WINTERHALTER, P.; MERCADANTE, A.Z. Determination of anthocyanins from camu-camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS and NMR. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.53, n.24, p.9531-9535. 2005.

4.3 Antioxidant action of guabiju (*Myrcianthes Pungens*) and red guava (*Psidium Cattleianum* SABINE) against cisplatin-induced toxicity in rats.

Cleice Dalla Nora^{*1,2}, Daiane Danelli^{*1}, Eduardo Vieira Steckert^{*1}, Lucécia Fátima Souza^{*1},
Alessandro de Oliveira Rios^{*1}, Erna Vogt de Jong^{*1}, Simone Hickmann Flôres^{*1}

^{*1} *Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Bento Gonçalves, n. 9500, CP 15090, CEP 91501-970, Porto Alegre (RS, Brasil).*

^{*2} *Corresponding author. E-mail address: cleicenator@gmail.com*

Summary

The consumption of fruits is related to a low incidence of chronic degenerative diseases because of the variety of compounds they contain, the interaction between them and their antioxidant potential. Cisplatin is an important anti-tumor agent, but its toxicity has become apparent, which is directly involved with oxidative stress. The present study was carried out to examine the antioxidant potential of two fruits native to the south of Brazil, with respect to combating the toxicity of cisplatin in male *Wistar* rats. The cisplatin-treated animals showed high TC, LDL, ox-LDL and glucose levels. The native fruits acted by protecting the animals against the toxicity caused by the cisplatin. The fat levels in the liver improved with supplementation by the fruits, and there were no differences in the TBARS, creatine, urea or HDL levels, nor in the weight of the organs analyzed, indicating that the dose used was not capable of affecting these markers.

Keywords: Red guava, guabiju, cisplatin, *Wistar* rats.

Introduction

Fruits and vegetables contain healthy compounds which, in addition to flavor, add minerals, important vitamins, bioactive substances and fibers to the diet. Studies have proven that the consumption of fruits is related to a low incidence of chronic degenerative diseases due to the combination of these nutrients and their antioxidant potential (Ruxton et al., 2006; Van't Veer et al., 2000)

The benefits of native and exotic fruits have been reported in various studies. There is no doubt that the fruits in the diet provide compounds capable of inhibiting various diseases and of contributing to a balanced diet (Iwasawa et al., 2010). The ingestion of the benefic compounds available in foods is of great importance, since human beings do not produce sufficient endogenous antioxidants to act against the free radicals, formed by various mechanisms and considered important disease-causing factors as well as factors

involved in the ageing process, and hence require complementation from the diet (Alma et al., 2003).

Various compounds have already been recognized as inhibitors or responsible for a reduction in oxidative stress (Sies and Stahl, 1995), like as polyphenols, tocopherols, ascorbic acid, uric acid, glutathione and other thiolic protein groups, all protect the functionality and structural integrity of biological molecules such as proteins, lipids and nucleic acids (Anderson and Phillips, 1999; Tavazzi, 2000), but it is known that the abundance or predominance of a determined compound does not necessarily signify that this is the only one acting in the organism (Hercberg et al., 1998). Thus *in vivo* studies are important when there is synergism with the other components. In addition, many *in vitro* studies can under or overestimate the antioxidant activity, since each method has its mode of action (Müller et al., 2011).

Thus it is important to increase the ingestion of antioxidants in the diet and is important to identify potential, efficient natural sources of antioxidants. There are many as yet unknown fruits that could attend this need, amongst which the red guava (*Psidium cattleianum* SABINE) and guabiju (*Myrcianthes Pungens*). The red guava is a spherical fruit, crowned by persistent sepals, with red color when ripe, and many small seeds surrounded by soft, whitish succulent pulp. It has a very pleasant sweet-acid flavor. The guabiju is a spherical, velvety fruit with a succulent, yellowish pulp, pleasant sweet taste, and generally has a single stone in the center with a purplish color when ripe.

Cisplatin (*cis*-diamminedichloroplatinum II) stands out amongst the anti-tumor agents for its high activity, and has shown activity against a variety of tumors (Atessahin, 2005). However it presents serious side effects against non-tumor cells, induces kidney damage, causes changes in the volume of urine and in the status of glutathione, and increases the lipid peroxidation products (Hannemann and Baumann, 1988). This anti-tumor agent was capable of generating active oxygen species such as superoxide and hydroxyl radicals (Atessahin, 2005) and of inhibiting the activity of antioxidant enzymes in kidney tissue (Klahr, 1997). Chemotherapy with cisplatin induces a fall in the levels of antioxidants in the plasma, which could involve a failure in the antioxidant defense mechanism against the damage caused by free radicals produced by anti-tumor drugs (Weijl et al., 1998). The nephrotoxic effects it produces in rats are similar to those produced in humans (Jones et al., 1985).

Due to these factors, two fruits of the Myrtaceae family, both native to the State of Rio Grande do Sul, Brazil, namely guabiju (*Myrcianthes Pungens*) and red guava (*Psidium*

Cattleyanum SABINE), were chosen to evaluate the possible protection that a diet to which these fruits were added could provide against damage induced by the drug cisplatin.

Material and methods

Preparation of the fruits

The samples of guabiju came from the region of Viamão, Rio Grande do Sul, Brazil (30° 04' 52" south, 51° 01' 24" west, 111 m altitude) and the samples of red guava from the city of Estrela Velha, Rio Grande do Sul, Brazil (29° 10' 36" south, 53° 09' 33" west, 394 m altitude). The fruits were incorporated in the ICN Herbarium of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), under the number of collector C. Dalla Nora 172539 and 172540 for guabiju and for red guava, respectively. The fruits were selected according to their uniformity of maturation and absence of injury. They were maintained frozen (-10 °C) until the start of each analysis.

The fruits were subsequently frozen in an ultrafreezer (Liotop) (-80 °C) for 24 h and then placed in the freeze dryer (Liotop, model L 101) (-54 °C) for three days. After removing from the freeze dryer, they were immediately vacuum packed (Fastvac, model F 200 Flash vacuum packer) in polyethylene bags and frozen (-10 °C) until analyzed, when they were ground in a microprocessor (Arno, model Performa Magiclean Duetto) until a fine powder was obtained. To obtain a powder red guava was used all the fruit while the guabiju powder the seed was removed and mixed the pulp and peel.

Biological assay

The biological assay was carried out in the Biotery of the Department of Food Science of the Institute of Food Science and Technology (ICTA - UFRGS), Brazil, for five weeks, and was approved by the Ethics and Animal Welfare Committee of the same university on 06/12/2010 (protocol n° 19569). Twenty-four male *Wistar* rats were used in the experiments, each weighing about 200 grams, obtained from the UFRGS Biotery Center.

All the animals had free access to water and commercial feed (NUVITAL®) throughout the experiment. Every day, 10 grams of the pellets were ground, mixed with the powdered freeze-dried fruits, placed in pots and offered to the animals during the night.

The amounts of fruits used, both for the red guava and guabiju, were established in a pilot test, where a daily ingestion of 300 g of *in natura* fruit was determined for a 70 kg adult. Thus the appropriate amount was calculated according to the body weight of the

animals, and corrected for the dry weight content. The animals were weighed every other day to correct the amount of fruit offered.

