

Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Prospecção de linhagens de pimentas
cabacinha e dedo-de-moça amarela:
características físico-química, atividade
antioxidante e perfil de compostos fenólicos**

Anaiza Bitencourt de Aragão

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Alimentos e
Nutrição para obtenção do título de
Doutora em Alimentos e Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos
Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Luis Vitor Silva
do Sacramento

Araraquara
2019

**Prospecção em linhagens de pimentas
cabacinha e dedo-de-moça amarela:
características físico-química, atividade
antioxidante e perfil de compostos fenólicos**

Anaiza Bitencourt de Aragão

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Alimentos e
Nutrição para obtenção do título de
Doutora em Alimentos e Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos
Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Luis Vitor Silva
do Sacramento

Araraquara
2019

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Prospecção de linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela:
Características físico-química, atividade antioxidante e perfil de compostos fenólicos.

AUTORA: ANAIZA BITENCOURT DE ARAGÃO
ORIENTADOR: LUIS VITOR SILVA DO SACRAMENTO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ALIMENTOS E NUTRIÇÃO, área de conhecimento: Ciência de Alimentos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. LUIS VITOR SILVA DO SACRAMENTO
Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia / FCF- UNESP - Araraquara

Profa. Dra. MARICELY JANETTE URÍA TORO
Universidade do Estado do Pará

Prof. Dr. LUÍS SÉRGIO RODRIGUES VALE
Instituto Federal Goiano

Profa. Dra. MAGALI CONCEICAO MONTEIRO DA SILVA
Departamento de Alimentos e Nutrição / FCF - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. JOSE PASCHOAL BATISTUTI
Departamento de Alimentos e Nutrição / FCF- UNESP - Araraquara

Araraquara, 16 de janeiro de 2019

“Não tente, faça ou não faça. Tentativa não existe”.
- Mestre Yoda

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Ao Prof. Dr. Luis Vitor Silva do Sacramento, pela orientação deste trabalho e todos os ensinamentos que contribuíram para minha formação profissional.

Ao prof. Dr. Luís Sérgio Rodrigues Vale do Instituto Federal Goiano – Campus Ceres e toda sua equipe de trabalho, pela disponibilização das linhagens de pimentas estudadas neste trabalho.

À Profa. Dra. Magali C. Monteiro da Silva, pela disponibilização do cromatógrafo líquido de alta eficiência multiusuário e por todo suporte técnico realizado. Obrigada pelo incentivo, conselhos, sugestões nos experimentos e em todas as discussões científicas que foram indispensáveis para que parte deste trabalho fosse desenvolvido.

Aos Professores, Dr. Iguatemy Lourenço Brunetti e Dra. Olga Maria Mascarenhas de Faria Oliveira, pela disponibilidade de uso do espaço dos laboratórios de pesquisa e de toda infraestrutura necessária para que parte desse trabalho fosse realizado. Obrigada pela receptividade!

Ao Prof. Dr. André Gonzaga dos Santos, pela disponibilização das colunas C18 e discussão da metodologia de extração de compostos fenólicos.

À Dra. Renata Assis, pelo auxílio e discussão da metodologia na determinação de antioxidantes.

Ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição, e à Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Campus de Araraquara da UNESP pela oportunidade e qualificação profissional.

À comissão examinadora deste trabalho pelas contribuições.

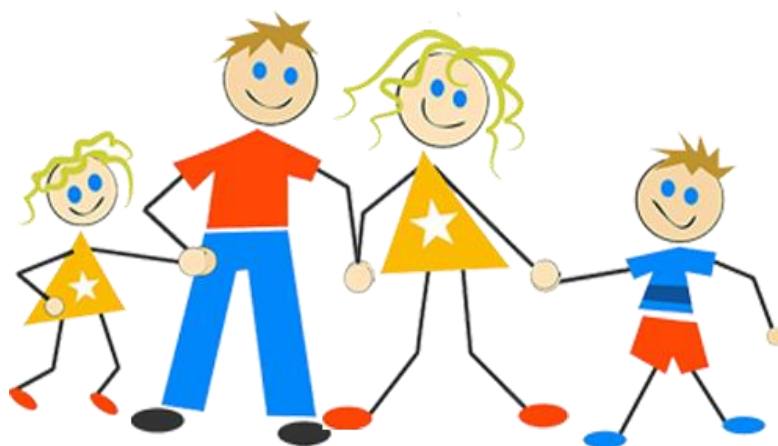
“...Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito...”

- Marthin Luther King

Muito obrigada!

AGRADECIMENTOS PESSOAIS

Gostaria de dedicar esta tese à minha família, em especial, aos meus filhos **Pedro Kalel** e **Kara Hellena**, por me permitirem conhecer uma forma de amor que jamais imaginei que existisse, por trazerem à minha vida novas cores, novo foco, novo sentido. O sentido. Por renovarem minhas energias, acalmarem meu coração e amenizarem qualquer dor. Por me tornarem resiliente, e por me ajudarem a superar as adversidades, enfrentar meus medos e trazerem a alegria de viver novamente. Sem vocês eu não teria conseguido. Com muito amor e carinho, dedico!



“...Eu só quero agradecer por ter vocês, pra acompanhar minhas loucuras, me deixar bem mais segura daquilo que eu posso ser.

Pôr dá risada de tudo e sempre colorir meu mundo com as cores mais bonitas que eu já vi alguém pintar, por me amarem com a mesma intensidade e por serem, de verdade, a melhor família que eu pudesse ganhar.

É engraçado como a gente ganha as coisas que precisa mesmo sem saber que vai precisar, que é feliz por compartilhar de um sorriso a dois ou de um minuto que se foi pelo relógio, mas é eterno em nós, de um abraço apertado ou de um conselho que é dado sem a intenção e, ainda assim acalma o coração.

E eu só quero agradecer mais uma vez, por me aguentarem insegura, me tornarem mais madura, e me mostrarem que os sonhos não se devem adiar, por me amarem com a mesma intensidade e por serem, de verdade, a melhor família que eu pudesse ganhar”.

- Ana vilela

Agradeço a Deus e a N. S. de Nazaré, por toda fortaleza, sabedoria e equilíbrio nesta caminhada. Minha fé acalmou meu coração, e amenizou minha dor.

Aos meus queridos pais, **Rosa Regina e José Carlos**, por sempre me incentivarem a estudar e buscar o conhecimento, pelo árduo investimento na minha educação ao longo desses anos e, principalmente, por estarem ao meu lado em todos os momentos da minha vida. Pelos ensinamentos cotidianos, valores morais e a base familiar que formaram o meu caráter, este que tanto me orgulho. Obrigada por todo amor, esforço e dedicação com os meus filhos, enquanto eu concluía esta tese, sem a ajuda de vocês não seria possível. A vocês todo meu amor e minha eterna gratidão!

Ao meu marido e também melhor amigo **Kalel Zavitoski**, por toda sua dedicação a mim e à nossa família, pela sua compreensão e companheirismo diário. Por me trazer equilíbrio nos momentos de desespero, por lutar comigo bravamente para superar as adversidades, por acreditar em mim em alguns momentos mais do que eu mesma, por muitas vezes abdicar das suas atividades em prol das minhas, por ser o maior incentivador dos meus sonhos, por ter caminhado ao meu lado nesta trajetória, por todo seu amor, meu agradecimento especial. Grrrrrrr!

Ao meu sogrão **Mário Santana** e sua esposa **Valéria Maciel**, por nunca desamparar a nossa família, por nos estender as mãos sempre que precisamos, e também pelos conselhos e por todo seu carinho conosco.

À minha amiga **Ângela Arenas**, pela sua amizade, apoio e companheirismo; pelas palavras de conforto nos momentos que mais precisei e todos os bons momentos que me fizeram sorrir.

À minha sogra **Deliana Zavitoski**, por todo seu apoio, amor, atenção e carinho com os meus filhos durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus professores da educação infantil, do ensino fundamental e do ensino médio, por serem os principais mentores e construtores da base do meu conhecimento. A dedicação e comprometimento de vocês durante anos da minha formação me permitiu chegar até aqui. Obrigada por nunca desistirem de lutar, salve a educação básica!

À Prof^a. Dr^a. Maricely Uría Toro, por me apresentar a ciência dos alimentos com um olhar diferente, por me incentivar a não ser uma pessoa de oportunidades perdidas, por ter me ensinado o verdadeiro sentido do conhecimento, por me inspirar a querer ser professora e a seguir a carreira acadêmica, por ter acreditado em mim em todos os momentos, por me fazer entender que além de pesquisar é necessário ensinar, e principalmente por me mostrar que para transformar e formar bons profissionais basta ser “mosca”. Tudo isso me fez querer fazer a diferença!

À técnica de laboratório Maria Angélica pela sua amizade, apoio e companhia no Laboratório de Botânica da FCFar.

À Lica, técnica do Laboratório de Análise de Alimentos, por todo suporte oferecido e receptividade durante as análises no cromatógrafo líquido de alta eficiência.

À Maria Rita Estevam, pela sua disposição e por todo suporte técnico durante o uso do cromatógrafo líquido de alta eficiência.

Aos colegas e funcionários da FCFar, especialmente, Cris (xerox) e Natália (Técnica de Laboratório) pela disposição, amizade e todos os serviços prestados durante o curso.

A todos que me julgaram incapaz; seus julgamentos me tornaram mais forte e determinada. Obrigada!

Por fim, agradeço a todos aqueles que oraram, torceram por mim e que de alguma maneira contribuíram para esse momento, obrigada!

A depressão no meio acadêmico é mais comum do que pensamos, o produtivíssimo, a pressão, a incompreensão, as ameaças e o assédio moral acadêmico pode nos adoecer, matar e até levar ao suicídio, este por sua vez, muito comum nos últimos anos, consultem as estatísticas de jovens, pós-graduandos, que interromperam suas vidas por esse motivo. Depressão não é “mimimi” nem desculpinha para não cumprirmos prazos, não queremos nos passar por vítimas, é uma maldita doença da alma que nos mata diariamente, suga nossas energias e nos destrói completamente. Chega! Não brinquem com a vida alheia, não destruam sonhos, não sejam cruéis, amanhã pode ser alguém do seu núcleo familiar. Seja solidário, não machuquem, evitem o suicídio acadêmico. Diga sim a vida!

Resumo

Objetivo: este trabalho teve como objetivo caracterizar as linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela, determinando os teores de compostos primários e secundários, atividade antioxidante e o perfil dos compostos fenólicos. **Métodos:** Para realização do estudo foram utilizadas dez linhagens de pimentas, sendo cinco linhagens de pimenta cabacinha (CB1204; CB1505; CB1517; CB1531 e CB1541) e cinco de pimenta dedo-de-moça amarela (DM1404; DM1427; DM1433; DM1439 e DM1441), obtidas pelo método de melhoramento genético descendente de uma única semente (Single Seed Descente-SSD) a partir de dois acessos do Banco Ativo de Germoplasma de *Capsicum* – BAG. As características físico-química dos frutos foram realizados de acordo com as metodologias estabelecidas pela Association of Official Analytical Chemistry (2008). Para caracterização bioquímica, foram realizadas análises de compostos fenólicos, flavonoides, carotenoides totais e açúcares redutores usando a técnica espectrofotométrica, com a metodologia específica para cada composto, utilizando a curva de calibração padrão para cada composto, com leituras de absorbâncias em comprimento de onda de 750, 425, 453 e 540 nm, respectivamente. A atividade antioxidante foi determinada pela técnica espectrofotométrica, utilizando as metodologias de captura do radical DPPH, HOCl/OCl⁻ e taurina cloramina com leituras de absorbâncias em 734, 655 e 655 nm, respectivamente, expressos em médias de IC₅₀. O perfil de compostos fenólicos foi avaliado pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência-HPLC-DAD. Os compostos fenólicos foram identificados por comparação do tempo de retenção e do espectro de absorção UV/Vis com os padrões analíticos, e por similaridade dos espectros UV/Vis da classe química. Os compostos fenólicos foram quantificados através da construção de curvas de calibração dos padrões puros e dos compostos representantes da classe química. **Resultados:** As pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela, apresentam valores médios, respectivamente: pH (5,48; 5,08), sólidos solúveis totais (1,65; 2,83 °Brix), acidez total titulável (3,91; 4,93 mg AC 100g⁻¹), proteínas (1,87; 1,45 g 100g⁻¹), lipídeos (2,55; 2,73 g 100g⁻¹) e açúcares redutores (1,78; 3,03 µg 100g⁻¹). Também apresentam alto teor de compostos fenólicos totais (818,17; 677,25 mg EAG 100g⁻¹), flavonoides totais (330,54; 218,86 mg EQ 100g⁻¹), ácido ascórbico (178,21; 106,05 mg 100g⁻¹) e carotenoides totais (212,28; 192,55 mg EβC 100g⁻¹), comparadas com outras pimentas do gênero *Capsicum*. Estas linhagens, possuem alta atividade antioxidante frente a captura dos radicais DPPH (3,52; 5,12) IC₅₀ mg mL⁻¹), HOCl/Cl⁻ (3,44; 4,96 IC₅₀ mg mL⁻¹) e Taurina cloramina (6,08; 8,14 IC₅₀ mg mL⁻¹), podendo considera-las com forte potencial inibitório de radicais livres e espécies reativas de oxigênio. Na determinação do perfil de compostos fenólicos foram identificados e quantificados por comparação com os padrões analíticos, os flavonoides naringina (CB1204 e DM1433) e naringenina (DM1433), e os ácidos gálico (DM1433) e *p*-cumárico (CB1531, DM1439 e DM1433). Por similaridade com os espectros representantes da classe química foram identificados e quantificados nos extratos de pimentas: três compostos derivados de ácido hidroxibenzoico, um composto derivado do ácido hidroxicinâmico, dois derivados das flavonas e dois compostos

derivados de flavonóis. As linhagens DM1433 e CB1204 foram as que apresentaram o maior teor de compostos fenólicos. Entre todas as linhagens avaliadas a pimenta DM1433 foi a que apresentou o melhor perfil de compostos fenólicos. **Conclusão:** Os resultados apontam que as linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela apresentam elevado teor de metabólitos secundários, com propriedades bioativas como os compostos fenólicos, carotenoides e o ácido ascórbico. As linhagens CB1505, CB1204 e DM1433 foram as que apresentaram o maior teor dos compostos avaliados. Portanto, do ponto de vista nutricional, as linhagens podem ser cultivadas e introduzidas na agricultura brasileira.

Palavras-chave: *Capsicum*, linhagem, compostos bioativos, alimento funcional, atividade antioxidante e composto fenólicos.

Abstract

Objective: the objective of this work was to characterize the lines of cabacinha peppers and yellow girl finger, determining the contents of primary and secondary compounds, antioxidant activity and the profile of phenolic compounds. **Methods:** in order to carry out the study, ten strains of peppers were used: five cabinal pepper strains (CB1204, CB1505, CB1517, CB1531 and CB1541) and five yellow peppercorns (DM1404, DM1427, DM1433, DM1439 and DM1441). obtained by the method of genetic improvement descending of a single seed (Single Seed Descente-SSD) from two accesses of the Active Bank of Germplasm of Capsicum - BAG. The physical-chemical characteristics of the fruits were carried out according to the methodologies established by the Association of Official Analytical Chemistry (2008). For biochemical characterization, analyzes of phenolic compounds, flavonoids, total carotenoids and reducing sugars were performed using the spectrophotometric technique, with the specific methodology for each compound, using the standard calibration curve for each compound, with wavelength absorbance readings of 750, 425, 453 and 540 nm, respectively. The antioxidant activity was determined by the spectrophotometric technique, using the method of capturing the radical DPPH, HOCl/OCl⁻ and taurine chloramine with absorbance readings at 734, 655 and 655 nm, respectively, expressed as means of IC₅₀. The profile of phenolic compounds was evaluated by high-performance liquid chromatography-HPLC-DAD technique. The phenolic compounds were identified by comparing the retention time and the UV / Vis absorption spectrum with the analytical standards, and by similarity of the chemical class UV/Vis spectra. The phenolic compounds were quantified by constructing calibration curves of the pure standards and the chemical class representative compounds. **Results:** The yellow and white peppers, respectively, presented pH (5.48, 5.08), total soluble solids (1.65, 2.83 °Brix), titratable total acidity (3.91, 4 (1.78, 1.45 g 100g⁻¹), lipids (2.55, 2.73 g 100g⁻¹), reducing sugars (1.78, 3.03 µg 100 g⁻¹), total phenolic compounds (818.17, 677.25 mg EGA 100g⁻¹), total flavonoids (330.54, 218.86 mg QE 100g⁻¹), ascorbic acid (178.21, 106.05 mg 100g⁻¹) and total carotenoid content (212,28; 192,55 mg ECβ 100g⁻¹) were very high compared to other peppers of the same genus Capsicum. The antioxidant activity against the DPPH radicals (3.52; 5.12) IC₅₀ mg mL⁻¹), HOCl/Cl⁻ (3.44; 4.96 IC₅₀ mg mL⁻¹) and Taurine chloramine (6.08; 8.14 IC₅₀ mg mL⁻¹). Flavonoids naringin (CB1204 and DM1433) and naringenin (DM1433), and gallic (DM1433) and p-coumaric acids (CB1531, DM1439 and DM1433) were identified and quantified in the extracts of peppers. In the determination of the profile of phenolic compounds, flavonoids naringin (CB1204 and DM1433) and naringenin (DM1433) and gallic (DM1433) and p-coumaric acids (CB1531, DM1439 and DM1433) were identified and quantified by comparison with analytical standards . By similarity with the representative chemical class spectra were identified and quantified in pepper extracts: three compounds derived from hydroxybenzoic acid, a derivative of hydroxycinnamic acid, two derivatives of flavones and two compounds derived from flavonols. The DM1433 and CB1204 strains were the ones with the highest content of phenolic compounds. Among all the strains evaluated

the DM1433 pepper was the one that presented the best profile of phenolic compounds. **Conclusion:** The results indicate that the lineages of cabacinha and yellow-bellied peppers present high levels of secondary metabolites, with bioactive properties such as phenolic compounds, carotenoids and ascorbic acid. The lines CB1505, CB1204 and DM1433 were the ones that presented the highest content of the evaluated compounds. Therefore, from the nutritional point of view, the lineages can be cultivated and introduced in Brazilian agriculture.

Keywords: *Capsicum*; lineage; bioactive compounds; functional food; antioxidant activity and phenol compounds.

Lista de Tabelas e Quadros

Introdução	Página
Quadro 1. Espécies e variedades do gênero <i>Capsicum</i> distribuídas de acordo com o grau de domesticação.	23
Capítulo 1	
Tabela 1. Determinação do pH, sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$), acidez total ($\text{mg AC } 100\text{g}^{-1}$), proteínas ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$), lipídeos ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$) e açúcares redutores ($\mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$) de linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela.	55
Tabela 2. Conteúdo de compostos fenólicos totais ($\text{mg EAG } 100\text{g}^{-1}$), flavonoides totais ($\text{mg EQ } 100\text{g}^{-1}$), ácido ascórbico ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) e carotenoides totais ($\text{mg E}\beta\text{C } 100\text{g}^{-1}$) em linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela.	59
Tabela 3. Atividade antioxidante pelo ensaio da captura do radical DPPH, ácido hipocloroso (HOCl/OCl^{-}) e taurina cloramina, expressos em $\text{IC}_{50} \text{ mg g}^{-1}$, em linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela.	65
Capítulo 2	
Tabela 1. Compostos fenólicos identificados nas linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela.	93
Tabela 2. Teor de compostos fenólicos nas linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela.	95
Tabela 3. Recuperação do processo de extração de compostos fenólicos em três níveis de concentração do ácido <i>p</i> -cumárico.	99

Lista de Figuras

Introdução	Página
Figura 1. Mapa das zonas de expansão pré-colombiana para quatro espécies domesticadas de <i>Capsicum</i> .	19
Figura 2. Ilustração da pimenta cabacinha produzida no Brasil.	25
Figura 3. Ilustração da pimenta dedo-de-moça amarela produzida no Brasil.	26
Figura 4. Estrutura química típica dos flavonoides.	30
Figura 5. Classificação dos flavonoides segundo as características químicas.	31
Figura 6. Principais flavonoides das pimentas do gênero <i>Capsicum</i> .	32
Figura 7. Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos (a) e dos ácidos hidroxicinâmicos.	33
Figura 8. Estrutura química dos principais carotenoides da classe dos carotenos.	36
Figura 9. Estrutura química do L-ácido ascórbico	37
 Capítulo 1	
Figura 1. Representação gráfica do intervalo com 95% de confiança dos valores de pH, sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), acidez total (mg AC $100g^{-1}$), proteínas (g $100g^{-1}$), lipídeos (g $100g^{-1}$) e açúcares redutores (μg $100g^{-1}$) de linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela ($\alpha = 0,05$).	56
Figura 2. Representação gráfica do intervalo com 95% de confiança do Conteúdo de compostos fenólicos totais (mg EAG $100g^{-1}$), flavonoides totais (mg EQ $100g^{-1}$), ácido ascórbico (mg $100g^{-1}$) e carotenoides totais (mg E β C $100g^{-1}$) em linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela ($\alpha = 0,05$).	60
Figura 3. Representação gráfica do intervalo com 95% de confiança da atividade antioxidante pelo ensaio da captura do radical DPPH, ácido hipocloroso e taurina cloramina, expressos em IC ₅₀ mg g^{-1} , em linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela ($\alpha = 0,05$).	65

Capítulo 2

Figura 1. Cromatograma do <i>pool</i> de padrões de ácidos fenólicos e flavonoides a 280 nm: ácido gálico (1), ácido protocatecuico (2), ácido clorogênico (3), ácido cafeico (4), ácido siríngico (5), ácido <i>p</i> -cumárico (6), ácido elágico (7), rutina (8), naringina (9), quercetina (10), ácido trans-cinâmico (11), ácido ferúlico (12), eriocitrina (13), narirutina (14), quercitrina (15), hesperidina (16), resveratrol (17), luteolina (18), naringenina (19), kaempferol (20), hesperitina (21), nobiletina (22) e tangeritina (23).	82
Figura 2. Cromatograma típico da linhagem de pimenta cabacinha CB1204.	83
Figura 3. Cromatograma típico da linhagem de pimenta cabacinha CB1517.	84
Figura 4. Cromatograma típico da linhagem de pimenta cabacinha CB1531.	85
Figura 5. Cromatograma típico da linhagem de pimenta cabacinha CB1541.	86
Figura 6. Cromatograma típico da linhagem de pimenta dedo-de-moça amarela DM1404.	87
Figura 7. Cromatograma típico da linhagem de pimenta dedo-de-moça amarela DM1427.	88
Figura 8. Cromatograma típico da linhagem de pimenta dedo-de-moça amarela DM1433.	89
Figura 9. Cromatograma típico da linhagem de pimenta dedo-de-moça amarela DM1439.	90
Figura 10. Cromatograma típico da linhagem de pimenta dedo-de-moça amarela DM1441.	91
Figura 11. Análise de componentes principais dos compostos fenólicos em linhagens de pimenta cabacinha e dedo-de-moça amarela ($\alpha= 0,05$).	98

Lista de Siglas

CB – Pimenta cabacinha
DM – Pimenta dedo-de-moça amarela
BAG – banco ativo de germoplasma de *Capsicum*
DCPIP – 2,6-diclorofenollindofenol
DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
HOCl/OCl⁻ - Ácido hipocloroso
TMB – 3,3',5,5'- tetrametilbenzidina
HPLC-DAD – Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de diodo
UV/Vis – ultravioleta visível
NaOCl – cloreto de sódio
NaOH – Hidróxido de sódio
AC – Ácido cítrico
EAG – Equivalente de ácido gálico
EQ – Equivalente de quercetina
EβC – Equivalente de beta caroteno
μg⁻¹ – micrograma
mg⁻¹ – miligrama
g⁻¹ – grama
mmol - milimol
μL⁻¹ – microlitro
mL⁻¹ – mililitro
L⁻¹ – litro
min – minutos
h – horas
nm – nanômetro
μm – micrometro
mm – milímetro
cm⁻¹ – centímetro

Lista de Anexos

Anexo	Página
Anexo 1. Curva de calibração para quantificação de ácidos fenólicos ($\alpha = 0,05$).	112
Anexo 2. Curva de calibração para quantificação de flavonoides ($\alpha = 0,05$).	113
Anexo 3. Identificação e classificação de compostos fenólicos em linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela.	114
Anexo 4. Espectro de absorção no UV/Vis dos ácidos fenólicos e flavonoides.	140

Sumário

	Página
Resumo	ix
Abstract	xi
Lista de Tabelas e Quadros	xiii
Lista de Figuras	xiv
Lista de Siglas	xvi
Lista de Anexos	Xvii
 Introdução	 19
 Capítulos	
 Capítulo 1. Avaliação de compostos bioativos e atividade antioxidante de linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela	 44
Resumo	45
Introdução	46
Material e Métodos	48
Resultados e Discussão	53
Considerações Finais	66
Referências	66
 Capítulo 2. Avaliação do perfil de compostos fenólicos de linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela pela técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – DAD	 73
Resumo	74
Introdução	75
Material e Métodos	76
Resultados e Discussão	81
Considerações Finais	100
Referências	101
 Considerações Finais	 103
Referências	104
Anexos	112

INTRODUÇÃO

1 ORIGEM E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DAS PIMENTAS

Os registros arqueológicos mais antigos apontam que o cultivo de pimentas teve início nos anos 9.000 a.C. em Tehuacán no México, e entre 5.200 e 3.400 a.C no Peru e na Bolívia (1). Esses sítios arqueológicos revelam que as pimentas tiveram origem no continente americano, mais precisamente no Sul da Bolívia, e posteriormente migraram para os andes e terras baixas da Amazônia, onde surgiram novas espécies desses frutos (figura 1) (2). Entretanto, a propagação das pimentas como alimento pelo mundo só aconteceu, a partir das grandes navegações entre os séculos XV e XVI (3).

