

GUSTAVO RAFGNIN MARTINS

Potencial antioxidante, fotoprotetor e antiglicante de frutos alimentícios não convencionais para utilização na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica

Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Química - Campus de Araraquara da Universidade Estadual Paulista - UNESP, como requisito para a obtenção do Título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Regildo Marcio Gonçalves da Silva

**ARARAQUARA
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA

M379p Martins, Gustavo Rafagnin
Potencial antioxidante, fotoprotetor e antiglicante de frutos alimentícios não convencionais para utilização na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica / Gustavo Rafagnin Martins. – Araraquara : [s.n.], 2017
62 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química

Orientador: Regildo Marcio Gonçalvez da Silva

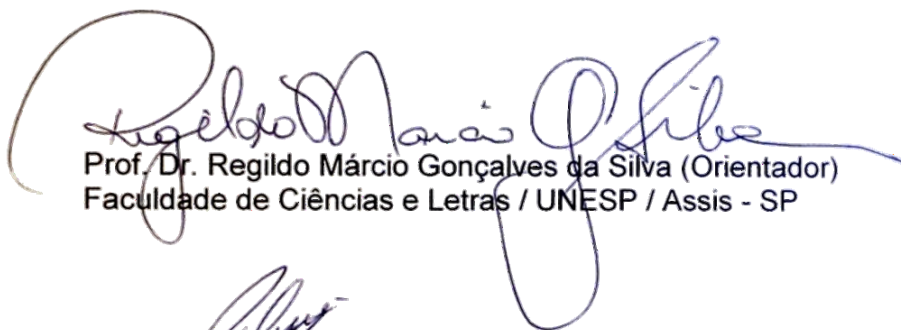
1. Stress oxidativo. 2. Antioxidantes. 3. Jabuticaba. 4. Mangaba. 5. Geleia. I. Título.

GUSTAVO RAFAGNIN MARTINS

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Araraquara, 09 de junho de 2017.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva (Orientador)
Faculdade de Ciências e Letras / UNESP / Assis - SP



Prof. Dr. Dário Abel Palmieri
Faculdade de Ciências e Letras / UNESP / Assis - SP



Prof. Dr. Valter Henrique Marinho dos Santos
Atina Ativos Naturais / Pouso Alegre - MG

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais José Claudio e Zeneide, pelo apoio incondicional, apesar das dificuldades sempre estiveram ao meu lado.

*Toda a nossa ciência, comparada
com a realidade, é primitiva e
infantil e, no entanto, é a coisa
mais preciosa que temos.*

Albert Einstein

Agradecimentos

Ao meu orientador Prof. Dr. Regildo Marcio Gonçalves da Silva, pela dedicação e empenho diante de minha orientação, ao longo desse trabalho e de outros, desde a iniciação científica, e além disso pela amizade, que levarei para toda minha vida.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório Pamela, Gustavo, Bianca, Rodrigo, Valter, Kamille, Amanda Gomes, Amanda Viel, Amábile, Celia, Anderson e Janine, pelas conversas, dividindo momentos de felicidade e dificuldade, compartilhando conhecimento, sempre de prontidão; e o mais importante pela amizade.

Aos funcionários da UNESP/Assis Gilberto e Alam.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

À Profa. Dra. Maysa Furlan, do Instituto de Química da UNESP de Araraquara pela liberação do seu laboratório para utilização.

Ao João, técnico de Laboratório do Instituto de Química da UNESP de Araraquara pela presteza durante o auxílio das análises fitoquímicas de meu projeto.

Ao Instituto de Química de Araraquara - UNESP pela grande oportunidade e ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia.

A todos os funcionários da seção técnica de pós-graduação do Instituto de Química de Araraquara sempre atenciosos, pela prontidão e entendimento em todas as solicitações durante esses 2 anos.

Aos meus amigos, que durante esses dois anos estiveram ao meu lado, sempre apoiando, apesar das dificuldades, até muitas vezes pela minha ausência, por exigência dos estudos e mesmo assim não me abandonaram.

E especialmente aos meus pais José Claudio e Zeneide, sempre ao meu lado em todos os momentos, até nos mais difíceis. Por isso tenho-lhes eterno carinho.

RESUMO

O estresse oxidativo está correlacionado ao aparecimento de doenças, e pode ser intensificado devido à exposição a fatores ambientais, como estresse, abuso de drogas, radiação solar, poluição entre outros. Estudos com vegetais têm demonstrado que os mesmos podem conter compostos antioxidantes passíveis de remediar ou prevenir tais complicações. Nesse contexto o presente trabalho avaliou a atividade antioxidante, antiglicante, fotoprotetora e verificou-se a presença de compostos polifenólicos dos extratos aquoso, etanólico e hidroalcoólico de frutos de *Chrysophyllum cainito* L, *Hancornia speciosa* Gomes. e *P. glomerata* Berg., além disso foram produzidas e analisadas geleias desses frutos. Compostos fenólicos foram determinados por técnicas espectrofotométrica e HPLC (*High performance liquid chromatography*). Foi verificada a presença de compostos fenólicos, incluindo flavonoides, para todos os de frutos avaliados, com destaque para os extratos de *C. cainito* (casca), que apresentou os maiores valores com o extrato hidroetanólico dessa espécie. Quanto a atividade antioxidante, novamente a espécie de *C. cainito* obteve os mais valores entre os resultados para os diferentes testes realizados, sequestro do radical livre DPPH, potencial redutor de ferro (FRAP - *ferric reducing antioxidant power*), inibição da peroxidação lipídica (TBARS - *thiobarbituric acid reactive substances*), e sequestro do NO, entretanto os demais extratos avaliados para as outras espécies, *H. speciosa* e *P. glomerata* também obtiveram resultados significativos. Indicando potencial antioxidante para os frutos dessas espécies testadas e que estão possivelmente relacionados a presença de compostos fenólicos. Apenas o extrato hidroetanólico (70%) de *P. glomerata* indicou atividade antiglicante na concentração de 10mg.mL⁻¹. Já para as geleias produzidas, as do fruto de *C. cainito* também obtiveram resultados proeminentes tanto para os constituintes nutricionais como funcionais, porém as de *P. glomerata* apresentaram maior teor de fenóis totais e resultados mais elevados de atividade antioxidante em baixas concentrações. Diante dos resultados obtidos com o presente estudo é possível constatar que os frutos avaliados neste estudo possuem compostos com potencial antioxidante, antiglicante (*P. glomerata*) e são passíveis de processamento industrial na forma de geleia mantendo atividade antioxidante.

Palavras-chave: Stress oxidativo. Antioxidantes. Jabuticaba. Mangaba. Geleia.

ABSTRACT

Oxidative stress is correlated with the onset of disease, and can be intensified due to exposure to environmental factors such as stress, drug abuse, solar radiation, pollution, among others. Studies with vegetables have shown that they may contain antioxidant compounds likely to remedy or prevent such complications. In this context, the present work evaluated antioxidant, antiglycemic and photoprotective activity and verified the presence of polyphenolic compounds of the aqueous, ethanolic and hydroalcoholic extracts of fruits of *Chrysophyllum cainito* L., *Hancornia speciosa* Gomes. and *P. glomerata* Berg. in addition, jellies of these fruits were produced and analyzed. Phenolic compounds were determined by spectrophotometric techniques and HPLC (High performance liquid chromatography). It was verified the presence of phenolic compounds, including flavonoids, for all evaluated fruits, especially the extracts of *C. cainito* (peel), which presented the highest values with the hydroethanolic extract of this species. As for the antioxidant activity, again the *C. cainito* species obtained the highest values among the results for the different tests performed, DPPH free radical sequestration, ferric reducing antioxidant power (FRAP), inhibition of lipid peroxidation (TBARS - thiobarbituric acid reactive substances), and NO scavenging. However, the other extracts evaluated for the other fruit species, *H. speciosa* and *P. glomerata* also obtained significant results. These results indicate antioxidant potential for the fruits of these species tested and that are possibly related to the presence of phenolic compounds. Only the hydroethanolic (70%) extract of *P. glomerata* indicated antiglycemic activity at the concentration of 10mg.mL⁻¹. As for the jellies produced, the *C. cainito* jelly also obtained prominent results for both nutritional and functional constituents, but the *P. glomerata* one presented higher total phenol content and higher antioxidant activity at low concentrations tested. In view of the results obtained with the present study, it is possible to verify that the fruits evaluated in this study have antioxidant potential compounds, antiglycemic (*P. glomerata*) and are suitable for industrial processing in the form of jelly maintaining antioxidant activity.

Keywords: Oxidative stress. Antioxidants. Jaboticaba. Mangaba. Jelly.

LISTA DE FIGURAS

Obs.: As figuras de 3 a 5 e 7 a 13 são de autoria do candidato e elaboradas ao longo do desenvolvimento deste trabalho

Figura 1 - Reação de Maillard (glicação), entre glicose e proteína.....	19
Figura 2 - Estrutura básica de um flavonoide, representada pela catequina.....	20
Figura 3 - O abiu roxo (<i>C. cainito</i>) planta adulta, e seu correspondente fruto.....	22
Figura 4 - A mangabeira (<i>H. speciosa</i>), arvore, e seu correspondente fruto.....	22
Figura 5 - A Cabeludinha (<i>P. glomerata</i>) planta adulta, e seu correspondente fruto.....	23
Figura 6 - Fluxograma apresentando as concentrações de pectina que foram testadas e o pH ideal a ser atingido para a produção de geleia.....	32
Figura 7 - Resultado de MRE para os extratos etanólicos (70%) dos frutos de <i>C. cainito</i> (casca), <i>H. speciosa</i> , <i>P. glomerata</i> e na concentração 10mg.mL ⁻¹	45
Figura 8 - Resultado da varredura do extrato etanólico dos frutos de <i>H. speciosa</i> , <i>P. glomerata</i> e <i>C. cainito</i> nas concentrações de 500 e 1000µg.mL ⁻¹ entre os comprimentos de onda de 260 a 400nm.....	46
Figura 9 - Resultado da varredura dos extratos hidroetanólico (70%) dos frutos de <i>H. speciosa</i> , <i>P. glomerata</i> e <i>C. cainito</i> nas concentrações de 500 e 1000µg.mL ⁻¹ entre os comprimentos de onda de 260 a 400nm.....	46
Figura 10 - Perfil cromatográfico de extratos hidroetanólicos dos frutos obtidos por HPLC-PAD.....	49
Figura 11 - Geleias de <i>C. cainito</i>	54
Figura 12 -: Geleias de <i>H. speciosa</i>	54
Figura 13 - Geleias de <i>P. glomerata</i>	54

LISTA DE TABELAS

Obs.: As tabelas de 1 a 14 são de autoria do candidato e elaboradas ao longo do desenvolvimento deste trabalho

- Tabela 1** - Dosagem de açúcares redutores e totais dos extratos etanólico, hidroetanólico de *H. speciosa*, *P. glomerata* e *C. cainito* pelo método DNS.....34
- Tabela 2** - Dosagem de fenóis e flavonoides totais dos extratos etanólico, hidroetanólico e aquoso de *H. speciosa*, *P. glomerata* e *C. cainito*.....35
- Tabela 3** - Atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH (%) dos extratos aquosos de *P. glomerata*, *H. speciosa*, *C. cainito* e ácido ascórbico.....37
- Tabela 4** - Atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH (%) dos extratos etanólico e hidroetanólico (70%) dos frutos de *P. glomerata*, *C. cainito* e ácido ascórbico.....37
- Tabela 5** - Inibição da formação de TBARS (%) *in vitro* pelos extratos etanólico, hidroetanólico dos frutos de *H. speciosa*, *P. glomerata*, *C. cainito* e Trolox.....39
- Tabela 6** - Inibição da formação de TBARS (%) *in vitro* pelos extratos aquosos dos frutos de *H. speciosa*, *P. glomerata* e *C. cainito*, e Trolox.....39
- Tabela 7** - Resultados do teste FRAP expressos em μM de Trolox equivalentes dos extratos etanólico e hidroetanólico de *H. speciosa*, *P. glomerata*, *C. cainito* e ácido ascórbico.....41
- Tabela 8** - Resultados do teste FRAP expressos em μM de Trolox equivalentes do extrato aquoso de *H. speciosa*, *P. glomerata*, *C. cainito* e ácido ascórbico.....41
- Tabela 9** - Atividade antioxidante pelo método de sequestro do Oxido Nítrico (%) dos extratos etanólico e hidroetanólico dos frutos de *H. speciosa*, *P. glomerata*, *C. cainito* e rutina.....43
- Tabela 10** - Resultados das absorvâncias máximas e os respectivos comprimentos de onda (λ) dos extratos etanólico e hidroetanólico (70%) dos frutos de *H. speciosa*, *P. glomerata* e *C. cainito*.....47
- Tabela 11** - Análises físico-químicas das geleias extra e comum de *C. cainito*.....50

Tabela 12 - Análises físico-químicas das geleias extra e comum de <i>P. glomerata</i> ...	51
Tabela 13 - Análises físico-químicas das geleias extra e comum de <i>H. speciosa</i>	51
Tabela 14 - Avaliação da atividade antioxidante pelo teste Dpph (%) das geleias extra e comum dos frutos de <i>C. cainito</i> , <i>H. speciosa</i> e <i>P. glomerata</i>	56

LISTA DE ABREVIATURAS

λ_{max}	Comprimento de onda máxima
A _{max}	Absorbância máxima
AGE	Produtos de glicação avançada
AAPH	2,2'-Azobis (2- amidinopropano) dicloridrato
AlCl ₃	Cloreto de alumínio
ANVISA	Agência brasileira de vigilância sanitária Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
CNNPA	
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DNS	Ácido 3 5-dinitrosalicílico
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
FRAP	Poder antioxidante de redução férrica
HCl	Ácido clorídrico
FeCl ₃	Cloreto de ferro
K	Potássio
Na	Sódio
NaNO ₂	Nitrato de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
NO	Oxido nítrico
PBS	Tampão fosfato salino
P/v	Peso por volume
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RL	Radicais livres
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SNP	Nitruprussiato de sódio
TBARS	Substâncias reativas a ácido tiobarbitúrico
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta-visível

LISTA DE SIMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
cm	Centímetro
Σ	Somatória
mL	Mililitro
μL	Microlitro
mM	Milimolar
M	Molar
μg	Micrograma
pH	Potencial hidrogeniônico
x	Veze

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1	Estresse oxidativo	16
2.1.1	Danos oxidativos no organismo	16
2.1.2	Espécies reativas	16
2.1.3	Glicação proteica	17
2.2	Antioxidantes de origem vegetal	18
2.2.1	Compostos fenólicos	19
2.2.3	Espécies com potencial para aplicação na área antioxidante	20
2.2.3	<i>Chrysophyllum cainito</i> (Abiu Roxo)	20
2.2.3	<i>Hancornia speciosa</i> (Mangaba)	21
2.2.4	<i>Plinia glomerata</i> (Cabeludinha)	22
3	OBJETIVOS	23
3.1	Geral	23
3.2	Específicos	23
4	MATERIAL E MÉTODOS	24
4.2	Preparo dos extratos brutos	24
4.2.1	Extrato hidroetanólico	24
4.2.2	Extrato etanólico	24
4.2.3	Extrato aquoso	25
4.3	Quantificação dos constituintes das polpas dos frutos	25
4.3.1	Dosagem de açúcares redutores e totais pelo método DNS	25
4.3.2	Dosagem de fenóis totais	26
4.3.3	Dosagem de flavonoides por método espectrofotométrico	26
4.4	Atividade Antioxidante	26
4.4.1	Sequestro do radical DPPH	26
4.4.2	Potencial redutor de ferro (<i>Ferric Reducing Antioxidant power</i> - FRAP)	27
4.4.3	Teste da inibição da formação de TBARS	27
4.4.4	Atividade sequestradora de óxido nítrico (NO)	28
4.4.5	Determinação da atividade antiglicante por MRE (Mobilidade Relativa em Eletroforese)	29
4.5	Atividade Fotoprotetora dos extratos: Determinação do comprimento de onda para a absorbância máxima dos extratos dos frutos e FPS <i>in vitro</i>	29