During the experiment, the fruits were maintained frozen (-10 °C) under vacuum to avoid oxidation. The animals were housed in individual cages at a room temperature of 22 ± 2 °C with a 12 hour light/dark period and a relative humidity of 70 to 80 %. They were divided at random into 4 groups, each with 6 rats, with their respective diets, as follows: CG (control group), which only received the commercial feed, CPG (cisplatin group), which received the commercial feed plus cisplatin; CPRG (Cisplatin/red guava group), which received commercial feed plus cisplatin supplemented with red guava; and CPGG (Cisplatin/guabiju group), which received commercial feed plus cisplatin supplemented with guabiju.

To induce oxidative stress, a single dose of cisplatin (5 mg/kg) (Evangelista et al., 2004), which was kindly donated in its commercial formulation by Quiral Química do Brasil S.A. (Platinil[®]), was administered 48 hours before the end of the experiment (Silva et al., 2001). A 0.9 % saline solution was injected in the case of the group that only received the commercial feed (control group).

Determination of the physicochemical composition

The following determinations were made, in triplicate, on the freeze-dried samples: moisture content (by gravimetry at 105 °C); fixed mineral residue (muffle furnace at 550 °C); ether extract (Soxhlet) and protein (Kjeldahl, with a conversion factor of 5.75), all according to AOAC methods (1997). The total and reducing sugars were determined by the Lane-Eynon method (1934), and the non-reducing sugars from the difference between the total and reducing sugars, multiplied by a conversion factor of 0.95. The total carbohydrates were calculated by difference. Dietary fiber was determined by the enzymatic-gravimetric method using a Sigma-Aldrich kit.

Total titratable acidity (TTA) was determined by titration, pH directly using a pH meter (Quimis, model 400A) and total soluble solids (TSS) by refractometry (Atago[®] digital model pal-3), according to AOAC methodology (1997).

All the results were expressed with respect to 100g dry sample.

Control of body weight, consumption of diet and calculation of the food efficiency coefficient (FEC)

After a two day adaption period, the animals, divided into their respective groups, received the treatments with the fruits. The animals were weighed and the feed consumption measured every day until 48 h before the end of the study, when the adequate dose of cisplatin was given by intraperitoneal administration. The amount of diet ingested was determined from the difference in weight between that offered, the leftovers and the losses. The Food Efficiency Coefficient (FEC) was calculated from the weight control and feed ingestion data, showing the relationship between weight gain and consumption (Pellet and Young, 1980). All the indices were calculated for each animal, allowing the calculation of the means and standard deviation.

Evaluation of the blood profile

The method described by Rodrigues (2003) was used to take the blood samples, where the animals were sedated with benzodiazepine (0.25 mg/100g body weight) and anaesthetized with sodium pentobarbital (4.6 mg/100g body weight). Subsequently an incision was made at the Alba line for the entire ventral part, the blood collected from the ascending aorta, and immediately centrifuged at 3000xg to obtain the plasma, which was sent to the Pharmacy Laboratory of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Brazil, to carry out the determinations of total cholesterol (TC), triacylglycerols (TAG), HDL cholesterol, oxidized LDL cholesterol (ox-LDL), creatinine, urea, alanine amino transferase (ALT) and aspartate amino transferase (AST). LDL cholesterol was calculated using the Friedewald equation (1972). At the moment the blood sample was taken, the blood glucose level was determined with the aid of a glucose measurement apparatus (Johnson & Johnson One Touch Ultra[®]).

Weight of the organs

After collecting the blood, the liver, heart, spleen and right and left kidneys of each rat were removed, visually analyzed and weighed. The weights of the organs were related to the fasting weights of the rats.

Evaluation of the liver

Lipoperoxidation of the liver fat was determined by the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) method, which measures the level of malondialdehyde derived from

peroxidation, according to the methodology proposed by Ohkawa et al. (1979). The liver samples were homogenized with 0.01 mM Tris HCl buffer, pH 7.0 in the proportion of 1:10 mL, centrifuged at 2000 g for 10 minutes, and the supernatant used to determine the levels of thiobarbituric acid reactive substance. The products of the reaction were determined by spectrophotometry (Amersham, Model UV Vis Ultrospec-3100 Pro Amersham Bioscience) at 532 nm. Malondialdehyde was quantified using a calibration curve constructed with known concentrations and the results were expressed with nmol MDA/ g sample.

To determine the fat, the liver was ground (IKA model T25 Digital Ultra Turrax) and the fat extracted using the Bligh and Dyer method (1959). The results were expressed as g/100g sample.

Statistical analysis

The data were submitted to analysis of variance (ANOVA) to detect significant difference between the groups, and Tukey's test applied when there was a difference between the means.

Results and discussion

Physicochemical composition

Table 1 shows the results obtained for the physicochemical composition of freeze dried red guava and guabiju. After freeze drying the remaining moisture content of the red guava (30.7 %) was twice that of the guabiju (13.3 %).

Table 1 - Physicochemical composition of freeze dried red guava and guabiju

	Fruits	
	Red guava	Guabiju
Moisture	30.66±0.06 ^a	13.33±0.02 ^b
Ash	1.54±0.02 ^b	2.81±0.02 ^a
Protein	3.25±0.02 ^b	8.41±0.07 ^a
Lipid	0.71±0.01 ^b	0.82±0.01 ^a
Carbohydrate	39.19	55.58
Non-Reducing sugar	10.56±0.22 ^b	15.11±0.23 ^a
Reducing sugar	21.72±0.01 ^b	31.99±0.20 ^a
Dietary Fiber	55.31± 0.27 ^b	32.38±0.16 ^a
Total Soluble solids (TSS)	35±0.10 ^b	54±0.10 ^a
pH	3,31±0.01 ^b	4.71±0.04 ^a
Total Titratable Acidity (TTA) (% citric acid)	3,76±0.02 ^a	0.54±0.04 ^b

Values expressed as the mean ± standard deviation as g/100g dry matter.

Values in the same line with different letters indicate statistically significant differences between the means ($p \leq 0.01$), based on $n = 3$

The residual fixed mineral content of the guabiju was approximately twice that of the red guava, showing a statistical difference. Fruits, especially the non-domesticated ones, are rich in minerals (Kinupp and Barros, 2008), and some studies have indicated selenium and zinc as the antioxidant minerals involved in cell defense mechanisms against free radicals (Alfieri et al., 1998; Yiin and Lin, 1998). In a comparative study of the minerals of different native species, the following were found for red guava (*Psidium Cattleianum* Sabine), in decreasing order: potassium, calcium, phosphorus, magnesium, sulfur, sodium, manganese, iron, zinc, boron and copper (Kinupp and Barros, 2008). A similar study is required to obtain the mineral profile of guabiju.

A protein content of 3.3 % was found for red guava and of 8.4 % for guabiju, and thus the latter can be considered a high-protein fruit, as also other native fruits such as araçá-pitanga (*Eugenia multicostata*) and pessegueiro-do-mato (*Eugenia myrcianthes*), showing protein contents of 10.9 % and 8.1 % respectively (Kinupp and Barros, 2008).

Some amino acids, such as cysteine, methionine, *DL*-homocysteine and *N*-acetylcysteine have already been tested for their inhibition of the cytotoxicity of cisplatin by Kroning et al. (2000), and were shown to be efficient in capturing and complexing cisplatin.