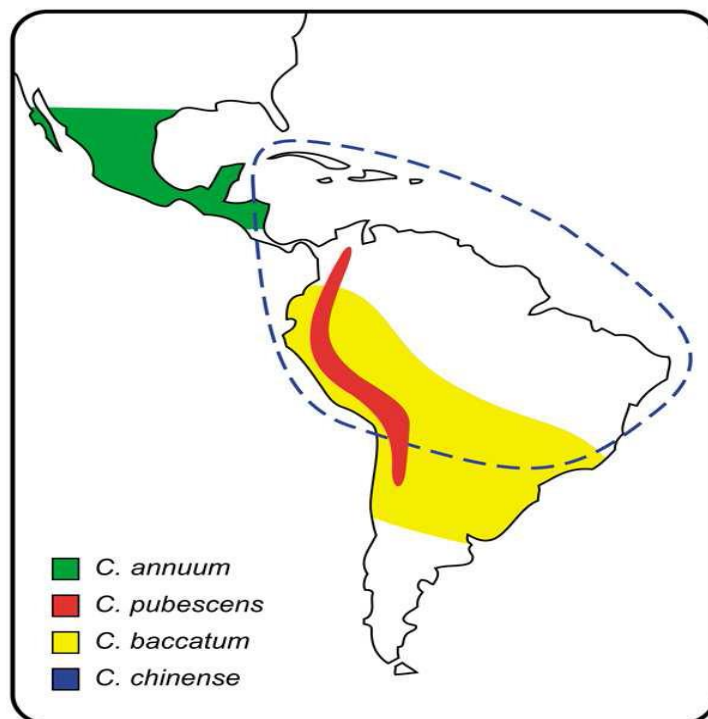


Figura 1. Mapa das zonas de expansão pré-colombiana para quatro espécies domesticadas de *Capsicum* (2).

A primeira publicação científica sobre pimenta foi em 1543 no livro “De história stirpium commentarii insignes”, escrito pelo médico alemão Leonhart Fuchs que descreveu, detalhadamente, em suas ilustrações informações sobre a raiz e o fruto, mostrando também, o uso das pimentas como agentes medicinais pelos indígenas (3). Embora a pimenta tenha sido reportada cientificamente somente no século XVI, o primeiro registro foi feito no século XV em uma carta escrita pelo espanhol Diego Álvarez Chanca, um médico e físico a serviço dos reis católicos, que acompanhou Cristóvão Colombo em sua segunda viagem para as Índias ocidentais entre os anos de 1493 e 1494. Acredita-se que Colombo, em uma de suas lendárias viagens a América, foi o primeiro europeu a conhecer a pimenta vermelha, depois de procurar uma fonte alternativa que substituísse a pimenta-do-reino muito consumida pelos europeus naquela época. Ao se deparar com aquela pequena vagem picante, muito consumida pelos índios, percebeu o seu potencial, e a pimenta logo foi introduzida na Europa, em seguida na África e Ásia, atingindo distribuição mundial no século XVII (4,5).

No Brasil, a pimenta era cultivada pelas tribos indígenas bem antes da chegada dos colonizadores portugueses. O náufrago alemão Hans Staden quando foi prisioneiro de guerra de uma tribo de índios tupinambás entre 1547 e 1555, relatou na sua obra intitulada “Duas viagens ao Brasil” que a pimenta era muito consumida pelos nativos como tempero de peixes, caças e acompanhamento de refeições. Além de fazer parte da alimentação, a pimenta também era utilizada como arma de guerra, na qual, eram colocadas nas pontas das flechas e queimadas para que os compostos voláteis fossem liberados, e quando estes compostos entravam em contato

com as cabanas dos inimigos, estes eram forçados a deixar rapidamente os locais pela forte pungência, saindo derrotados em suas batalhas (3).

2 CULTIVO E ASPECTO ECONÔMICO DAS PIMENTAS

Atualmente existe uma diversidade de pimentas cultivadas mundialmente com diferentes formatos, cores, tamanhos e sabores. O continente asiático é o maior produtor de pimentas do mundo, com aproximadamente 89% das áreas de cultivo localizadas na Índia, Coreia, Tailândia, China, Vietnã, Srilanka e Indonésia. Os Estados Unidos da América e o México ocupam a segunda posição no *ranking* com cerca de 7% do total cultivado. Por último temos os países da Europa, África e Oriente Médio com área plantada em torno de 4%. A distribuição desse efetivo no mercado é de, aproximadamente, 50% da produção para o consumo *in natura* e os outros 50% para o processamento industrial das pimentas em forma de molhos, desidratados e outros produtos (6,7).

No Brasil a produção de pimentas vem crescendo nos últimos anos, com cultivos em regiões de clima subtropical como no Sul, ou de clima tropical como no Norte e Nordeste. Contudo, o cultivo de pimenta no País está concentrado, principalmente, nas regiões sul (Rio grande do Sul), sudeste (Minas Gerais e São Paulo) e centro-oeste (Goiás), sendo cultivadas diversas variedades, dentre as mais comuns encontram-se a dedo de moça, cumari, chapéu de bispo, malagueta, cabacinha, pimenta de cheiro, entre outras (6-8).

No último levantamento de dados feito no Brasil, estimou-se que a produção média de pimentas se encontra na faixa de 10,0 a 45,0 toneladas

por hectare ao ano, com média mundial de 15,8 toneladas por hectares. Neste cenário, a pimenta malagueta ocupa a posição de maior destaque, com uma produção de aproximadamente 10 toneladas por hectare, sendo a variedade mais cultivada no país (9). Apesar da importância da pimenta, as informações e dados estatísticos a respeito do seu cultivo são deficientes, e os dados disponíveis não retratam a sua realidade econômica, uma vez que, grande parte da produção é feita por pequenos e médios agricultores e comercializada em mercados regionais e locais que não fazem parte das estatísticas (10).

O mercado de pimentas é bastante atrativo e diversificado, indo desde a comercialização para o consumo *in natura* e conservas caseiras em pequenas quantidades no atacado e varejo, até o seu uso em grande escala, como matéria prima para fabricação de corantes e flavorizantes, produtos alimentícios (geleias, páprica, pó, pastas, desidratadas, molhos líquidos, entre outras), farmacêuticos (pomadas), cosméticos e ornamentais, caracterizando essa atividade como uma importante movimentação socioeconômica para o agronegócio do país (8,11).

3 PIMENTAS DO GÊNERO *Capsicum*

O nome do gênero *Capsicum* deriva da palavra grega *Kapto*, que significa picar, enquanto que, a pimenta origina-se do latim, da palavra *pigmenta*, que significa corante. As espécies de pimentas do gênero *Capsicum*, segundo a classificação taxonômica, pertencem a divisão *Spermatophyta*, ao filo *Angiospermae*, classe Dicotiledônea, ramo Malvales-Tubiflorae, Ordem *Solanales* (*Personatae*) e a família *Solanaceae* (12). São

conhecidas também como pimentas hortícolas para serem diferenciadas de outras pimentas como a pimenta-do-reino ou pimenta-preta (*Piper nigrum* L.), pimenta rosa (*Schinus molle* L.) e pimenta da jamaica (*Pimenta officinalis* Lindl.), que embora sejam chamadas de pimentas e usadas como condimento, não possuem parentesco entre si, e cada qual apresenta propriedades químicas distintas (13).

O gênero *Capsicum* possui em torno de 35 espécies e mais de 200 variedades, classificadas em três categorias, de acordo com o grau de domesticação. Assim, o gênero é composto por cinco espécies domesticadas (largamente cultivadas e utilizadas pelo homem) cerca de dez semi-domesticadas (pouco cultivadas) e vinte silvestres (não cultivadas comercialmente) conforme mostra o quadro (12,14,15).

Quadro 1. Espécies e variedades do gênero *Capsicum* distribuídas de acordo com o grau de domesticação.

Grau de domesticação	Espécies
Domesticadas	<i>C. annuum</i> var. <i>annuum</i> * <i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i> * <i>C. chinense</i> * <i>C. frutescens</i> * <i>C. pubescens</i>
Semi-domesticadas	<i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> * <i>C. baccatum</i> var. <i>baccatum</i> * <i>C. baccatum</i> var. <i>praetermissum</i> * <i>C. chinense</i> (forma silvestre) <i>C. frutescens</i> (forma silvestre) <i>C. cardenasii</i> <i>C. eximium</i> <i>C. tovarii</i> <i>C. chacoense</i> <i>C. galapagonense</i>
	<i>C. buforum</i> * <i>C. campylopodium</i> * <i>C. chacoense</i> var. <i>tomentosum</i> <i>C. ciliatum</i> <i>C. coccineum</i> <i>C. cornutum</i> <i>C. dimorphum</i>

Continuação

Silvestres	<i>C. dusenii</i> * <i>C. flexuosum</i> * <i>C. geminifolium</i> <i>C. hookerianum</i> <i>C. minuflorum</i> <i>C. lanceotatum</i> <i>C. mirabile</i> * <i>C. parvifolium</i> * <i>C. schottianum</i> * <i>C. scolnikianum</i> <i>C. villosum</i> *
------------	--

Fonte: (14).

*espécies encontradas no Brasil.

De acordo com Ribeiro et al. (8), as pimentas do gênero *Capsicum* fazem parte da biodiversidade e da riqueza cultural brasileira, e são cultivadas em todo território nacional. Esses frutos possuem grande variabilidade de cores, tamanhos, formas, sabores, aromas, composição química e teor de pungência, decorrentes de diferentes condições ambientais, geográficas, formas de manejo, armazenamento, processamento e especialmente a variabilidade genética (16,17).

O fruto é uma baga bi a hepta-locular, polispérmica, estrutura oca, de coloração, geralmente, vermelha ou amarela quando maduros (relacionado aos carotenoides), podendo variar também do laranja ao roxo devido às antocianinas. No entanto, alguns frutos podem apresentar uma coloração castanha atribuída à persistência da clorofila, concorrendo com a síntese de licopeno e beta caroteno. O formato varia com as espécies, existindo frutos alongados, arredondados, triangulares, cônicos, quadrados ou campanulados. O comprimento vai desde menos de 1,0 cm até mais de 20,0 cm, e a pungência varia do doce ao muito picante. Com relação à polpa, esta apresenta consistência firme e as sementes, no geral, são uniformes,

achatas, com diâmetro longitudinal de 3,0 a 5,0 mm, amareladas, pretas ou na cor de palha (14,18).

3.1 Pimenta cabacinha

A espécie *Capsicum chinense* foi uma das primeiras pimentas encontradas pelos colonizadores. É originária do México, cultivada em clima quente e úmido com solo bem drenado e rico em matéria orgânica, sendo encontrada principalmente na bacia amazônica, por isso, é considerada a mais brasileira das espécies domesticadas (19).

A pimenta cabacinha, cabaça ou fidalga (figura 2) é uma variedade da espécie *Capsicum chinense* cultivada no Brasil, principalmente, no interior de São Paulo e no Sul de Minas Gerais, cujos frutos apresentam cor alaranjada quando maduro, sementes na cor palha, altura de 1,20 m, largura de 70,0 cm, folhas verde-escuras ovais com medidas de 15,0 mm de comprimento e 8,0 mm de largura, polpa firme, aroma intenso e alto teor de pungência (13, 19).

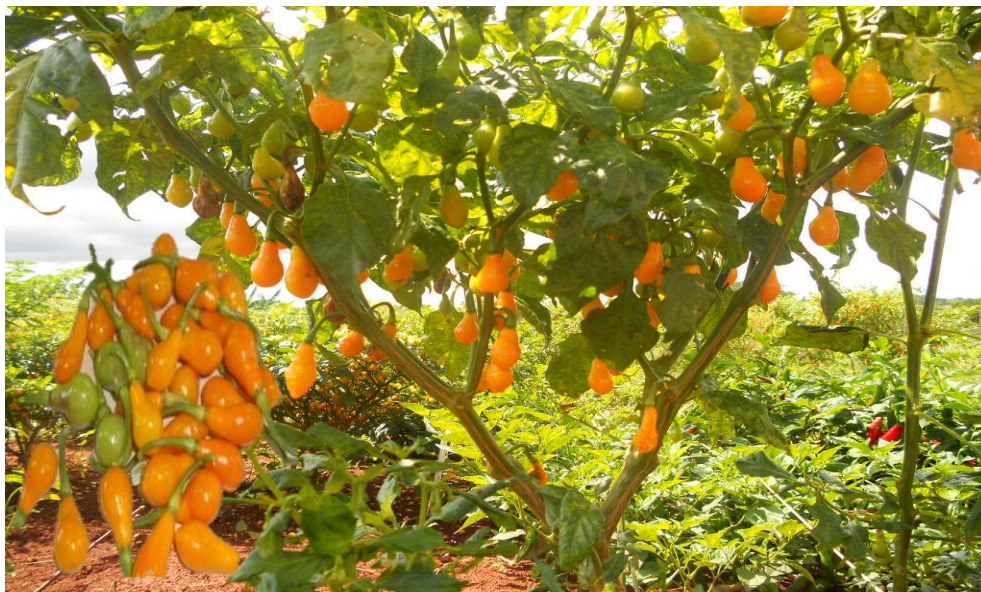


Figura 2. Ilustração da pimenta cabacinha produzida no Brasil. Fonte: Renato Silva Soares (2015).

Essa pimenta é muito utilizada na culinária regional, principalmente em molhos e saladas, sendo bastante apreciada na decoração de pratos sofisticados pela sua bela cor, formato e aroma (19).

3.2 Pimenta dedo-de-moça

A espécie *Capsicum baccatum* var. *pendulum* é a mais cultivada e comercializada no Brasil. É encontrada em toda América Latina, especialmente na Colômbia, Equador, Peru, Bolívia, Argentina e Sul e Sudeste do Brasil, que é considerado um centro secundário de produção.

A pimenta dedo-de-moça (figura 3) também conhecida como chifre-de-veado, pimenta-vermelha ou calabresa, possui frutos alongados, de coloração vermelha ou amarela quando maduros, com medidas de aproximadamente 7,5 a 10,0 cm de comprimento e de 1,0 a 1,5 cm de largura, com sementes na cor palha, polpa firme e pungência variável, de não picante a picante, sendo na sua maioria de pungência suave e pouco aromática (6,8,12,14).



Figura 3. Ilustração da pimenta dedo-de-moça amarela produzida no Brasil. Fonte: Luís Sérgio Rodrigues Vale (2015).

A dedo-de-moça é uma das variedades de pimentas mais conhecidas e consumidas no Brasil, principalmente nos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul e Goiás. É um fruto, cuja casca é fina, lisa e brilhante. Muito saborosa, essa pimenta pode ser encontrada na forma de molho, fresca, em conserva ou desidratada em flocos com sementes (6,12).

4 METABÓLITOS PRIMÁRIOS E PROPRIEDADES NUTRICIONAIS DAS PIMENTAS DO GÊNERO *Capsicum*

O metabolismo primário dos vegetais, também conhecido como metabolismo basal, é um agrupamento de processos metabólicos essenciais, que origina compostos com funções nutricionais importantes como os aminoácidos, proteínas, carboidratos, lipídeos, nucleotídeos, entre outros (20).

As pimentas, em geral, possuem alto valor nutricional e baixo teor de calorias. Embora a pungência seja o seu atributo mais atrativo, seus frutos são ricos em fibras, carboidratos, lipídeos, proteínas, sais minerais e vitaminas. Estes componentes são encontrados em concentrações variáveis, de acordo com a espécie, cultivar, condições de cultivo, maturação dos frutos, manuseio pós-colheita e armazenamento (21-23).

Os carboidratos são componentes predominantes nas pimentas *Capsicum*, sendo a frutose o principal açúcar. Frutose e glicose juntas constituem cerca de 70% dos açúcares totais e redutores do fruto. Os teores de proteínas e lipídios em polpas de pimenta são reduzidos, mas de grande valor nutricional, pois são capazes de assegurar a manutenção das funções

vitais do organismo, suprimindo suas necessidades de produção de energia, de elaboração e manutenção tecidual e de equilíbrio biológico (24).

O teor de fibras nas pimentas é consideravelmente superior aos teores de algumas frutas e cereais, tendo na casca ou pele cerca de 80% das fibras totais do fruto. Além destes compostos, os frutos contêm concentrações significativas de sais minerais como potássio, magnésio, ferro, cálcio e fósforo (24).

5 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM PIMENTAS DO GÊNERO *Capsicum*

Os metabólitos secundários são derivados dos compostos do metabolismo primário dos vegetais, que por vias do acetato, chiquimato, mevalonato e desoxixilulose fosfato, formam como produtos a acetil coenzima A, o ácido chiquímico, ácido mevalônico e 1-desoxixilulose 5-fosfato, respectivamente, que por sua vez, formam oito unidade básicas, que quando combinadas entre si, produzem os metabólitos secundários como os compostos fenólicos, ácido ascórbico, alcaloides, entre outros (20).

Os metabólitos secundários das pimentas do gênero *Capsicum* vêm sendo muito estudados nos últimos anos por apresentarem diversas propriedades terapêuticas benéficas a saúde. Dentre estes, destacam-se as vitaminas A, C e E, os compostos fenólicos, carotenoides e capsaicinoides. Além destes, outros compostos bioativos com atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e anticarcinogênicas também são encontrados nos frutos (25).

5.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são derivados do metabolismo secundário dos vegetais, no qual, apresentam em sua estrutura química um ou mais grupos hidroxilas substituintes e/ou seus derivados funcionais (ésteres, metoxilas, glicosídeos e outros), ligados diretamente a um anel aromático na forma simples ou de polímeros (26). Estes compostos de defesa são largamente distribuídos na natureza e são essenciais para o crescimento, reprodução e pigmentação das plantas. São também responsáveis pela estabilidade oxidativa (devido a sua capacidade de doar elétrons e da estabilidade dos seus radicais intermediários) e qualidade sensorial dos alimentos como cor, sabor, aroma e adstringência (27-29).

Os compostos fenólicos são categorizados como ácidos fenólicos e polifenóis, entre os quais estão os flavonoides, taninos, ligninas, lignanos, entre outros (30,31). Em pimentas *Capsicum*, os fenólicos mais encontrados são os flavonoides (mirecitina, quercetina, luteolina, kaempferol e apigenina) e ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido clorogênico, ácido *p*-cumárico, entre outros) (15,32,33).

5.2 Flavonoides

Os flavonoides são compostos fenólicos complexos, de baixo peso molecular, biossintetizados pela via do chiquimato e do metabolismo dos fenilpropanoides, amplamente distribuídos no reino vegetal. São caracterizados por apresentarem em sua estrutura química 15 átomos de carbono, configurados na forma molecular C₆-C₃-C₆, com dois anéis aromáticos (A e B) ligados por um anel heterocíclico oxigenado (C) como

mostra a figura 4 (31,34). Sabe-se que o arranjo espacial dos flavonoides, especialmente o anel B, é o principal contribuinte para a atividade antioxidante destes compostos, visto que, o anel B possui a maior capacidade eletrodoadora. No entanto, os anéis A e C também são responsáveis por substituições de grupamentos que concedem propriedades biológicas a estes compostos (35).

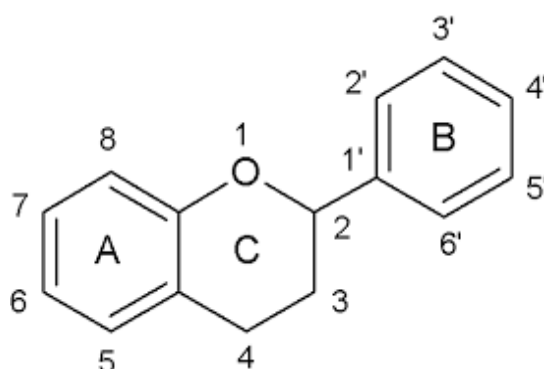


Figura 4. Estrutura química típica dos flavonoides (31).

De acordo com as características químicas e biossintéticas, os flavonoides são subdivididos em classes que incluem as flavonas, flavanonas, flavonóis, flavanóis, flavanonóis, isoflavonas, chalconas, antocianidinas, cumarinas, auronas, neoflavonoides, entre outros (figura 5) (30,31). Essa classificação está diretamente associada à quantidade e posicionamento dos grupos hidroxilas nos anéis aromáticos A e B, decorrentes das substituições feitas por oxigenação, alquilação, glicosilação, acilação e sulfatação (34).