4.6	Perfil cromatografico dos Extratos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-PAD).....	30
4.7	Produção Geleias dos diferentes frutos e avaliação da atividade antioxidante.....	30
4.7.1	Produção das geleias.....	30
4.7.2	Avaliação das características físico-químicas e antioxidante.....	31
4.8	Analises estatísticas.....	32
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
5.1	Quantificação dos constituintes das polpas dos frutos.....	33
5.1.1	Açucares redutores e totais pelo método DNS.....	33
5.1.2	Fenóis e flavonoides totais.....	33
5.2	Atividades antioxidante.....	35
5.2.1	Sequestro do radical livre estável DPPH.....	35
5.2.2	Potencial redutor de ferro (FRAP).....	37
5.2.3	Inibição da peroxidação lipídica (TBARS).....	39
5.2.4	Sequestro do íon óxido nítrico (NO).....	41
5.2.5	Determinação da atividade antiglicante por MRE (Mobilidade Relativa em Eletroforese).....	42
5.3	Atividade fotoprotetora.....	44
5.4	Perfil cromatografico dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-PAD).....	47
5.5	Produção de Geleia das polpas dos frutos.....	49
5.5.1	Análises físico-químicas das geleias.....	49
5.5.2	Atividade antioxidante das geleias.....	53
6	CONCLUSÃO.....	56
	REFERÊNCIAS.....	57

1 INTRODUÇÃO

Reações oxidativas são essenciais a vida, pois estão envolvidas em uma série de processos essenciais, como na geração de energia, pela oxidação de carboidratos e β -oxidação de lipídeos, algumas reações tem até a finalidade da produção de radicais livres (RL), como as de defesa (CONNER; GRISHAM, 1996). Em infecções, que são frequentes no organismo, células do sistema imune como os macrófagos e neutrófilos são capazes de liberar espécies reativas de oxigênio que auxiliam na contenção da infecção e fazem parte do processo inflamatório, porém há situações em que a presença de RL é excessiva, sendo uma condição biológica em que ocorre desequilíbrio, o stress oxidativo, relacionado a uma série de desordens no organismo (CONNER e GRISHAM, 1996, BETTERIDGE, 2000; BIRBEN et al., 2012).

Esse quadro se caracteriza pelo aumento significativo do potencial de redução no organismo, devido a um aumento na produção de compostos químicos oriundos de fontes exógenas, como a poluição, abuso de drogas, radiação (solar principalmente, dieta pobre, estresse entre outros fatores (BETTERIDGE, 2000). Esses compostos com elevado grau de reatividade em altas concentrações são apenas parcialmente contidos através de sistemas biológicos, neutralizando-os ou reparando danos por eles gerados como indicado por Roesler et al. (2007). Nesse contexto pesquisas vêm demonstrando que antioxidantes de origem vegetal têm muita importância, com destaque para compostos fenólicos, principalmente os flavonoides, reduzindo ou até mesmo eliminando os efeitos deletérios dos processos oxidativos, podendo assim ser intensivamente empregados na forma in natura ou na indústria na forma de diversos produtos na área de alimentos, cosméticos e farmacológica (ROESLER et al., 2007).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Estresse oxidativo

2.1.1 Danos oxidativos no organismo

O desequilíbrio entre a produção de RL e as defesas do organismo, quando não são suficientes, gera uma condição que pode promover desordens que provocam e contribuem tanto no processo de envelhecimento (BETTERIDGE, 2000). Essas complicações biológicas incluem alterações na expressão gênica, o que pode incluir um maior estresse oxidativo ainda gerando mutações, que podem culminar em doenças como câncer, aterosclerose, hipertensão, diabetes, síndrome de dificuldade respiratória aguda, fibrose pulmonar e até nefropatias (ROESLER et al., 2007, BIRBEN et al., 2012). Essas mutações se acumulam no material genético, e começa ocorrer uma redução dos reparos genômicos, dessa forma vai se aumentando, a quantidade de biomoléculas oxidadas como proteínas, carboidratos, lipídeos, essenciais no funcionamento do organismo, é uma reação em cadeia lenta, porém muito danosa (BETTERIDGE, 2000; SOSA et al. 2013; ROESLER et al., 2007).

2.1.2 Espécies reativas

Os RL são principalmente representados por duas classes, pelas espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (ERN), se caracterizando por átomos ou moléculas que apresentam elétrons não pareados. Os principais representantes do grupo dos ROS são: o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), lipoxoperoila (LOO^{\cdot}) e hidroxila ($^{\cdot}OH$); Os grupo dos ERN são: o óxido nítrico (NO^{\cdot}) e o ânion peroxinitrito ($ONOO^-$) (BETTERIDGE, 2000). Há também ainda outras formas de radicais livres, compostos ou elementos com instabilidade eletrônica, como os metais de transição, esses elementos, pela sua instabilidade, são capazes de gerar a lesões celulares, ou media-las, como a peroxidação de lipídeos e a oxidação de proteínas, o que nesse caso consequentemente pode gerar a inutilização de enzimática essencial ao metabolismo, ativação excessiva de genes pró-inflamatório, como interleucinas, danos ao DNA, desse modo gerando um aumento do risco de câncer (SNYDER et al., 1992; BETTERIDGE, 2000).

2.1.3 Glicação proteica

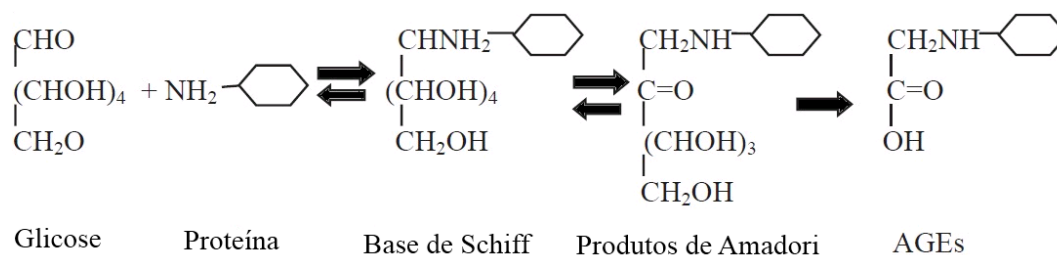
Outro processo que promove aumento no estresse oxidativo é a glicação. Este processo é gerado por açúcares redutores que se ligam em proteínas, por meio de reações complexas, denominadas de reações de Maillard. O resultado final da glicação é uma classe de compostos modificados denominados produtos de glicação avançada (AGE). Tais compostos estão relacionados às alterações do nível de citocinas, hormônios e radicais livre, contribuindo com a formação de cataratas, retinopatia, nefropatias e especialmente doenças vasculares (GOLDIN et al., 2006).

Essas reações são frequentes em alimentos como no próprio organismo, neste alteram a estrutura das proteínas e podem ser prejudiciais. Porém em certos casos são reações funcionais do organismo, estão relacionadas a conformação da estrutura quaternária adequada de proteínas, como enzimas, importante para adesão entre as células do organismo e principalmente, estão relacionadas ao sistema imune, quase todas as moléculas envolvidas na resposta imune inata e adaptativa são glicoproteínas, que sem as reações de glicação, se manter vivo, para qualquer organismo, seria inviável (RUDD et al. 2001).

A reação de Maillard é influenciada por uma série de fatores, são favoráveis a esse tipo de reação, pH básico, temperaturas elevadas, acima de 40°C, atividade de água entre 0,4 e 0,7 e a presença de metais de transição com Cu^{2+} e Fe^{2+} , pois catalisam o processo (HODGE, 1953; FINOT, 2005). Como apresentado por Hodge, (1953) e Nursten (2005) essa reação pode ser didaticamente em três fases, inicial, intermediária e final. Na fase inicial ocorre a combinação de um grupamento carbonila de açúcar redutor com a amina de uma proteína, os chamados produtos de Amadori, o primeiro produto estável, mas incolor (Figura 1). Na intermediária, os produtos de Amadori originam uma série de reações de desidratação, enolização e retroaldolização, o que resulta em compostos dicarbonílicos, redutonas, derivados do furfural e produtos da degradação de aminoácidos, com isso, é possível verificar a presença de fluorescência e de absorção de radiação na região do ultravioleta. Na última fase, compostos muito reativos, os dicarbonílicos reagem com resíduos da degradação da proteína, como o aminoácido lisina, e forma compostos estáveis, com coloração marrom, degradação, polimerização e *cross-linking* proteico, sendo irreversível, esses compostos absorvem na região UV e são capazes de emitir

fluorescência, o que auxilia na detecção. Esse processo além de ser considerado oxidativo, de certa forma, também contribui na geração de espécies reativas, como o ânion-radical superóxido (O_2^-) (HODGE, 1953; YIM et al. 1995; NURSTEN, 2005 ; SHIBAO e BASTOS, 2011).

Figura 1 - Reação de Maillard (glicação), entre glicose e proteína



Fonte: Adaptado de Bierhaus et al. (1998)

Pesquisas vêm demonstrando que antioxidantes de origem vegetal têm muita importância para combater o estresse oxidativo e a glicação, com destaque para sua composição em compostos fenólicos, reduzindo ou até mesmo eliminando os efeitos deletérios dos processos oxidativos, podendo assim ser intensivamente empregados na indústria de alimentos, cosmética e farmacêutica (ROESLER et al., 2007).

2.2 Antioxidantes de origem vegetal

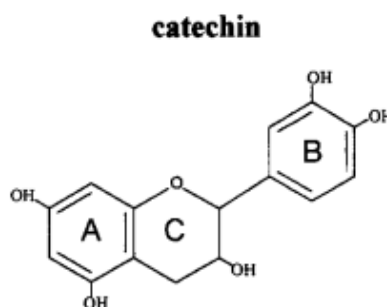
Estudos têm demonstrado uma relação inversa entre o consumo de vegetais, na forma de frutas, legumes e cereais, e a incidência de doenças degenerativas, como cardíaca coronariana e certos tipos de câncer (SHAHIDI, 1996; ROESLER et al., 2007). A atividade antioxidante relacionada a compostos de origem vegetal, atuando quimicamente como redutores, ou doadores hidrogênio e elétrons relaciona-se a neutralização de radicais livres (RICE-EVANS et al. 1997). Somado a isso, há ainda possibilidade de aplicar tais potencialidades no desenvolvimento sustentável, aproveitando as características regionais, de forma a solucionar difíceis problemas, em nível econômico, social e ambiental, preservando a riqueza biológica do país e oferecendo maior qualidade de vida a essas populações.

2.2.1 Compostos fenólicos

As substâncias fenólicas, produtos do metabolismo secundário dos vegetais, são caracterizados por apresentarem, em sua estrutura, pelo menos um anel aromático com hidroxilas, e por ser uma classe extensa de antioxidantes que desempenham funções de protetoras nos vegetais (SROKA e CISOWSKI, 2003). Como indicado por Soares (2002) compostos fenólicos podem divididos em dois grandes grupos: os flavonoides, incluindo derivados e os ácidos fenólicos (ácidos benzoico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas.

Os flavonoides possuem uma estrutura básica formada por C6-C3-C6, com três estruturas em anel (A, B e C) (Figura 2) e vários grupos funcionais hidroxilas ligadas, a partir dessa estrutura basal, são inúmeros os compostos formados, incluindo antocianidinas, flavonas e flavonóis, principalmente, além do mais é possível ainda ligação com açúcares em alguns casos, formando compostos glicosilados o que influi na funcionalidade desses, tornando-os mais solúveis em água, porém menos reativos frente a radicais livres (RICE-EVANS et al., 1997; SOARES, 2002). Esse grupo de compostos, os flavonoides, possui destaque em relação a atividade antioxidante devido a habilidade de doar hidrogênio e elétrons, desse modo neutralizando radicais livres e quelando de metais crucial na prevenção da geração de radicais que danificam as biomoléculas do organismo (CHEUNG et al., 2003). Entretanto esses compostos não são os únicos com ação antioxidante de origem vegetal, há outras classes de antioxidantes, como a dos carotenoides, que são pigmentos de variadas colorações (amarelas, laranja e vermelhas), lipofílicos, devido as longas cadeias carbônicas e pela presença de múltiplas ligações duplas conjugadas, podem ser encontrados desde animais e vegetais, até fungos (CARDOSO, 1997; STAHL E SIES, 2003).

Figura 2 - Estrutura básica de um flavonoide, representada pela catequina



Fonte: adaptado de Rice-Evans et al, (1997)

2.2.3 Espécies com potencial para aplicação na área antioxidante

Nesse contexto, as opções para a produção de riquezas naturais são diversas, uma delas a exploração de frutos, óleos e resinas, podendo ser fonte de produtos alimentícios, cosméticos, farmacêuticos e até biocombustíveis. Algumas espécies vegetais frutíferas, apesar da qualidade e sabor de seus frutos, são negligenciadas por falta de conhecimento de seus potenciais, sendo seus frutos são caracterizados como frutos alimentícios não convencionais. As plantas frutíferas, *C. cainito* (Abiu roxo), *H. speciosa* (Mangaba) e *P. glomerata* (cabeludinha) destacam-se por serem fortes candidatas a utilização e exploração sustentável, uma vez que produzem frutos de excelente qualidade e passíveis de serem aproveitados em diversas áreas industriais (POTT e POTT, 1994; LUO et al., 2002; SERAFIN et al., 2007).

2.2.4 *Chrysophyllum cainito* L. (Abiu Roxo)

Pertencente à família Sapotaceae, conhecido popularmente como abiu roxo, é encontrado na América Central, na região Amazônica, Antilhas, incluindo o Haiti, Cuba e na América do Norte. Embora pouco explorado comercialmente, o abiu é fruto bastante consumida nos trópicos na forma *in natura*. No Brasil seu consumo é mais difundido nos estados da região Norte. A polpa do fruto é de paladar agradável, gelatinosa e doce, e pode ser consumido também na forma de doces (compotas). Essa espécie possui diversas aplicações populares, entre elas estão Infusões das folhas, utilizados contra a diabetes e reumatismo articular (BONING, 2006). Estudos fitoquímicos preliminares demonstraram que essa espécie possui diferentes compostos polifenólicos, com possível atividade antioxidante, incluindo entre estes os glicosídicos, os flavonóis e ácido gálico (LUO et al., 2002).