Fruits are not generally sources of lipids, and the values found for both fruits in the present study were below 1 %. But the lipid fraction can be composed of unsaturated fatty acids, carotenoids and liposoluble vitamins, such as vitamins A and E, and than those compounds have been shown antioxidant characteristics (Stavric, 1994; Fotsis et al., 1997; Pool-Zobel et al., 1997).

Fruits have been shown to be good carbohydrate sources. The total carbohydrate content found in the red guava was about 40 %, and for guabiju, 55 %. After freeze drying the reducing sugar contents of both fruits were greater than the non-reducing sugar contents. In addition to significantly higher sugar and soluble solids contents and a higher pH, the guabiju showed significantly lower acidity than the red guava, characterizing it as a sweeter fruit.

The dietary fiber content of the red guava (55.31 ± 0.27) was 1.7 times higher than that of guabiju (32.38 ± 0.16). Dietary fiber is associated with a reduction in the occurrence of certain diseases and disorders, such as chronic intestinal disorders, obesity, type 2 diabetes, cardiovascular disease and cancer (Johnson, 2004; Kris-Etherton et al., 2002). The cereals are the usual sources of these components, but currently the demand for sub-products containing fruits and vegetables as the dietary fiber source is increasing, due to their greater nutritional quality, lower caloric value and greater antioxidant activity (Rodríguez et al.,

2006). In addition, the fruits present a better ratio between the soluble and insoluble fibers (Garau et al., 2007), a fact of importance for both the health and the technological characteristics (Grigelmo-Miguel and Martin-Belloso, 1999).

Control of body weight, diet consumption and the calculation of the food efficiency coefficient (FEC)

Table 2 shows the means obtained for weight gain (WG), consumption and food efficiency coefficient (FEC) for the animals that consumed native fruits or otherwise.

Table 2 - Weight gain (WG), consumption and food efficiency coefficient (FEC) for the animals that consumed native fruits or otherwise

	WG (g)	Consumption (g)	FEC
CG	105.67±27.51 ^a	918.20±75.63 ^a	0.11±0.02 ^a
CPG	128.72±24.82 ^a	932.85±94.07 ^a	0.14±0.01 ^a
CPRG	110.85±10.38 ^a	914.67±73.32 ^a	0.12±0.01 ^a
CPGG	123.70±25.03 ^a	891.16±53.68 ^a	0.14±0.02 ^a

CG - Control Group; CPG - Cisplatin Group; CPRG - Cisplatin/red guava Group; CPGG Cisplatin/guabiju Group.

Different letters in the same column indicate statistically significant differences between the treatments ($P < 0.05$), based on $n = 6$.

The groups that used diets supplemented with fruits (CPRG and CPGG) did not significantly increase in weight, although their diets represented increases in the consumption of sugars, proteins and lipids, probably because the phytochemicals present in fruits (Kao et al., 2000). In the present study the animals treated with fruits showed similar weight gain and food ingestion to those in the control group, indicating that supplementation with fruits did not cause changes in food efficiency (weight gain/food consumption) and suggesting there was no toxicity due to fruits tested.

Shukitt-Hale et al. (2009), on investigating the effect of supplementation with plum juice and plum powder on attenuating cognitive function deficits in elderly rats, also showed no increased weight gain in the animals supplemented with fruit in either of its forms. Similarly, Rodrigues et al. (2003), on administering an aqueous solution of the flavonoid rutin to verify serum biochemical parameters, lipoperoxides and antioxidant enzymes, observed no changes in weight gain or FEC as compared to the control group. However, in a study on supplementation with powdered tomato, Moreira et al. (2005) attributed the reduction in consumption to the palatability, which led to a reduced weight gain as compared to the control.

Weight of the organs

Table 3 shows the weights of the organs of the rats that consumed the native fruits and of those that did not, in relation to the fasting weights of the rats.

Table 3 - Organs weights in the weight of the fasted rat

	Liver	Heart	Spleen	Right Kidney	Left Kidney
GC	3.21±0.22 ^a	0.32±0.03 ^a	0.22±0.03 ^a	0.37±0.03 ^a	0.36±0.03 ^a
CPG	3.13±0.20 ^a	0.29±0.03 ^a	0.21±0.02 ^a	0.36±0.04 ^a	0.36±0.04 ^a
CPRG	3.26±0.50 ^a	0.33±0.04 ^a	0.19±0.03 ^a	0.38±0.05 ^a	0.40±0.07 ^a
CPGG	3.19±0.36 ^a	0.31±0.03 ^a	0.20±0.03 ^a	0.38±0.04 ^a	0.36±0.01 ^a

CG - Control Group; CPG - Cisplatin Group; CPRG - Cisplatin/red guava Group; CPGG Cisplatin/guabiju Group.

Different letters in the same column indicate statistically significant differences between the treatments ($P < 0.05$), based on $n = 6$.

Cisplatin often causes nephrotoxic damage (Hannemann and Baumann, 1988), however none of the organs showed any macroscopic lesion at the moment of removal. None of the organs showed any statistical difference in weight, which is important since an increase in weight could represent damage or lesion to the organ. Although the dose is often used in animals (Evangelista et al., 2004), the dose of cisplatin used in this study was four times bigger than is commonly administrated in humans (Jacobs et al., 1980).

Favareto et al. (2011), on administering a dose of 1 mg/kg of cisplatin five days a week for 3 weeks, found significant differences in the weights of the kidneys and liver of the test group as compared to the control group, a fact which could be explained by the higher doses received.

Evaluation of the blood profile

Table 4 shows the values obtained for total cholesterol, and for HDL, LDL and oxidized LDL cholesterol for the animals that consumed native fruits or otherwise.

Table 4 – Blood lipid profile for the animals that consumed native fruits or otherwise: Total cholesterol (TC), Triacylglycerols (TAG), and HDL, LDL and oxidized LDL cholesterol

	TC	TAG	HDL	LDL	Ox-LDL
	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(g/L)
CG	55.75±6.18 ^b	66.00±12.57 ^a	24.00±1.41 ^a	18.55±4.32 ^b	58.91±6.92 ^b
CPG	73.50±6.14 ^a	43.25±9.03 ^b	24.00±2.16 ^a	40.85±7.45 ^a	70.44±8.69 ^a
CPRG	58.75±6.75 ^b	48.50±6.61 ^{ab}	24.50±1.73 ^a	24.55±6.43 ^b	59.63±6.07 ^{ab}
CPGG	50.75±4.99 ^b	43.25±4.65 ^b	23.50±0.58 ^a	18.60±5.98 ^b	54.71±7.29 ^b

CG - Control Group; CPG - Cisplatin Group; CPRG - Cisplatin/red guava Group; CPGG Cisplatin/guabiju Group.

Different letters in the same column indicate statistically significant differences between the treatments ($P < 0.05$), based on $n = 6$.

The values for TC were significantly higher in the CPG group than in the other groups, indicating that the native fruits acted in reducing the effects of the cisplatin. The increase in TC in the CPG group was related principally to an elevation of the levels of LDL cholesterol (Table 4), since the values for HDL cholesterol suffered no alterations due to the supplementation with native fruits or the administration of cisplatin. Thus, with respect to LDL, the native fruits acted in reducing the effects of the cisplatin. The lowest values for ox-LDL were found for the CPGG group, and in the same way as for TC and LDL, the values were not significantly different from those for groups CPRG and CG.