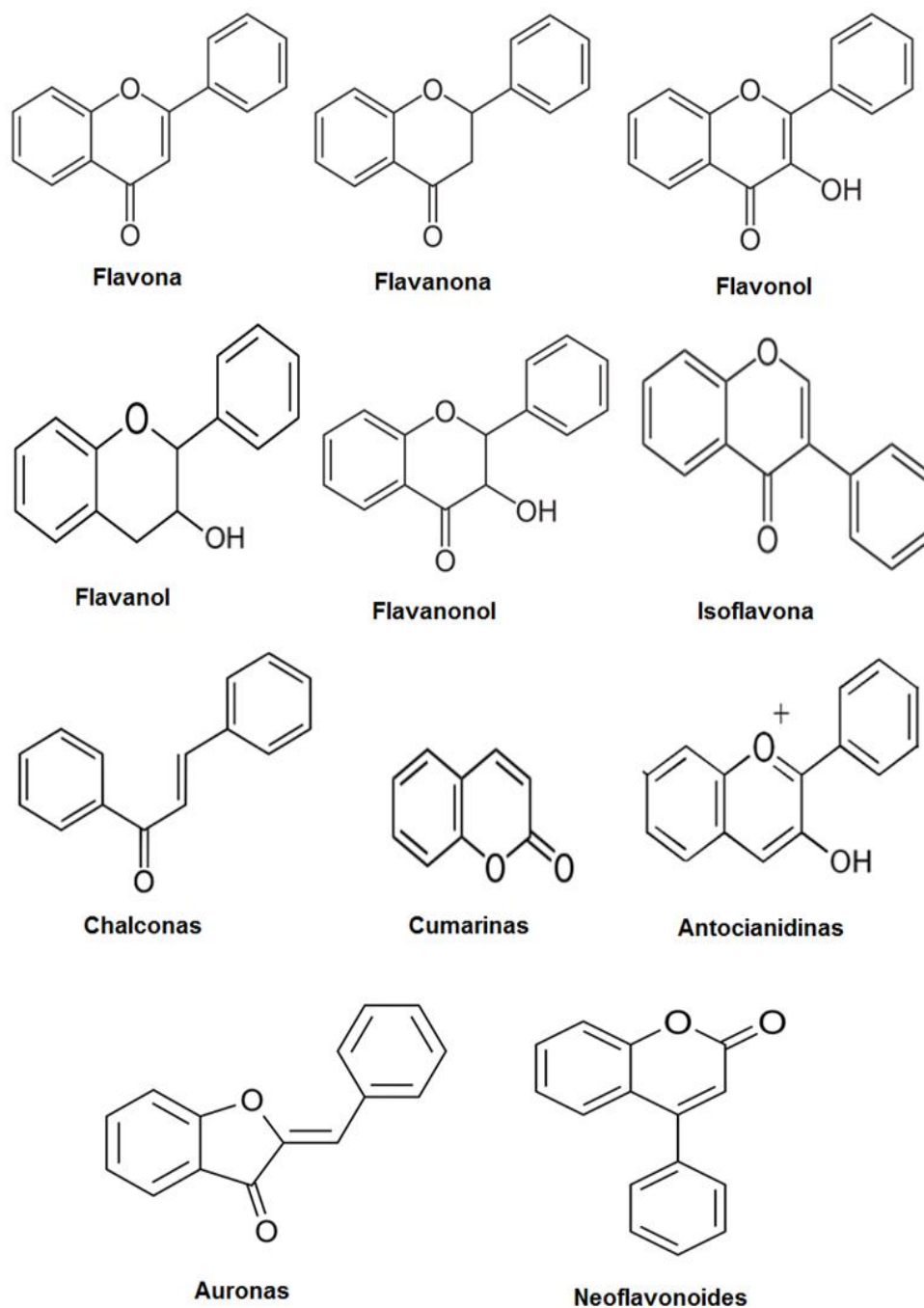


Figura 5. Classificação dos flavonoides segundo as características químicas (30,31).

Em pimentas do gênero *Capsicum*, os principais flavonoides descritos na literatura são a quercetina, luteolina, apigenina, miricetina e

kaempferol, mas também podem ser encontrados derivados glicosilados destes compostos (figura 6) (15,33).

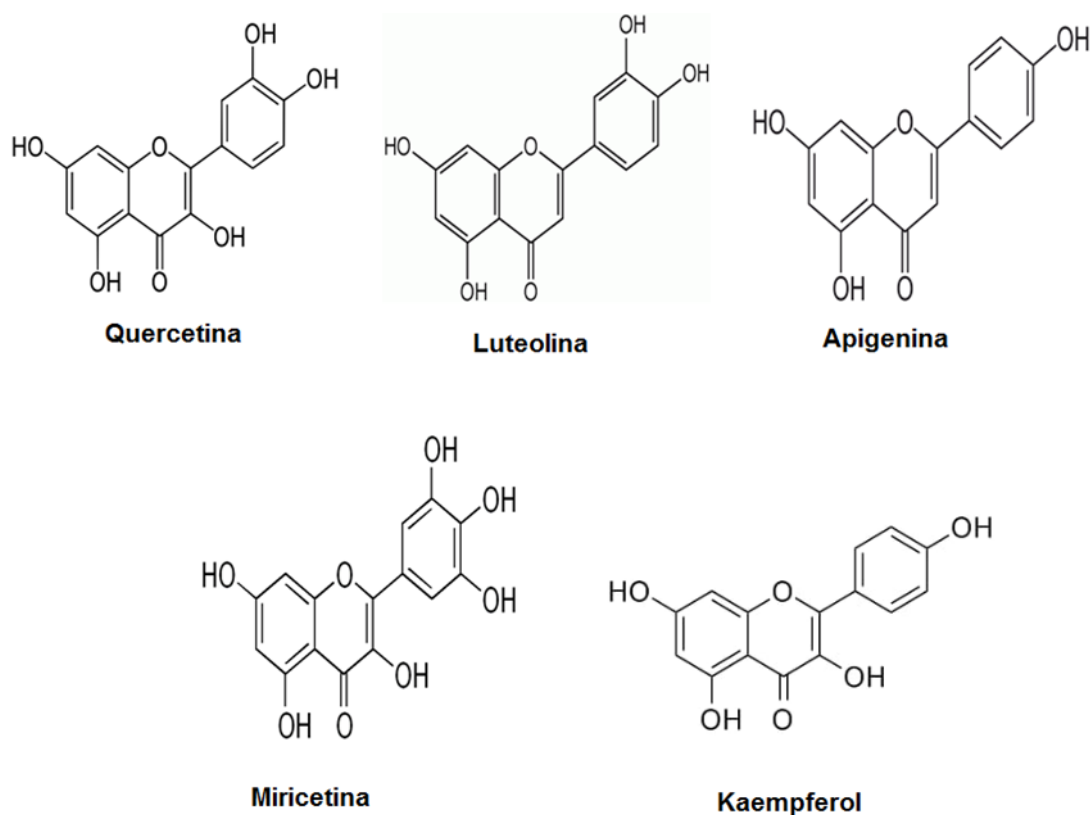


Figura 6. Principais flavonoides das pimentas do gênero *Capsicum* (15,33).

5.3 Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos são compostos que apresentam em sua estrutura um anel benzênico, um grupamento carboxílico, e um ou mais grupos hidroxila e/ou metoxila na molécula (figura 7). São compostos agrupados em duas classes, os derivados do ácido benzoico, constituídos de sete átomos de carbono (C6-C1), e os derivados do ácido cinâmico formados por nove átomos de carbono (C6-C3). Fazem parte da classe dos ácidos benzoicos o ácido gálico, salicílico, sirínico, *p*-hidroxibenzoico, protocatecuico, elágico, vanílico, entre outros. Os ácidos caféico, ferúlico, *p*-cumárico, clorogênico e

sináptico, são os mais comuns da classe dos ácidos cinâmicos, conforme a figura 6 (34,36,37).

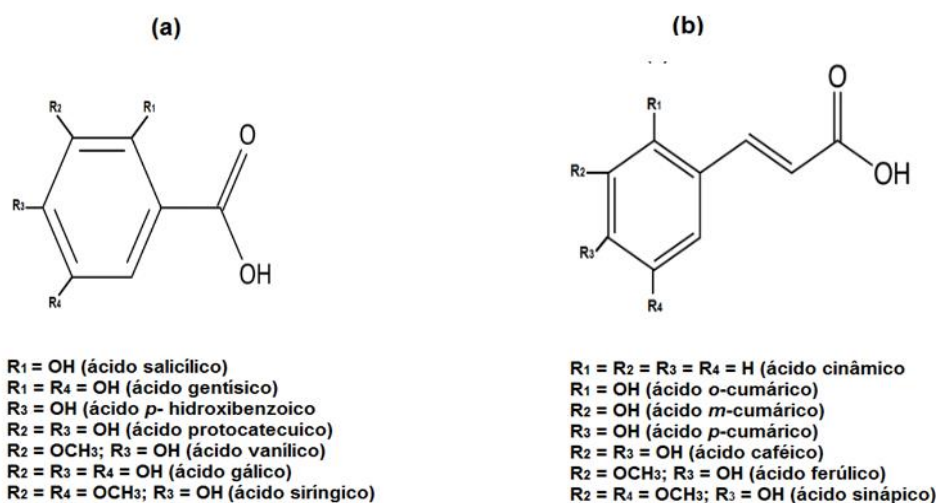


Figura 7. Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos (a) e dos ácidos hidroxicinâmicos (b) (34,38).

Sabe-se que a atividade biológica, especialmente, a atividade antioxidante dos ácidos fenólicos está relacionada ao número de hidroxilas presentes nas moléculas, e à proximidade entre o grupo carboxila e o grupo fenil, pois quanto mais próximo estiverem estes grupos, maior o potencial antioxidante do grupo hidroxila na posição meta (39). Os derivados do ácido cinâmico possuem maior potencial antioxidante do que os derivados do ácido benzoico, isso se deve a dupla ligação que compõem a estrutura química da primeira classe supracitada, que é responsável pela estabilidade do radical por deslocamento do elétron emparelhado (34).

5.4 Espectros de absorção dos compostos fenólicos

Os compostos fenólicos, em geral, apresentam espectro de absorção na região do ultravioleta-visível (UV/VIS), entre 200 e 400 nm, peculiar de cada classe. Esta peculiaridade deve-se ao arranjo estrutural dos

compostos, que mesmo pertencendo à mesma classe, podem sofrer efeitos hipsocrômicos ou batocrômicos (40,41).

De acordo com Mesquita e Monteiro (42), os ácidos fenólicos possuem espectro de absorção entre 210 e 340 nm, com pelo menos três espectros típicos de ácidos benzoicos e dois de ácidos cinâmicos. Contudo, neste trabalho constatou-se que há quatro tipos de espectros típicos de ácidos benzoicos, e dois de ácidos cinâmicos.

Os flavonoides geralmente possuem duas bandas de absorção. A primeira banda com absorção máxima entre 300-400 nm, que está relacionada ao anel A da estrutura química, e a segunda entre 240-285 nm, referente ao anel aromático B do arranjo estrutural (figura 3) (20).

De acordo com Ássimos (38) e Mesquita e Monteiro (42), as flavonas apresentam espectro de absorção máximo entre 304-350 nm na banda I, e entre 240-280 nm na banda II. Nos flavonóis, o espectro de absorção máxima da banda I é de 352-385 nm e da banda II ocorre entre 240-280 nm.

As flavanonas possuem pouca ou nenhuma conjugação entre os anéis, por isso, apresentam apenas um ombro de baixa intensidade na banda I, com comprimentos de onda máximos na faixa de 320-340 nm, enquanto que, a banda II é mais intensa, com absorção máxima entre 270-295 nm (42,43).

É importante destacar que os espectros de absorção do UV/VIS podem sofrer pequenas variações, causados pelos efeitos hipsocrômicos ou batocrômicos. Esses efeitos são decorrentes do aumento do grau de hidroxilação na estrutura química dos compostos fenólicos, da metilação ou esterificação dos grupos hidroxilas substituintes. Os dois últimos processos

não costumam alterar o espectro de absorção da maioria dos flavonoides, exceto para a classe dos flavonóis (40,44).

5.5 Carotenoides

Os carotenoides são pigmentos amarelos, laranjas e vermelhos, presentes em muitas frutas e vegetais. São compostos lipossolúveis, polisoprenóides, de cadeia polieno, com um longo sistema de duplas ligações conjugadas. Esta cadeia geralmente possui grupos terminais cíclicos e sistema conjugado rico em elétrons, sendo responsável pela atividade antioxidante destes compostos (45-47).

Os carotenoides são divididos em duas classes, os carotenos e as xantofilas, de acordo com as suas propriedades químicas. Os carotenos, também conhecidos como carotenoides hidrocarbonos, são compostos que apresentam em sua estrutura apenas carbono e hidrogênio, como o α e β -caroteno e o licopeno (figura 8), enquanto que, as xantofilas são derivados oxigenados dos carotenos e contém pelo menos uma função hidroxil, cetona, epóxido, metoxil, ou ácido carboxílico no seu arranjo estrutural. Neste grupo estão a luteína, zeaxantina, astaxantina, entre outros (45). Dentre os carotenoides, o β -caroteno e o licopeno são os que possuem maior atividade pró-vitamina A, sendo considerados poderosos antioxidantes, capazes de estabilizar os radicais livres e atuar na prevenção de câncer, infarto e doenças coronarianas (48,49).

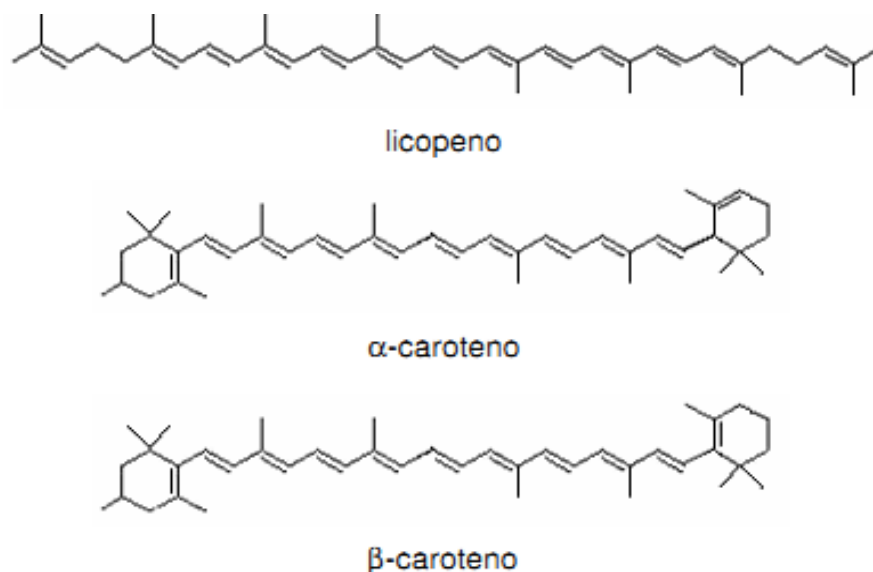


Figura 8. Estrutura química dos principais carotenoides da classe dos carotenos. Fonte: nutricaoclinica.com.br (2018).

Em pimentas maduras, a capsantina e a capsorubina são os principais carotenoides dos frutos vermelhos, contribuindo com mais de 50% dos carotenoides totais. Nos frutos amarelos, o β -caroteno, zeantina e a criptoxantina são os principais constituintes, enquanto que, nos frutos laranjas o alfatocoferol é o carotenoide predominante (50). Vale destacar que o teor de carotenoides nas pimentas depende muito do cultivar, condições de cultivo e estágios de maturação (51,52).

5.6 Ácido L-ascórbico (vitamina C)

O ácido ascórbico, também conhecido como vitamina C, é um composto hidrossolúvel essencial ao ser humano e pode ser encontrado tanto em animais como em vegetais (figura 9). Nos vegetais, essa vitamina é comumente encontrada em frutas, legumes e hortaliças (53).

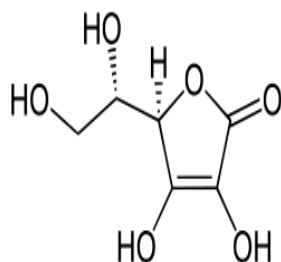


Figura 9. Estrutura química do L-ácido ascórbico. Fonte: manualdaquimica.uol.com.br (2018).

A vitamina C é muito importante pelas suas propriedades nutricionais e efeitos benéficos à saúde, mas também, é bastante utilizada pela indústria de alimentos como agente antioxidante, para inibir a formação de metabólitos nitrosos carcinogênicos e estabilizar cor, sabor e aroma em alimentos. Além disso, é empregada na fabricação de produtos para enriquecimento ou restauração, a níveis normais, do valor nutricional desta vitamina perdido durante o processamento (52,54).

As pimentas apresentam elevado teor de ácido ascórbico, que varia de 52,0 a 104,0 mg 100g⁻¹ de fruto fresco (52). A ingestão diária de vitamina C recomendada (55), para um indivíduo adulto, de ambos os sexos é 45,0 mg, quantidade que pode ser facilmente obtida com o consumo de 20,0 g de pimentas suaves ou doces (52). De acordo com Bontempo (48), 30,0 g de pimentas do gênero *capsicum* contêm 70,0 mg de vitamina C, logo o consumo de cerca de 20,0 g de pimenta desse gênero forneceria a quantidade diária de vitamina C que um indivíduo necessita.

5.7 Capsaicinoides

Os capsaicinoides são alcaloides, formados por grupos amidas da vanililamina (4-hidróxi-3metóxi-benzilamina) e de ácidos graxos saturados e

insaturados, presentes exclusivamente em pimentas do gênero *Capsicum* (56). Estes compostos são sintetizados pela enzima capsaicina sintase por duas vias metabólicas dos fenilpropanoides, sendo a primeira via gerada da vanililamina e a segunda de um derivado da AcetilCoA (57).

Os capsaicinoides são responsáveis pela pungência ou picância das pimentas, percebida pelas terminações nervosas quimiorreceptoras do organismo humano denominadas de valinóides de potencial transitório (TRPV1), os quais provocam diversos processos fisiológicos. Um deles é a liberação de endorfinas, que despertam uma sensação de bem-estar provocada pela ardência, razão pela qual existem pessoas adeptas do consumo de frutos do gênero *Capsicum* para tratar ou prevenir a depressão (58).

Entre os capsainoides existentes nos frutos, tem-se a capsaicina como o composto majoritário (69-71%), seguida da dihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina, homocapsaicina e homodihidrocapsaicina, respectivamente (48). Cada um destes capsaicinoides apresentam um efeito diferenciado quanto à sensação de ardor, percebido imediatamente após a ingestão da pimenta. A nordihidrocapsaicina, por exemplo, causa um efeito menos irritante na frente da boca e no palato. Já a capsaicina e a dihidrocapsaicina provocam maior irritação nas mucosas, principalmente no meio da boca e no palato, mas o ardor pode ser percebido também na garganta e na parte superior da língua (6,59).

A capsaicina é um composto incolor, inodoro, cristalino e pouco hidrossolúvel, que apresenta em sua estrutura química além da amida, a função éter e a função fenol (60). Além de ser a principal responsável pelos

atributos sensoriais, este capsaicinoide possui diversas propriedades biológicas, podendo atuar no sistema cardiovascular e gastrointestinal, age como antioxidante, antidepressivo, anti-inflamatório, antimicrobiano e anticarcinogênico. A capsaicina também é conhecida por ser afrodisíaca, analgésica, hipoglicêmica, antidiabética e atuar na redução de peso (61).

6 POTENCIAL ANTIOXIDANTE

Um antioxidante é definido como uma substância capaz de reduzir, inibir ou prevenir reações químicas que envolvam transferência de elétrons, impedindo a formação de radicais livres e os danos oxidativos (62). Esta substância apresenta diversas propriedades protetivas e, podem agir em diferentes etapas do processo oxidativo, por diferentes mecanismos de ação. Os antioxidantes são classificados como antioxidantes primários e secundários, sendo considerados primários aqueles capazes de retardar o processo oxidativo por inativação dos radicais livres. Já os antioxidantes secundários são aqueles que podem inibir ou retardar a oxidação pela inativação de ERO (espécies reativas de oxigênio), conversão de hidroperóxidos em espécies não radicais, ligação de íons metálicos (alteração de valência) ou pela absorção de radiação ultravioleta (63).

Em pimentas hortícolas, os principais antioxidantes naturais são os capsaicínoides, vitaminas C e E, carotenoides e os flavonoides. Estes frutos fornecem cerca de quatro vezes mais vitamina C do que a laranja, ajudam a repor o dano genético celular, reduzindo o processo de envelhecimento precoce, além de apresentarem atividades preventivas contra o câncer, mal-de-Alzheimer, mal-de-Parkinson, doenças cardiovasculares, arteriosclerose

e atividades anti-úlceras e anti-tumor (1,48,64-71). O extrato de pericarpo e sementes de pimentas são considerados alimentos saudáveis e de alta atividade antioxidante, com isso a indústria de alimentos começou a empregá-los em produtos cárneos e a base de peixes como uma alternativa ao uso de antioxidantes sintéticos. A pimenta dedo-de-moça também tem sido utilizada como agente antioxidante para conservação de molhos fermentados (72).

Considerando os efeitos tóxicos provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos e a gradual rejeição destes pelo mercado, tem aumentado a procura por produtos naturais com atividade antioxidante, no intuito de substituir os antioxidantes sintéticos ou fazer associações entre eles, visando diminuir a sua quantidade nos alimentos e consequentemente, reduzir os problemas que poderão provir da sua ingestão (36).

7 USO E APLICAÇÕES DAS PIMENTAS

As pimentas do gênero *Capsicum* têm sido muito empregadas pelas indústrias de alimentos como corantes naturais e flavorizantes em molhos, sopas, carnes processadas, queijos, lanches, doces e bebidas alcoólicas, devido a altas concentrações de carotenoides, óleos voláteis essenciais e oleorresinas (extrato não volátil) responsáveis pela cor, aroma e sabor. Assim, pode-se considerar as características sensoriais das pimentas um fator importante para a qualidade sensorial dos alimentos que utilizam esses frutos na sua formulação (73).

A vitamina C também presente em altas concentrações nas pimentas, esta vitamina pode ser empregada como agente antioxidante natural e

sintético para estabilizar cor, sabor e aroma em alimentos (73). A provitamina A, também encontrada em grandes proporções nestes frutos vem sendo muito utilizada na prevenção de problemas oftalmológicos (64).

Estudos apontam que a pimenta é indicada para estimular o apetite e desinfetar a mucosa bucal e gástrica sem prejudicar a flora bacteriana normal (69), exceto para portadores de úlceras, gastrites, hemorróidas e diverticulites (3).

Os frutos apresentam ainda efeitos neurológicos e imunológicos com a liberação de endorfina no cérebro (3,70), diminuição do nível de gordura no sangue, alívio de flatulência, ajuda descongestionar as vias respiratórias e aliviar a dor de cabeça (3,74).

As pimentas também são afrodisíacas, analgésicas, anti-inflamatórias, antidepressivas, antibacterianas, antioxidantes, anticarcinogênica, hipoglicêmica e hipocolesterolêmicas provavelmente associadas à presença de capsaicinóides, de vitaminas e de compostos fenólicos. Por apresentarem essas propriedades são empregadas no tratamento de artrite, reumatismo, erupções de pele, picadas de cobras, tratamento de feridas, redução de colesterol, tratamento odontológico, sistema cardiovascular, trato gastrointestinal, entre outros (75-78).

8 ASPECTOS DO MELHORAMENTO GENÉTICO EM PLANTAS

O melhoramento de plantas é definido como a arte e a ciência de melhorar geneticamente plantas para o benefício da humanidade (79). É um processo considerado contínuo, onde muitas vezes é necessário recorrer a antigas variedades ou a populações primitivas, em busca de genes específicos para que novas cultivares possam ser desenvolvidas (17) .

O desenvolvimento de novas cultivares, biofortificadas e ricas em compostos funcionais, tem se tornado um dos principais objetivos dos programas de melhoramento genético de hortaliças. No entanto, para que estes objetivos sejam alcançados, os programas de melhoramento precisam explorar a variabilidade genética disponíveis em bancos de germoplasma (conjunto de genótipos que podem doar genes para determinada espécie), para que combinações gênicas superiores sejam desenvolvidas (13,80). De maneira geral, pode-se dizer que estes programas buscam alterar características genéticas que irão beneficiar o agricultor (aumento da produtividade e cultivares resistentes a doenças e pragas), a indústria de transformação e o consumidor final com a qualidade do produto, atendendo toda a cadeia do agronegócio (79).