Figura 3 - O abiu roxo (*C. cainito*), planta adulta, e seu correspondente fruto

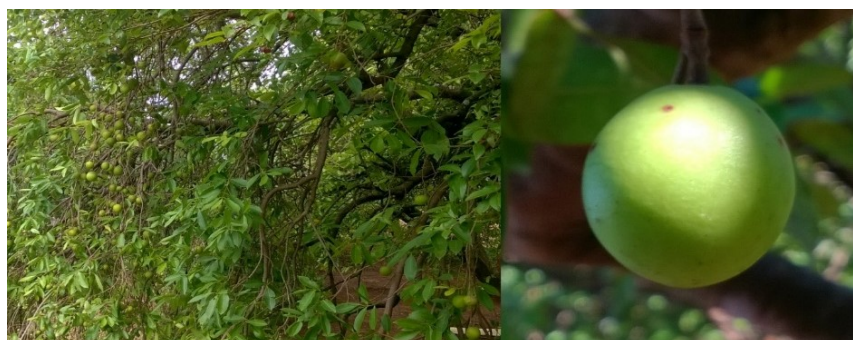


Fonte: Autor

2.2.3 *Hancornia speciosa* Gomes. (Mangaba)

Conhecida popularmente como “mangaba”, da família Apocynaceae, é uma planta de porte arbustivo, com ocorrência nas áreas de cerrado do Centro-Oeste e nas áreas costeiras do Nordeste. Possui caule rico em látex, flores alvas e frutos suculentos, os quais são muito apreciados para consumo *in natura* ou para o preparo de doces, sucos e sorvetes. Nas utilizações populares dessa espécie, destacam-se dores nos rins, na forma de solução aquosa e látex é utilizada para tratar infecções pulmonares, hipertensão e dermatoses, o látex obtido a partir do tronco é utilizado para o tratamento de doenças relacionadas com a infecção fúngica, tuberculose, e úlceras, para tratamento da acne e verrugas e certos tipos de inflamação (POTT e POTT, 1994). Tem sido relatado que os flavonoides, catequinas, proantocianidinas, taninos e estão presentes na casca de *H. speciosa* e, assim como, esteroides, triterpenos, e taninos estão presentes nas folhas (MORAES et al., 2008). E o fruto dessa planta destaca-se por possuir vitamina C (POTT e POTT, 1994).

Figura 4 - A mangabeira (*H. speciosa*), árvore, e seu correspondente fruto

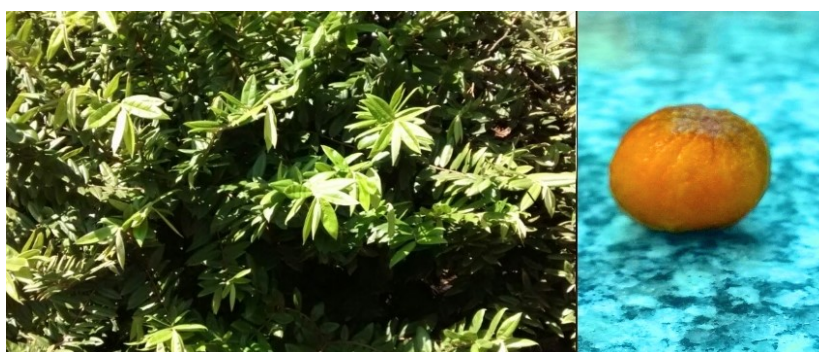


Fonte: Autor

2.2.4 *Plinia glomerata* Berg. (Cabeludinha)

Também conhecida pelos sinônimos *Myrciaria glomerata*, *Eugenia cabelluda* e *Eugenia tomentosa*, *P. glomerata* é uma planta nativa brasileira, amplamente distribuída no sul do Brasil, sudeste e sul de Minas Gerais (SERAFIN et al., 2007). Apesar de possuir um fruto apreciado na alimentação, são escassos os trabalhos sobre essas espécies. A espécie arbórea é pequena tem aproximadamente 3-4 m de altura (PACHECO-SILVA et al., 2016). O fruto comumente chamado de "Cabeludinha", devido à sua aparência peluda, é arredondado, maduro tem uma coloração amarela, eo seu peso médio é de cerca de 4 g com elevado teor de ácido ascórbico. É succulenta, agradável e ligeiramente ácida (SOUBIHE SOBRINHO et al., 1955). Estudos recentes estão destacando suas propriedades analgésicas e antimicrobianas (SERAFIN et al., 2007).

Figura 5 - A Cabeludinha (*P. glomerata*) planta adulta, e seu correspondente fruto



Fonte: Autor

Diante do exposto, o estudo de espécies vegetais frutíferas não convencionais e de utilização regional torna-se importante visto que o acúmulo de dados sobre suas potencialidades nutricionais, terapêuticas e cosmetológicas podem favorecer a obtenção e a utilização de novas fontes de compostos ativos aplicados a estas diferentes áreas, além de refletir em benefícios socioeconômicos e ecologicamente sustentáveis (CHANDRA et al., 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antioxidante e quantificar compostos fenólicos de extratos e geleias de frutos alimentícios não convencionais (*Chrysophyllum cainito* L., *Hancornia speciosa* Gomes. e *Plinia glomerata* Berg.) para possível aplicação na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia.

3.2 Específicos

- Realizar a extração aquosa, etanólica e hidroetanólica (etanol 70%) dos frutos das três espécies;
- Quantificar e determinar a presença de fenóis, flavonoides totais e açúcares dos extratos por técnicas espectrofotométricas;
- Determinar o perfil dos compostos fenólicos nos extratos por HPLC;
- Avaliar o potencial antioxidante dos extratos, por meio dos testes DPPH, TBARS, sequestro de NO e FRAP;
- Estabelecer um método de produção de geleias com os frutos, e avaliar constituintes fenólicos e potencial antioxidante por DPPH delas;
- Avaliar o potencial fotoprotetor dos extratos por espectrofotometria;
- Avaliar potencial antiglicante dos extratos pelo método de MRE.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta e processamentos dos frutos

Os frutos foram coletados de espécimes cultivados e mantidos no Campus da Faculdade de Ciências e Letras de Assis (Unesp/Assis). A identificação foi realizada no herbário do Departamento de Ciências Biológicas da FCL-Assis (UNESP) e um exemplar de cada espécie depositado como testemunha (*C. cainito* nº 01126; *H. speciosa* nº 01125; *P. glomerata* nº 01124).

Os frutos foram escolhidos de acordo com o estado de maturação, foram coletados de três indivíduos e acondicionados em caixa de poliestireno expandido devidamente arejado com temperatura aproximada de 16 °C. Os frutos foram descascados e despulpados, e as polpas foram congeladas a -18 °C para produção de extratos e geleias.

4.2 Preparo dos extratos brutos

4.2.1 Extrato hidroetanólico

A polpa congelada foi liofilizada, obtendo-se uma massa seca, após trituração foi utilizada para extração. Os extratos hidroetanólicos das polpas foram preparados na proporção de 1:10 (p/v) de solução de etanol PA a 70 % em água destilada, por maceração mecânica ao abrigo da luz por 24 h. Após este período o extrato obtido foi filtrado a vácuo e o resíduo da polpa reextraído por duas vezes. Os volumes resultantes das três extrações foram reunidos e concentrados em rotoevaporador sob pressão reduzida para eliminação completa do álcool e em seguida, o extrato aquoso resultante foi congelado a -18°C, posteriormente foi liofilizado para eliminação da água e obtenção do extrato seco.

4.2.2 Extrato etanólico

A polpa liofilizada foi macerada em agitação mecânica por 24 h em temperatura ambiente com etanol na proporção de 1:10 (p/v), logo após, o extrato resultante foi filtrado a vácuo e os resíduos da polpa foram extraídos novamente por duas vezes. Os volumes resultantes das três extrações foram reunidos e levados ao

rotaevaporador sob pressão reduzida para eliminação completa do álcool e posteriormente em uma estufa de ar circulante para secagem a 25 °C.

4.2.3 Extrato aquoso

A polpa fresca foi triturada e em seguida pesada 25 g e adicionada a um balão volumétrico completando o volume para 100 ml. Logo após, esta mistura foi submetida a agitação mecânica, com auxílio do agitador magnético por 30 min, para extração. Em seguida a solução foi submetida a filtração em papel filtro com poros de até 14 µm, logo em seguida a solução de extração foi utilizada para os testes.

4.3 Quantificação dos constituintes das polpas dos frutos

4.3.1 Dosagem de açúcares redutores e totais pelo método DNS

Para a determinação de açúcares foi utilizado o método utilizado foi DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), para tanto foi estabelecido uma curva padrão de D-glicose para estabelecer a quantidade de açúcar em cada amostra. Para determinação de açúcares nas amostras, os mesmos foram diluídos em água, em seguida centrifugados a 3500rpm por 20 min. em sequência retirada uma alíquota do sobrenadante para o teste de determinação.

Para a determinação de açúcares redutores foram adicionados 500 µl da amostra, 500 µl do reagente DNS, sob agitação, logo após foi mantido a aproximadamente 100 °C por 5 min. e seguido de resfriamento em banho de gelo. Após resfriamento, foi adicionado 8 mL da solução de tartarato de Na e K 15,1 g.L⁻¹ e as absorbâncias foram determinadas a 540 nm no espectrofotômetro. Para a amostra controle (Branco) foi utilizado 500 µl de DNS, 500 µl de água destilada e 8 ml da solução tartarato de Na e K. O teste foi realizado em triplicata (BOBBIO e BOBBIO, 2005).

Para determinação de açúcares totais foi necessário realizar a hidrólise dos extratos. A hidrólise foi realizada utilizando 2,0 mL do sobrenadante da solução de extrato centrifugado, adicionado 2,0 mL de HCl 2N, seguido de aquecimento em banho-maria em ebulição por 10 minutos e subsequente resfriamento em gelo, logo após foi acrescido 2,0 mL de NaOH 2N sob agitação. Após estes procedimentos a

dosagem de açúcar foi realizada pelo método do DNS, seguindo os mesmos procedimentos da determinação de açúcares redutores.

4.3.2 Dosagem de fenóis totais

O método utilizado para a determinação dos compostos de fenóis totais foi o de *Folin-Ciocalteu*, ácido gálico foi utilizado como padrão para as dosagens, e os resultados foram expressos em ácido gálico equivalentes (AGE). A cada 0,5 mL de amostra (extrato) foram adicionados 5 mL de água destilada e 0,25 mL do reagente de *Folin-Ciocalteu* (molibdato, tungstato e ácido fosfórico). Após 3 min foi adicionado 1 mL de solução de Na₂CO₃ saturada a 10 % e a mistura armazenada por 1 h. A absorbância foi medida a 725 nm usando um espectrofotômetro UV-Vis. Todos os testes foram realizados em triplicata.

4.3.3 Dosagem de flavonoides por método espectrofotométrico

A dosagem dos flavonoides totais dos extratos foi realizada por meio de espectrofotometria UV-Vis, de acordo com a metodologia proposta por Zhishen et al., (1999), que é baseada na complexação dos flavonoides com AlCl₃, ocorrendo o deslocamento das bandas de absorção para maiores comprimentos de onda. Uma alíquota de 250 µL dos extratos foram misturados com 1,25 mL de água destilada e 75 µL de uma solução de NaNO₂ a 5 %. Após 6 min, 150 µL de uma solução de AlCl₃/H₂O a 10 % foi adicionada a solução reagente. Decorridos 5 minutos, 0,5 mL uma solução de NaOH 1M foi adicionada e então o volume total foi completado com 2,5 mL de água destilada. As amostras foram agitadas em vortex por 1 min e as absorbâncias foram mensuradas a 510 nm. Todos os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em equivalência ao flavonoide rutina (RE).

4.4 Atividade antioxidante

4.4.1 Sequestro do radical DPPH

A atividade sequestradora do radical DPPH foi realizada de acordo com Brand-Williams, (1995). Uma alíquota de 1 mL de solução tampão de acetato (pH 5,5 e 100 mM) e 1,25 ml de etanol P.A. foram misturados, em seguida, foi adicionada 250 µl de

solução de DPPH (500 µM) e 50 µl das amostras com extrato diluído. A mistura foi agitada e permaneceu em repouso por um período de 30 min em ambiente de pouca luminosidade. A reação de sequestro do íon DPPH foi determinada por mensuração da absorbância a 517 nm em espectrofotômetro. Todas as determinações foram realizadas em triplicata. A atividade sequestradora do radical DPPH foi expressa em porcentagem sendo calculada de acordo com a seguinte equação: Atividade antioxidante (%) = $[(A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}})/A_{\text{controle}}] \times 100$, onde A_{amostra} é a absorbância das amostras após 30 min e A_{controle} é a absorbância do controle (contêm tudo exceto a amostra). Ácido ascórbico 150 µM foi utilizado como controle positivo. Para os extratos com maior atividade foi determinada a EC50 (concentração eficiente), para tanto, a EC50 foi calculada a partir de uma curva de regressão linear, obtida plotando-se na abscissa as concentrações da amostra, e na ordenada, a porcentagem de atividade.

4.4.2 Potencial redutor de ferro (*Ferric Reducing Antioxidant power* - FRAP)

Para a determinação da capacidade antioxidante por meio do teste FRAP foi utilizada a metodologia descrita por Benzie e Strain (1996) baseada na capacidade do composto antioxidante em reduzir o Fe (III) em Fe (II). No escuro o reagente FRAP foi preparado com 25 mL de tampão acetato (300 mM / pH 3.6), 2,5 mL de TPTZ (2,4,6-*Tris(2-pyridyl)-s-triazine*) (10 mM) em solução de HCl (40 mM) e 2,5 mL de FeCl₃ (20 mM). Foram misturados 90 µL das amostras em diferentes concentrações com 270 µL de água ultrapura e 2,7 mL do reagente FRAP. Em seguida, foram agitados em vórtex e mantidos em banho-maria por 30 min a 37 °C. Depois de resfriadas as amostras e controle positivo (ácido ascórbico) foram lidas a 595 nm em espectrofotômetro UV- visível. Uma curva de calibração padrão foi construída utilizando-se Trolox e os resultados foram expressos em µM de Trolox equivalente (TE) pelas concentrações analisadas. As determinações foram realizadas em triplicata.

4.4.3 Teste da inibição da formação de TBARS

A determinação do conteúdo de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi realizada para quantificar o nível de inibição da peroxidação lipídica de acordo com metodologia descrita por Costa et al. (2013). Gema de ovo foi utilizada

como substrato lipídico, sendo homogeneizada (1%, p/v) em tampão fosfato 50 mM (pH 7,4). Deste homogeneizado, 0,5 ml foi sonificado com 0,1 mL dos extratos ou controle positivo (Trolox 140 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). A peroxidação lipídica foi induzida pela adição de 0,1 mL de solução de 2,2'-azobis-2-amidinopropano (AAPH; 0,12 M), durante 30 min a 37 °C. Após o resfriamento, foi adicionado 0,5 mL de ácido tricloroacético (15 %) e 0,5 mL de ácido tiobarbitúrico (0,67 %) e aquecida a 97 °C por 15 min. As amostras, então, foram centrifugadas com 1 ml de n-butanol a 1200rpm durante 10 minutos. Após o resfriamento, as absorbâncias dos sobrenadantes dos tubos foram medidas a 532 nm utilizando um espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em porcentagem de TBARS: $(A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}/A_{\text{controle}}) \times 100$. Onde A_{controle} é a absorbância do controle (contém tudo exceto a amostra) e A_{amostra} é a absorbância das amostras com extrato ou controle positivo. Para os extratos com maior atividade foi determinada a EC50 (concentração eficiente), para tanto, a EC50 foi calculada a partir de uma curva de regressão linear, obtida plotando-se na abscissa as concentrações da amostra, e na ordenada, a porcentagem de atividade.

4.4.4 Atividade sequestradora de óxido nítrico (NO)

A atividade sequestradora de radical NO foi determinada utilizando nitroprussiato de sódio (SNP) como doador de NO de acordo com Marcocci et al. (1994). Uma mistura reacional contendo solução de SNP (10 mM) em tampão de fosfato (PBS) (20 mM, pH 7,4) com ou sem diferentes concentrações de amostra foram incubados à 25 °C por 150 minutos. O NO gerado pelo SNP reage com o oxigênio para produzir íons nitrito que foram mensurados pelo reagente Greiss (sulfanilamida 1% em H_3PO_4 5% e cloridrato de naftiletlenodiamino 0,1%). Após o período de incubação, 1ml da mistura incubada foi misturada com 1 mL de reagente Greiss. A absorbância das soluções foi medida à 542 nm. O nitrito gerado na presença e ausência da amostra foi estimado utilizando uma curva padrão de nitrito de sódio. E o resultado foi calculado pela seguinte fórmula: Atividade sequestradora (%) = $(([\text{NO}_2]_{\text{controle}} - [\text{NO}_2]_{\text{amostra}})/[\text{NO}_2]_{\text{controle}}) \times 100$. Onde, $[\text{NO}_2]_{\text{controle}}$ é a concentração de NO_2 do controle (sem amostra), e $[\text{NO}_2]_{\text{amostra}}$ é a concentração de NO_2 da amostra no teste. Para os extratos com maior atividade foram determinadas foi determinado a EC50 (concentração eficiente), para tanto, a EC50 foi calculada a partir de uma curva

de regressão linear, obtida plotando-se na abscissa as concentrações da amostra, e na ordenada, a porcentagem de atividade.