On studying the snake fruit and mangosteen, two exotic fruits, Leontowicz et al., (2007) used cholesterol to study the effects of the fruits on reducing this substance. In this study the fruits acted by reducing the TC and LDL, but the HDL levels remained unaltered by either supplementation with the fruits or by the administration of cholesterol. These data corroborate those of the present study.

LDLs are susceptible to oxidation when there is a deficiency of antioxidants, both endogenous and exogenous, in the blood serum. The polyunsaturated fatty acids present in the triacylglycerols that form part of the central nucleus of the LDL, take part in this process as substrates, and the cholesterol present in the surface part and in the periphery of the LDL also has a part. Thus the oxidized LDL accumulates in the walls of the blood vessels, constituting one of the most important components of atheroma (Valenzuela et al., 1998).

Bioactive components found in plants, such as flavonoids and carotenoids, possess various benefic actions, amongst which an antioxidant action, related to the protection of the organism against the free radicals involved in the generation of various degenerative diseases such as arteriosclerosis and cardiovascular disorders (Cai et al., 1999; Fontana, et

al., 2000).

With respect to the TAG, the CG showed the highest values, differing significantly from the groups CPG, CPRG and CPGG. The group CPRG, however, although presenting low values and not differing significantly from the groups CPG and CPGG, also failed to differ significantly from the CG group.

Leontowicz et al. (2007), on studying the effects of snake fruit and mangoisteen administered to rats together with cholesterol, showed that the fruits acted by reducing the TAG levels. However, in that study, the TAG values increased when cholesterol was administered, to the contrary of the present study, where the administration of cisplatin did not raise the level of these substances.

The Table 5 shows the results obtained for the liver enzymes, creatine, urea and glucose of freeze dried red guava and guabiju. The liver enzymes, alanine amino transferase and aspartate amino transferase (ALT and AST, respectively) are present in the cytoplasm and mitochondria of the hepatocytes. Injury or destruction of hepatic cells liberates these enzymes for circulation (Stockham and Scott, 2002). In the present study, supplementation with red guava increased the levels of ALT as compared to the CPG and CPGG groups, although this last did not differ from those of the CG. Supplementation with red guava also increased the levels of AST as compared to all the other groups. However the effect of red guava is not completely clear. The increase in the enzyme AST in the plasma was probably related to the effect of the treatment. In the case of hepatic necrosis, the levels of the two enzymes are equally increased (Fernandes et al., 2002), which did not occur in the present study.

Table 5 – Profile of the enzymes aspartate amino transferase and alanine amino transferase, creatinine, urea and glucose in the blood of animals that consumed the native fruits or otherwise

	AST (U/L)	ALT (U/L)	Creatinine (mg/dL)	Urea (mg/dL)	Glucose (mg/dL)
CG	85.25±11.56 ^b	40.00±5.23 ^{ab}	0.47±0.04 ^a	40.00±2.16 ^a	137.50±25.32 ^c
CPG	83.50±10.02 ^b	33.75±2.36 ^b	0.41±0.05 ^a	38.25 ±2.50 ^a	241.75±47.53 ^{ab}
CPRG	108.25±10.56 ^a	43.50±7.72 ^a	0.52±0.09 ^a	38.75±7.63 ^a	178.00±14.5 ^{bc}
CPGG	76.5±6.95 ^b	30.75±4.11 ^b	0.55±0.08 ^a	42.50±4.04 ^a	224.00±45.59 ^{ab}

CG - Control Group; CPG - Cisplatin Group; CPRG - Cisplatin/red guava Group; CPGG Cisplatin/guabiju Group.

Different letters in the same column indicate statistically significant differences between the treatments (P<0.05), based on $n = 6$.

Yousef et al. (2009) evaluated the effect of a grape seed extract on the effects of

cisplatin. When the extract was administered together with the drug, it was capable of minimizing the damage, reducing the ALT and AST levels in the rat plasma. However the dose applied was higher (7.5 mg/kg), a fact which could explain the damage caused to the liver by the cisplatin, which did not occur in the present study.

The values obtained for creatinine and urea allow one to evaluate kidney function (Levey et al., 1999). Nephrotoxic damage by cisplatin is indicated by an increase in blood urea and creatinine, the kidney being the main target of this toxicity (Saad and Al-Rikabi, 2002). In addition to kidney damage, cisplatin can be nephrotoxic by causing a decrease in the enzymes glutathione peroxidase and glutathione-S-transferase, decreasing the protection of renal tissues to attack by free radicals and consequently increasing lipid peroxidation (Sadzuka et al., 1992), since there is a large amount of polyunsaturated fatty acid in the composition of renal lipids (Rodrigo and Rivera, 2002).

There were no alterations to these markers, indicating that the cisplatin doses were not sufficient to cause kidney damage. Yousef et al. (2009), studying rats treated with grape seed extract, administered higher levels of cisplatin (7.5 mg/kg) than those used in the present study, and found increases in both the urea and creatinine levels. When the grape seed extract was administered together with the cisplatin, both these levels decreased indicating protection, such that the group that received the extract showed no significant differences from the control group.

Martins et al. (2010) administered higher doses of cisplatin than those used in the present study (2 mg/kg/day for 5 days), and obtained higher levels of urea and creatinine, but a phenolic soybean extract significantly minimized these effects when administered in doses of 0.25 and 0.5 g/kg.

The cisplatin acted by increasing the blood glucose levels, since oxidative stress is associated with alterations in the glucose concentrations (Rodrigues et al., 2003). However the fruits acted by reducing the glucose levels although not at significant levels, the red guava being more effective than the guabiju. Possibly components in the red guava acted in regulating the glycemia, allied to the fact that the guabiju has a higher sugar concentration (Table 1). The difference in composition between the red guava and the guabiju, both proximate and bioactive, could have influenced the glycemia.

Angelis (2001) indicated the fibers as responsible for the decrease in glycemic rate. Fernandes et al. (2002) used an annatto extract in rats and mice treated with commercial feed, and observed that in the mice the glucose concentration reduced by almost 20 % in the group administered the annatto extract (351 mg/kg), whereas in the rats it increased by 28 %

when the annatto was administered with a dose of 7.5 mg/kg, indicating that the different concentrations of carotenoids could have affected glucose absorption.

Evaluation of the liver

The fruits acted by decreasing fat deposition in the liver (Table 6) indicating an improvement in the lipid profile, although the CPGG group did not differ from the CPG group. It appears that in the present study, consumption of the fruits reduced the amount of fat in the liver, concomitantly reducing oxidative stress, thus showing a protective effect.

The consumption of a diet rich in fruits and vegetables could be capable of reducing the fat levels (El-Beshbishy et al., 2006). The fibers are amongst the main factors in our food involved in the prevention of chronic diseases, acting in the regulation not only of the glycemic levels but also of the lipid levels (Angelis, 2001). This effect may also be due to increased intake of carotenoids in the diet supplemented with fruits since a increase consumption of these compounds have been shown liver protection (Shamberlain et al., 2009).