O Instituto Federal Goiano, Campus Ceres, mantém um Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de exemplares de *Capsicum* desde 2009, onde estão conservadas diversas linhagens de pimentas deste gênero: cabacinha, dedo-de-moça amarela, malagueta e bode. Estes materiais de pimentas estão sendo caracterizados, para que até o ano de 2020 sejam testados no campo e, posteriormente, após aprovação, registrados no Ministério da Agricultura como cultivares.

Com isso, este trabalho teve como objetivo caracterizar bioquimicamente as linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela, verificando o teor de metabolitos primários, secundários e a atividade antioxidante, no intuito de conhecer melhor a composição química destes materiais, para que sejam introduzidos na agricultura brasileira como cultivares.

Capítulo 1.

Avaliação de compostos bioativos e atividade antioxidante de linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela

Artigo enviado para publicação em dezembro de 2018 para Brazilian Journal of Agricultural Sciences

Avaliação de compostos bioativos e atividade antioxidante de linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela

Anaiza Bitencourt¹, Luís Sérgio Rodrigues Vale², Olga Maria Mascarenhas de Faria Oliveira³, Luis Vitor Silva Sacramento^{1*}

¹Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, SP, Brasil.

²Instituto Federal Goiano (IF Goiano), Campus Ceres, Ceres, GO, Brasil.

³Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara, SP, Brasil.

*autor correspondente: luisvitor@gmail.com

Resumo

O cultivo dos frutos de pimentas *Capsicum* possui um mercado pouco dinâmico no Brasil, porém este fruto é rico em compostos bioativos e possui alto valor nutricional. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar os compostos bioativos e atividade antioxidante de linhagens de pimenta cabacinha e dedo-de-moça amarela para auxiliar os processos de melhoramento genético na introdução de novas cultivares na agricultura brasileira. As pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela apresentam, respectivamente, teores médios de compostos fenólicos totais (818,17; 677,25 mg EAG 100g⁻¹), flavonoides totais (330,54; 218,86 mg EQ 100g⁻¹), ácido ascórbico (178,21; 106,05 mg 100g⁻¹), carotenoides totais (212,28; 192,55 mg EβC 100g⁻¹) e atividade antioxidante frente a captura dos radicais DPPH (3,52; 5,12 IC₅₀ mg mL⁻¹), HOCl/Cl⁻ (3,44; 4,96 IC₅₀ mg mL⁻¹) e Taurina cloramina (6,08; 8,14 IC₅₀ mg mL⁻¹) elevados comparados com outras pimentas do gênero *Capsicum*. Os resultados apontam que as linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela apresentam alto teor de compostos bioativos e forte potencial antioxidante influenciada pela presença de compostos fenólicos, carotenoides e ácido ascórbico. Portanto, do ponto de vista nutricional, estas linhagens podem ser cultivadas e introduzidas na agricultura brasileira.

Palavras-chave: *Capsicum*, alimento funcional, compostos fenólicos, antioxidante e carotenoides.

INTRODUÇÃO

O primeiro relato sobre o uso de pimentas do gênero *Capsicum* se deu em torno de 9.000 a.C. no México e 2.500 a.c no Peru, porém somente pela ação dos colonizadores portugueses e espanhóis que estes frutos foram disseminados pelo mundo. No entanto, só em 1543 o uso da pimenta teve seu primeiro registro no livro “De história stirpium commentarii insignes”, escrito por Leonhart Fuchs que apresentou cientificamente as três primeiras ilustrações de pimentas, mostrando detalhes da raiz até o fruto, e o seu uso como agentes medicinais pelos indígenas (Reifschneider, 2000). A partir disso, a pimenta do gênero *Capsicum* foi cultivada em vários países e sua produção só vem aumentando ao longo do tempo.

No Brasil, os primeiros exploradores da era colonial relataram o cultivo e a importância da pimenta na alimentação de tribos indígenas. O náufrago alemão, Hans Stadem, que ficou entre os índios Tupinambás entre 1547 e 1555, relatou que além de fazer parte da dieta, a pimenta também era utilizada como arma de guerra, pois plantas de pimentas eram queimadas e quando os compostos voláteis entravam em contato com as cabanas dos inimigos estes tinham que sair pela forte pungência. Relatos apontam que os índios Caetés foram os primeiros a usar a pimenta como arma de guerra em suas batalhas (Reifschneider, 2000).

As pimentas do gênero *Capsicum* possuem em sua composição macro e micronutrientes de valor nutricional. Além desses compostos, estão presentes substâncias com propriedades bioativas, tais como os compostos fenólicos e antioxidantes naturais como vitamina C, carotenoides, antocianinas e vitamina E (Neitzke, 2012). As pimentas também são fontes

de capsaicinóides, compostos responsáveis pela pungência ou sabor picante, que apresentam alta atividade biológica e antioxidante (Ogiso et al., 2008; Neitzke, 2012). Estudos demonstram que os antioxidantes presentes em frutos são compostos com propriedades biológicas que previnem doenças degenerativas como o câncer, as doenças cardiovasculares, catarata, mal-de-Parkinson e o mal-de-Alzheimer por sequestrarem radicais livres (Neitzke, 2012). Além dos efeitos benéficos a saúde, os antioxidantes presentes nas pimentas podem também auxiliar na conservação dos alimentos. Dessa maneira, há grande interesse em encontrar, nas plantas condimentares, princípios ativos que possam ser aplicados não só na culinária, mas na indústria de alimentos, na farmacologia, na odontologia e na medicina (Costa et al., 2010).

No Brasil a produção de pimentas vem crescendo, porém o consumo desses frutos é pequeno comparado a outros frutos. Porém, mesmo com o baixo consumo de pimentas, o Brasil é considerado o segundo maior produtor de pimenta no mundo e o centro da diversidade do gênero *Capsicum* com cultivo desse fruto em todas as regiões do país, tendo as regiões Sudeste e Centro-oeste como as principais áreas de cultivo (Rufino & Penteado, 2006). O mercado para pimentas no Brasil poderia ser muito dinâmico, estimulado pela aplicação destes frutos na culinária e no desenvolvimento de produtos com alto valor agregado na indústria de alimentos e farmacêutica, devido as propriedades nutricionais dos frutos. No entanto, a composição nutricional das pimentas e seus benefícios ainda são pouco conhecidos pela população, o que torna o mercado brasileiro desse fruto pouco atrativo. (Carvalho et al., 2003).

Dessa forma,este trabalho teve como objetivo verificar o teor de compostos bioativos, com a determinação de metabolitos primários e secundários, e a atividade antioxidante de linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela, pertencentes ao gênero *Capsicum*, no intuito de conhecer melhor sua composição química para que possivelmente novas cultivares sejam introduzidas na agricultura brasileira.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Para realização do estudo foram utilizadas dez linhagens de pimentas, sendo cinco linhagens de pimenta cabacinha (CB1204; CB1505; CB1517; CB1531 e CB1541) e cinco de pimenta dedo-de-moça amarela (DM1404; DM1427; DM1433; DM1439 e DM1441) com quatro repetições de cada (R1, R2, R3 e R4), disponibilizadas pelo Prof. Dr. Luís Sérgio Rodrigues Vale, coordenador do grupo de pesquisa de Melhoramento genético do Instituto Federal Goiano, localizado na cidade de Ceres, Goiás.

As linhagens foram obtidas pelo método de melhoramento descendente de uma única semente (Single Seed Descente-SSD) a partir de dois acessos, um de cada tipo de pimenta, do Banco Ativo de Germoplasma-BAG.

Preparo da amostra

Os frutos foram colhidos maduros e as sementes extraídas, secas em estufa por 48 h a 38°C, seguido do armazenamento em refrigerador a 4 °C. Foram realizados cinco ciclos de autopolinização com duração de 6 meses

cada ciclo de melhoramento. Após os tratamentos, as linhagens foram testadas a campo aberto para a produção dos frutos.

Os frutos foram coletados maduros, secos em estufa a vácuo (39 °C), triturados em micro moinho e peneirados em malha tamis 70 mesh. As análises de caracterização foram realizadas em triplicata para as quatro repetições (R1, R2, R3 e R4) de cada linhagem de pimentas, totalizando doze resultados por linhagens para cada parâmetro e composto avaliado.

Obtenção dos extratos

A obtenção dos extratos das linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela foi baseada na metodologia descrita por Zimmer et al. (2012) com condições de ensaios ajustadas.

Os frutos foram submetidos a quatro sucessivas extrações com etanol absoluto na concentração 0,1 g mL⁻¹ totalizando quatro horas com evaporação do solvente a 70° C, seguido de 20 minutos em banho ultrassom, filtração a vácuo e centrifugação (15 minutos, 32258 x g). Os sobrenadantes foram coletados, armazenados em frascos de vidro e refrigerados até a realização das análises.

Análises Físico-Químicas dos frutos

As análises de pH, acidez total (expressa em ácido cítrico, mg AC 100g⁻¹ de fruto), sólidos solúveis (a 25 °C, expresso em °Brix), lipídeos (g 100g⁻¹ de fruto) e proteínas (g 100g⁻¹ de fruto) foram realizadas, em base seca, segundo as metodologias descritas pela Association of Official Analytical Chemistry (2008). O teor de açúcares redutores foi determinado pela metodologia descrita por Miller (1959), utilizando-se o ácido 3,5-

dinitrossalicílico (DNS) e a solução padrão de glicose, com leituras espectrofotométricas em 540 nm, expressos em $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de fruto.

Determinação de compostos fenólicos totais

A dosagem de compostos fenólicos totais foi realizada usando a reação de Folin-Ciocalteu, com ácido gálico como padrão (Singleton et al., 1999; Wang, et al., 2008). Essa reação baseia-se na oxidação dos fenolatos pelo reagente de Folin- Ciocalteu formando um complexo de coloração azul no meio reacional, com banda de absorção máxima em 750 nm. O teor de compostos fenólicos totais foi calculado usando a curva de calibração e os resultados obtidos expressos em miligramas equivalente de ácido gálico (mg EAG 100g^{-1} de fruto).

Determinação de flavonoides totais

Os flavonoides totais foram quantificados pelos métodos descrito por Chang et al. 2002; Woisky & Salatino (1998) e Markham (1982) utilizando a quercetina como padrão e leituras de absorbância em 425 nm. O teor de flavonoides totais foi calculado usando a curva de calibração e os resultados obtidos expressos em miligramas equivalente de quercetina (mg EQ 100g^{-1} de fruto).

Determinação de ácido ascórbico

O teor de ácido ascórbico foi determinado pelo método titulométrico baseado no processo de oxiredução do sal sódico 2,6-diclorofenollindofenol (DCPIP) pelo ácido L-ascórbico, segundo a metodologia descrita por

Association of Official Analytical Chemistry (1984). Os resultados foram expressos em $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ de fruto.

Determinação de carotenoides totais

A determinação do teor de carotenoides totais (β caroteno) foi realizada pela extração destes compostos com solventes de diferentes polaridades, e quantificação por espectrofotometria na região visível com leituras de absorbâncias a 453 nm, segundo o método de Godoy e Rodriguez-Amaya (1994). Os resultados foram expressos em miligrama equivalente de β -caroteno ($\text{mg E}\beta\text{C } 100\text{g}^{-1}$ de fruto).

Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

A atividade antioxidante foi determinada pelo método descrito por Brand-Willians et al. (1995), utilizando o radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) que sofre redução pelos antioxidantes com mudança de coloração violeta para amarela, proporcional à substância redutora da amostra. A leitura das absorbâncias foi realizada em espectrofotômetro com leitor de microplacas em comprimento de onda de 734 nm com incubação no escuro.

Os resultados deste ensaio foram expressos como média do IC_{50} (que significa a concentração de amostra necessária apresentado pela reação para capturar 50% do radical DPPH) $\pm$ Intervalo de confiança 95%.

Determinação da atividade antioxidante pelo ensaio da captura do ácido hipocloroso (HOCl/OCl^-)

O ensaio foi realizado de acordo com Kettle & Winterbourn (1994); Costa et al. (2004) e Dypbukt et al. (2005). Esse método baseia-se na habilidade da amostra em capturar o HOCl, impedindo que o mesmo oxide a 3,3',5,5'- tetrametilbenzidina (TMB). A oxidação do TMB gera um composto de coloração azul com banda de absorção máxima em 655 nm.

A solução padrão de OCl^- foi obtida diluindo-se a massa adequada de NaOCl em NaOH 10,0 mmol L, pH 12,0. A concentração de OCl^- foi determinada pelo seu coeficiente de extinção molar ($\epsilon = 350 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ em 292 nm) (Zgliczynski et al., 1971). Os resultados foram expressos como média do $\text{IC}_{50} \pm$ Intervalo de confiança 95%.

Determinação da atividade antioxidante pelo ensaio da captura da taurina cloramina

Para o ensaio da captura da taurina cloramina utilizou-se a mesma metodologia e as mesmas condições do ensaio de captura do ácido hipocloroso, com a adição de 5,0 mmol L de taurina cloramina e a incubação por cinco minutos com o HOCl/ OCl^- antes da adição das amostras (Kettle & Winterbourn, 1994; Costa et al., 2004; Dypbukt et al., 2005). Os resultados foram expressos como média do $\text{IC}_{50} \pm$ Intervalo de confiança 95%.

Análise estatística

Para análise estatística dos dados foram empregados intervalos com 95% de confiança (considerando um nível de significância de 5%) das médias estimadas para cada variável de estudo, utilizando o programa estatístico ORIGIN 10.0, 2018. Os intervalos de confiança estimam o valor de p (significância estatística), isto é, se o valor das médias estimadas, de

cada variável, estiver presente entre o limite inferior e superior do intervalo de confiança, então não apresenta diferença significativa ($p \geq 0,05$). No entanto, se o valor das médias estimadas das variáveis não estiver dentro do intervalo interpolado pelos limites inferiores e superiores, então apresenta diferença significativa ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados apresentados na tabela e no gráfico 1, o pH das pimentas apresentou valores médios entre 4,76 e 5,48; similares aos valores reportados por Cerqueira (2012), pH em torno de 5,00, em estudos feitos com pimentas do gênero *Capsicum*. De acordo com Castro et al. (2012) a medida do pH é fundamental para indicar a velocidade e o tempo de deterioração dos frutos, bem como o seu estado de maturação e o crescimento de microrganismos nocivos à saúde. Sabendo que a maioria dos microrganismos crescem na faixa de 6,6 a 7,5, os valores de pH obtidos neste estudo apontam que as linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela não estão predispostas a contaminação microbiana, porém não as isenta.

Para as linhagens de pimentas avaliadas os teores de sólidos solúveis variaram de 0,98 [0,76-1,20] °Brix (linhagem CB1517) a 2,83 [2,38-3,28] °Brix (DM1433). Assim, é possível observar que as linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela não apresentaram diferença estatística significativa entre as linhagens de suas espécies ($p > 0,05$).

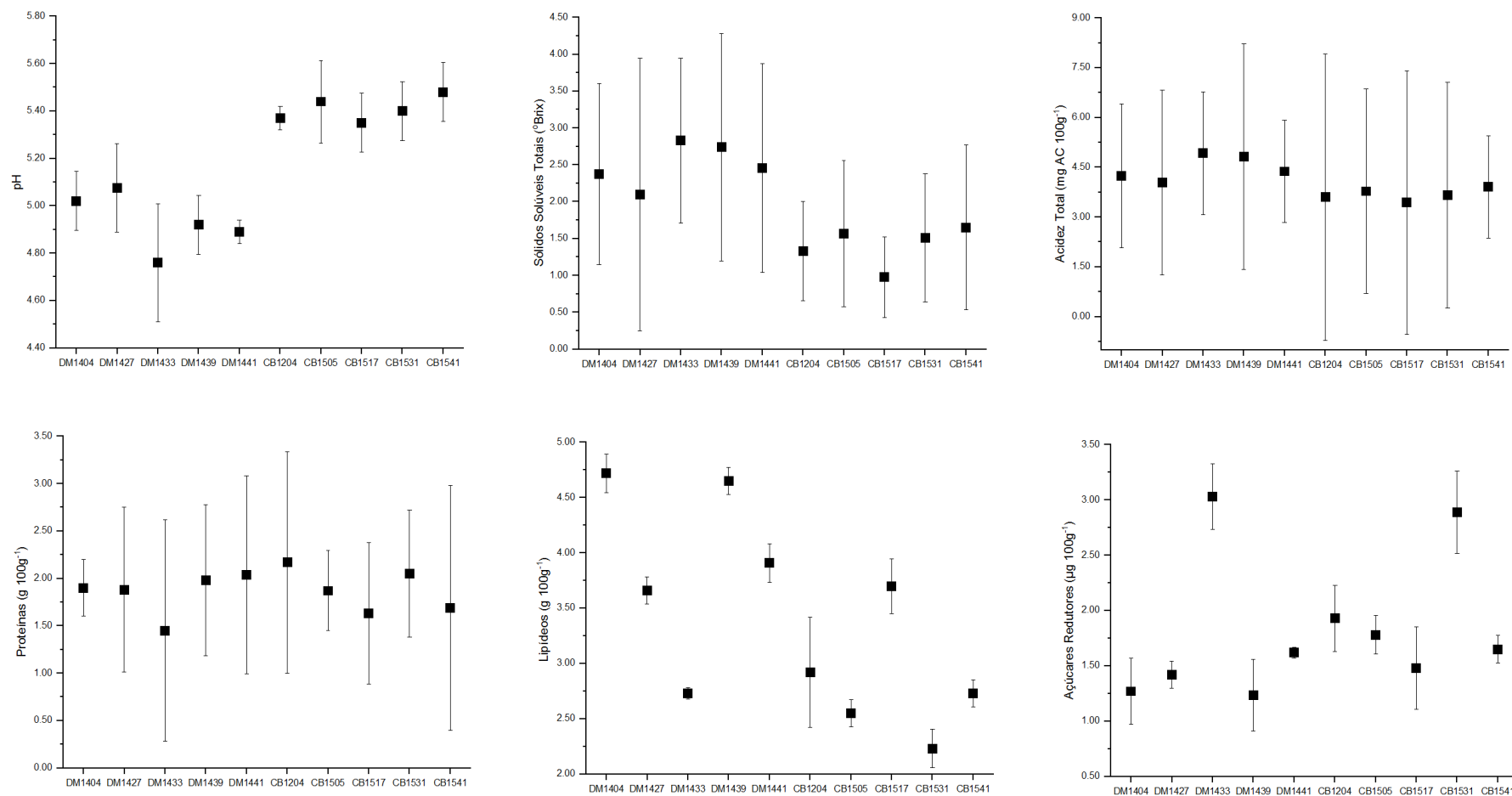
Tabela 1. Determinação do pH, sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), acidez total (mg AC 100g⁻¹), proteínas (g 100g⁻¹), lipídeos (g 100g⁻¹) e açúcares redutores (μg 100g⁻¹) de linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela.

Amostras	pH	Sólidos Solúveis	Acidez Total	Proteínas	Lipídeos	Açúcares Redutores
DM1404	5,02 [4,97-5,07] ^{a,c}	2,38 [1,88-2,87] ^{a,c}	4,24 [3,37-5,11] ^a	1,90 [1,78-2,02] ^a	4,72 [4,65-4,79] ^a	1,27 [1,15-1,39] ^a
DM1427	5,08 [5,00-5,15] ^a	2,10 [1,35-2,84] ^{a,d}	4,05 [2,93-5,17] ^a	1,88 [1,53-2,23] ^a	3,66 [3,61-3,71] ^b	1,42 [1,37-1,47] ^a
DM1433	4,76 [4,66-4,86] ^b	2,83 [2,38-3,28] ^a	4,93 [4,18-5,67] ^a	1,45 [0,98-1,92] ^a	2,73 [2,71-2,75] ^c	3,03 [2,91-3,15] ^b
DM1439	4,92 [4,87-4,97] ^c	2,74 [2,12-3,36] ^a	4,82 [3,45-6,19] ^a	1,98 [1,66-2,30] ^a	4,65 [4,60-4,70] ^a	1,23 [1,11-1,37] ^a
DM1441	4,89 [4,87-4,91] ^c	2,46 [1,89-3,03] ^{a,c}	4,38 [3,76-5,00] ^a	2,04 [1,62-2,46] ^a	3,91 [3,84-3,98] ^d	1,62 [1,60-1,64] ^c
CB1204	5,37 [5,35-5,39] ^d	1,33 [1,06-1,60] ^{b,d}	3,60 [1,86-5,34] ^a	2,17 [1,70-2,64] ^a	2,92 [2,72-3,12] ^c	1,93 [1,81-2,05] ^d
CB1505	5,44 [5,37-5,51] ^{d,e}	1,57 [1,17-1,97] ^{b,c,d}	3,78 [2,54-5,02] ^a	1,87 [1,70-2,04] ^a	2,55 [2,50-2,60] ^d	1,78 [1,71-1,85] ^d
CB1517	5,35 [5,30-5,40] ^d	0,98 [0,76-1,20] ^{b,d}	3,45 [1,83-5,03] ^a	1,63 [1,33-1,93] ^a	3,70 [3,60-3,80] ^b	1,48 [1,33-1,63] ^a
CB1531	5,40 [5,35-5,45] ^{d,e}	1,51 [1,16-1,86] ^{b,d}	3,66 [2,29-5,03] ^a	2,05 [1,78-2,32] ^a	2,23 [2,16-2,30] ^e	2,89 [2,74-3,04] ^b
CB1541	5,48 [5,43-5,53] ^e	1,65 [1,20-2,10] ^{b,c}	3,91 [3,29-4,53] ^a	1,69 [1,17-2,21] ^a	2,73 [2,68-2,78] ^c	1,65 [1,60-1,70] ^c

Média [intervalo de confiança 95%]. (n=3).

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si estatisticamente pela análise do intervalo de confiança com 95% de confiança. ($\alpha = 0,05$).

Figura 1. Representação gráfica do intervalo com 95% de confiança dos valores de pH, sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$), acidez total ($\text{mg AC } 100\text{g}^{-1}$), proteínas ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$), lipídeos ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$) e açúcares redutores ($\mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$) de linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela ($\alpha= 0,05$).



Segundo Kluge et al. (2002) os açúcares constituem a maior parte dos sólidos solúveis encontrados em frutas. Essa ocorrência pode ser observada na maioria das pimentas que são ricas em açúcares simples como glicose, frutose e sacarose. No entanto, as linhagens avaliadas apresentam teor de sólidos solúveis abaixo da média (3,45 °Brix), feito atribuído aos fatores genéticos, ambientais e de cultivo das linhagens de pimentas que podem alterar a composição química e/ou a concentrações de compostos como pectinas, vitaminas, sais, ácidos, aminoácidos e algumas proteínas.

Para acidez total todas as linhagens avaliadas, tanto cabacinha quanto dedo-de-moça amarela, não apresentaram diferença estatística ($p>0,05$) tendo sua acidez variando entre 3,45 [1,83-5,03] mg AC 100g⁻¹ e 4,93 [4,18-5,67] mg AC 100g⁻¹. Resultados semelhantes foram encontrados por Rêgo et al. (2011) ao avaliar 69 acessos de pimentas *Capsicum* spp. Os autores relataram valores médios entre 4,36 e 6,23 mg AC 100g⁻¹. Segundo Oliveira et al. (1999) a acidez é um parâmetro importante para determinar o estado de conservação de um produto e avaliar algumas características sensoriais, já que os ácidos orgânicos, produtos intermediários do metabolismo dos frutos, são responsáveis pelo sabor e odor.