4.4.5 Determinação da atividade antiglicante por MRE (Mobilidade Relativa em Eletroforese)

Para determinação da atividade antiglicante, o método utilizado foi adaptado de Ledesma-Osuna et al. (2008). Para tal, 600 µl de diluição de extrato na concentração de 10 mg.mL⁻¹ ou 600 µl de aminoguanidina (22,1 mg.mL⁻¹,) (controle), foram misturados com 600 µl de BSA (30 mg.mL⁻¹), 600 µl de Ribose (200 mg.mL⁻¹) e 1,5 mL de tampão fosfato de potássio (0,01 M, pH 8,0). Em seguida as amostras foram aquecidas a 40°C por 2 dias. Após o aquecimento, as amostras foram dialisadas para remover os sais e açúcar não ligado e mantidas congeladas a -20 °C até à sua utilização, tratamentos foram realizadas em duplicata. BSA não tratado (Sem Ribose) foi utilizado como controle. Um alíquotas das amostras foram analisadas em SDS-PAGE, com gel de corrida a 10% e empacotamento 4%. Após a finalização da eletroforese, os géis foram revelados por Coomassie-Blue (R-250). A mobilidade relativa em eletroforese foi definida como a taxa de distância migrada da origem pelo BSA com diferentes tratamentos versus BSA não tratado ou controle.

4.5 Atividade Fotoprotetora dos extratos: Determinação do comprimento de onda para a absorbância máxima dos extratos dos frutos e FPS *in vitro*

Para determinação do comprimento de onda ($\lambda_{max.}$) e da respectiva absorbância máxima ($A_{max.}$), os extratos etanólicos e hidroetanólicos (70 %) secos foram diluídos em álcool etílico absoluto PA e foi realizada a varredura entre os comprimentos de onda de 260 a 400nm em espectrofotômetro com cubeta de quartzo (1,0 cm caminho óptico), para verificar a absorção nas regiões ultravioleta A e B (UVA e UVB) e os picos de absorção no intervalo medido. Foi utilizado o álcool etílico absoluto PA como branco e o experimento foi realizado em triplicata de acordo com metodologia descrita por Violante et al., (2009).

Para a determinação do FPS *in vitro* para o extrato de maior que apresentou maior absorbância no intervalo de UV, foi utilizado o método desenvolvido por Mansur et al., (1986). Como veículo foi utilizado etanol PA, no qual o extrato foi dissolvido na

concentração de 2 mg.mL⁻¹ e realizado varredura do extrato por espectrofotômetro UV/VIS s em cubeta de quartzo de 1,0 cm caminho óptico, na faixa de 290 a 320 nm com intervalos de 5nm. As absorbâncias obtidas serão adicionadas na equação (Mansur, 1986), $FPS = FC \times \sum_{290}^{320} EE \times I \times Abs$, onde: FPS= fator de proteção solar. FC= fator de correção (10). EE = efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda. I = intensidade da luz solar no comprimento de onda. Abs = absorbância da solução do extrato. O álcool etílico absoluto foi utilizado como branco e o experimento foi realizado em triplicata. Os resultados foram expressos como a média e o desvio padrão.

4.6 Perfil cromatográfico dos Extratos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-PAD)

A análise cromatográfica foi realizada em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC Simadzu®, analítica, binária), composta por duas bombas LC-10AD equipadas com um degaseificador DGU-20A3R, um amostrador automático SIL-10A e detector PAD (*photodiode array detector*) SPD-M10A. Os cromatogramas foram obtidos em fase reversa, utilizando uma coluna Phenomenex Luna-C18 com dimensões de 250x4,5 mm e tamanho de partícula médio de 5 µm. Para isso 30 mg de extratos foram dissolvidos em metanol a 95% (água) (menor volume viável), depois injetados num cartucho C18 e eluídos com 3 ml de metanol a 95% (água), depois concentrou-se 1 ml desta solução num evaporador rotativo. Em seguida, as amostras concentradas foram dissolvidas em metanol a 95% (água) na concentração de 10 mg.mL⁻¹ e filtradas com filtro de seringa com tamanho de poro de 0,45 µm. Em sequência, utilizou-se o modo de eluição em gradiente, variando a composição da fase móvel de 5% a 100% de metanol em água ao longo de 40 minutos por amostra. A gama de aquisição utilizada no detector PAD foi de 190 a 800 nm.

4.7 Produção geleias dos diferentes frutos e avaliação da atividade antioxidante

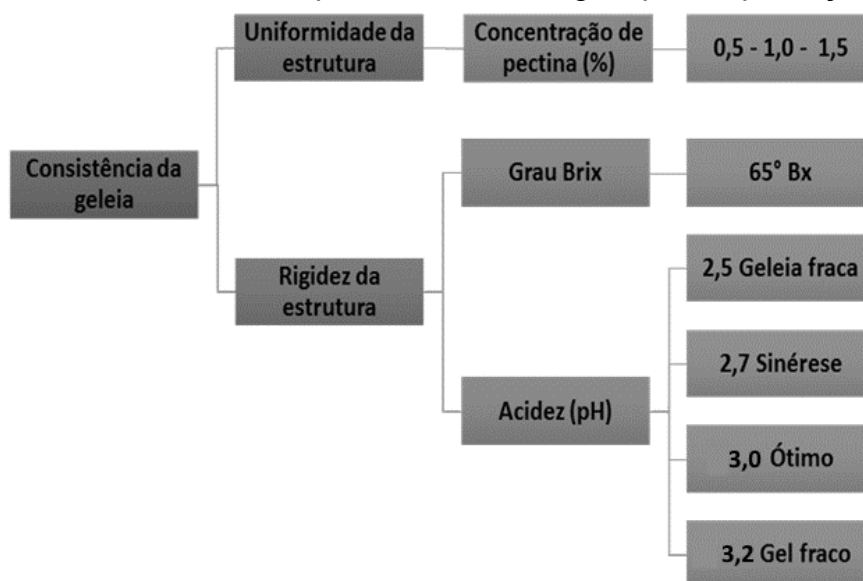
4.7.1 Produção das geleias

Foram pesadas duas amostras de polpa congelada e triturada, 50 g para produção da geleia extra e 40 g para obtenção da geleia comum, em seguida adicionada a um Becker para cocção, no qual foi aquecida a temperatura de 70 °C e

adicionada 50 g de açúcar para a obtenção de geleia extra e 60 g de açúcar para geleia comum, metodologia realizada conforme parâmetros determinados pela Resolução - CNNPA nº 12, de 1978 (ANVISA, 1978). A seguir, a temperatura foi ajustada para 100°C, com sobre agitação constante durante a cocção. O tempo de cocção foi determinado em função do grau Brix, quando a geleia atingiu 60 °Bx foram adicionados a pectina e o ácido cítrico, e permaneceu sob cocção até atingir 65 °Bx. Para atingir o ponto de geleia foram considerados outros 2 parâmetros, concentração de pectina adequada para cada material (0,5, 1 ou 1,5%) e ajuste acidez para pH 3,0 com o auxílio de ácido cítrico (Figura 6).

Após a cocção a geleia ainda quente foi envasada em embalagens de vidro com capacidade para 100 g, previamente esterilizadas a 121 °C por 15 minutos e fechadas com tampa de metal. Em seguida foram resfriadas a temperatura aproximada de 40 °C e estocados em refrigeração.

Figura 6 - Fluxograma apresentando as concentrações de pectina (0,5, 1,0 e 1,5%) que foram testadas e o pH ideal a ser atingido para a produção de geleia



Fonte: Adaptado de Rauch (1965)

4.7.2 Avaliação das características físico-químicas e antioxidante

O rendimento da produção de geleia foi determinado por meio da razão entre a massa de geleia e a massa de polpa e açúcar, calculado da seguinte maneira: $R =$

$(M_{\text{geleia}}/M_{\text{polpa}} + \text{Açúcar}) \times 100$. Onde: R= Rendimento; M_{geleia}= massa de geleia obtida; M_{polpa} + açúcar= massa de polpa e o açúcar adicionado para fabricação da geleia.

Os açúcares redutores e totais das geleias foram determinados pelo método DNS de acordo com o descrito no item 1. 3. 1 , a determinação de fenóis totais pelo método *Folin ciocalteau* como descrito no item 1. 3. 2, já para a avaliação antioxidante foi utilizado teste DPPH conforme descrito no item 1. 4. 1. Para realização desses testes as geleias foram diluídas na concentração desejada, mantidas sob agitação durante 20 min e filtradas, as soluções resultantes foram filtradas em papel filtro com poros de até 14 µM (FALCÃO et al, 2007). Para cada teste foi utilizado 3 amostragens, sendo que cada uma foi realizada em triplicata.

4.8 Análises estatísticas

Para os resultados obtidos foram avaliados por meio da Análise de Varância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey a 5%, como post hoc teste. Para tais análises foi utilizado o software estatístico BioEstat 5.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Quantificação dos constituintes das polpas dos frutos

5.1.1 Açúcares redutores e totais pelo método DNS

As concentrações de açúcares determinada pelo método DNS nos extratos etanólico e hidroetanólico e aquoso dos frutos de *C. cainito*, *H. speciosa* e *P. glomerata* estão apresentaram na Tabela 1. Foi observado um maior valor de açúcar total para a extrato hidroetanólico da polpa de *C. cainito* (858,67 mg.g⁻¹ de extrato seco) e açúcar redutor para o extrato etanólico fruto de *P. glomerata* (582,92 mg.g⁻¹ de extrato seco).

Tabela 1 - Dosagem de açúcares redutores e totais dos extratos etanólico, hidroetanólico e aquoso de *H. speciosa*, *P. glomerata* e *C. cainito* pelo método DNS

Fruto	Etanólico ^a		Hidroetanólico ^a		Aquoso ^b	
	Redutor	Totais	Redutor	Totais	Redutor	Totais
<i>C. cainito</i> /Casca	514,65±9,04	661,79±2,22	334,40 ±4,34	605,64±9,04	28,12±1,46	205,72±3,20
<i>C. cainito</i> /Polpa	567,25 ±3,57	617,46±8,04	306,02±10,44	858,67±11,80	90,02±3,02	340,03±7,93
<i>H. speciosa</i>	359,51±9,33	398,42±7,69	576,12±7,97	794,77±11,96	93,87±7,09	277,08±6,02
<i>P glomerata</i>	582,92 ±6,57	766,70±4,55	574,05±4,82	659,20±8,78	64,32±0,36	157,18±1,26

Fonte: Autor

a: resultados expressos em mg por grama de extrato seco

b: resultados expressos em mg por grama de fruto fresco

De acordo com as análises realizadas, em sua maior parte, açúcares representaram mais de 50 % da massa seca de extrato, e uma grande parte desses, sendo representada pelo açúcares redutores. Essa característica é prevista para vegetais com frutos polposos e suculentos, pois, de maneira geral apresentam elevada concentração de compostos de reserva, os açúcares, sendo dessa forma elevado seu valor energético, esses açúcares podem ser encontrados em formas simples como a frutose e sacarose ou em formas mais complexas como fibras, que incluem pectinas e celulose. Resultados similares foram obtidos com extratos de diferentes variedades de café de acordo com Fernandes et al. (2003).

5.1.2 Fenóis e flavonoides totais

Foram determinados os compostos fenólicos e flavonoides totais nos diferentes extratos na concentração de 1 mg.mL⁻¹, por técnicas espectrofotométricas. Os

maiores resultados nas dosagens de compostos fenólicos e flavonoides totais foram observados para o extrato aquoso da casca de *C. cainito* (109,82 e 38,49 µg de RE respectivamente), os valores estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Dosagem de fenóis e flavonoides totais dos extratos etanólico, hidroetanólico (70%) e aquoso de *H. speciosa*, *P. glomerata* e *C. cainito*

Fruto	Extrato Etoh ^a		Extrato Hetoh ^b		Extrato Aquoso	
	FET ^c	FLT ^d	FET	FLT	FET ^e	FLT ^f
<i>C. cainito</i> /Polpa	50,32±0,72	4,52±4,12	72,37±1,51	21,45±0,35	73,23±0,62	30,04±0,98
<i>C. cainito</i> /Casca	60,9±0,93	22,45±3,20	90,34±,79	30,4±1,24	109,82±3,36	38,49±3,41
<i>H. speciosa</i>	4,52±1,45	-	48,29±0,81	-	42,83±1,31	8,35±1,56
<i>P. glomerata</i>	17,25±2,73	-	60,62±2,10	-	91,29±1,72	25,65±1,90

Fonte: Autor

a: Extrato etanólico

b: Extrato hidroetanólico (70%)

c: Fenóis totais expressos em µg de ácido gálico equivalentes (AGE) por mg de extrato seco

d: Flavonoides totais expresso em µg de rutina equivalentes (RE) por mg de extrato seco

e: Fenóis totais expressos em µg de ácido gálico equivalentes (AGE) para fenóis totais por 100mg de fruta fresca pelo extrato aquoso

f: Flavonoides totais expresso em µg de rutina equivalentes (RE) para flavonoides totais por 100mg de fruta fresca pelo extrato aquoso

A espécie *C. cainito* apresentou teores de fenóis e flavonoides totais para todos os extratos em ambas partes do fruto (polpa e casca), sendo maiores para o extrato hidroetanólico da casca que apresentou 90,34±1,79 µg de AGE por mg de extrato e 30,4±1,24 µg de flavonoides totais em RE (Tabela 2). Estes resultados podem estar relacionados a possível presença de flavonoides de maior polaridade neste tipo de extrato, como os glicosilados, por exemplo a Rutina (WILLIAMS et al., 2001). Corroboram com esses resultados estudos realizados por Luo et al., (2002), onde foi verificada a presença de compostos fenólicos neste fruto (casca e polpa), entre eles diversos flavonoides, além de comprovar a atividade antioxidante destes flavonoides, por meio do teste DPPH.

Para *H. speciosa*, todos os extratos do fruto apresentaram fenóis totais, porém com maior concentração para o extrato hidroetanólico (4,52 ± 1,45 µg em AGE por g de extrato) (Tabela 2). Já para a determinação de flavonoides totais apenas o extrato aquoso dessa espécie apresentou resultados (8,35 ± 1,56 µg em RE por 100 mg de fruto fresco). Estudos realizados por Ferreira et al. (2007), demonstraram que extrato etanólico da folha *H. speciosa* apresenta significativo teor de compostos fenólicos, determinado por HPLC, como o flavonoide rutina, além de associar estes compostos com a atividade vasodilatadora apresentado pelo extrato desta espécie.