Table 6- Evaluation of the liver with respect to the amounts of fat (g/100g) and TBARS (nmol MDA/ g sample), for the animals that consumed the native fruits or otherwise

	Fat	TBARS
CG	5.19±0.14 ^a	146.04±5.40 ^a
CPG	5.01±0.22 ^{ab}	138.58±12.70 ^a
CPRG	4.34±0.21 ^c	135.34±16.13 ^a
CPGG	4.56±0.24 ^{bc}	134.30±13.65 ^a

CG - Control Group; CPG - Cisplatin Group; CPRG - Cisplatin/red guava Group; CPGG Cisplatin/guabiju Group; TBARS - Thiobarbituric acid reactive substances.

Different letters in the same column indicate statistically significant differences between the treatments (P<0.05), based on $n = 6$.

The TBARS reflect the amount of malondialdehyde (MDA) formed, a final product of the peroxidation of polyunsaturated fatty acids in the membrane (Halliwell and Gutteridge, 2001). Its measurement is used to evaluate lipoperoxidation (LPO), that is, how much of the lipid suffered the action of free radicals. The cisplatin dose used in the present study was not capable of altering the lipids (Table 6). Moreira et al. (2005), on administering a super-energetic diet, noted that the levels of malondialdehyde increased, and also demonstrated that supplementation with tomato powder was capable of significantly decreasing these levels.

Conclusions

Supplementation of the diet with the native fruits was well accepted by the animals and did not increase body weight. Still showed protective effect on the animals with respect to the oxidative stress caused by cisplatin. The levels of TC, LDL, ox-LDL and fat in the liver decreased with consumption of the fruits.

The dose of cisplatin failed to cause visual injury to the organs, fatty acid peroxidation, or alterations in the levels of urea, creatinine or the liver enzymes (ALT and AST) although the dose is often used in animals and was four times biggest than is commonly administrated in humans.

References

- Alfieri, M.A., Leung, F.Y, Grace, D.M., 1998. Selenium and zinc levels in surgical patients receiving total parenteral nutrition. *Biol. Trace Elem. Res.* 61 (1), 33-39.
- Alma, M.H., Mavi, A., Yildirim, A., Digrak, M., Hirata, T. 2003. Screening chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. *Biol. Pharm. Bull.* 26, 1725–1729.
- Anderson, D., Phillips, B.J., 1999. Comparative in vitro and in vivo effects of antioxidants. *Food Chem. Toxicol.* 37, 1015–1025.
- Angelis, R.C., 2001. Importância de alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidades degenerativas. São Paulo: Atheneu. 295 p.
- AOAC. Official Method of Analysis. 2007. In Official Methods of Analysis (18th ed). Gaithersburg, MD: AOAC International.
- Atessahin, A., Yilmaz, S., Karahan, I., Ceribasi, A.O., Karaoglu, A., 2005. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Toxicology* 212, 116–123.
- Bligh, E. G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction an purification, *Cadadian. J. Biochem. Physiol.* 8, 911-917.
- Cai, Q., Ranhn, R.O., Zhang, R., 1999. Dietary flavonoids, quercetin, luteolin and genistein reduce oxidative DNA damage and lipid peroxidation and quench free radicals. *Cancer Lett.* 119, 99-107.
- El-Beshbishy, H.A., Singab, A.N.B., Sinkkonen, J., Phaja, K., 2006. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba* L. (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterolfed rats. *Life Sci.* 78, 2724-2733.

Evangelista, C.M.W., Antunes, L.M.G., Francescato, H.D.C., Bianchi, M.L.P., 2004. Effects of olive, extra virgin olive and canola oils on cisplatin-induced clastogenesis in Wistar rats. *Food Chem. Toxicol.* 42, 1291–1297.

Favareto, A.P.A., Fernandez, C.D.B., Da Silva, D.A.F., Anselmo-Franci, J.A., Kempinas, W.D e G., 2011. Persistent Impairment of Testicular Histology and Sperm Motility in Adult Rats Treated with Cisplatin at Peri-Puberty. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 109, 85–96.

Fernandes, A.C.S., Almeida, C.A., 2002. Norbixin ingestion did not induce any detectable DNA breakage in liver and kidney but caused a considerable impairment in plasma glucose levels of rats and mice. *J. Nutr. Biochem.* 13, 411-420.

Fontana, J.D., Mendes, S.V., Persike, D.S., Peracetta, L.F., Passos, M., 2000. Carotenóides. *Biotechnologia Cienc Desenvolv.* 13, 40-45.

Fotsis, T., Pepper, M.S., Aktas, E., Breit, S., Rasku, S., Adlercreutz, H., Wähälä, K., Montesano, R., Schweigere, R.L., 1997. Flavonoids, dietary-derived inhibitors of cell proliferation and in vitro angiogenesis. *Cancer Res* 57 (14), 2916-2921.

Friedewald, W.T., Levy, R.I., Fredrickson, D.S., 1972. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18 (6), 499-502.

Garau, M.C., Simal, S., Roselló, C., Femenia, A., 2007. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. *Canoneta*) by-products. *Food Chem.* 104, 1014-1024.

Grigelmo-Miguel, N., Martin-Belloso, O., 1999. Comparison of dietary fibre from by-products of processing fruits and greens and from cereals. *Food Sci. Tech.* 32, 503–508.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2001. Free radicals in biology and medicine, third ed. New York: Oxford University Press. 936 p.

Hannemann, J., Baumann, K., 1988. Cisplatin-induced lipid peroxidation and decrease of gluconeogenesis in rat kidney cortex: different effects of antioxidants and radical scavengers. *Toxicolog.* 51, 119–132.

Iwasawa, H., Morita, E., Ueda, H., Yamazaki, M., 2010. Influence of Kiwi Fruit on Immunity and Its Anti-oxidant Effects in Mice. *Food Sci. Tech. Res.* 16, 135-142.

Hercberg, S., Galan, P., Preziosi, P., Roussel, A.M., Arnaud, J., Richard, M.J., Malvy, D., Paul-Dauphin, A., Briancon, S., Favier, A., 1998. Background and rationale behind the SU.VI. MAX study, a prevention trial using nutritional doses of a combination of antioxidant vitamins and minerals to reduce cardiovascular diseases and cancers. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 68 (1), 3-20.

Jacobs, E., Thierens, H., De Frenne, D., De Clercq, A., D'hondt, P., De Gelder, P., Deruytter, A.J., 1980. Product yields for the photofission of U with 12-, 15-, 20-, 30-, and 70-MeV bremsstrahlung. *Phys. Rev.* 21, 237–245.