O teor de proteínas das linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela não apresentam diferença estatística entre si, considerando-as linhagens de baixa concentração proteica. Nota-se que o teor de gordura encontrado nos frutos de pimentas é muito superior aos valores encontrados por Rebouças et al. (2013) e Nascimento et al. (2012) com 0,63 % e 0,14 %

de lipídeos, respectivamente. Dentre as linhagens caracterizadas, destacam-se as amostras de pimentas dedo-de-moça DM1404 (4,72 [4,65-4,79] g 100g⁻¹) e DM1439 (4,65 [4,60-4,70] g 100g⁻¹) com teor lipídico significativamente maior (p<0,05). A diferença entre os valores encontrados e os reportados na literatura é atribuída às formas de extração, técnicas de cruzamentos aplicadas, cultivo e fatores genéticos das linhagens. Portanto, considera-se que todas as linhagens de pimentas são de baixo teor lipídico e contém poucas calorias.

Na tabela e gráfico 2, observa-se que o conteúdo de compostos fenólicos totais é significativamente maior na linhagem CB1505 da pimenta cabacinha (818,17 [815,81-820,53] mg EAG 100g⁻¹) do que nas demais linhagens (p<0,05). Esse valor é muito superior ao encontrado por Zhuang et al. (2012) com teor de compostos fenólicos na faixa de 107,82 a 499,24 mg EAG 100g⁻¹. Por outro lado, a linhagem DM1439 (60,92 [60,35-61,49] mg EAG 100g⁻¹) da pimenta dedo-de-moça difere estatisticamente das outras linhagens com conteúdo de compostos fenólicos muito menor, no entanto, este conteúdo é superior ao encontrado por Marín et al. (2004) em estudo realizado com pimentões (20,24 a 2,54 mg EAG 100g⁻¹).

As demais linhagens de pimentas estudadas apresentaram teores de compostos fenólicos equivalentes aos encontrados por Carvalho et al. (2015) e Alvarez-Parrilla et al. (2011) que reportaram em seus estudos com cultivares de pimentas teores de compostos fenólicos entre 215,73 a 1103,20 mg EAG 100g⁻¹ e 568,00 a 1032,00 mg EAG 100g⁻¹, aos autores supracitados, respectivamente.

Tabela 2. Conteúdo de compostos fenólicos totais (mg EAG 100g⁻¹), flavonoides totais (mg EQ 100g⁻¹), ácido ascórbico (mg 100g⁻¹) e carotenoides totais (mg EβC 100g⁻¹) em linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela.

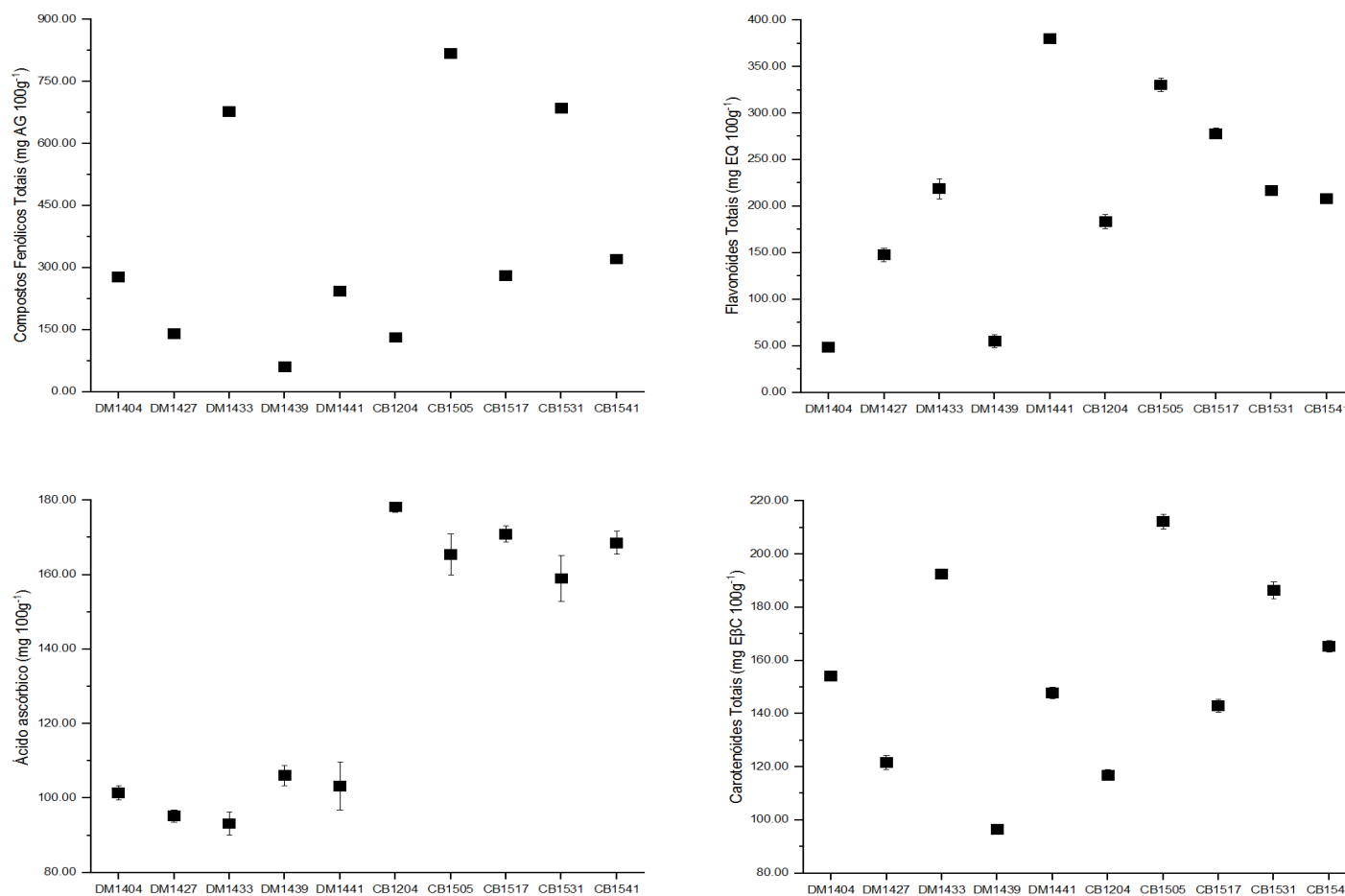
Amostras	CFT	FVT	AA	CT
DM1404	277,66 [276,84-278,48] ^a	48,46 [46,47-50,45] ^a	101,36[100,59-102,13] ^a	154,08 [153,46-154,70] ^a
DM1427	139,97 [136,74-143,20] ^b	147,78 [144,92-150,64] ^b	95,18[94,51-95,85] ^b	121,62 [120,53-122,71] ^b
DM1433	677,25 [676,48-678,02] ^c	218,86 [214,59-223,13] ^c	93,17 [91,93-94,41] ^c	192,55 [191,85-193,25] ^c
DM1439	60,92 [60,35-61,49] ^d	55,26 [52,40-58,12] ^d	106,05[104,98-107,12] ^d	96,44 [95,69-97,19] ^d
DM1441	242,97 [240,98-244,96] ^e	380,07 [378,16-381,98] ^e	103,25 [100,64-105,86] ^{a,d}	147,71 [146,84-148,58] ^e
CB1204	131,33 [129,69-132,97] ^f	183,63 [180,60-186,66] ^f	178,21[177,66-178,76] ^e	116,86 [116,04-117,68] ^f
CB1505	818,17 [815,81-820,53] ^g	330,54 [327,56-333,52] ^g	165,42 [163,18-167,66] ^f	212,28 [211,16-213,40] ^g
CB1517	281,19 [279,30-283,08] ^h	278,20 [275,77-280,63] ^h	170,93[170,06-171,80] ^g	143,06 [142,07-144,05] ^h
CB1531	686,12 [684,43-687,81] ⁱ	216,78 [214,89-218,67] ^c	159,01 [156,55-161,47] ^h	186,42 [185,18-187,66] ⁱ
CB1541	320,88 [319,19-322,57] ^j	208,37 [207,03-209,71] ⁱ	168,56[167,32-169,80] ^f	165,33 [164,46-166,20] ^j

CFT: Compostos fenólicos totais; FVT: Flavonoides; AA: Ácido ascórbico; CT: Carotenoides totais. EAG: equivalente de ácido gálico; EQ: equivalente de quercetina; EβC: equivalente de beta caroteno.

Média [intervalo de confiança 95%]

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si estatisticamente pela análise do intervalo de confiança com 95% de confiança. (α= 0,05).

Figura 2. Representação gráfica do intervalo com 95% de confiança do Conteúdo de compostos fenólicos totais (mg EAG 100g⁻¹), flavonoides totais (mg EQ 100g⁻¹), ácido ascórbico (mg 100g⁻¹) e carotenoides totais (mg EβC 100g⁻¹) em linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela ($\alpha = 0,05$).



Os valores encontrados, também coincidem com os reportados nos trabalhos de Chuah et al. (2008) e Deepa et al. (2007) com teores de compostos fenólicos totais variando na faixa de 400,00 a 1200,00 mg EAG 100g⁻¹ de extrato de pimentas do gênero *Capsicum*.

Vasco e colaboradores (2008) sugeriram uma classificação para os frutos de acordo com o teor de compostos fenólicos: baixo (<100 mg EAG 100g⁻¹), médio (100≥500 mg EAG 100g⁻¹) e alto teor (>500 mg EAG 100g⁻¹). Seguindo essa classificação considera-se que a linhagem DM1439 apresenta baixo teor de compostos fenólicos, já as linhagens CB1531, CB1505 e DM1433 disponibilizam alta concentração desses compostos bioativos em sua composição. As demais linhagens são consideradas como frutos de médio teor de compostos fenólicos.

As linhagens DM1441 e CB1505 apresentam conteúdo de flavonoides totais superiores às demais (p<0,05) com 380,07 [378,16-381,98] mg EQ 100g⁻¹ e 330,54 [327,56-333,52] mg EQ 100g⁻¹, respectivamente. Apesar da literatura não disponibilizar informações suficientes sobre a composição de flavonoides de pimentas do gênero *Capsicum*, os valores encontrados nas linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela são estatisticamente representativos, indicando que esta classe está presente em todas as linhagens estudadas em concentrações significativas. Em estudos realizados por Loizzo et al. (2013) com duas cultivares de pimentas do gênero *capisicum*, foram encontrados teores de flavonoides de 4,40 e 3,70 mg EQ 100g⁻¹. Diante dos resultados, constata-se que no presente estudo

os teores de flavonoides encontrados foram muito superiores aos reportados pelos autores supracitados.

Sabe-se que a determinação dos flavonoides é de suma importância para a tabela nutricional devido, devido as suas propriedades químicas e nutricionais. Conhecer o teor desse composto nas linhagens de pimentas, possibilitará estimar quanto um indivíduo irá ingerir de flavonoides ao consumir esses frutos quando cultivado.

O teor de ácido ascórbico é significativamente maior nas linhagens de pimenta cabacinha CB1204 (178,21 [177,66-178,76] mg 100g⁻¹) e CB1517 (170,93 [170,06-171,80] mg 100g⁻¹), respectivamente, logo $p < 0,05$. Nota-se que os valores de ácido ascórbico das linhagens de pimenta cabacinha e dedo-de-moça amarela são semelhantes aos valores encontrados por Zhuang et al. (2012) e Eggink et al. (2012) na avaliação de cultivares de pimentas do gênero *Capsicum*, com variação de ácido ascórbico de 93,00 a 393,00 mg 100g⁻¹ no primeiro estudo, e 137,90 a 247,10 mg 100g⁻¹ no segundo, já no presente estudo essa variação se deu de 93,17 [91,93-94,41] mg 100g⁻¹ a 178,21[177,66-178,76] mg 100g⁻¹. Em outro estudo realizado por Carvalho et al. (2015) a concentração de ácido ascórbico encontrada foi de 82,55 a 264,13 mg 100g⁻¹.

É recomendado que um indivíduo adulto de ambos os sexos ingira diariamente 45,00 mg de vitamina C. Também é recomendado a ingestão diária de 55,00 mg dessa vitamina para gestantes, 70,00 mg para lactantes e de 30 a 35mg para crianças de 1 a 10 anos (Brasil, 2005).

Contudo, é estabelecido que um alimento só deverá ser considerado “fonte” ou com “alto conteúdo” de vitaminas, se este contiver no mínimo 15% ou 30% da IDR (Ingestão Diária Recomendada), respectivamente (Brasil, 2012). Dessa maneira, respeitando a classificação estabelecida, todas as linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela podem ser consideradas com “alto conteúdo” de vitamina C.

Os carotenoides são os principais pigmentos encontrados em pimentas

Capsicum, e também os principais responsáveis pela variabilidade de sua coloração (Deli et al., 2001). O conteúdo de carotenoides totais, expresso em β -caroteno, variou de 96,44 [95,69-97,19] mg E β C 100g⁻¹ a 212,28 [211,16-213,40] mg E β C 100g⁻¹. A linhagem CB1505 de pimenta cabacinha apresentou teor de carotenoides superior às demais, por outro lado, a linhagem DM1439 da pimenta dedo-de-moça contém este composto em concentração significativamente menor. Verificou-se que os teores de carotenoides totais determinados nos frutos são superiores aos valores reportados por Zhuang et al. (2012), Carvalho et al. (2014) e Carvalho et al. (2015), cujo intervalo foi de 8,53 a 114,48 mg E β C 100g⁻¹, 2,99 a 67,49 mg E β C 100g⁻¹ e 5,98 a 134,99 mg E β C 100g⁻¹, respectivamente. Com isso, pode-se dizer que o teor de carotenoides encontrado nas linhagens de pimentas do presente estudo são superiores ao encontrado em muitas hortaliças, com teores representativos desse composto como tomates, cenoura, alface, espinafre e brócolis (Reif et al., 2013).

Segundo a classificação feita por Rodriguez-Amaya et al. (2008) são considerados como fontes brasileiras ricas em carotenoides os alimentos que contém mais de 20,00 $\mu\text{g g}^{-1}$ desse composto em sua composição. Portanto, baseado nos valores encontrados, considera-se que as linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela são frutos ricos em carotenoides.

A tabela e gráfico 3 mostram que houve diferença significativa na atividade antioxidante das linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela, analisadas frente à mesma metodologia de quantificação. O potencial antioxidante expresso em IC_{50} apresentou-se significativamente maior nas linhagens de pimenta cabacinha, indicando que estas possuem maior ação doadora de elétrons frente aos radicais DPPH (3,52 [3,02-4,02] a 4,33 [3,96-4,70] mg g^{-1}), ácido hipocloroso (3,44 [3,07-3,81] a 4,11 [3,69-4,53] mg g^{-1}) e taurina cloramina (6,08 [5,91-6,25] a 7,55 [7,32-7,78] mg g^{-1}).

Nos estudos efetuados por Melo e colaboradores (2008), os autores sugerem que o percentual de sequestro para atividade antioxidante seja classificada em forte (capacidade de sequestro >70%), moderada (capacidade de sequestro $50 \geq 70\%$) e fraca (capacidade de sequestro <50%). Assim, considerando que as linhagens de pimenta cabacinha e dedo-de-moça amarela apresentaram percentual de captura acima de 70%, deve-se considerar que estas possuem forte capacidade de inibição frente aos radicais DPPH, ácido hipocloroso e taurina, classificando-as como um alimento com forte potencial antioxidante.

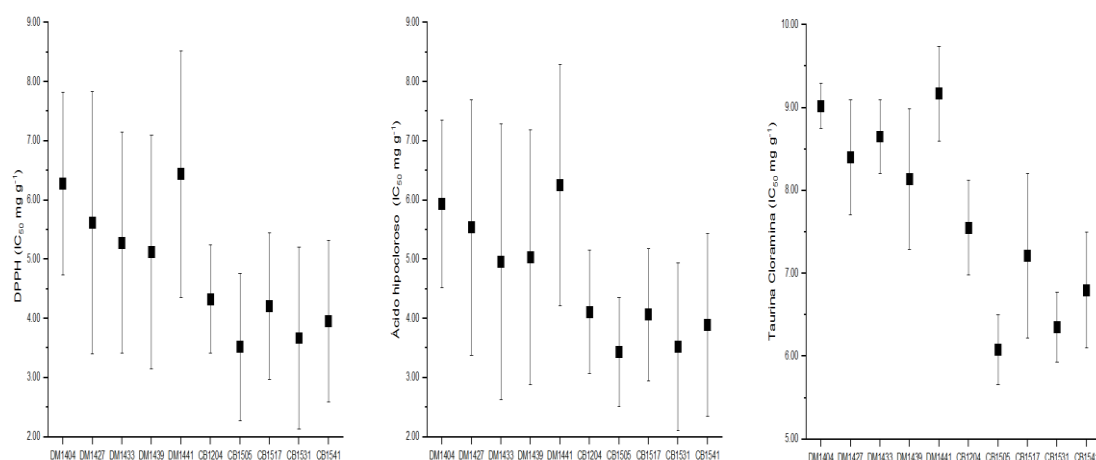
Tabela 3. Atividade antioxidante pelo ensaio da captura do radical DPPH, ácido hipocloroso (HOCl/OCl⁻) e taurina cloramina, expressos em IC₅₀ mg g⁻¹, em linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela.

Amostras	DPPH	HOCl/OCl ⁻	TAURINA
DM1404	6,28 [5,66-6,90] ^a	5,94 [5,37-6,51] ^a	9,02 [8,91-9,13] ^a
DM1427	5,62 [4,73-6,51] ^a	5,54 [4,67-6,41] ^a	8,40 [8,12-8,68] ^b
DM1433	5,28 [4,53-6,03] ^{a,b}	4,96 [4,02-5,90] ^{a,b,c}	8,65 [8,47-8,83] ^b
DM1439	5,12 [4,33-5,92] ^{a,b,d}	5,04 [4,17-5,90] ^{a,b}	8,14 [7,80-8,48] ^b
DM1441	6,44 [5,60-7,28] ^a	6,25 [5,43-7,07] ^a	9,17 [8,94-9,40] ^a
CB1204	4,33 [3,96-4,70] ^{b,c}	4,11 [3,69-4,53] ^{b,c}	7,55 [7,32-7,78] ^c
CB1505	3,52 [3,02-4,02] ^c	3,44 [3,07-3,81] ^c	6,08 [5,91-6,25] ^d
CB1517	4,21 [3,71-4,71] ^{b,c}	4,07 [3,62-4,52] ^{b,c}	7,21 [6,81-7,61] ^c
CB1531	3,67 [3,05-4,29] ^c	3,53 [2,96-4,10] ^c	6,35 [6,18-6,52] ^{d,e}
CB1541	3,96 [3,41-4,51] ^{c,d}	3,89 [3,27-4,51] ^{b,c}	6,80 [6,52-7,08] ^e

Média [intervalo de confiança 95%]

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si estatisticamente pela análise do intervalo de confiança com 95% de confiança. ($\alpha = 0,05$)

Figura 3. Representação gráfica do intervalo com 95% de confiança da atividade antioxidante pelo ensaio da captura do radical DPPH, ácido hipocloroso e taurina cloramina, expressos em IC₅₀ mg g⁻¹, em linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela ($\alpha = 0,05$).



Considerando os resultados obtidos, pode-se dizer que os metabolitos secundários como os compostos fenólicos e a vitamina C são os principais responsáveis pelo potencial antioxidante das linhagens de pimentas, mostrando que, muitas vezes, é o sinergismo desses compostos naturais que proporciona a significativa atividade antioxidante.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados mostraram a variabilidade de compostos bioativos e atividade antioxidante em linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela com destaque para os teores de compostos fenólicos, ácido ascórbico e carotenoides. Entre as linhagens, a CB1505 e CB1531 da pimenta cabacinha, e DM1433 da pimenta dedo-de-moça amarela foram as que apresentaram o perfil promissor de alimento funcional, considerando a CB1505 como a linhagem de maior concentração de compostos químicos com propriedades bioativas.

Desta forma, as linhagens de pimentas, por apresentarem perfil mais promissor de alimento funcional, poderiam se tornar cultivares e terem seus frutos consumidos *in natura* ou processados em forma de subprodutos, e assim, contribuir para ingestão diária de substâncias com propriedades nutricionais e antioxidantes que atuam no sistema fisiológico de forma benéfica.

REFERÊNCIAS

- Alvarez-Parrilla, E.; De la Rosa, L.; Amarowicz, R.; Shahidi, F. Antioxidant activity of fresh and processed Jalapeño and Serrano peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 163–173, 2011. <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf103434u>.
- Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*. 14. ed. Washington: [s.n.], 1984. 1094p.
- Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis*. 16. ed. Washington: [s.n.], 2008.

- Benassi, M.T. Análise dos efeitos de diferentes parâmetros na estabilidade de vitamina C em vegetais processados. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 1990. 177p. Dissertação de Mestrado.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, v. 28, p. 25-30, 1995. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 269, Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. 22 de setembro de 2005. http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_269_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3. 01 Dez. 2018.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 54, Regulamento Técnico Mercosul sobre Informação Nutricional Complementar (Declarações de Propriedades Nutricionais). 12 de novembro de 2012. http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0054_12_11_2012.pdf/c5ac23fd-974e-4f2c-9fbc-48f7e0a31864. 01 Dez. 2018.
- Carvalho, S.I.C. de; Bianchetti, L.B.; Bustamante, P.G.; Silva, D.B. da. Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.) da Embrapa Hortaliças. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2003. 49p.
- Carvalho, A.V.; Mattietto, R.A.; Rios, A.O.; Moresco, K.S. Mudanças nos compostos bioativos e atividade antioxidante de pimentas da região amazônica. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 44, n. 4, p. 399–408, 2014.
- Castro, S.M.; Saraiva, J.A.; Domingues, F.M.J.; Delgadillo, I. Effect of mild pressure treatments and thermal blanching on yellow bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *Food Science and Technology*, v. 44, n. 2, p. 363–369, 2012.
- Cerqueira, A.P. Conservação pós-colheita de pimentas-de-cheiro (*Capsicum chinense*) armazenadas sob atmosfera modificada e refrigeração. Gurupi: Universidade Federal do Tocantins, 2012. 66p. Dissertação de Mestrado.

- Chang, C.C.; Yang, M.H.; Wen, H.M.; Chern, J.C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, v. 10, n. 3, p. 178–182, 2002. <https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=56e7bc5d40485449e6223f71&assetKey=AS:339806593798145@1458027613155>. 30 Nov. 2018.
- Chuah, A.M.; Lee, Y.C.; Yamaguchi, T.; Takamura, H.; Yin, L.-J. Matoba, T. Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. *Food Chemistry*, v. 111, n. 1, p. 20–28, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.022>.
- Costa, M.; Ximenes, V.F.; Fonseca, L.M. Hypochlorous acid inhibition by acetoacetate: implications on neutrophil functions. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 27, n. 8, p. 1183–1187, 2004. https://bpb.pharm.or.jp/bpb/200408/b08_1183.pdf. 01 Dez. 2018.
- Costa, L.M. da; Moura, N.F. de; Marangoni, C.; Mendes, C.E.; Teixeira, A.O. Atividade antioxidante de pimentas do gênero *Capsicum*. *Food Science and Technology*, v. 30, n. 1, p. 51–59, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612009005000004>.
- Deepa, N.; Kaur, C.; George, B.; Singh, B.; Kapoor, H.C. Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes during maturity. *Food Science and Technology*, v. 40, n. 1, p. 121–129, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.09.016>.
- Deli, J.; Molnár, P.; Matus, Z.; Tóth, G. Carotenoid composition in the fruits of red paprika (*Capsicum annuum* var. *lycopersici* f. *rubrum*) during ripening; biosynthesis of carotenoids in red paprika. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, n. 3, p. 1517–1523, 2001. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf000958d>.
- Dybbukt J.M.; Bishop, C.; Brooks, W.M.; Thong, B.; Eriksson, H.; Kettle, A.J.