Já para *P. glomerata*, foi observado teores de fenóis totais para todos os extratos avaliados, com destaque o extrato hidroetanólico que apresentou o maior valor ($60,62 \pm 2,10$ μg por mg de extrato em AGE) (Tabela 2). Quanto ao teor de flavonoides, semelhante a *H. speciosa*, apenas o extrato aquoso dessa espécie apresentou flavonoides totais ($25,65 \pm 1,90$ μg em RE por 100 mg de fruto fresco). Estes resultados estão de acordo com estudo realizado por Fischer et al. (2008), onde o mesmo demonstrou a presença de compostos fenólicos nos extratos da folha dessa espécie, assim como sua relação com a atividade antinociceptiva do extrato.

Dessa forma é possível sugerir que compostos fenólicos dos frutos das espécies analisadas possivelmente estão relacionados as atividades avaliadas neste estudo e que o consumo delas pode promover benefícios nutricionais, pois trabalhos realizados por Shahidi, (1996) postulam que o consumo de vegetais ricos em compostos fenólicos, principalmente frutos, pode atuar reduzindo os efeitos de doenças relacionadas ao envelhecimento, degenerativas e ao stress oxidativo.

Todavia, os extratos etanólicos e hidroetanólicos os *H. speciosa* e *P. glomerata* não apresentaram flavonoides nesta metodologia, o que está possivelmente relacionado a dependência da complexação de íons Al^{3+} com hidroxilas ligadas aos anéis A, B e C neste teste, se o por hipótese os flavonoides contidos nos extratos dessas espécies forem glicosilados não são detectáveis por essa metodologia (RICE-EVANS et al., 1997). Já que as análises realizadas em HPLC, desses mesmos extratos, indicaram a presença de flavonoides.

5.2 Atividades antioxidante

5.2.1 Sequestro do radical livre estável DPPH

Nas tabelas 3 e 4 estão expressos os valores da atividade antioxidante dos diferentes extratos dos frutos de *P. glomerata*, *H. speciosa* e *C. cainito*, pelo método do DPPH. De acordo com os resultados é possível observar que a maior atividade foi apresentada pelo extrato hidroetanólico de *C. cainito* (casca), sendo de 65,64 % a atividade antioxidante na concentração de $1000 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$.

Tabela 3 - Atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH (%) dos extratos aquosos de *P. glomerata*, *H. speciosa*, *C. cainito* e ácido ascórbico

Concentração mg.ml ⁻¹	<i>C. cainito</i>		<i>H. speciosa</i>	<i>P. glomerata</i>	Ácido ascórbico ^a
	Casca	Polpa			
1	-	-	-	1,54±0,59a	
5	6,69±1,41a	-	-	3,59±0,84b	
10	10,82±3,92a	1,08±0,30a	-	5,38±1,26b	
50	39,72±2,99b	6,42±0,36b	0,77±0,39a	17,69±0,63c	
100	57,82±2,44c	12,70±0,72c	13,41±1,02b	24,36±1,26d	94,62±1,54
EC50	64,03			198,67	

Fonte: Autor

a: Ácido ascórbico na concentração de 150µg.mL⁻¹ (controle positivo).

Médias e desvio padrão seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4 - Atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH (%) dos extratos etanólico e hidroetanólico (70 %) dos frutos de *C. cainito* e *P. glomerata*, e ácido ascórbico

Concentração µg.mL ⁻¹	<i>C. cainito</i>			<i>P. glomerata</i>		Ácido ascórbico ^{III}
	Hetoh/Polpa	Etoh/Casca	Hetoh/Casca	Etoh ^I	Hetoh ^{II}	
50	-	-	3,56±1,03a	-	-	
75	-	3,25±2,01a	10,62±1,22b	-	3,53±1,17a	
100	-	8,34 ±0,98a	20,45±0,96c	2,88±1,35a	8,45±1,56a	
250	3,57±0,97a	16,34±2,25b	28,67±2,16c	6,45±0,63b	18,34±0,73b	
500	4,45±1,53a	25,43±2,17c	60,34±0,60d	15,65±0,23c	30,34±1,56c	
1000	8,24±1,86b	59,56±0,69d	65,64±1,39d	26,43±1,82d	46,54±2,17d	94,62±1,54
EC50			379,87		1008,23	

Fonte: Autor

I: Extrato etanólico

II: Extrato hidroetanólico (70%)

III: Ácido ascórbico na concentração de 150µg.mL⁻¹ (controle positivo)

Médias e desvio padrão seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Na avaliação antioxidante dos extratos da polpa e da casca *C. cainito* somente o extrato etanólico da polpa não apresentou atividade sequestradora do radical DPPH. Já o extrato hidroetanólico da casca obteve maior atividade (65,64±1,39 % na concentração máxima de 1000 µg.mL⁻¹; EC50 de 379,87 µg.mL⁻¹, 75,96 µg de extrato foram capazes de neutralizar 0,1mg de DPPH), possivelmente devido a sua maior concentração de compostos fenólicos como observado na Tabela 2. Já para polpa, o maior valor de atividade foi observado para o extrato aquoso (12,70±0,72 % a 100 mg.mL⁻¹). Para extrato aquoso da casca o valor atingido foi de 57,81 % para

concentração $100\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e EC_{50} de $64,03\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($15,28\text{mg}$ de casca foram capazes de neutralizar $0,1\text{mg}$ de DPPH) (Tabela 3). Resultados semelhantes foram descritos por Ningsih *et al.*, (2016), onde realizando o teste DPPH com o extrato hidroetanólico da folha dessa espécie, obteve $91,08\%$ de atividade, demonstrando assim o potencial antioxidante de extratos de diferentes partes *C. cainito*.

Para *H. speciosa* somente foi determinada atividade antioxidante para o extrato aquoso que apresentou $13,41\pm 1,02\%$ de atividade na concentração máxima de $100\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Tabela 3). Estes resultados assemelham-se aos obtidos por Assumpção *et al.*, (2014), que observaram a atividade antioxidante do fruto de mangaba e determinaram o EC_{50} 3050g de fruto por g de DPPH.

Para *P. glomerata*, o extrato hidroetanólico apresentou maior atividade na concentração de $1000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($46,54\pm 2,17\%$; EC_{50} de $1008,23\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; $237,64\text{ }\mu\text{g}$ de extrato foram capazes de neutralizar $0,1\text{mg}$ de DPPH). O extrato etanólico, dessa mesma espécie, apresentou $26,43\pm 1,82\%$ de atividade também na concentração máxima ($1000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Já o extrato aquoso apresentou maior valor concentração de $100\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ com $24,36\pm 1,26\%$ de atividade e EC_{50} de $198,67\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($39,64\text{ mg}$ de fruto foram capazes de neutralizar $0,1\text{mg}$ de DPPH) (Tabela 3). Já estudos realizados por Bagatolli *et al.*, (2016) com extrato metanólico da casca do fruto chegou ao EC_{50} de $15,9\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, demonstrando assim mais eficiência para extrair compostos antioxidantes utilizando metanol para extrair compostos da casca do fruto.

5.2.2 Potencial redutor de ferro (FRAP)

Os resultados do teste FRAP para o extrato aquoso na Tabela 5 e para os extratos etanólico e hidroetanólico estão representados na Tabela 6, é possível constatar que o maior valor encontrado desta atividade foi para o extrato aquoso de *C. cainito* (casca) com $829,37\text{ }\mu\text{M}$ de TE.

Tabela 5 - Resultados do teste FRAP expressos em μM de Trolox equivalentes (TE) do extrato aquoso de *H. speciosa*, *P. glomerata*, *C. cainito* e ácido ascórbico

Concentração mg.mL^{-1}	<i>C. cainito</i>		<i>H. speciosa</i>	<i>P. glomerata</i>	Ácido ^{II} ascórbico
	Polpa	Casca			
25		122,33 \pm 4,91a		45,92 \pm 6,40a	
50	12,70 \pm 3,40a	359,55 \pm 12,21b	34,61 \pm 0,12a	88,81 \pm 1,49b	
100	98,44 \pm 3,18b	829,37 \pm 8,85c	74,14 \pm 2,41b	167,88 \pm 2,76c	124,65 \pm 3,76

Fonte: Autor

I: mg.mL^{-1} de fruto fresco

II: Ácido ascórbico na concentração de $15\mu\text{g.mL}^{-1}$ (controle positivo)

Médias e desvio padrão seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 6 - Resultados do teste FRAP expressos em μM de Trolox equivalentes (TE) dos extratos etanólico e hidroetanólico (%) de *H. speciosa*, *P. glomerata*, *C. cainito* e ácido ascórbico

Concentração $\mu\text{g.mL}^{-1}$	<i>C. cainito</i>		<i>H. speciosa</i>	<i>P. glomerata</i>		Ácido ascórbico ^{III}
	Polpa	Casca		Hetoh	Hetoh	
	Hetoh ^I	EtOH ^{II}	Hetoh	Hetoh	Hetoh	EtOH
100	-		15,34 \pm 0,25a	-	-	-
250	-	10,32 \pm 0,84a	50,12 \pm 5,11b	-	-	-
500	-	45,32 \pm 3,83b	120,23 \pm 4,91c	-	43,07 \pm 2,04a	-
1000	20,43 \pm 1,41	112,41 \pm 5,86c	231,34 \pm 3,41d	20,11 \pm 3,60	107,89 \pm 0,90b	44,93 \pm 1,83

Fonte: Autor

I: Extrato hidroetanólico (70%)

II: Extrato etanólico

III: Ácido ascórbico na concentração de $15\mu\text{g.mL}^{-1}$ (controle positivo)

Médias e desvio padrão seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

No teste FRAP realizado com o extrato aquoso para o fruto de *C. cainito* (Tabela 5), os maiores valores foram obtidos para a concentração de 100 mg.mL^{-1} , tanto para extrato da casca ($829,37\pm 8,85\ \mu\text{M}$ de TE) como para a polpa ($98,44\pm 3,18\ \mu\text{M}$ de TE). Já para o extrato etanólico da casca de *C. cainito*, na concentração de $1000\ \mu\text{g.mL}^{-1}$, foi obtido o valor de $112,41\pm 5,86\ \mu\text{M}$ de TE, sendo que no extrato etanólico da polpa não foi observado valores de redução do Ferro. Para os extratos hidroetanólicos da casca e da polpa foram observados os valores de $231,34\pm 3,41\ \mu\text{M}$ de TE e $20,43\pm 1,41\ \mu\text{M}$ de TE respectivamente, na concentração de $1000\ \mu\text{g.mL}^{-1}$ (Tabela 6). Em estudo realizado por Oguntoyinbo et al., (2015) o extrato etanólico folha de *Chrysophyllum albidum* (Abiu africano) utilizando uma concentração de $250\ \mu\text{g.mL}^{-1}$ apresentou uma

atividade $0.39 \pm 0.01 \mu\text{mol Fe(II).g}^{-1}$ de massa seca avaliado pelo teste FRAP, resultados que estão de acordo com os encontrados no presente estudo.

Para as espécies *H. speciosa* o extrato aquoso apresentou um valor de $74,14 \pm 2,41 \mu\text{M}$ de TE na concentração máxima de 100 mg.mL^{-1} . Já o extrato etanólico de *H. speciosa* não apresentou resultado para esse teste e o hidroetanólico somente para a concentração $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, ($20,11 \pm 3,60 \mu\text{M}$ de TE) (Tabela 5 e 6). Resultados semelhantes foram observados para o extrato hidroalcoólico em estudos realizados por Rufino et al., (2010), que analisaram por meio do teste FRAP o extrato hidroetanólico do fruto de *H. speciosa* e obtiveram uma atividade de $18.3 \pm 1.6 \mu\text{mol Fe(II)SO}_4.\text{g}^{-1}$.

Quanto ao extrato aquoso de *P. glomerata*, atingiu o maior valor ($167,88 \pm 2,76 \mu\text{M}$ de TE) foi observado na concentração máxima de 100 mg.mL^{-1} (Tabela 5). Já o extrato hidroetanólico apresentou $107,89 \pm 90 \mu\text{M}$ de TE e o etanólico, $44,93 \pm 1,83 \mu\text{M}$ de TE (Tabela 6). No estudo realizado por Sacchet et al., (2015) o extrato aquoso do fruto de *Plinia trunciflora* mostrou significativa atividade redutora de Fe(II) a partir da concentração de $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ mostrando a elevada capacidade de plantas desse gênero.

5.2.3 Inibição da peroxidação lipídica (TBARS)

Na tabela 7 e 8 estão expressos os valores do teste de inibição de peroxidação lipídica (TBARS) para os extratos aquosos, hidroetanólicos e etanólicos das espécies avaliadas. O extrato aquoso da casca de *C. cainito* foi o que apresentou maior atividade de antiperoxidação lipídica ($42,81 \%$).

Tabela 7 - Inibição da formação de TBARS (%) *in vitro* pelos extratos aquosos dos frutos de *H. speciosa*, *P. glomerata* e *C. cainito*, e Trolox

Concentração mg.mL ⁻¹	<i>C. cainito</i>		<i>H. speciosa</i>	<i>P. glomerata</i>	Trolox ^I
	Polpa	Casca			
10		2,95±0,76a			
25	5,34±1,67a	9,79±2,35b	3,01±1,17a	3,56±1,46a	
50	18,05±1,64b	16,90±0,68c	9,52±0,79b	8,70±1,85a	
100	39,52±0,69c	42,81±3,29d	20,68±0,60c	24,18±1,04b	62,86±2,11
EC50	107,05				

Fonte: Autor

I: Trolox na concentração de 150µg.mL⁻¹ (controle positivo)

Médias e desvio padrão seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 8 - Inibição da formação de TBARS (%) *in vitro* pelos extratos etanólico, hidro-etanólico (70%) dos frutos de *H. speciosa*, *P. glomerata*, *C. cainito* e Trolox

Concentração µg.mL ⁻¹	<i>C. cainito</i>				<i>H. speciosa</i>		<i>P. glomerata</i>		Trolox ^{III}
	Polpa		Casca		EtOH	HetOH	EtOH	HetOH	
	EtOH ^I	HetOH ^{II}	EtOH	HetOH					
75	-	-	-	0,62±0,54a	-	-	-	-	
100	1,1±0,67a	1,64±0,25a	2,05±0,67a	1,71±1,11a	-	-	-	-	
250	4,79±0,63b	5,48±0,16b	5,07±1,10a	6,64±0,98b	-	-	1,99±0,33a	3,29±0,59a	
500	8,9±2,81c	10,45±0,84c	11,65±3,28b	14,67±1,47c	-	-	7,78±2,73b	6,45±3,12b	
1000	15,73±0,71d	18,9±2,29d	16,88±0,88c	22,56±1,67d	1,8 ± 0,36	2,23 ± 0,78	16,35±3,21d	11,50±2,37c	62,86±2,11

Fonte: Autor

I: Extrato etanólico

II: Extrato hidroetanólico

III: Trolox na concentração de 150µg.mL⁻¹ (controle positivo). Médias e desvio padrão seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados do TBARS para a espécie *C.cainito* foi observado atividade para todos os extratos da polpa e da casca. Porém a maior atividade foi constatada no extrato aquoso da casca (42,81±3,29 %) na concentração de 100 mg.mL⁻¹ com um EC50 de 107,05 mg.mL⁻¹ (Tabela 7). Já na análise do extrato etanólico da polpa foi observado o valor de 15,73±0,71 % de atividade, para o da casca o valor foi de 16,88±0,88 %. Para o fruto dessa mesma espécie o extrato hidroetanólico, na concentração de 1000 µg.mL⁻¹, a polpa apresentou atividade de 18,90±2,29 % e o da casca apresentou uma atividade inibidora de 22,56±1,67 % (Tabela 8). Apesar de não haver resultados dessa análise para essa mesma espécie, resultados com espécie do mesmo gênero são semelhantes aos encontrados nesse

estudo. Como os Philippe et al., (2010), que avaliaram a atividade inibidora da peroxidação lipídica em com o extrato metanólico da raiz de *Chrysophyllum perpulchrum* (Abiu amarelo) e obteve 64.40 % de atividade.