- Jones, T. W., Chopra, S., Kaufman, J. S., Flamenbaun, W., Trump, B., 1985. Cis-diamminedichloroplatinum (II) induced renal failure in the rat. Correlation of structural and functional alterations. *Lab. Invest.* 52 (2), 363-74.
- Johnson, I.T., 2004. New approaches to the role of diet in the prevention of cancers of the alimentary tract. *Mutat. Res.* 551, 9-28.
- Kao, Y., Hiipakka, R.A., Liao, S., 2000. Modulation of obesity by a green tea catechin. *Am. J. Clin. Nutr.* 72 (5), 1232-1233.
- Kinupp, V.F., Barros, I.B.I., 2008. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 28 (4), 846-857.
- Klahr, S., 1997. Oxygen radicals and renal diseases. *Miner Electrolyte. Metab.* 23, 140–143.
- Kris-Etherton, P.M., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M., Binkoski, A.E., Hilpert, K. F., Griel, A.E., Etherton, T.D., 2002. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am. J. Med.* 113, 71–88.
- Kroning, R., Lichtenstein, A.K., Nagami, G.T., 2000. Sulfurcontaining amino acids decrease cisplatin cytotoxicity and uptake in renal tubule epithelial cell lines. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 45 (1), 43-49.
- Lane, J. H., Eynon, L., 1934. Determination of reducing sugars by Fehling's solution with methylene blue indicator, Normam Rodge, London, 8p.
- Leontowicz, M., Leontowicz, H., Drzewiecki, J., Jastrzebski, Z., Haruenkit, R., Poovarodom, S., Park, Y., Jung, S., Kang, S., Trakhtenberg, S., Gorinstein, S., 2007. Two exotic fruits positively affect rat's plasma composition. *Food Chem.* 102, 192–200.
- Levey, A.S., Bosch, J.P., Lewis, J.B., Green, T., Rogers, N., Roth, D., 1999. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of diet in renal disease study group. *Ann. Int. Med.* 130, 461–470
- Martins, E., Godwin, O.E., Ebenezer, O.F., 2010. Phenolic extract of soybean (*Glycine max*) attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Food Chem. Toxicol.* 48, 1005–1012.
- Moreira, E.A.M., Fagundes, R.L.M., Filho, D.W., Neves, D., Sell, F., Bellisle, F., Kupek, E, 2005. Effects of diet energy level and tomato powder consumption on antioxidant status in rats. *Clin. Nutr.* 24, 1038–1046.
- Müller, L., Fröhlich, K., Böhm, V., 2011. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (aTEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. *Food Chem.* 129, 139-148.
- Ohkawa, H., Ohishi, H., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxyde in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95, 351-358.

- Pellet, P.L., Young, V.R., 1980. Nutritional evaluation of protein foods. Tokyo: The United Nations University. pp.167.
- Pool-Zobel, B.L., Bub, A., Müller, H., Wollowski, I., Rechkemmer, G., 1997. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. *Carcinogenesis* 18 (9), 1847-1850.
- Rodrigo R., Rivera G., 2002. Renal damage mediated by oxidative stress: a hypothesis of protective effects of red wine. *Free Rad. Biol. Med.* 33 (3), 409-22.
- Rodrigues, H.G., Diniz, Y.S., Faine, L.A.; Almeida, J.A., Fernandes, A.A.H., Novelli, E.L.B., 2003. Nutritional supplementation with natural antioxidants: effect of rutin on HDL-cholesterol concentration. *Rev. Nutr.* 16 (3), 315-320.
- Rodríguez, R., Jiménez, A., Fernández-Bolaños, J., Guillén, R., Heredia, A., 2006. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends Food Sci. Technol.* 17, 3–15.
- Ruxton, C., Gardner, E., Walker, D., 2006. Can pure fruit and vegetable juices protect against cancer and cardiovascular disease too? A review of the evidence. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 57, 249–272.
- Saad, S.Y., Al-Rikabi, A.C., 2002. Protection effects of taurine supplementation against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Chemotherapy* 48, 42–48.
- Sadzuka, Y., Shoji, T., Takino, Y., 1992. Effect of cisplatin on the activities of enzymes which protect against lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol.* 43 (10), 1873-5.
- Stockham, S.L., Scott, M.A., 2002. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. Ames, Iowa State University Press. p.434–459.
- Shamberlain, S., Hall, S., Patel, J., Lee, J., Marcus, D., Sridhar, S., Romero, M., Labazi, M., Caldwell, R., Bartoli, M., 2009. Protective effects of the carotenoid zeaxanthin in experimental nonalcoholic steatohepatitis. *Dig. Dis. Sci* 54 (7), 1460-1464.
- Shukitt-Hale, B., Kalt, W., Carey, A. N., Vinqvist-Tymchuk, M., McDonald, J., Joseph, J., 2009. Plum juice, but not dried plum powder, is effective in mitigating cognitive deficits in aged rats. *Nutr.* 25, 567–573.
- Sies, H., Stahl, W., 1995. Vitamins E and C a-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am. J. Clin. Nutr.* 62, 1315-1321.
- Silva, C. R., Antunes, L.M.G., Bianchi, M.L.P., 2001. Antioxidant action of bixin against cisplatin-induced chromosome aberrations and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol. Res.* 43 (6), 561-566.
- Stavric, B., 1994. Antimutagens and anticarcinogens in foods. *Food Chem. Toxicol.* 32 (1), 79-90.

Tavazzi, B., Pierro, D.D., Amorini, A.M., Fazzina, G., Tuttobene, M., Giardina, B., Lazzarino, G., 2000. Energy metabolism and lipid peroxidation of human erythrocytes as a function of increased oxidative stress. *Eur. J. Biochem.* 267, 684–689.

Van't Veer, P., Janson, M.J.C.F., Klert, M., Kok, F., 2000. Fruits and vegetables in the prevention of cancer and cardiovascular disease. *Public Health Nutr.* 3, 103–107.

Valenzuela, A., Sanhueza, J., Nieto, S., 1998. Oxidos Del colesterol (oxisteroles) em alimentos: factores que condicionan su formación y sus efectos biológicos. *Aceites y Grasas* 9 (11), 271-278.

Weijl, N.I., Hopman, G.D., Wipkink-Bakker, A., Lentjes, E.G., Berger, H.M., Cleton, F.J., Osanto, S., 1998. Cisplatin combination chemotherapy induces a fall in plasma antioxidants of cancer patients. *Ann. Oncol.* 9, 1331–1337.

Yiin, S.J., Lin, T.H., 1998. Effects of metallic antioxidants on cadmium-catalyzed peroxidation of arachidonic acid. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 28 (1), 43-50.

Yousef, M.I., Saad, A.A., El-Shennawy, L.K., 2009. Protective effect of grape seed proanthocyanidin extract against oxidative stress induced by cisplatin in rats. *Food Chem. Toxicol.* 47, 1176–1183.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O araçá vermelho é uma boa fonte de fibra e, juntamente com o guabiju, são excelentes fontes de carotenóides e antocianinas superando alguns frutos como groselha vermelha.

Em relação ao processamento, ele vai ser dependente da matriz e não há como garantir um método ideal de conservação dos frutos sendo esse dependente da composição do fruto.

O guabiju destacou-se, em relação ao araçá vermelho, tendo maior teor tanto de antocianinas quanto de carotenóides *in natura* o que, provavelmente, favoreceu seus maiores teores também após o processamento. As maiores concentrações de compostos bioativos deste fruto favoreceram a sua maior atividade antioxidante em ambos métodos utilizados e em todos os processos.

A secagem por ar quente 70 °C foi o processo que teve a maior redução nos teores de antocianinas e carotenóides para ambos os frutos. No entanto, o congelamento por 90 dias foi capaz de aumentar ou manter os níveis de carotenóides para o guabiju enquanto na liofilização foram encontrados os maiores níveis de antocianinas neste fruto. O araçá vermelho no tempo de 30 dias de congelamento foi capaz de aumentar os teores de carotenóides, enquanto no fruto *in natura* foram observados os maiores teores de antocianinas.

Nas condições experimentais do presente estudo, verificou-se que o pré-tratamento com os frutos nativos foi efetivo para proteger os animais frente ao estresse oxidativo causado pela cisplatina, desempenhando relevante papel na redução do colesterol total, do colesterol LDL, LDL oxidado e na gordura no fígado. A cisplatina não foi capaz de gerar lesões visuais nos órgãos, peroxidação de ácidos graxos, alteração nos níveis de uréia, creatinina e das enzimas ALT e AST.