- A sensitive and selective assay for chloramine production by myeloperoxidase. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 39, n. 11, p. 1468–1477, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.07.008>.
- Eggink, P.M.; Maliepaard, C.; Tikunov, Y.; Haanstra, J.P.W.; Bovy, A.G.; Visser, R.G.F. A taste of sweet pepper: Volatile and non-volatile chemical composition of fresh sweet pepper (*Capsicum annuum*) in relation to sensory evaluation of taste. *Food Chemistry*, v. 132, n. 1, p. 301–310, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.081>.
- Godoy, H.T.; Rodriguez-Amaya, D.B. Occurrence of cis-Isomers of Provitamin A in Brazilian Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 42, n. 6, p. 1306–1313, 1994. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf00042a011>.
- Kettle, A.J.; Winterbourn, C.C. Assays for the Chlorination Activity of Myeloperoxidase. *Methods Enzymol*, v. 233, n. c, p. 502–512, 1994. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(94\)33056-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(94)33056-5).
- Kluge, R.A.; Nachtigal, J.C.; Fachinello, J.C.; Bilhalva, A.B. Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado. Campinas: Rural, 2002. 214p.
- Marin, A.; Ferres, F.; Tomas-Barberan, F.A.; Gil, M.I. Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, n. 12, p. 3861–3869, 2004. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0497915>.
- Markham, K.R. Techniques of flavonoid identification. London: Academic Press, 1982. 113p.
- Melo, E.A.; Maciel, M.I.S.; Lima, V.L.A.G.; Nascimento, R.J. Capacidade antioxidante de frutas. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 44, n. 2, p. 193–201, 2008. <http://www.scielo.br/pdf/rbcf/v44n2/a05.pdf>. 03 Dez. 2018.

- Miller, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1959. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac60147a030>.
- Nascimento, K.O.; Vicente, J.; Sadanha, T.; Barbosa-Júnior, J.L.; Barbosa, M.I.M.J. Caracterização química e informação nutricional de geléia de pimenta Cambuci orgânica (*Capsicum baccatum* L.). *Revista Verde de Agroecologia e desenvolvimento Sustentável*, v. 7, n. 2, p. 283–288, 2012. https://www.researchgate.net/profile/Kamila_Nascimento/publication/236201734_Caracterizacao_quimica_e_informacao_nutricional_de_geleia_de_pimenta_Cambuci_orgânica_Capsicum_baccatum_L/links/0c960516f0bdc3652000000/Caracterizacao-quimica-e-informacao-nutricional-de-geleia-de-pimenta-Cambuci-orgânica-Capsicum-baccatum-L.pdf. 03 Dez. 2018.
- Neitzke, R.S. Recursos genéticos de pimentas do gênero *Capsicum* – explorando a multiplicidade de usos. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2012. 116p. Tese de Doutorado.
- Ogiso, Y.; Hosoda-Yabe, R.; Kawamoto, Y.; Kawamoto, T.; Kato, K.; Yabe, T. An antioxidant of dried chilli pepper maintained its activity through postharvest ripening for 18 months. *Bioscience Biotechnololy and Biochemistry*, v. 72, n. 12, p. 3297–3300, 2008. <https://pdfs.semanticscholar.org/b7ba/d28a40b48dac828a2c3c7dd057b0e06d29c1.pdf>. 01 Dez. 2018.
- Oliveira, M.E.B. de; Bastos, M.S.R.; Feitosa, T.; Branco, M.A.A.C.; Silva, M.G.G da. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de acerola, cajá e caju. *Food Science and Technology*, v. 19, n. 3, p. 1–9, 1999. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20611999000300006>.
- Rebouças, T.N.H.; Valverde, R.M.V.; Teixeira, H.L. Bromatologia da pimenta malagueta in natura e processada em conserva. *Horticultura Brasileira*, v.

- 31, n. 1, p. 163–165, 2013.
<http://www.scielo.br/pdf/hb/v31n1/v31n1a26.pdf>. 03 Dez. 2018.
- Rêgo, E.R. do; Rêgo, M.M. do; Matos, I.W.F. de; Barbosa, L.A. Morphological and chemical characterization of fruits of *Capsicum* spp. Horticultura Brasileira, v. 29, n. 3, p. 364–371, 2011.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362011000300018>.
- Reif, C.; Arrigoni, E.; Schärer, H.; Nyström, L.; Hurrell, R.F. Carotenoid database of commonly eaten Swiss vegetables and their estimated contribution to carotenoid intake. Journal of Food Composition and Analysis, v. 29, n. 1, p. 64–72, 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.10.005>.
- Reifschneider, F.J.B. *Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2000. 113p.
- Rodriguez-Amaya, D.B.; Kimura, M.; Amaya-Farfan, J. Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos. Brasília: MMA/SBF, 2008. 100p.
- Rufino, J.L.S.; Penteado, D.C.S. Importância econômica, perspectivas e potencialidades do mercado para pimenta. Informe Agropecuário, v. 27, n. 235, p. 7–15, 2006.
- Singleton, V.L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, v. 299, p. 152–178, 1999.
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
- Vasco, C.; Ruales, J.; Kamal-Eldin, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. Food Chemistry, v. 111, n. 4, p. 816–823, 2008.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.054>.
- Wang, H.; Gao, X.D.; Zhou, G.C.; Cai, L.; Yao, W.B. In vitro and in vivo

antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. Food Chemistry, v. 106, n. 3, p. 888–895, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.068>.

Woisky, R.G.; Salatino, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control R. Journal Apicultural Research, v. 37, n. 2, p. 99–105, 1998. <https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100961>.

Zgliczyński, J.M.; Stelmaszyńska, T.; Domański, J.; Ostrowski W. Chloramines as intermediates of oxidation reaction of amino acids by myeloperoxidase. Biochimica et Biophysica Acta Enzymology, v. 235, n. 3, p. 419–424, 1971. [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(71\)90281-6](https://doi.org/10.1016/0005-2744(71)90281-6).

Zhuang, Y.; Chen L, Sun L, Cao J. Bioactive characteristics and antioxidant activities of nine peppers. Journal of Functional Foods, v. 4, n. 1, p. 331–338, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.01.001>.

Zimmer, A.R.; Leonardi, B.; Miron, D.; Schapoval, E.; Oliveira, J.R. de; Gosmann, G. Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Capsicum baccatum*: From traditional use to scientific approach. Journal of Ethnopharmacology, v. 139, n. 1, p. 228–233, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.11.005>.

Capítulo 2.

**Avaliação do perfil de compostos fenólicos de linhagens de pimentas
cabacinha e dedo-de-moça amarela pela técnica de Cromatografia
Líquida de Alta Eficiência – DAD**

**Avaliação do perfil de compostos fenólicos de linhagens de pimentas
cabacinha e dedo-de-moça amarela pela técnica de Cromatografia
Líquida de Alta Eficiência – DAD**

Anaiza Bitencourt¹

Magali Monteiro¹

Luís Sérgio Rodrigues Vale²

Luis Vitor Silva Sacramento^{1*}

¹Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, SP, Brasil.

²Instituto Federal Goiano (IF Goiano), Campus Ceres, Ceres, GO, Brasil.

*autor correspondente: luisvitor@gmail.com

Resumo

O objetivo deste estudo foi conhecer o perfil de compostos fenólicos das linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela para que estes materiais sejam introduzidos na agricultura brasileira como cultivares. A identificação dos compostos fenólicos foi realizada: pela comparação do tempo de retenção e espectro de absorção do UV/Vis dos padrões analíticos, e pela similaridade dos espectros de absorção do UV/Vis da classe química. Quatro compostos foram identificados por comparação com o padrão analítico: naringina (CB1204 e DM1433), naringenina (DM1433), ácidos gálico (DM1433) e ácido *p*-cumárico (CB1531, DM1439 e DM1433). Oito compostos fenólicos foram identificados por similaridade dos espectros de absorção UV/Vis característicos da classe química e expressos como o composto representante da classe: três compostos derivados do ácido hidroxibenzoico, um derivado do ácido hidroxicinâmico, dois derivados das flavonas e dois derivados dos flavonóis. Os níveis de compostos fenólicos foram mais altos nas linhagens DM1433 e CB1204, respectivamente. Entres as linhagens estudadas as pimentas CB1204 e DM1433 foram as que apresentaram o melhor perfil de compostos fenólicos, portanto, do ponto de vista nutricional, estas duas linhagens podem ser cultivadas e introduzidas na agricultura brasileira como pimentas de alto teor de compostos fenólicos.

Palavras-chave: *Capsicum*, linhagens, compostos fenólicos, HPLC-DAD e pimentas.

1 Introdução

As pimentas do gênero *Capsicum* apresentam um importante nicho de mercado para o agronegócio mundial, associado principalmente, ao seu uso na culinária como temperos. No entanto, estes frutos também vêm sendo altamente aproveitados pelas indústrias alimentícias, farmacêuticas, odontológicas e cosméticas (2,3). No Brasil o mercado para pimentas é bastante dinâmico, devido ao amplo consumo destes frutos em todas as regiões do país. Além disso, o mercado brasileiro é movimentado pela exploração de novos tipos de pimentas, com o intuito de desenvolver novas cultivares, através do programa de melhoramento genético que atendam as demandas dos agricultores, indústrias e dos consumidores com o desenvolvimento de produtos com grande valor agregado (4).

As pimentas *Capsicum* são consideradas um alimento funcional, devido a sua composição química e propriedades biológicas. São frutos de elevado valor nutricional, ricos em vitaminas (B1, B2 e niacina), compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonoides), capsaicinoides (capsaicina) e outros metabolitos secundários, altamente benéficos a saúde. Também são consideradas fontes naturais de substâncias antioxidantes como as vitaminas A, C e E, carotenoides e antocianinas (3,5).

As pimentas possuem diversas propriedades: antioxidantes, analgésicas, afrodisíacas, energéticas, antiinflamatória, antidepressiva, termogênica, vasodilatadora e anticancerígena (3,5,6). Estudos apontam que os antioxidantes de pimentas auxiliam na prevenção de doenças

degenerativas como o câncer, as doenças cardiovasculares, a catarata, o mal-de-Parkinson e o mal-de-Alzheimer, por sequestrarem radicais livres (7).

Há evidências que os efeitos benéficos a saúde, estimulados pelo consumo de pimentas do gênero *Capsicum*, está relacionado, além dos antioxidantes, as propriedades dos compostos fenólicos (8). No entanto, a literatura até o momento, não dispõe de dados a respeito do perfil de compostos fenólicos em pimentas, citando apenas o teor de compostos fenólicos totais nestes frutos. Com isso, este trabalho teve como objetivo identificar e quantificar os compostos fenólicos das linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela, com o intuito de torna-las futuramente uma cultivar caracterizada como alimento funcional.

2 Material e Métodos

2.1 Reagentes e soluções

Foram utilizados padrões analíticos puros ($\geq 95\%$, Sigma Aldrich e Chromadex) ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido siríngico, ácido *p*-cumárico, ácido elágico, ácido ferúlico, ácido trans-cinâmico, rutina, naringina, quercetina, eriocitrina, narirutina, quercitrina, hesperidina, resveratrol, luteolina, naringenina, kaempferol, hesperitina, nobiletina e tangeritina. Os reagentes (acetonitrila, metanol, acetato de etila e ácido fórmico) utilizados nos experimentos são de grau HPLC (J. T. Baker) e as soluções foram preparadas com água deionizada ultrapura, obtida de um sistema UV Q-3 direto (Sistema Mili-Q de purificação de água, Millipore Inc., USA).

2.2 Amostras de pimentas

Foram avaliadas quatro linhagens de pimenta cabacinha (CB1204, CB1517, CB1531 e CB1541) e cinco linhagens de pimenta dedo-de-moça amarela (DM1404, DM1427, DM1433, DM1439 e DM1441) com quatro repetições (R1, R2, R3 e R4) de cada pimenta, fornecidas pelo grupo de pesquisa de melhoramento genético do Instituto Federal Goiano, Campus Creres, localizado na cidade de Ceres, Goiás.

As linhagens foram obtidas pelo método de melhoramento genético descendente de uma única semente (Single Seed Descente-SSD) a partir de dois acessos, um de cada tipo de pimenta, do Banco Ativo de Germoplasma de *Capsicum*-BAG.

2.3 Preparo da amostra

Os frutos foram colhidos maduros e as sementes foram extraídas, secas em estufa por 48,0 h a 38 °C, e armazenados em refrigerador a 4 °C. Foram realizados cinco ciclos de autopolinização com duração de 6 meses cada ciclo de melhoramento. Após os tratamentos, as linhagens foram testadas a campo aberto para a produção dos frutos.

Os frutos foram coletados maduros, secos em estufa a vácuo (39 °C), trituradas em micro moinho e armazenadas em condições adequadas até a realização dos ensaios.

2.4 Extração de compostos fenólicos

A extração dos compostos fenólicos das linhagens de pimenta foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Zimmer et al. (9), com

modificações. As pimentas foram submetidas a sucessivas extrações com etanol absoluto na concentração $0,4 \text{ g mL}^{-1}$, durante 4,0 h com evaporação do solvente a 70°C . Posteriormente os frutos foram submetidos a extração sob agitação, em vortex, por 2,0 minutos e em banho ultrassom por 20,0 minutos, seguido de filtração a vácuo e centrifugação (15,0 minutos, $32258 \times g$). Os sobrenadantes dos extratos foram coletados, armazenados em frascos de vidro e congelados a 4°C durante 24,0 h até a realização dos ensaios.

2.5 Extração em fase sólida

Para a limpeza dos extratos foram realizados ensaios preliminares com diferentes concentrações de extratos de pimentas até que se alcançasse a concentração final de $0,4 \text{ g mL}$ em condições ideais de ensaios. Os extratos de pimentas ($1,0 \text{ mL}$) foram introduzidos no cartucho Spe-edTM C18, 500 mg, 6 mL (Applied Separations, USA), previamente condicionado com metanol:água (95,0:5,0%, v/v), e posteriormente coletados. Em seguida, aplicou-se $4,0 \text{ mL}$ de solução de metanol:água (95,0:5,0%, v/v) no cartucho que foram coletados e juntado aos extratos eluídos. Logo depois, foi realizada a evaporação do solvente dos extratos sob fluxo de nitrogênio, e os extratos foram reconstituídos em água. Seguido da filtração em membranas, utilizando discos de ultrafiltração de celulose regenerada $25,0 \text{ mm}$, poro de $0,20 \mu\text{m}$ (Chromafil Xtra, Alemanha) para injeção no sistema cromatográfico.

2.6 Análise cromatográfica

Para separação dos compostos fenólicos foi utilizado um cromatógrafo líquido com detector de arranjo de diodos Acquity ARC (Waters, USA), coluna de BEH X-Bridge C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm) e coluna de guarda (20 x 4,6 mm, 5 µm). As condições cromatográficas foram estabelecidas de acordo com a metodologia descrita por Melo et al. (10) e Bae et al. (15). A fase móvel utilizada foi constituída por uma mistura de dois solventes: água:ácido fórmico (99,9:0,1%, v/v) como solvente A e acetonitrila:ácido fórmico (99,9:0,1%, v/v) como solvente B, vazão de 1,0 mL min⁻¹, temperatura da coluna de 28 °C, volume de injeção de 20 µL e gradiente de 5,0-7,0% de acetonitrila:ácido fórmico (0,0-7,0 min), 7,0-20,0% (7,0-50,0 min), 20,0-45,0% (50,0-70,0 min) e 45,0-100% (70,0-80,0 min), permanecendo por 10 min. A detecção foi monitorada em comprimentos de onda com varredura de 200-400 nm e os cromatogramas adquiridos em 255 e 280 nm.

2.7 Avaliação do perfil dos compostos fenólicos

Para a identificação dos compostos fenólicos nas linhagens de pimentas, os extratos foram injetados no HPLC-DAD, em triplicata, e analisados com base no tempo de retenção e no perfil dos espectros UV/Vis, por comparação com os padrões analíticos de ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido siríngico, ácido *p*-cumárico, ácido elágico, ácido ferúlico e ácido trans-cinâmico) e flavonoides (rutina, naringina, quercetina, eriocitrina, narirutina, quercitrina, hesperidina, resveratrol, luteolina, naringenina, kaempferol, hesperitina, nobiletina e tangeritina). Os compostos fenólicos que não foram identificados

pelos critérios supracitados, foram detectados pela similaridade dos espectros UV/Vis característico da classe química (12).

Para a quantificação dos compostos fenólicos, foram elaboradas e injetadas no cromatógrafo curvas de calibração com seis concentrações (2,0; 5,0; 10,0; 15,0; 25,0 e 50,0 $\mu\text{g g}^{-1}$), em triplicata, do ácido cafeico, gálico, siríngico, elágico, *p*-cumárico, hesperidina, quercetina, naringina, naringenina e tangeritina (anexo 1 e 2). Os compostos fenólicos identificados pela similaridade dos espectros UV/Vis da classe química foram quantificados segundo Mesquita e Monteiro (12), com construção de curvas de calibração dos compostos representantes da classe.

2.8 Exatidão ou ensaio de recuperação

O ensaio de recuperação avalia a exatidão de um método, pois estima a recuperação de um determinado analito em relação a quantidade real presente na amostra. Baseado nesta informação, a exatidão foi avaliada de acordo com os protocolos internacionais de validação (13,14).

Para a realização do ensaio de recuperação foi feito um *spike* no extrato da pimenta DM1433, que foi fortificada em três níveis de concentração do ácido *p*-cumárico: baixo (2,00 $\mu\text{g g}^{-1}$), médio (15,00 $\mu\text{g g}^{-1}$) e alto (50,00 $\mu\text{g g}^{-1}$), com três réplicas em cada nível.

2.9 Análise estatística dos dados

Os dados foram avaliados pela média, desvio padrão, coeficiente de variação e pela análise de componentes principais (ACP) de uma matriz de correlação dos valores da concentração de compostos fenólicos em nove

amostras de pimentas e oito variáveis, considerando apenas as variáveis com correlação (rotate component matrix) $\geq 0,5$, usando o programa estatístico ORIGIN 10.0, 2018.

3. Resultados e Discussão

Os compostos fenólicos foram identificados nas linhagens de pimentas: por comparação dos tempos de retenção e dos espectros de absorção UV/Vis com os padrões analíticos puros ou pela classe química, baseado na similaridade dos espectros de absorção e seus respectivos comprimentos de onda máximo, característicos de cada classe química.

De acordo com a figura 1, o cromatograma do *pool* de padrões puros, usado para a identificação dos compostos fenólicos nos extratos de pimentas apresentaram uma boa resolução de separação.

As figuras 2, 3, 4 e 5 representam os cromatogramas típicos dos extratos de pimenta cabacinha, cujo 12 picos de compostos fenólicos foram identificados, sendo 6 picos na linhagem CB1204, 1 pico nas linhagens CB1517 e CB1541, e 3 picos na linhagem CB1531. Nas figuras 6, 7, 8, 9 e 10, nota-se que dos 12 picos foram identificados nos extratos de pimenta dedo-de-moça amarela, sendo 1 pico na linhagem DM1404, 9 picos na DM1433, 3 picos na DM1439 e 2 picos na DM1441. A pimenta DM1427 não apresentou nenhum pico identificado. Nota-se que os cromatogramas das linhagens de pimentas são diferentes entre si, quanto ao número de picos, número de compostos e tempo de retenção dos mesmos.

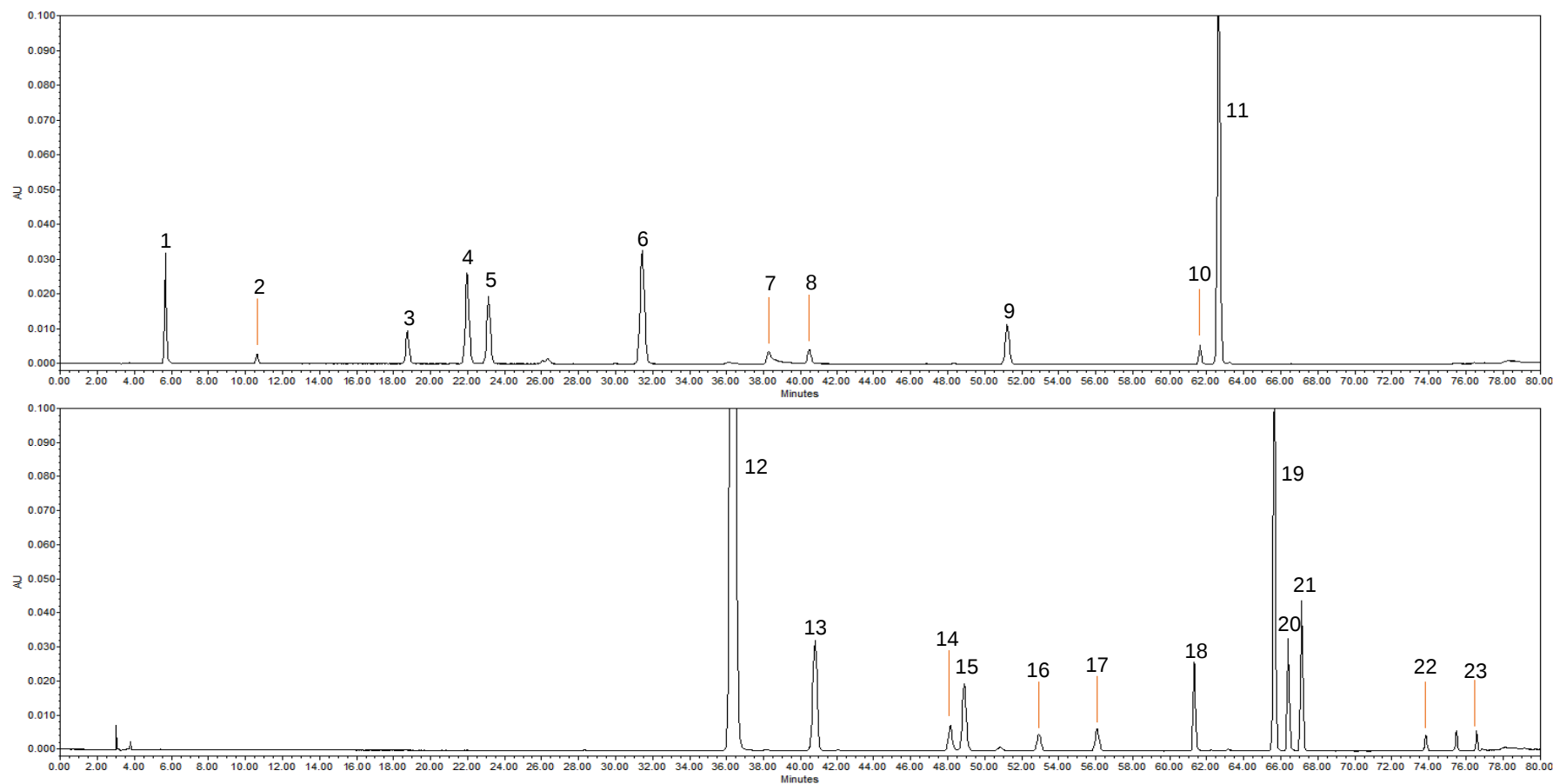


Figura 1. Cromatograma do *pool* de padrões de ácidos fenólicos e flavonoides a 280 nm: ácido gálico (1), ácido protocatecuico (2), ácido clorogênico (3), ácido cafeico (4), ácido siríngico (5), ácido *p*-cumárico (6), ácido elágico (7), rutina (8), naringina (9), quercetina (10), ácido *trans*-cinâmico (11), ácido ferúlico (12), eriocitrina (13), narirutina (14), quercitrina (15), hesperidina (16), resveratrol (17), luteolina (18), naringenina (19), kaempferol (20), hesperitina (21), nobiletina (22) e tangeritina (23).