Já para *H. speciosa*, o extrato aquoso apresentou o maior valor ($20,68 \pm 0,60$ %) na concentração de 100 mg.mL^{-1} (Tabela 7). Para os extratos etanólico e hidroetanólico na concentração de $1000 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$ os valores da atividade inibidora obtidos foram $1,8 \pm 0,36$ % e $2,23 \pm 0,78$ %, respectivamente (Tabela 8). Para esta espécie não há na literatura recente dados sobre avaliações antioxidantes empregando o ensaio do TBARS também, porém trabalhos realizados por Conrad et al., (2013), Vale et al., (2015) e Dogra (2016) demonstraram que espécies da família Apocynaceae apresentam compostos com atividade antioxidante capazes de inibir a peroxidação lipídica tanto *in vivo* como *in vitro*.

Quanto a espécie *P. glomerata*, o extrato aquoso do fruto apresentou $24,18 \pm 1,04$ % de atividade inibitória na concentração de 100 mg.mL^{-1} (Tabela 7). Já para os extratos etanólico e hidroetanólico as maiores atividades foram observadas na concentração de $1000 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$ ($16,35 \pm 3,21$ % e $11,50 \pm 2,37$ %, respectivamente). Estudos semelhantes foram realizados por Sacchet et al., (2015) com outra espécie do gênero *Plinia*, avaliaram o extrato aquoso do fruto de *Plinia trunciflora*, e constataram uma IC50 de $70.4 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$, evidenciando a presença de compostos com atividade antioxidante, incluindo a inibição da peroxidação lipídica.

5.2.4 Sequestro do íon óxido nítrico (NO)

Este radical é produzido a partir da L-arginina, por uma reação mediada pela enzima NO-sintase constitutiva (c-NOS) e induzível (i-NOS). O NO é às vezes benéfico, atua como mediador e no relaxamento muscular, outras vezes prejudicial ao organismo, no estresse oxidativo, sendo tóxico (Dusse et al., 2003). O radical nitrito em excesso, pode está envolvido no desenvolvimento de inúmeras patologias, como o câncer, sendo importante na investigação de substâncias capazes de sequestrar, ou seja, reduzir esse radical. Na Tabela 9 estão apresentados os resultados do sequestro do NO para os extratos etanólicos e hidroetanólicos das diferentes espécies avaliadas.

Semelhantemente aos demais ensaios antioxidantes realizados no presente estudo, o maior valor de redução de nitrito livre foi observado para o extrato

hidroetanólico da casca do fruto de *C. canito* ($49,31 \pm 1,75\%$) na concentração de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, e uma EC_{50} de $1032,48 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (Tabela 9). Para esta espécie não há na literatura recente dados sobre avaliações sobre o a atividade de sequestro de NO, porém trabalhos realizados por Ma (2004) e Partap e Pandey (2012) demonstraram que espécies da família Sapotaceae apresentam compostos com atividade antioxidante por meio do sequestro do NO.

Não foi observada atividade pelo teste de sequestro do NO para os extratos *H. speciosa*. Já os extratos dos frutos de *P. glomerata* apresentaram atividade $38,79 \pm 2,14\%$ para o extrato hidroetanólico na concentração de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (Tabela 9). Estudos semelhantes realizados por Jagetia et al., (2004) com *Eugenia jambolana*, espécie da mesma família que *P. glomerata*, constataram que extrato hidroetanólico (50%) da semente na concentração de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ apresentou a atividade ($64,80 \pm 0,87\%$) sequestradora do íon NO.

Tabela 9 - Porcentagem de atividade antioxidante pelo método de sequestro do Oxido Nítrico (%) dos extratos etanólico e hidroetanólico dos frutos de *H. speciosa*, *P. glomerata*, *C. canito* e rutina

Concentração $\mu\text{g.mL}^{-1}$	<i>C. canito</i>			<i>P. glomerata</i>		Rutina ^{III}
	Polpa	Casca		EtOH	Hetoh	
	Hetoh ^I	EtOH ^{II}	Hetoh			
75			4,64 \pm 0,93a			
100	-		10,92 \pm 2,12b			
250	5,70 \pm 2,21a	6,88 \pm 1,81a	27,76 \pm 1,46c		4,04 \pm 0,93a	
500	17,80 \pm 1,43b	22,66 \pm 1,55b	32,86 \pm 0,87c		12,69 \pm 3,34a	29,30 \pm 2,77b
1000	18,51 \pm 0,60b	41,16 \pm 0,44c	49,34 \pm 1,75d		23,72 \pm 0,93b	38,79 \pm 2,14c
EC50						1032,38

Fonte: Autor

I: Extrato hidroetanólico

II: Extrato etanólico

III: Rutina na concentração de 1mg.mL^{-1} (controle positivo)

Médias e desvio padrão seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

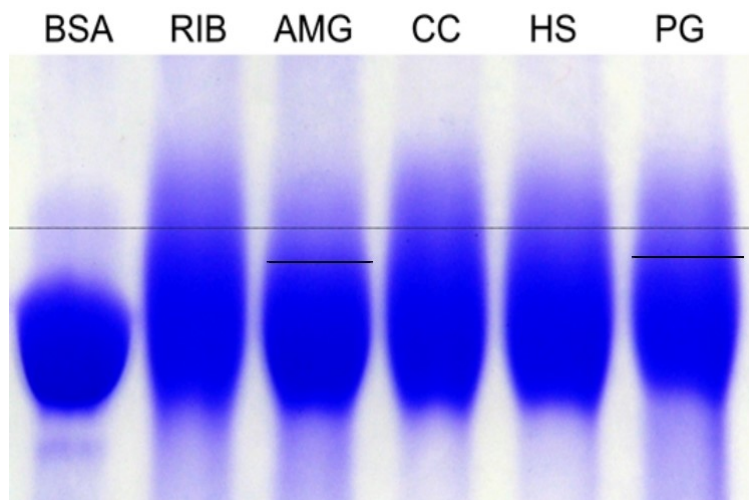
5.2.5 Determinação da atividade antiglicante por MRE (Mobilidade Relativa em Eletroforese)

Na avaliação antiglicante dos extratos realizada no presente estudo foi possível utilizar pela primeira vez a técnica da Mobilidade Relativa em Eletroforese, empregando como proteína padrão a Soro Albumina Bovina (BSA), submetida a

glicação com o açúcar Ribose. Quando ocorre combinação da BSA com o açúcar é possível observar modificação (SDS/PAGE) na migração da proteína, sendo menor que a controle (não glicada), possivelmente relacionada à ligação covalente entre a proteína e o açúcar (Ledesma-Osuna et al., 2008; Kanska e Boratynski, 2002).

Na figura 7 estão apresentados os perfis eletroforéticos dos diferentes extratos, onde foram avaliados somente os extratos com maior atividade antioxidante observados nas análises anteriores. É possível observar que o padrão eletroforético do extrato de *P. glomerata*, após reação com BSA e Ribose, demonstrou maior similaridade com o controle positivo antiglicante (Aminoguanidina, AMG), sugerindo assim uma atividade antiglicante desse extrato. Esta constatação pode estar relacionada com a atividade antidiabética observada em estudos realizados por Borges et al., (2014) e Fujita et al., (2015), onde foi demonstrado que espécies do gênero *Myrciaria* (sinonímia do gênero *Plinia*) apresentam ação anti-hiperglicêmica e na prevenção de doenças correlacionadas ao diabetes. No entanto, as espécies *C. cainito* e *H. speciosa* não apresentaram atividade antiglicante pela metodologia de avaliação empregada, apesar de terem apresentado atividade antioxidante, conforme demonstrado neste estudo.

Figura 7 - Resultado de MRE para os extratos etanólicos (70%) dos frutos de *C. cainito* (casca), *H. speciosa*, *P. glomerata* e na concentração 10mg.mL⁻¹



Fonte: Autor

BSA: BSA nativo sem tratamento

RIB: BSA e ribose

AMG: BSA, ribose e aminoguanidina

CC: BSA, ribose e extrato de *C. cainito*

HS: BSA, ribose e extrato de *H. speciosa*

PG: BSA, ribose e extrato de *P. glomerata*.

5.3 Atividade fotoprotetora

Nas figuras 8 e 9 estão apresentadas as varreduras dos extratos secos dos frutos de *C. cainito* (casca e polpa), *H. speciosa* e *P. glomerata* com a comprimento de onda (λ max.) e absorbância máxima (A max) entre 290 a 360nm (Tabela 10), compreendendo a zona de absorção do UVA e UVB.

Apenas o resultado do extrato hidroetanólico da casca de *C. cainito* apresentou absorção de UV significativa, no comprimento de onda 271nm a absorbância de 1,072, (Tabela 10) comparável aos resultados encontrados por Violante et al. (2009), na varredura é possível observar também que o extrato possui significativa absorbância nos intervalos de 290 e 320 nm (Figura 9). Esse resultado também condiz com a quantificação de compostos fenólicos já que eles são apontados como os principais compostos que possuem capacidade de absorção de radiação UV.

Figura 8 - Resultado da varredura do extrato etanólico dos frutos de *H. speciosa*, *P. glomerata* e *C. cainito* na concentração 1 mg.mL^{-1} entre os comprimentos de onda de 260 a 400nm

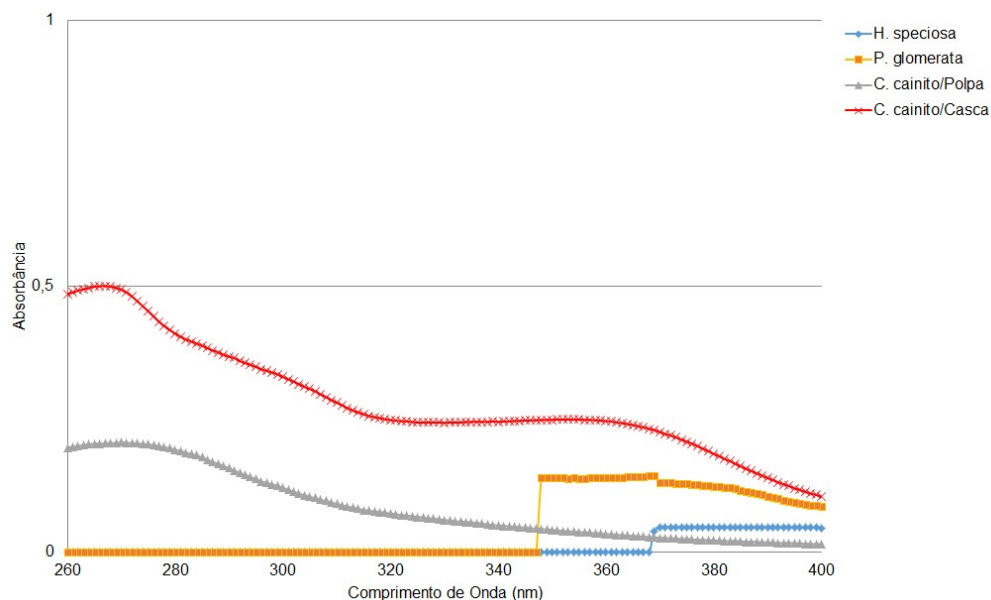


Figura 9 - Resultado da varredura dos extratos hidroetanólico (70%) dos frutos de *H. speciosa*, *P. glomerata* e *C. cainito* na 1 mg.mL^{-1} entre os comprimentos de onda de 260 a 400nm

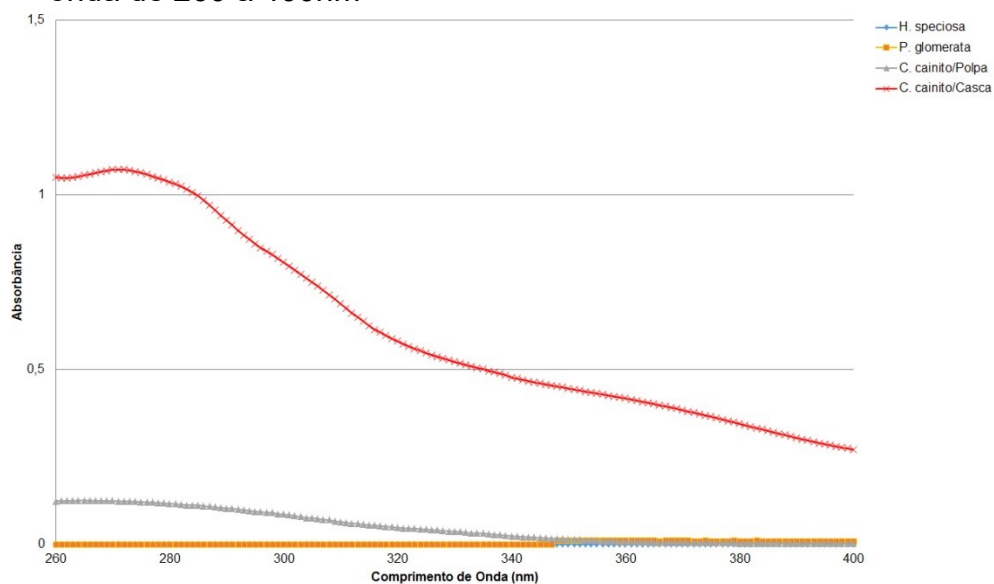


Tabela 10 - Resultados das absorvâncias máximas e os respectivos comprimentos de onda (λ) dos extratos etanólico e hidroetanólico (70%) dos frutos de *H. speciosa*, *P. glomerata* e *C. cainito*

Fruto	Extrato	Concentração $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Comprimento de Onda (λ)	Absorvância a Máxima
<i>H. speciosa</i>	Hidroetanólico	500	-	-
		1000	-	-
	Etanólico	500	348	0.0967
		1000	379	0.0478
<i>P. glomerata</i>	Hidroetanólico	500	348	0.1607
		1000	354	0.0101
	Etanólico	500	369	0.1382
		1000	369	0.1443
<i>C. cainito</i> /Polpa	Hidroetanólico	500	275	0.1999
		1000	265	0.1248
	Etanólico	500	-	-
		1000	270	0.2066
<i>C. cainito</i> /Casca	Hidroetanólico	500	272	0.5374
		1000	271	1.072
	Etanólico	500	273	0.4633
		1000	267	0.501