No entanto, serão necessários estudos complementares a fim de esclarecer os compostos responsáveis pela atividade antioxidante dos frutos e pela proteção *in vivo* destes, bem como a sua real atuação no organismo como agente protetor. Em relação aos compostos presentes no araçá vermelho é necessário investigar o efeito hepático gerado em relação aos fitotóxicos presentes. Ainda, será necessário investigar melhores condições cromatógraficas para antocianinas a fim de separar os compostos que eleuíram no mesmo tempo de retenção.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDILLE, M. H.; SINGH, R. P.; JAYAPRAKASHA, G. K.; JENA, B. S. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. **Food Chemistry**, v.90, p.891-896. 2005.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, v.350, p.103-108. 1996.

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. 2006.

BRACK, P.; KINUPP, V.F.; SOBRAL, M. E. G. Levantamento preliminar de espécies frutíferas de árvores e arbustos nativos com uso atual ou potencial do rio grande do sul. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v.2, n.1, p.1769-1772. 2007.

CALABRESI, P.; CHABNER, B. A. Quimioterapia das doenças neoplásicas. In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. GOODMAN, GILMAN: As bases farmacológicas da terapêutica. 9.ed. Rio de Janeiro : McGraw-Hill. 1996. p.903-949.

CONNOR, A. M.; LUBY, J. J.; HANCOCK, J. F.; BERKHEIMER, S.; HANSON, E. J. Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.4, p.893-898. 2002.

CRAIG, W. J. Health-promoting properties of common herbs. **The American Journal of Clinical Nutrition**, n.70, p.491-499. 1970.

ELSEENDOORN, T. J.; WEIJL, N. I.; MITHOE, S.; ZWINDERMAN, A. H.; VAN DAM, F.; DE ZWARF, F. A.; TATES, A. D.; OSANTO, S. Chemotherapy-induced chromosomal damage in peripheral blood lymphocytes of cancer patients supplemented with antioxidants or placebo. **Mutation Research**, v.498, n.1-2, p.145-158. 2001.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v.408, p.239-247. 2000.

FLORA, S. J. Role of free radicals and antioxidants in health and disease. **Cellular and Molecular Biology**. v.53, p1-2. 2007.

FRAGA, C. G.; ARIAS, R. F.; LLESUY, S. F.; KOCH, O. R.; BOVERIS, A. Effect of vitamin E and selenium-deficiency on rat liver chemiluminescence. **Biochemical Journal**, v.242, n.2, p.383-386. 1987.

GARCIA-PEREZ, J. V.; GARCÍA-ALVARADO, M. A.; CARCEL, M. A.; MULET, A. Extraction kinetics modeling of antioxidants from grape stalk (*Vitis vinifera* var. Bobal): Influence of drying conditions. **Journal of Food Engineering**, v.101, p.49-58. 2010.

GENIN, N.; RENÉ, F. Analyse du Rôle de la transition vitreuse dans les procédés de conservation agroalimentaires. **Journal of Food Engineering**, v.26, p.391-408. 1995.

GOUVÊA, C. M. C. P. **Oxidações biológicas e atividade vegetal**. In: Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Carvalho, J. C. T. coord. Ribeirão Preto: Tecmedd. 2004. p.101-124.

GRACY, R. W.; TALENT, J. M.; KONG, Y.; CONRAD, C. C. Reactive oxygen species the unavoidable environmental insult. **Mutation Research** , v.428, n.1-2, p.17–22. 1999.

HALABE, A.; WONG, N. L. M.; STTON, R. A. L. Effect of chronic cisplatin administration on phosphate and glucose transport by the renal brush border membrane. **Nephron**, v.57, p.197-200. 1991.

HALLIWELL, B. Antioxidant characterization methodology and mechanism. **Biochemical Pharmacology**, v.49, 1341-1348. 1995.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 3. ed. New York:Claredon Press, Oxford Univ, 2001. 936 p.

HERTOG, M. G. L.; SWEETMAN, P. M.; FEHILY, A. M. Antioxidant flavonols and ischemic heart disease in a Welsh population of men: the Caerphilly Study. **The Americal Journal of Clinical Nutrition**, v.65, p.1489-1494. 1997.

HOLST, B.; WILLIAMSON, G. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. **Current Opinion in Biotechnology**, v.19, p.73–82. 2008.

IBRAF. **INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS**. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/imprensa/0901_FrutasBrasileirasAscensao>. Acesso em: 11 de ago. 2011.

ISHIGE, K.; SCHUBERT, D.; SAGARA, Y. Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. **Free Radical Biology & Medicine**, v.30, p. 433-446. 2001.

JOHNSON, E. J. The role of carotenoids in human health. **Nutritional in Clinical Care**, v.5, n.2, p.56-65. 2002.

KÄHKÖNEN, M.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.628–633. 2003

KAREL, M.; BUERA, M. P.; ROOS, Y. Effects of glass transitions on processing and storage. In J. M. V. Blanshard; P. J. Lillford (Eds.), *The glassy state in foods*. 1993.

KATSUBE, N.; IWASHITA K.; TSUSHIDA T.; YAMAKI K.; KOBORI M. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.68-75. 2003.

KERR, W. L. 2004. **Texture in frozen foods**. In Handbook of Frozen Foods, (Y. H. Hui, P. Cornillon, I. G. Legaretta, M. H. Lim, K. D. Murrell, and W. K. Nip, eds.) pp. 149–168, Marcel Dekker, Inc., New York, NY.

KRINSKY, N. I. The biological properties of carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**. v.66, p. 1003-1010. 1994.

LANGSETH, L. Antioxidant and their effect on health. In: SCMIDL, M.K.; LABUZA, TP. **Essential of functional food**. Maryland: Aspen, 2000. 60p.

LOPACZYNSKI, W.; ZEISEL, S. H. Antioxidants, programmed cell death and cancer. **Nutrition Research** v.21, p.295-307. 2001.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 368 p.

LORENZI, H; SARTORI, S. F.; BATCHER, L. B.; LACERDA, M. T. C. **Frutas Brasileiras e Exóticas Cultivadas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda. 2006. 712p.

LUE, J. M.; LIN, P. H.; YAO, Q. Z. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. **Journal of cellular and molecular medicine**, v.14, n.4, p.840-860. 2010.

MANICA, I. **Frutas Nativas, Silvestres e Exóticas**. Porto Alegre:Cinco Continentes, 2000. 327 p.

MARCHIORI, J. N. C.; SOBRAL, M. **Dendrologia das Angiospermas - Myrtales**. SantaMaria: Editora UFSM, 2007. 304p.

MARIN, R.; PIZZOLI, LIMBERGER, R.; APEL, M.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. **Propriedades nutracêuticas de algumas espécies frutíferas do sul do Brasil**. In: Espécies Frutíferas Nativas do sul do Brasil. Pelotas: Embrapa de Clima Temperado, 2004. p.107-122. (Embrapa Clima Temperado. Documento, 129).

MARTÍNÉZ-NAVARRETE, N.; VIDAL, M. de M. C.; LAHUERTA, J. J. M. Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. **Nutrición Humana e Dietética**, v.12, n.2, p.64-68. 2008.