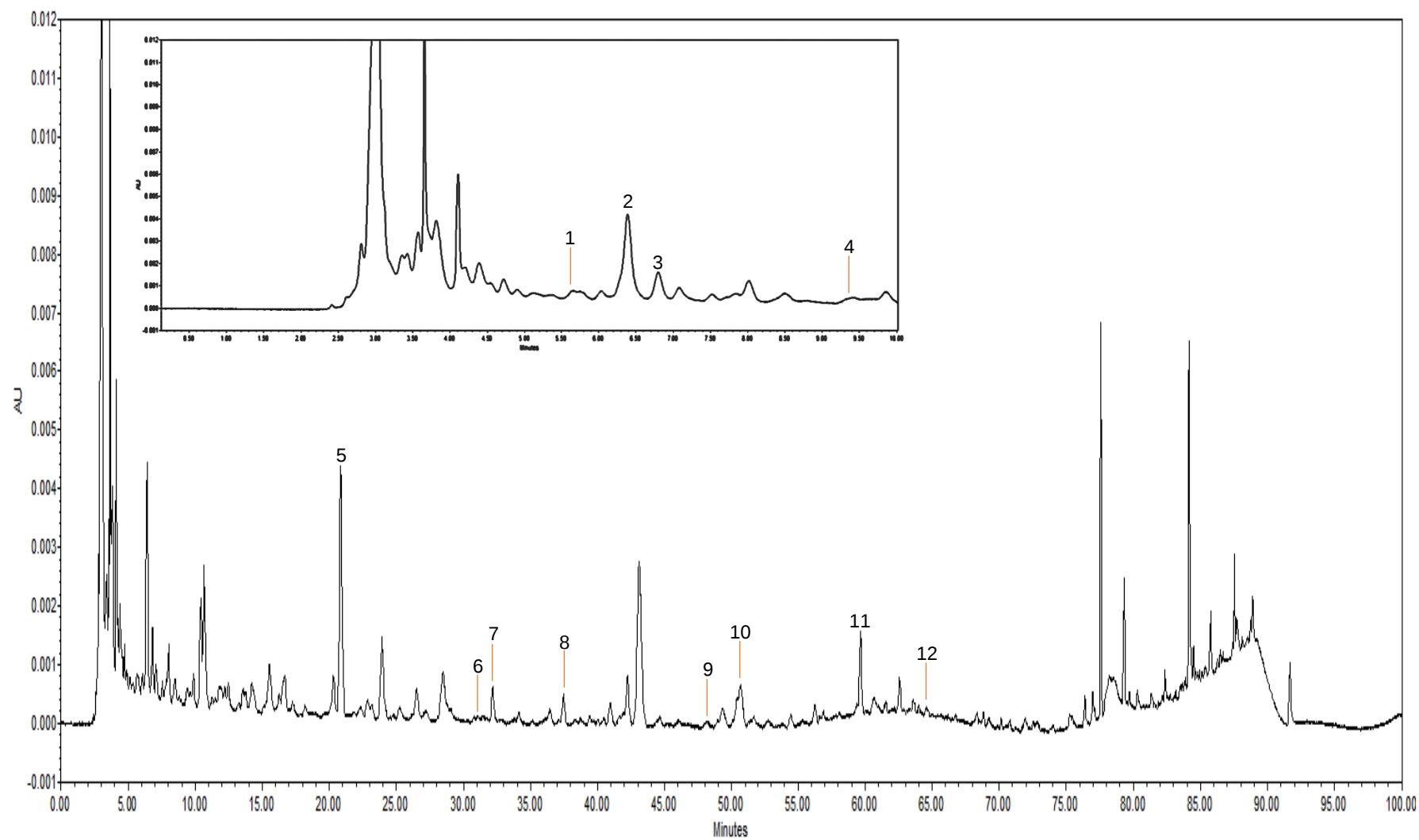


Figura 2. Cromatograma típico da linhagem de pimenta cabacinha CB1204.

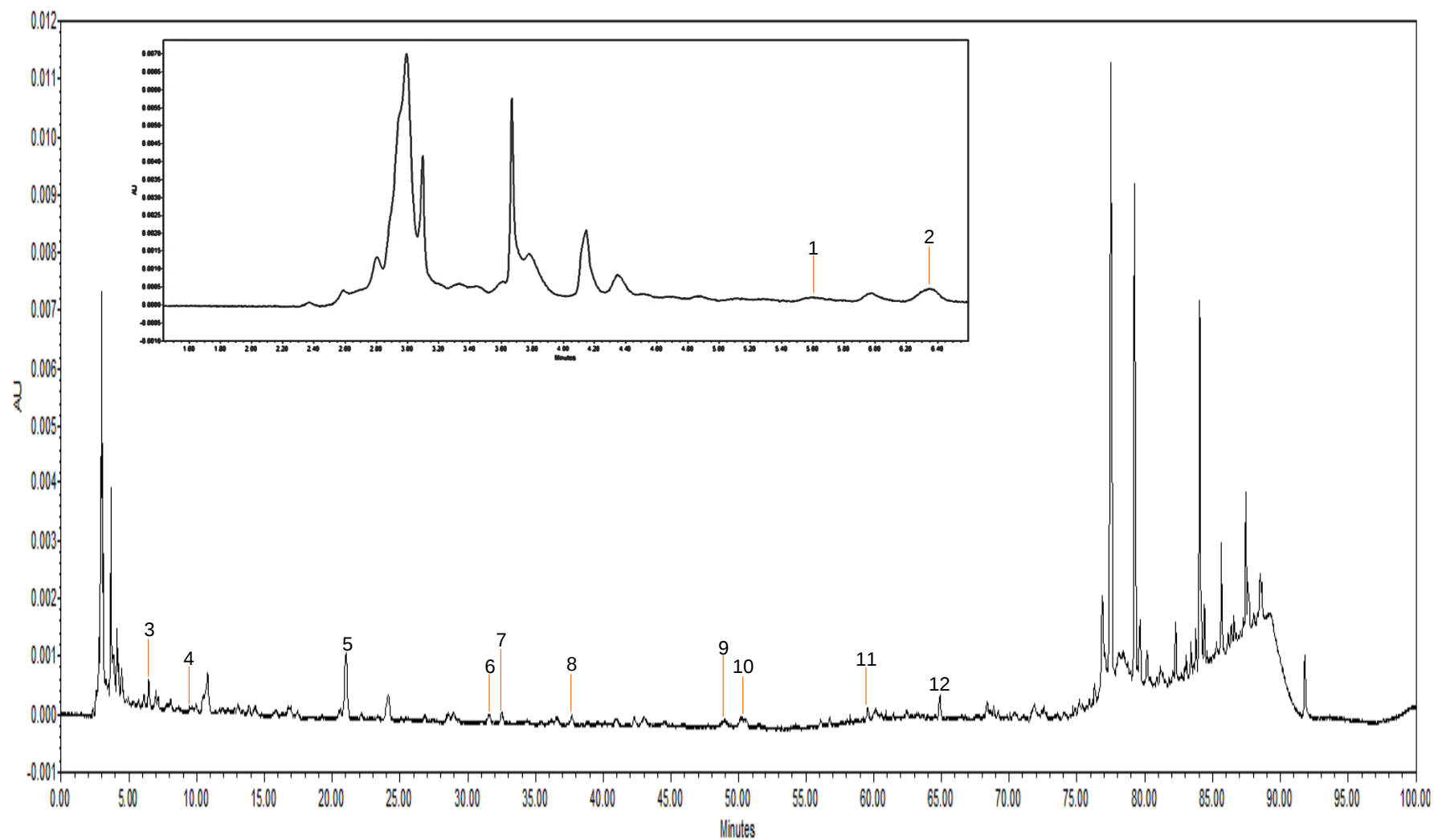


Figura 3. Cromatograma típico da linhagem de pimenta cabacinha CB1517.

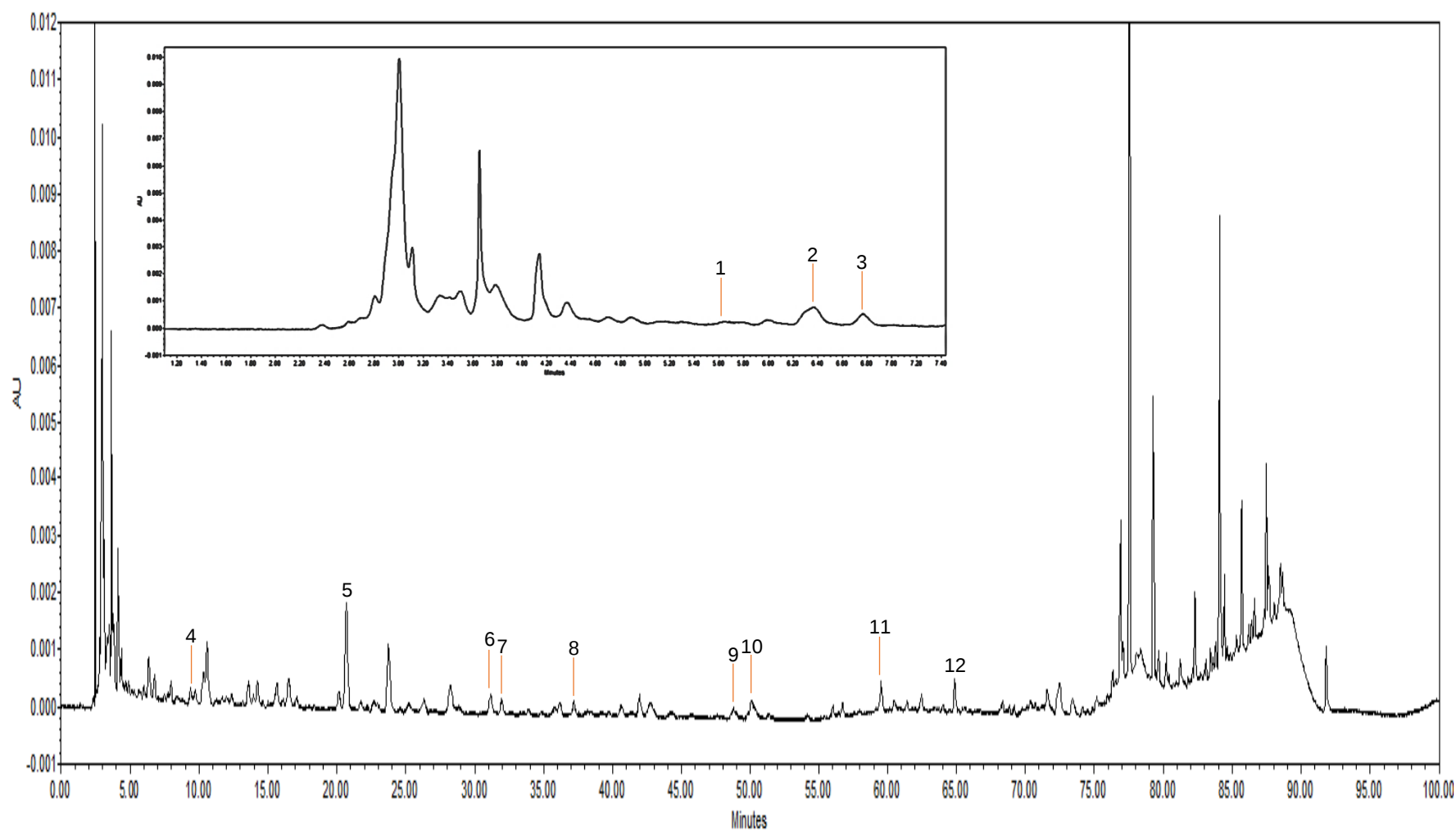


Figura 4. Cromatograma típico da linhagem de pimenta cabacinha CB1531.

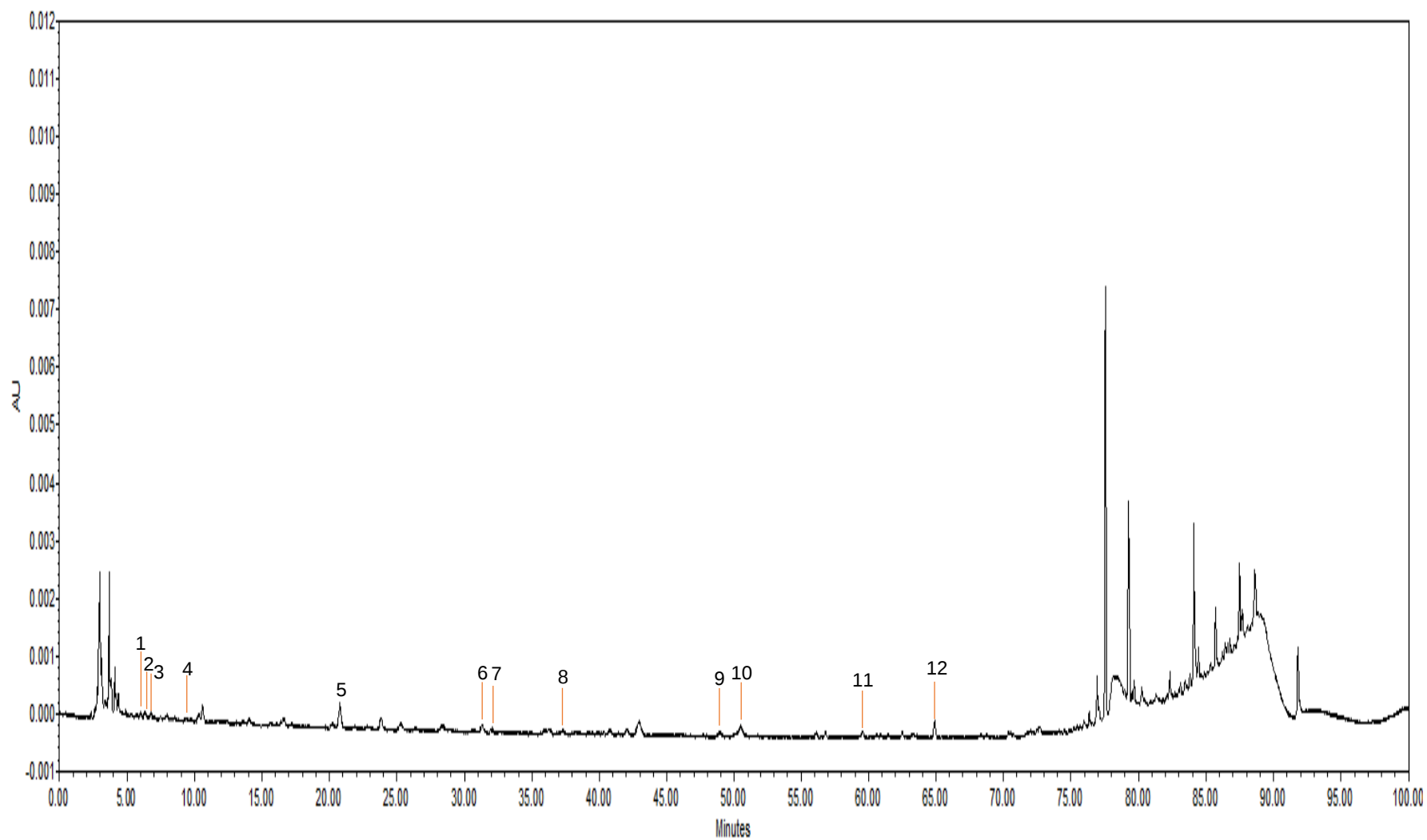


Figura 5. Cromatograma típico da linhagem de pimenta cabacinha CB1541.

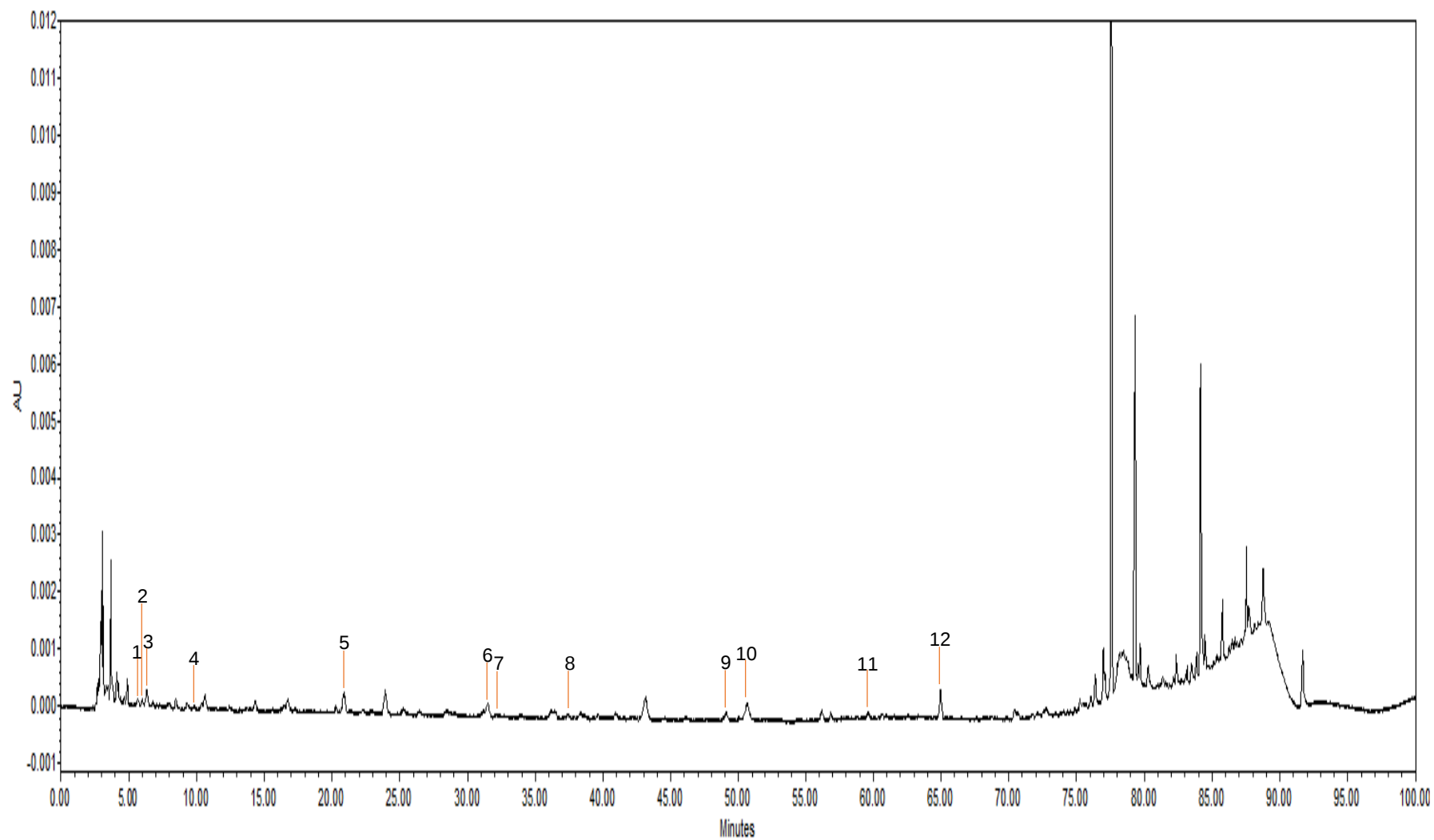


Figura 6. Cromatograma típico da linhagem de pimenta dedo-de-moça amarela DM1404.

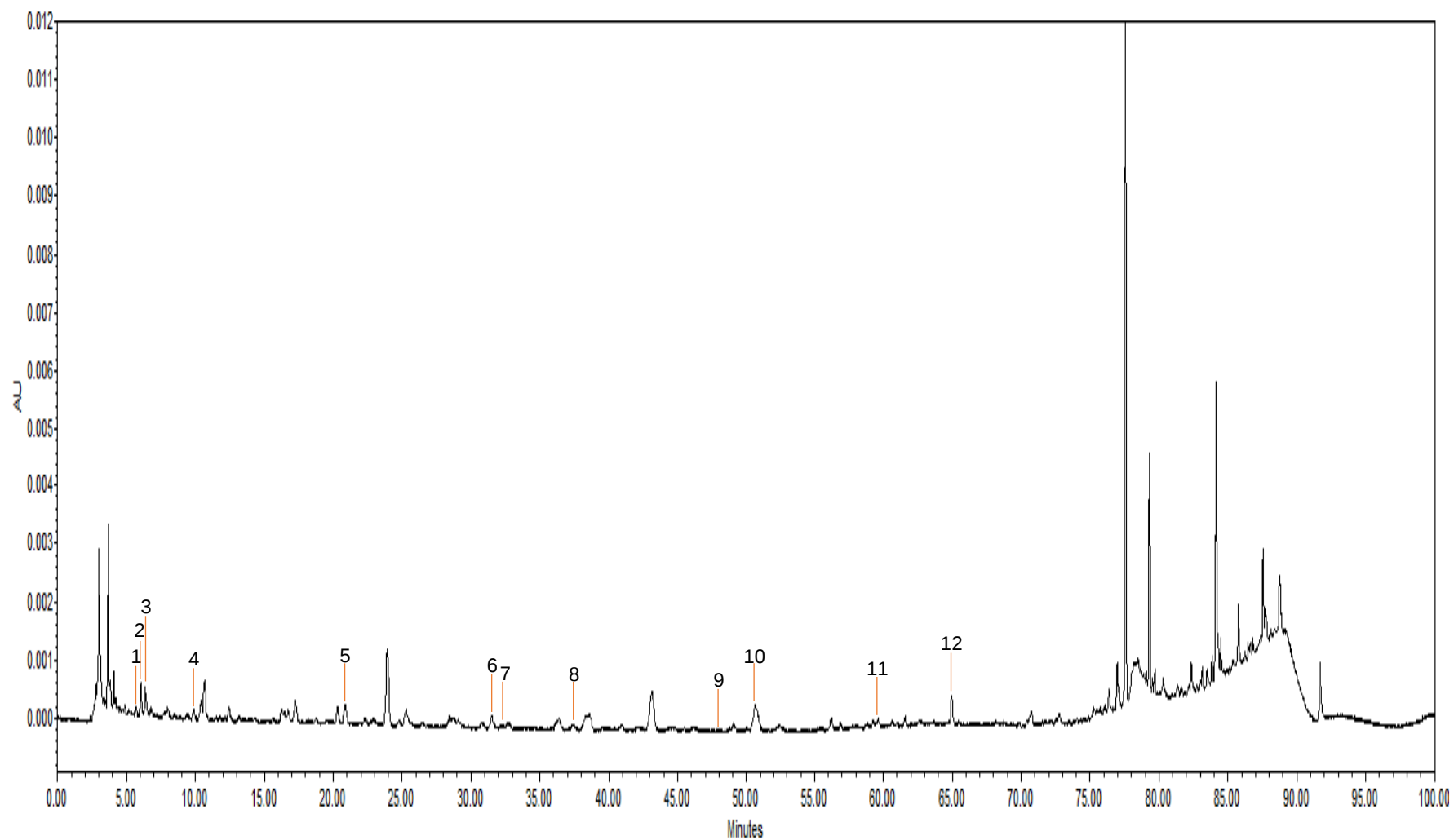


Figura 7. Cromatograma típico da linhagem de pimenta dedo-de-moça amarela DM1427.