Fonte: Autor

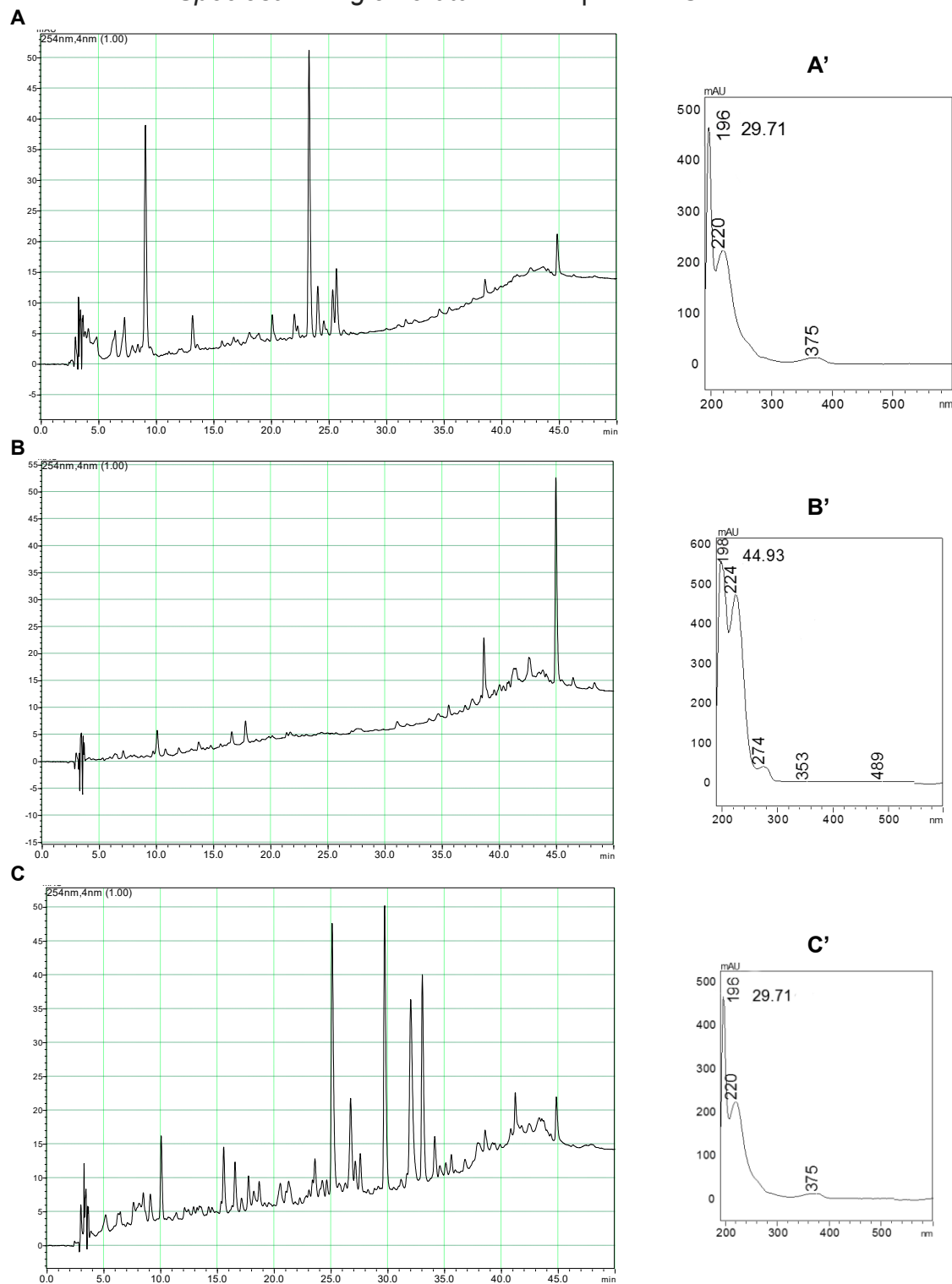
A determinação do FPS por espectrofotometria é realizada em função com a altura, largura e localização da sua curva de absorção dentro do espectro UV de acordo com Mansur et al. (1986), utilizando esses conceitos, para o extrato hidroetanólico de *C. cainito* o FPS foi calculado em $1,36 \pm 0,09$. Entretanto de acordo com a legislação brasileira, RDC 237 de agosto de 2002 (ANVISA, 2002) para que um produto seja considerado fotoprotetor, em aplicações cosméticas, ele deve apresentar um FPS igual ou superior a 2. Dessa forma esse extrato não pode ser aplicado de forma individual na área fotoproteção, exceto em formulações com finalidade fotoprotetora ou compostos isolados desse mesmo modo. Esse resultado não diverge de encontrados já na literatura, como indicado por Violante et al. (2009), o FPS em extratos vegetais tende a ser baixo, por ser uma mistura complexa, com baixa concentração das moléculas que absorvem UV (BOBIN et al., 1994).

5.4 Perfil cromatografico dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-PAD)

Os perfis de HPLC-PAD exploratório dos extratos de *C. cainito*, *H. speciosa* e *P. glomerata* estão apresentados na Figura 10 (A, B e C, respectivamente), essas espécies mostraram um perfil cromatográfico com uma vasta gama de metabolitos detectados, utilizando uma coluna C18 com 250x4,6 mm i.d. com tamanho médio de partículas de 5 µm. Indicando que os métodos de extração utilizados foram eficientes na extração de compostos polifenólicos, os quais foram de interesse para o desenvolvimento deste estudo. Com o detector PAD foi obtida a gama de varrimento espectral de 200-600 nm na região UV para os picos eluídos. Podem ser observados picos com bandas de absorção de flavonóides típicas na Figura 10 (A', B' e C'), que são reconhecidos como possuindo a Banda II, com um comprimento de onda máximo no intervalo espectral de 240-290 nm, atribuído ao Anel A e a Banda I, com um comprimento máximo na faixa espectral de 300-390nm, atribuído ao anel B.

Os resultados dos extratos de *C. cainito* estão de acordo com o estudo de Luo et al. (2002), observaram por métodos cromatográficos (HPLC) uma variedade de compostos fenólicos, principalmente flavonoides, na avaliação do extrato metanólico do fruto desta espécie. No entanto, para a *H. speciosa* e *P. glomerata*, não há estudos na literatura científica atual mostrando o perfil cromatográfico (HPLC) do extrato hidroetanólico das espécies de frutos, e esta informação foi demonstrada pela primeira vez neste estudo.

Figura 10 - Perfil cromatográfico de extratos hidroetanólicos dos frutos de *C. cainito*, *H. Speciosa* e *P. glomerata* obtidos por HPLC-PAD



Fonte: Autor

A: *C. cainito* (casca)

B: *H. speciosa*

C: *P. glomerata*

A', B' e C': faixas de absorção máxima na região UV ilustrada para flavonoides para os respectivos extratos

5.5 Produção de geleia das polpas dos frutos

5.5.1 Análises físico-químicas das geleias

Nas tabelas 11, 12 e 13 estão apresentadas as avaliações físico-químicas das geleias nas versões comum e extra de *C. cainito*, *P. glomerata* e *H. speciosa*. Os valores de brix e pH foram mantidos constantes, como indicado por Torrezan (1998), considerados adequados para produção de geleia em escala industrial, nessas condições são indicadas para produção de geleia com auxílio de pectina de alto grau de metoxilação (KLIEMANN et al., 2009). Já a concentração de pectina, foi determinada individualmente para cada fruto e tipo de geleia (comum e extra), tendo como parâmetro, a gelificação.

Tabela 11 - Análises físico-químicas das geleias extra e comum de *C. cainito*

Análise	Geleia de <i>C. cainito</i>	
	Comum	Extra
Concentração de pectina (%)	1,00	0,50
Rendimento (%)	79,47 ± 0,62a	75,33±1,06b
Açúcar redutor ^I	35,45 ± 3,62a	43,93 ± 4,09a
Açúcar total ^{II}	912,44 ± 13,55a	872,07 ± 7,71b
Fenóis totais ^{III}	59,85 ± 6,87a	67,62 ± 1,38b

Fonte: Autor

I e II: Resultados expressos em mg por grama de geleia

III: Fenóis totais expressos em µg de ácido gálico equivalentes (AGE) por mg de geleia

Médias e desvio padrão seguidas de letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 12 - Análises físico-químicas das geleias extra e comum de *H. speciosa*

Análise	Geleia de <i>H. speciosa</i>	
	Comum	Extra
Concentração de pectina (%)	1,00	1,00
Rendimento (%)	82,17 ± 0,94a	83,50 ± 1,31a
Acucar redutor ^I	84,05 ± 2,48a	120,60 ± 2,59b
Acucar total ^{II}	904,07 ± 8,47a	853,28 ± 12,25b
Fenóis totais ^{III}	16,14 ± 1,33a	22,81 ± 1,88b

Fonte: Autor

I e II: Resultados expressos em mg por grama de geleia

III: Fenóis totais expressos em µg de ácido gálico equivalentes (AGE) por mg de geleia

Médias e desvio padrão seguidas de letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 13 - Análises físico-químicas das geleias extra e comum de *P. glomerata*

Análise	Geleia de <i>P. glomerata</i>	
	Comum	Extra
Concentração de pectina (%)	1,50	1,50
Rendimento (%)	86,40 ± 0,57a	84,30 ± 1,63a
Acucar redutor ^I	37,63 ± 6,86a	32,07 ± 4,19a
Açúcar total ^{II}	786,52 ± 14,66a	606,52 ± 11,88b
Fenóis totais ^{III}	173,77 ± 1,33a	188,46 ± 3,7b

Fonte: Autor

I e II: Resultados expressos em mg por grama de geleia

III: Fenóis totais expressos em µg de ácido gálico equivalentes (AGE) por mg de geleia

Médias e desvio padrão seguidas de letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Para *C. cainito* (Figura 7; Tabela 11), foram necessários 1 % de pectina para a comum e 0,5 % para a extra, essa possuiu então a menor exigência de pectina para produção de geleia entre as testadas, é possível inferir que a polpa de *C. cainito* possui maior quantidade de compostos que facilitam o processo gelificação, dentre eles as substâncias pécticas e alto teor de metoxilação, como proposto por Souto-Maior et al., (2008).

Para a produção da geleia de *H. speciosa* (Figura 8; Tabela 12) o conteúdo péctico exigido foi intermediário entre as polpas avaliadas, a na concentração de 1 %

de pectina, para ambas os tipos de geleia (comum e extra). Para as geleias de *P. glomerata*, (Figura 9; Tabela 13) apesar do emprego da casca, a concentração de pectina utilizada foi a mais elevada (1,5%) entre as geleias produzidas, o que era imprevisível, pois a utilização da casca resultou em maior conteúdo de fibras no processamento, resultados se difere de estudos descritos por Torrezan (1998) onde foi demonstrado que *Plinia cauliflora* (jaboticaba), utilizada de forma integral (casca e polpa) para produção de geleia não necessitou de aumentar a concentração de pectina para o processo de gelificação, demonstrando que estes frutos possuem quantidades de pectina na casca que facilita a gelificação, diferindo da *P. gomerata* que deve possuir maior teores de fibras em sua casca diferentes de pectina.

Com relação ao rendimento (Tabela 11, 12 e 13), as diferenças não foram significativas em sua maior parte, exceto para a geleia de *C. cainito*, a qual apresentou maior rendimento para a geleia comum, isso possivelmente está relacionado com a maior adição de açúcar, resultados similares foram obtidos por Caetano (2010) com geleia de acerola.

Já em relação aos compostos dosados. Os açúcares dosados, que tem várias funções na geleia desde a gelificação até seu aspecto e valor nutricional energético, em elevada concentração confere um aspecto mais cristalino, são representados por dois principais grupos de açúcares (totais e redutores) nas geleias. Nas geleias produzidas pelo método empregado no presente estudo, todas possuíram uma proporção baixa de açúcares redutores em relação aos totais, sendo que os açúcares redutores, possivelmente, são representados em sua maior parte por frutose e glicose, e os açúcares não redutores possivelmente estão em formas dímeros (sacarose) e poliméricas. Algumas geleias não atingiram 10 % de açúcar redutor, como a de *P. glomerata*, pois a relação açúcares redutores/totais deveria ser maior que esta porcentagem, como é demonstrado em estudos realizados por Leão et al. (2012) e Caetano (2010) onde esta relação pode atingir até 70 %.

Os compostos polifenóis, já com valor nutricional funcional tiveram resultados elevados nas dosagens nas geleias avaliadas nesse estudo. Isto torna estes frutos promissores para a produção de produtos com compostos funcionais, como demonstrado por Soares et al, (2008), onde constatou que alimentos funcionais são ricos em compostos com ação antioxidantes como os flavonoides, catequinas e antocianinas.

Apesar do processo de cocção gerar a degradação dos diversos compostos antioxidantes ainda foi elevada a presença de compostos fenólicos nas geleias obtidas. O maior resultado foi observado para a geleia extra de *P. glomerata* ($188,46 \pm 3,7 \text{ mg.g}^{-1}$), e diferindo significativamente da geleia comum ($173,77 \pm 1,33 \text{ mg.g}^{-1}$) (Tabela 12). A geleia extra de *C. cainito* também obteve um valor elevado de polifenóis ($67,62 \pm 1,38 \text{ mg.g}^{-1}$) sendo maior que o da comum ($59,85 \pm 6,87 \text{ mg.g}^{-1}$) (Tabela 10). Estes frutos tornam-se excelentes matérias primas para produção de alimentos com função antioxidante, apesar de que os resultados das geleias de *H. speciosa* (Tabela 11) são inferiores tanto para extra ($5,60 \pm 0,54 \text{ mg.g}^{-1}$) como para a comum ($2,48 \pm 0,41 \text{ mg.g}^{-1}$), porém ainda são passíveis de aplicação como antioxidante.

Em relação aos dois tipos de geleia, comum e extra, foram encontradas diferenças significativas nas dosagens, sendo maior para a extra, o que provavelmente está relacionado ao maior conteúdo de material vegetal empregado no processo, no trabalho realizado por Kim e Padilla-Zakour (2004) ocorreu diminuição de compostos com atividade antioxidantes, essa diminuição está relacionada ao processo de aquecimento que é capaz de degradar tais compostos, entretanto esse processo também aumenta a detecção de compostos fenólicos, pela hidrólise de polifenóis.

Figura 11 - Geleias de *C. cainito* (Abiu roxo)



Fonte: Autor

Figura 12 - Geleias de *H. speciosa* (Mangaba)



Fonte: Autor

Figura 13 - Geleias de *P. glomerata* (Cabeludinha)



Fonte: Autor

5.5.2 Atividade antioxidante das geleias

Na tabela 14 são apresentados os resultados da análise antioxidante pelo método DPPH das geleias extra e comum dos frutos de *C. cainito*, *H. speciosa* e *P*

glomerata. Para a geleia de *C. cainito* os resultados de atividade antioxidante para todas as concentrações avaliadas não apresentaram diferenças significativas entre os tipos de geleia (comum e extra), chegando a 90 % na concentração máxima, o que pode estar correlacionado com os resultados apresentados nas dosagens de compostos fenólicos.

Já a geleia de *H. speciosa* apresentou resultados inferiores as outras duas espécies, porém foi possível observar mais de 50% de atividade antioxidante na concentração máxima testada da geleia do tipo extra, estes resultados estão, provavelmente, relacionados aos compostos fenólicos encontrados tanto em extratos como na geleia avaliada, podendo assim promover atividade antioxidante.

Na atividade antioxidante da geleia de *P. glomerata*, foi possível observar que não houve diferença significativa entre os tipos de geleias (comum e extra) avaliadas, sendo que ambas apresentaram altos níveis de atividade antioxidante independente da concentração avaliada. Tal resultado pode estar relacionado ao elevado teor de compostos fenólicos determinados para esta geleia apresenta.

Diante dos resultados acima, é possível constatar que a produção industrial de geleia é uma um método viável para conservar os benefícios relacionados à atividade antioxidante presente nos frutos das espécies avaliadas no presente estudo. Outro resultado significativo, para a utilização destes frutos, foi a manutenção dos compostos fenólicos nas geleias mesmo após a cocção durante a produção das mesmas, o que pode resultar em benefícios funcionais (atividade antioxidante) junto às características nutricionais obtidas com as geleias produzidas. Estes resultados estão de acordo com estudos realizados por Kim e Padilla-Zakour, (2004) e Carvalho et al, (2012) onde demonstraram a importância dos polifenóis em geleias e sua atividade antioxidante no organismo dos consumidores destes alimentos funcionais.