- MASUDA, H.; TAKAKA, T.; TAKAHAMA, U. Cisplatin generates superoxide anion by interaction with DNA in a cell-free system. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.203, p.1175-1180. 1994.
- MATTOS, J. R. **Myrtaceae do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, 1989. 721p.
- MIELKE, J. C.; FACHINELLO, J. C.; RASEIRA, A. Fruteiras nativas - Características de 5 mirtáceas com potencial para exploração comercial. **HortiSul**, Pelotas, v.1, n.2, p.32-36. 1990.
- MULLER, F. L.; LUSTGARTEN, M.; JANG, Y.; RICHARDSON, A.; VAN REMMEN, H. Trends in oxidative aging theories. **Free Radical Biology and Medicine**, v.43, p.477-503. 2007.
- NATIVAS: **GUABIJU**. Disponível em:
<http://www.boavistaftp.twc.com.br/html/nativas/n_guabiju.html>. Acesso em 18 de out. 2012.
- NESS, A.R.; POWLES, J.W. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. **International Journal of Epidemiology**, v.26, n.1, p.1-13. 1997.
- NIJVELDT, R. J.; VAN NOOD, E.; VAN HOORN, D. E.; BOELEN, P. G.; VAN NORREN, K.; VAN LEEUWEN, P. A. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.74, n.4, p.418-425. 2001.
- OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **Journal of Chromatography Analysis**, v.881, p.543-555. 2000.
- RASEIRA, A.; RASEIRA, M. C. B. Fruteiras nativas de clima temperado. **HortiSul**, Pelotas, v.1, n.2, p.47-51. 1990.
- RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. **Journal of Food Engineering**, v.49, p.311-319. 2001.
- RICHTER, C.; PARK, J. W.; AMES, B. N. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.85, n.17, p.6465-6467. 1988.
- RIOS, A. de O.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Bixin and lycopene modulation of free radical generation induced by cisplatin-DNA interaction. **Food Chemistry**, v.113, n.4, p.1113-1118. 2009.

ROCHA, L. D.; PREUSSLER, K. H.; PEGORINI, F.; FARIAS, V.; MARANHO, L. T. Estudo anatomico comparativo da casca do caule do araca-amarelo e araca-vermelho, *Psidium cattleianum* Sabine, Myrtaceae. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 1114-1122, 2008.

ROMANCHIK, J. E.; HARRISON, E. H.; MOREL, D. W. Addition of lutein, lycopene, or β carotene to LDL or serum in vitro: Effects on carotenoid distribution, LDL composition, and LDL oxidation. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.8, p.681-688. 1997.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.1, jan./mar. 2007.

ROOS, Y.; KAREL, M. Applying state diagrams to food processing and development. **Food Technology**, v.45, n.107, p.66-70. 1991.

RUXTON, C.; GARDNER, E.; WALKER, D. Can pure fruit and vegetable juices protect against cancer and cardiovascular disease too? A review of the evidence. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v.57, p.249–272. 2006.

SANCHOTENE, M. C. C. **Frutíferas nativas úteis à arborização urbana**. 2.ed. Porto Alegre: Sagra, 1989. 306p.

SENDÃO, M. C. **Efeito do licopeno na mutagenicidade induzida pela cisplatina em ratos**. 2004. 98 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e nutrição)– Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, São Paulo.

SHAMI, N. J. I. E; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.17, n.2, p.227-236, abr./jun. 2004.

SHIMEDA, Y.; HIROTANI, Y.; AKIMOTO, Y.; SHINDOU, K.; IJIRI, Y.; NISHIHORI, T.; TAKAKA, K. Protective effects of capsaicin against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.28, p.1635–1638. 2005.

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

SIMON, S. D. **Noções de quimioterapia citotóxica**. In: SROUGI, M.; SIMON, S. D. (Ed.) *Cancer Urológico*. São Paulo: Platina, p.1-28. 1990.

SPEIRS, J.; BRADY, C. J. Modification of gene expression in ripening fruit. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.18, n.55, p.519-532. 1991.

- STAHL, W.; SIES, H. **Carotenoids: occurrence, biochemical activities, and bioavailability**. In: Packer L, Hiramatsu M, Yoshikawa T. Antioxidant food supplements in human health. San Diego: Academic Press; p.183-98. 1999.
- STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Molecular Aspects of Medicine**, v.24, p.345–351. 2003.
- STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1740, p.101–107. 2005.
- STOCLET, J. C.; CHATAIGNEAU, T.; NDIAYE, M.; OAK, M. H.; BEDOUI, J. E.; CHATAIGNEAU, M.; SCHINI-KERTH, V. B. Vascular protection by dietary polyphenols. **European Journal of Pharmacology**, v.500, p.299-313. 2004.
- TREGUNNO, N. B.; GOFF, H. D. Osmodehydrofreezing of apples: Structural and textural effects. **Food Research International**, v.29, p.471–479. 1996.
- YAMAGUCHI, L. F.; MARTINEZ, G. R.; CATALANI, L.H.; MEDEIROS, M. H. G.; DI MASCIIO, P. Lycopene entrapped in human albumin protects 2'-deryguanosine against singlet oxygen damage. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.49, n.1, p.12-20. 1999.
- VAN'T VEER, P.; JANSON, M.; KLERT, M.; KOK, F. Fruits and vegetables in the prevention of cancer and cardiovascular disease. **Public Health Nutrition**, v.3, p.103–107. 2000.
- VOLP, A.C.P.; RENHE, I.R.T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P.C. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**; v.23, n.2, p.141-149. 2008.
- VITVITSKY, V. A functional transsulfuration pathway in the brain links to glutathione homeostasis. **The Journal of Biological Chemistry**, v.281, p.35785–35793. 2006.
- WANG, H.; CAO, G. H.; PRIOR, R. L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.304–309. 1997.
- WANG, H.; NAIR, M. G.; STRASBURG, G. M.; CHANG, Y. C.; BOOREN, A. M.; GRAY, J. I.; DEWITT, D. L. Antioxidant and anti-inflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. **Journal of Natural Products**, v.62, p.294–296. 1999.
- WANG, S.Y.; LIN, H.-S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.2, p.140-146. 2000.

WEIJL, N. I.; CLETON, F. J.; OSANTO, S. Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. **Cancer Treatment Reviews**, v.23, n.4, p.209-240. 1997.

WEIJL, N. I.; ELSEENDOORN, T. J.; LENTJES, E. G. W. M.; HOPMAN, G. D.; WIPKINK-BAKKER, A.; ZWINDERMAN, A. H.; CLETON, F. J.; OSANTO, S. Supplementation with antioxidant micronutrients and chemotherapy-induced toxicity in cancer patients treated cisplatin-based chemotherapy: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. **European Journal of Cancer**, v.40, p.1713-1723. 2004.

WILLE, G. M. F. C. Desenvolvimento de tecnologia para a fabricacao de doce em massa com Araca-Pera (*Psidium acutangulum* D. C.) para o pequeno produtor. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.6, p.1360-1366. 2004.

WU, X.; PRIOR, R. L. Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the United States: Fruits and berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.7, p.2589-2599. 2005.

XING, Y.; WHITE, P. J. Antioxidants from Cereals and Legumes in Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects, and Applications "in" SHAHIDI, F. **AOCS Press**: Champaign, Illinois, p.25-55. 1996.