Tabela 14 - Avaliação da atividade antioxidante pelo teste DPPH (%) das geleias extra e comum dos frutos de *C. cainito*, *H. speciosa* e *P. glomerata*

Concentração mg.ml ⁻¹	<i>C. cainito</i>		<i>H. speciosa</i>		<i>P. glomerata</i>	
	Comum AA (%)	Extra AA (%)	Comum AA (%)	Extra AA (%)	Comum AA (%)	Extra AA (%)
25	18,71 ± 2,59 a	22,22 ± 0,99 a	-	-	77,99 ± 0,86 a	80,37 ± 0,65 a
50	43,93 ± 1,79 a	44,52 ± 1,61 a	-	6,84 ± 0,76	82,55 ± 0,56 a	81,82 ± 1,10 a
100	80,48 ± 3,18 a	77,05 ± 1,34 a	15,82 ± 2,80 a	24,99 ± 3,53 b	89,76 ± 0,57 a	90,22 ± 0,81 b
200	89,91 ± 1,73 a	91,23 ± 0,31 a	39,28 ± 2,77 a	53,37 ± 2,33 b	87,18 ± 0,65 a	86,32 ± 2,02 a

Fonte: Autor

Médias e desvio padrão seguidas de letras minúsculas iguais na mesma linha entre os dois tipos de geleia não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo são promissores na avaliação da atividade antioxidante e antiglicante, além de contribuir para a identificação dos compostos ativos dos frutos não convencionais dos frutos das espécies vegetais avaliados, somado a isso tais frutos possuem potencial para processamento industrial, na forma de geleia, mantendo compostos bioativos e dessa forma atividade antioxidante. Desse modo estes frutos apresentam várias opções de uso de alimentos, mas são subutilizados ou totalmente desconhecidos. Espera-se que esses dados sejam subsídios básicos para pesquisas em áreas relacionadas, por exemplo, Nutrição, Engenharia de Alimentos, Fitoquímica, Agronomia e Ecologia. A partir desta informação, novas pesquisas devem ser conduzidas selecionando-se as espécies mais promissoras para os altos níveis de compostos ativos com potencial antioxidante e antiglicantes de interesse nutricional, farmacêutico e cosmético.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução - CNNPA n° 12, de 1978. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 jul. 1978. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/12_78.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2017.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução - RDC n° 237, de 2002. Aprova regulamento técnico de protetores solares em cosméticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 ago. 2002. Disponível em: <<http://www.cosmeticsonline.com.br/ct/painel/fotos/assets/uploads/regulatorios/606fc-RDC-237.pdf>>. Acesso em: 25 abr. 2017.
- ANGERHOFER, C. K.; MAES, D.; GIACOMONI, P. U. **Skin aging handbook: the use of natural compounds and botanicals in the development of anti-aging skin care products**. New York: William Andrew, 2008. 481 p.
- ASSUMPÇÃO, C. F.; BACHIEGA, P.; MORZELLE, M. C.; NELSON, D. L.; NDIAYE, E. A.; RIOS, A. D. O., SOUZA, É. C. D. Characterization, antioxidant potential and cytotoxic study of mangaba fruits. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p. 1297-1303, 2014.
- BAGATTOLI, P. C. D.; CIPRIANI, D. C.; MARIANO, L. N. B.; CORREA, M., WAGNER, T. M.; NOLDIN, V. F.; NIERO, R. Phytochemical, antioxidant and anticancer activities of extracts of seven fruits found in the Southern Brazilian flora. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 78, n. 1, p. 34-40, 2016.
- BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 15-27, 1999.
- BETTERIDGE, D. J. What is oxidative stress? **Metabolism**, v. 49, n. 2, p. 3-8, 2000.
- BIRBEN, E.; SAHINER, U. M.; SACKESEN, C.; ERZURUM, S.; KALAYCI, O. Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organization Journal**, v. 5, n. 1, p. 9-19, 2012.
- BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução a química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 1989. 231 p.
- BOBIN, M. F.; RAYMOND, M.; MARTINI, M. C. UVA/UVB absorption properties of natural products. **Cosmetics and Toiletries**, v. 109, n. 11, p. 63-70, 1994.
- BONING, C. R. **Florida's best fruit plants: native and exotic trees, shrubs, and vines**. Sarasota: Pineapple Press. 2006. 232 p.
- BORGES, L. L.; CONCEIÇÃO, E. C.; SILVEIRA, D. Active compounds and medicinal properties of *Myrciaria* genus. **Food Chemistry**, v. 153, p. 224-233, 2014.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

- CAETANO, P. K. **Processo tecnológico e avaliação energética de geleia de acerola**. 2010. 82 f. Dissertação (Mestre em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.
- CARDOSO, L. S. Fotofísica de carotenoides e o papel antioxidante de β -caroteno. **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 535-540, 1997.
- CARVALHO, V. S.; DAMIANI, C.; ASQUIERI, E. R.; ORSI, D. C.; NISHI, A. C. F. Development and antioxidant capacity of sapota pulp jelly (*Quararibea cordata* Vischer). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 36, n. 3, p. 341-347, 2012.
- CHANDRA, K. S.; GOGOI, D.; GAUTAM, K. H.; HANDIQUE, A. K. Nutritive values of some non-conventional leafy vegetables and scarcity food plants of north east India. **African Journal of Food Science**, v. 10, n. 11, p. 340-343, 2016.
- CHEUNG, L. M.; CHEUNG, P. C. K.; OOI, V. E. C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**, v. 81, p. 249-255, 2003.
- CONNER, M.; GRISHAM, M. B. Inflammation, free radicals, and antioxidants. **Nutrition**, v. 12, n. 4, p. 274-277, 1996.
- CONRAD, O. A.; DIKE, I. P.; AGBARA, U. In vivo antioxidant assessment of two antimalarial plants – *A. cathartica* and *B. orellana*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 3, n. 5, p. 388-394, 2013.
- COSTA, D. A.; OLIVEIRA, G. A. L. D.; SOUSA, D. P. D.; FREITAS, R. M. Avaliação do potencial antioxidante in vitro do composto ciano-carvona. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 4, p. 567-575, 2013.
- DOGRA, N. K. Phytochemical analysis and in vitro antioxidant studies of *P. obtusa* L. Leaves. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 78, n. 1, p. 169-171, 2016.
- FALCÃO, A. P.; CHAVES, E. S.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R.; FALCÃO, L. D.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geleia de uvas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 637-642, 2007.
- FERNANDES, S. M.; PEREIRA, R. G. F. A.; PINTO, N. A. V. D.; NERY, M. C.; PÁDUA, F. R. M. D. Constituintes químicos e teor de extrato aquoso de cafés arábica (*C. arabica* L.) e conilon (*C. canephora* Pierre) torrados. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 5, p. 1077-1081, 2003.
- FERREIRA, H. C.; SERRA, C. P.; ENDRINGER, D. C.; LEMOS, V. S.; BRAGA, F. C.; CÔRTEZ, S. D. F.; HERICK, C. Endothelium-dependent vasodilation induced by *H. speciosa* in rat superior mesenteric artery. **Phytomedicine**, v. 14, n. 7, p. 473-478, 2007.
- FINOT, P. A. Historical perspective of the maillard reaction in food science. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1043, n. 1, p. 1-8, 2005.

FISCHER, L. G.; SANTOS, D.; SERAFIN, C.; MALHEIROS, A.; MONACHE, F. D.; MONACHE, G. D.; SOUZA, M. M. de. Further antinociceptive properties of extracts and phenolic compounds from *P. glomerata* (Myrtaceae) leaves. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 2, p. 235-239, 2008.

FUJITA, A.; SARKAR, D.; WU, S.; KENNELLY, E.; SHETTY, K.; GENOVESE, M. I. Evaluation of phenolic-linked bioactives of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) for antihyperglycemia, antihypertension, antimicrobial properties and cellular rejuvenation. **Food Research International**, v. 77, p. 194-203, 2015.

GOLDIN, A.; BECKMAN, J. A.; SCHMIDT, A. M.; CREAGER M. A. Advanced glycation end products. **Circulation**, v. 114, p. 597-605, 2006.

HODGE, J. E. Dehydrated foods, chemistry of browning reactions in model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 1, p. 928-943, 1953.

JAGETIA, G. C.; BALIGA, M. S. The evaluation of NO scavenging activity of certain Indian medicinal plants in vitro: a preliminary study. **Journal of Medicinal Food**, v. 7, n. 3, p. 343-348, 2004.

KAŃSKA, U.; BORATYŃSKI, J. Thermal glycation of proteins by D-glucose and D-fructose. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 50, n. 1, p. 61-66, 2001.

KIKUCHI, S.; SHINPO, K.; TAKEUCHI, M.; YAMAGISHI, S.; MAKITA, Z.; SASAKI, N.; TASHIRO, K. Glycation—a sweet tempter for neuronal death. **Brain Research Reviews**, v. 41, n. 2, p. 306-323, 2003.

KIM, D. O.; PADILLA-ZAKOUR, O. I. Jam processing effect on phenolics and antioxidant capacity in anthocyanin-rich fruits: cherry, plum, and raspberry. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 9, p. S395-S400, 2004.

KLIEMANN, E. Optimization of pectin acid extraction from passion fruit peel (*P. edulis* flavicarpa) using response surface methodology. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 3, p. 476-483, 2009.

LEÃO, K. M. M. Formulação e avaliação físico-química de geleia de mamão (*C. papaya* L.). **Scientia Plena**, v. 8, n. 3, p. 1-3, 2012.

LEDESMA-OSUNA, A. I.; RAMOS-CLAMONT, G.; VÁZQUEZ-MORENO, L. Characterization of bovine serum albumin glycated with glucose, galactose and lactose. **Acta Biochimica Polonica**, v. 55, n. 3, p. 491-497, 2008.

LUO, X. D.; BASILE, M., J.; KENNELLY, E. J. Polyphenolic antioxidants from the fruits of *Chrysophyllum cainito* L. (star apple). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 6, p. 1379-1382, 2002.

MA, J.; YANG, H.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Analysis of polyphenolic antioxidants from the fruits of three *Pouteria* species by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 5873-5878, 2004.

- MANSUR, J. D. S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. D. A.; AZULAY, R. D. Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em seres humanos e por espectrofotometria. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 61, n. 4, p. 167-172, 1986.
- MARCOCCI, L.; MAGUIRE, J. J.; DROYLEFAIX, M. T.; PACKER, L. The nitric oxide-scavenging properties of *Ginkgo biloba* extract EGb 761. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 201, n. 2, p. 748-755, 1994.
- MORAES, T. M.; RODRIGUES, C. M.; KUSHIMA, H.; BAUAB, T. M.; VILLEGAS, W.; PELLIZZON, C. H.; BRITO, A. R.; HIRUMA-LIMA, C. A. *H. speciosa*: indications of gastroprotective, healing and anti-*H. pylori* actions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 161-168, 2008.
- NINGSIH, I. Y.; ZULAIKHAH, S.; HIDAYAT, M. A.; KUSWANDI, B. Antioxidant activity of various kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) leaves extracts from Jember, Indonesia. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 9, p. 378-385, 2016.
- NURSTEN, H. E. **The Maillard reaction**: chemistry, biochemistry, and implications. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2005. 226 p.
- OGUNTOYINBO, O. O.; ABDUS-SALAAM, R. B.; BELLO, W. A.; IFESAN, B. O. T. Evaluation of the phytochemical, antioxidant and antimicrobial properties of extracts from *Chrysophyllum albidum* (African Star apple) leaf. **Journal of Food Technology Research**, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2015.
- PACHECO-SILVA, N. V.; DONATO, A. M. Morpho-anatomy of the leaf of *Myrciaria glomerata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 3, p. 275-280, 2016.
- PARTAP, S.; PANDEY, S. A review on herbal antioxidants. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 1, n. 4, p. 26-37, 2012.
- PHILIPPE, B. A.; KARINE, N.; BARTHÉLEMY, A. K.; NOÉL, Z. G.; JOSEPH, D. A.; HOSTTETMANN, K. Bio-guided isolation of antioxidant compounds from *C. perpulchrum*, a plant used in the Ivory Coast pharmacopeia. **Molecules**, v. 15, n. 9, p. 6386-6398, 2010.
- POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do pantanal**. Planaltina: Embrapa, 1994. 320 p.
- RAUCH, G. H. **Jam manufacture**. 2nd ed. London: L. Hill Books, 1965. 191 p.
- RICE-EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v. 2, n. 4, p. 152-159, 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**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

ROSA, M. B.; OLIVEIRA, T. G.; CARVALHO, C. A.; SILVA, F. D.; CARVALHO, L. M.; NASCIMENTO, P. C.; PERES, R. L. Estudo espectrofotométrico da atividade fotoprotetora de extratos aquosos de *Achillea millefolium*, *Brassica oleracea* var. *capitata*, *Cyperus rotundus*, *Plectranthus barbatus*, *Porophyllum ruderale* (jacq.). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 1, p. 101-110, 2008.

RUDD, P. M.; ELLIOTT, T.; CRESSWELL, P.; WILSON, I. A.; DWEK, R. A. Glycosylation and the immune system. **Science**, v. 291, n. 5512, p. 2370-2376, 2001.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

SACCHET, C.; MOCELIN, R.; SACHETT, A.; BEVILAQUA, F.; CHITOLINA, R.; KUHN, F.; DAL MAGRO, J. Antidepressant-like and antioxidant effects of *Plinia trunciflora* in mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015. doi:10.1155/2015/601503.

SERAFIN, C.; NART, V.; MALHEIROS, A.; SOUZA, M. M. de.; FISCHER, L.; MONACHE, G. D.; MONACHE, F. D. Bioactive phenolic compounds from aerial parts of *Plinia glomerata*. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 62, p. 196-200, 2007.

SHAHIDI, F. **Natural antioxidants**: chemistry, health effects, and applications. Champaign: AOCS Press, 1996. 421 p.

SHIBAO, J.; BASTOS, D. H. M. Produtos da reação de Maillard em alimentos: implicações para a saúde. **Revista de Nutrição**, v. 24, n. 6, p. 895-904, 2011.

SNYDER, S. H.; BREDDT, D. S. Biological roles of NO. **Scientific American**, v. 266, n. 5, p. 68-71, 1992.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 59-64, 2008.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUBIHE SOBRINHO, J.; PELEGRINO, D.; GURGEL, J. T. A.; LEME JÚNIOR, J.; MALAVOLTA, E. Vitamin C content in fruits of *Myrciaria glomerata*. **Bragantia**, v. 14, p. 193-201, 1955.

SOSA, V.; MOLINÉ, T.; SOMOZA, R.; PACIUCCI, R.; KONDOH, H.; LLEONART, M. E. Oxidative stress and cancer: an overview. **Ageing Research Reviews**, v. 12, n. 1, p. 376-390, 2013.

SOUTO-MAIOR, J. F. A.; REIS, A. V.; PEDREIRO, L. N.; CAVALCANTI, O. A. Avaliação da pectina fosfatada aplicada na formação de filmes isolados. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, p. 203-213, 2008.

SROKA, Z.; CISOWSKI, W. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, n. 6, p. 753-758, 2003.

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

TORREZAN, R. **Manual para a produção de geleias de frutas em escala industrial**. Rio de Janeiro: Embrapa/CTAA, 1998. 27 p.

VALE, V. V.; VILHENA, T. C.; TRINDADE, R. C. S.; FERREIRA, M. R. C.; PERCÁRIO, S.; SOARES, L. F.; VASCONCELOS, F. de. Anti-malarial activity and toxicity assessment of *H. articulatus*, a plant used to treat malaria in the Brazilian Amazon. **Malaria Journal**, 2015. doi:10.1186/s12936-015-0643-1.

VIOLANTE, I. M.; SOUZA I. M.; VENTURINI, C. L.; RAMALHO, A. F.; SANTOS, R. A.; FERRARI, M. Avaliação in vitro da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do Cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 19, p. 452-457, 2009.

WILLIAMS, C. A.; GREENHAM, J.; HARBORNE, J. B. The role of lipophilic and polar flavonoids in the classification of temperate members of the Anthemideae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 9, p. 929-945, 2001.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555-559, 1999.