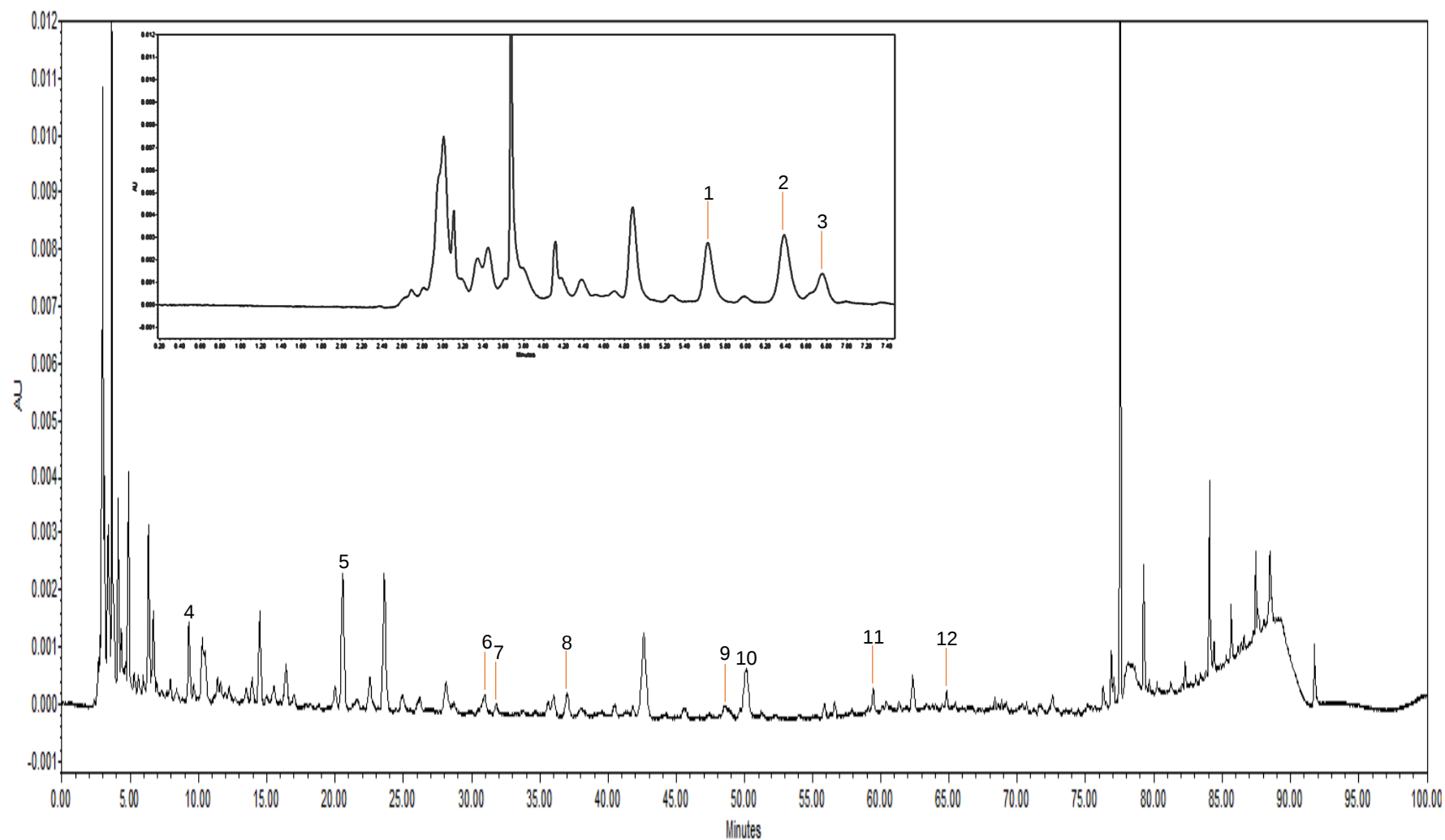


Figura 8. Cromatograma típico da linhagem de pimenta dedo-de-moça amarela DM1433.

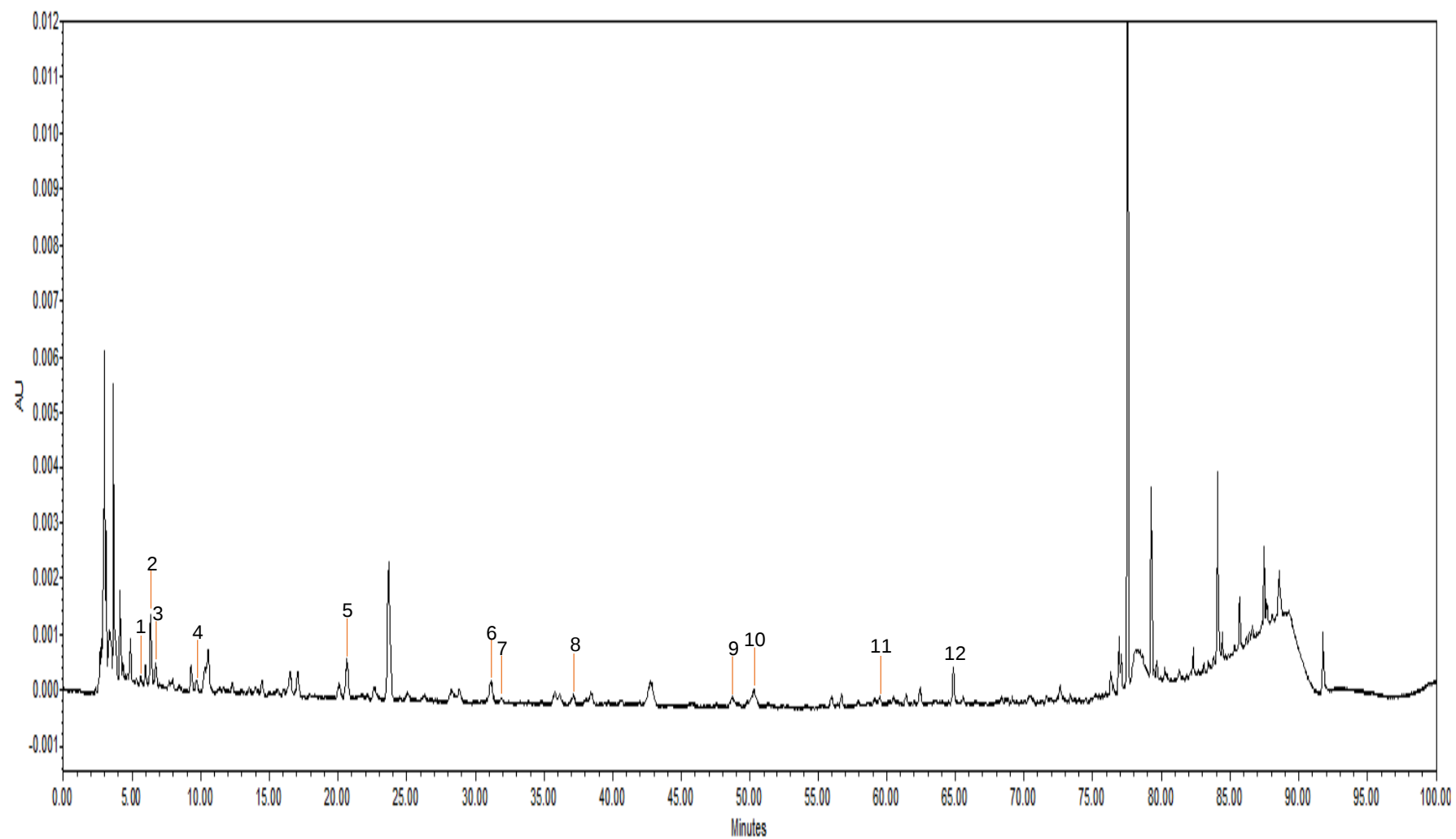


Figura 9. Cromatograma típico da linhagem de pimenta dedo-de-moça amarela DM1439.

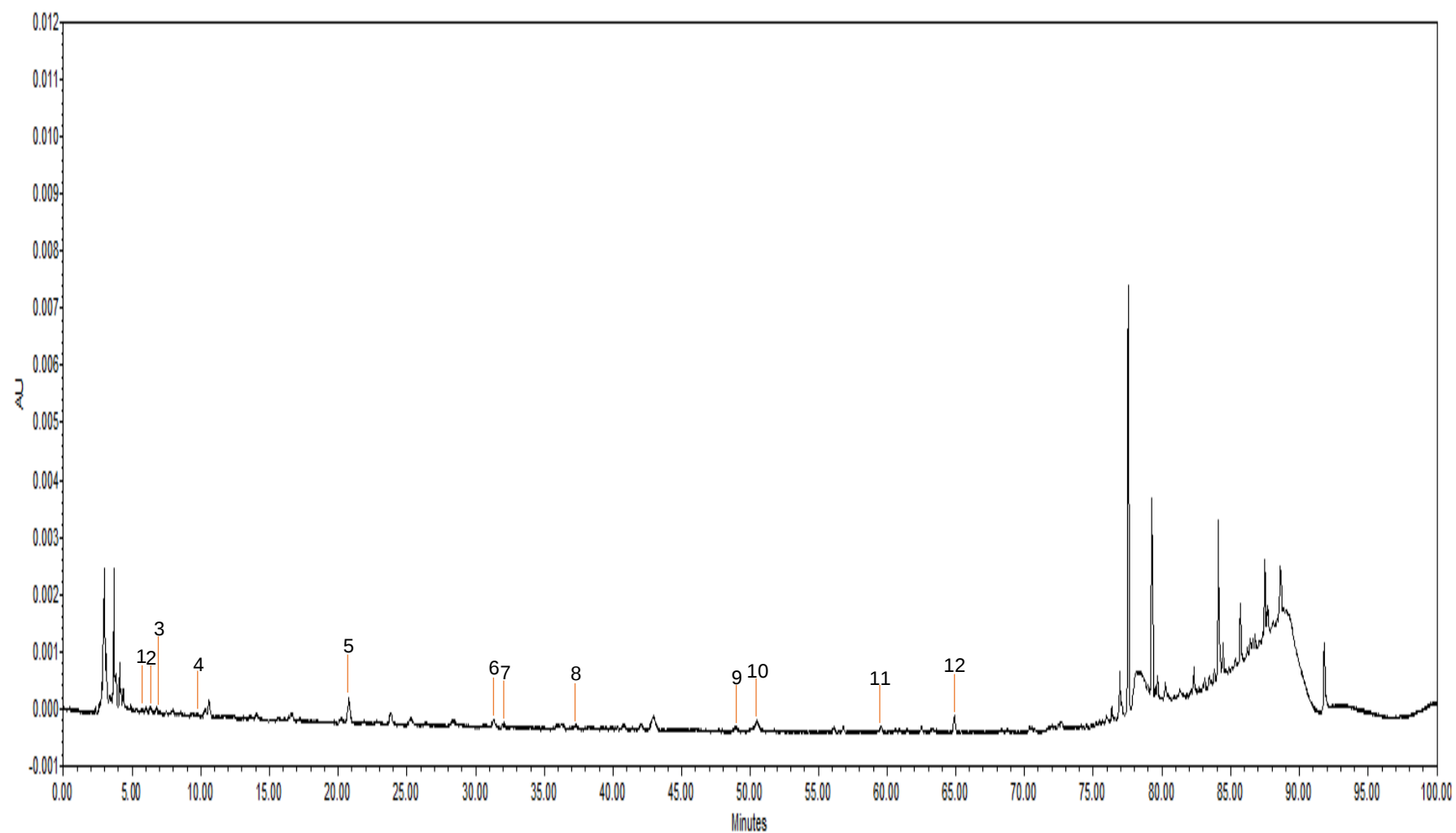


Figura 10. Cromatograma típico da linhagem de pimenta dedo-de-moça amarela DM1441.

A tabela 1 mostra que foram identificados 12 compostos nos extratos de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela, sendo 2 flavanonas (naringina e naringinina), 1 ácido hidroxicinâmico (ácido *p*-cumárico) e 1 ácido hidroxibenzoico (ácido gálico), por comparação do tempo de retenção e do espectro de absorção UV/Vis com os padrões analíticos. Além disso, foram identificados por classe química, 3 compostos da classe do ácido hidroxibenzoico, 1 composto da classe do ácido hidroxicinâmico, 2 da classe das flavonas e 2 da classe do flavonóis, todos identificados por semelhança dos espectros de absorção UV/Vis, conforme anexo 3.

O ácido *p*-cumárico foi identificado no pico 6 das pimentas CB1531, DM1433 e DM1439, enquanto que, o ácido gálico (pico 1) e a naringenina (pico 12) foram encontrados apenas na linhagem DM1433. A naringina (pico 10) foi encontrada nas linhagens CB1204 e DM1433.

Para a classe do ácido hidroxibenzoico, o pico 5 possui espectro de absorção típico do ácido protocatecuico (260-290 nm), e está presente em todas as linhagens de pimentas, exceto na linhagem DM1427. Os picos 3 (CB1204 e DM1433) e 4 (DM1433) apresentam espectros de absorção típicos dos ácidos siríngico e gálico, respectivamente, com absorção máxima na faixa de 260 a 270 nm.

Para a classe do ácido hidroxicinâmico, o pico 2 com espectros de absorção característico do ácido *p*-cumárico, foi encontrado em todas as linhagens de pimentas dedo-de-moça amarela, exceto na DM1427 e na linhagem CB1204 da pimenta cabacinha, com absorção máxima entre 291 a 303 nm. Nota-se que a maioria destes compostos sofreram um desvio

Tabela 1. Compostos fenólicos identificados nas linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela.

Pico	Composto	Tr (min)	Classe química	Absorção UV/Vis (nm)
				λ máximo
1	Ácido gálico	5,65 $\pm$ 0,05	Ácido hidroxibenzoico	270
2	Derivado do ácido p-cumárico	6,38 $\pm$ 0,02	Ácido hidroxicinâmico	322
3	Derivado do ácido siríngico	6,80 $\pm$ 0,02	Ácido hidroxibenzoico	270
4	Derivado do ácido gálico	9,42 $\pm$ 0,03	Ácido hidroxibenzoico	270
5	Derivado do ácido protocatecuico	20,77 $\pm$ 0,07	Ácido hidroxibenzoico	255
6	Ácido p-cumárico	31,19 $\pm$ 0,02	Ácido hidroxicinâmico	322
7	Derivado de tangeritina	32,16 $\pm$ 0,03	Flavona	322
8	Derivado de tangeritina	37,44 $\pm$ 0,04	Flavona	322
9	Derivado de quercetina	48,67 $\pm$ 0,11	Flavonol	255
10	Naringina	50,47 $\pm$ 0,30	Flavanona	280
11	Derivado de quercetina	59,76 $\pm$ 0,01	Flavonol	255
12	Naringenina	65,52 $\pm$ 0,07	Flavanona	280

Tr: tempo de retenção do composto.

hipsocrômico em relação ao ácido *p*-cumárico ($\lambda = 308,8 \text{ nm}$), devido a presença de hidroxilas e/ou metoxilas nas posições 3 e 4 do anel aromático (15).

Para a classe das flavonas, os picos 7 e 8 da linhagem CB1204 apresentaram espectros de absorção característico da tangeritina, com absorção máxima de 304 a 350 nm na banda I e de 240 a 280 nm na banda II. Os compostos derivados da classe dos flavonóis, picos 9 e 11 das linhagens CB1531 e DM1433, respectivamente, apresentaram espectro de absorção máxima de 352 a 385 nm na banda I e de 240 a 280 nm na banda II, bem característico de flavonóis como a quercetina (11,12,16). Observar-se que os compostos derivados da classe das flavonas e dos flavonóis sofreram deslocamento hipsocrômicos, decorrentes da metilação ou glicosilação dos grupos hidroxilas nas posições 3, 4 ou 5 dos anéis aromáticos destes compostos (15).

Além da naringina e da naringenina, não foram encontrados outros compostos derivados da classe das flavanonas nas linhagens de pimentas. Vale ressaltar que todos os compostos identificados por classe química não tiveram suas identidades confirmadas, devido à falta de padrões analíticos para cada composto fenólico.

A tabela 2 mostra que a linhagem DM1433 foi a que apresentou maior teor de ácido gálico ($1850,41 \pm 6,59 \mu\text{g g}^{-1}$), ácido *p*-cumárico ($278,27 \pm 2,00 \mu\text{g g}^{-1}$), Naringina ($318,18 \pm 3,02 \mu\text{g g}^{-1}$) e naringenina ($195,01 \pm 3,05 \mu\text{g g}^{-1}$), nos picos 1, 6, 10 e 12, respectivamente.

Tabela 2. Teor de compostos fenólicos nas linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela.

Pico	Composto	λ máximo (nm)	Concentração $\mu\text{g g}^{-1}$			
			CB1204	CB1517	CB1531	CB1541
1	Ácido gálico	270	-	-	-	-
2	Derivado do ácido p-cumárico	322	324,35 $\pm$ 5,97	-	-	-
3	Derivado do ácido sirínico	270	-	-	-	-
4	Derivado do ácido gálico	270	-	-	-	-
5	Derivado do ácido protocatecuico	255	360,45 $\pm$ 2,21	6,35 $\pm$ 0,11	47,88 $\pm$ 1,52	-
6	Ácido <i>p</i> -cumárico	322	-	-	216,46 $\pm$ 1,04	-
7	Derivado de tangeritina	322	81,99 $\pm$ 1,06	-	-	-
8	Derivado de tangeritina	322	60,62 $\pm$ 0,79	-	-	-
9	Derivado de quercetina	255	-	-	-	-
10	Naringina	280	273,83 $\pm$ 2,29	-	-	-
11	Derivado de quercetina	255	-	-	162,67 $\pm$ 3,78	-
12	Naringenina	280	-	-	-	-

Pico	Concentração $\mu\text{g g}^{-1}$				
	DM1404	DM1427	DM1433	DM1439	DM1441
1	-	-	1850,41 $\pm$ 6,59	-	-
2	-	-	22,84 $\pm$ 0,96	168,55 $\pm$ 1,96	44,36 $\pm$ 0,43
3	-	-	-	-	-
4	-	-	9,18 $\pm$ 0,31	-	-
5	-	-	3,49 $\pm$ 0,05	14,87 $\pm$ 0,02	15,05 $\pm$ 0,01
6	-	-	278,27 $\pm$ 2,00	198,14 $\pm$ 0,91	-
7	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-
9	-	-	259,59 $\pm$ 7,26	-	-
10	-	-	318,18 $\pm$ 3,02	-	-
11	-	-	-	-	-
12	-	-	195,01 $\pm$ 3,05	-	-

Média $\pm$ desvio padrão

A linhagem CB1205 foi a que apresentou a maior concentração de compostos derivados da classe do ácido hidroxibenzoico (pico 5) e da classe do ácido hidroxicinâmico (pico 2) com $360,45 \pm 2,21 \mu\text{g g}^{-1}$ e $324,35 \pm 5,97 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

Entre os compostos derivados da classe das flavonas, o pico 7 da pimenta CB1204 foi a que apresentou maior teor ($81,99 \pm 1,06 \mu\text{g g}^{-1}$). Já a linhagem DM1433 (pico 9) apresentou a maior concentração dos compostos derivados da classe dos flavonóis com $259,59 \pm 7,26 \mu\text{g g}^{-1}$.

Atualmente existem poucos relatos na literatura a respeito da identificação e quantificação de compostos fenólicos em espécies de pimentas *Capsicum chinense* e *Capsicum baccatum*, no entanto, estudos com outras espécies de pimentas do gênero *Capsicum*, apontaram a presença de compostos fenólicos como ácido gálico, cafeico, clorogênico, rutina, quercetina, apigenina, *p*-cumárico, vanílico, ferúlico, elágico, naringina, catequina, miricetina, chavicina, piridina, piperidina, piperina, ácido sirínico e ácido sinápico (18-22), alguns deles corroboram com os compostos encontrados nas linhagens avaliadas, outros não foram detectados, possivelmente por se tratar de espécies diferentes, linhagens obtidas pelo método de melhoramento genético e condição de cultivo diferentes.

Analisando individualmente os componentes principais e a influência das variáveis sobre estes (figura 1), pode-se observar que todos os compostos derivados da classe do ácido hidroxibenzoico, ácido hidroxicinâmico, flavonas e flavanóis correlacionam-se positivamente com a primeira componente principal, assim como os ácidos gálico e *p*-cumárico, e os flavonoides naringina e naringenina.

Para a segunda componente principal observa-se a formação de um grupo que apresenta comportamento inverso, representado pelos flavanóis, derivados da classe do ácido hidroxibenzoico, ácido *p*-cumárico, ácido gálico e naringenina que se correlacionam negativamente com essa componente. O segundo grupo formado pelos derivados da classe do ácido hidroxicinâmico, flavonas e naringina se correlacionam positivamente com essa componente.

A PC1 permitiu diferenciar as linhagens de pimentas que tiveram influência dos compostos fenólicos detectados. A linhagem CB1204, assentada no ponto central da primeira componente, e positivamente na segunda componente, possui a presença de compostos derivados da classe das flavonas, do ácido hidroxicinâmico e da flavanona naringina. Nota-se que essa linhagem apresenta perfil de compostos fenólicos diferente das demais linhagens, caracterizando-o como a pimenta com o melhor perfil de compostos fenólicos dentre as linhagens de pimenta cabacinha.

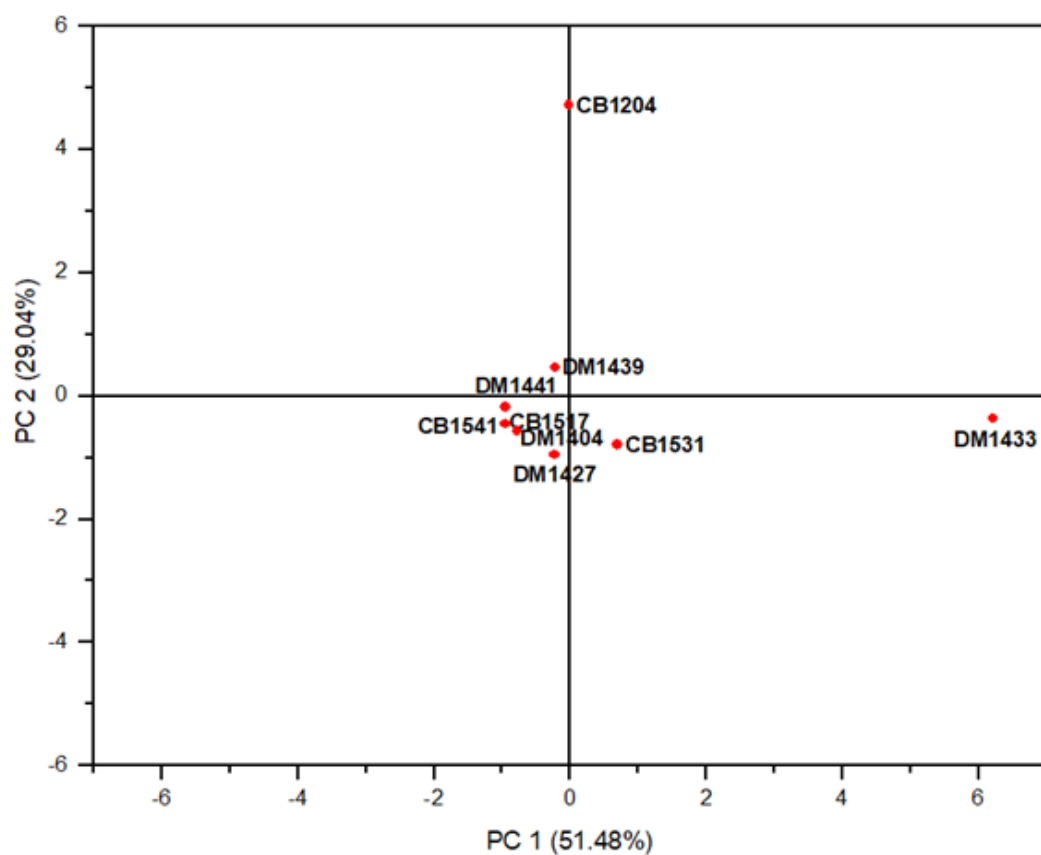
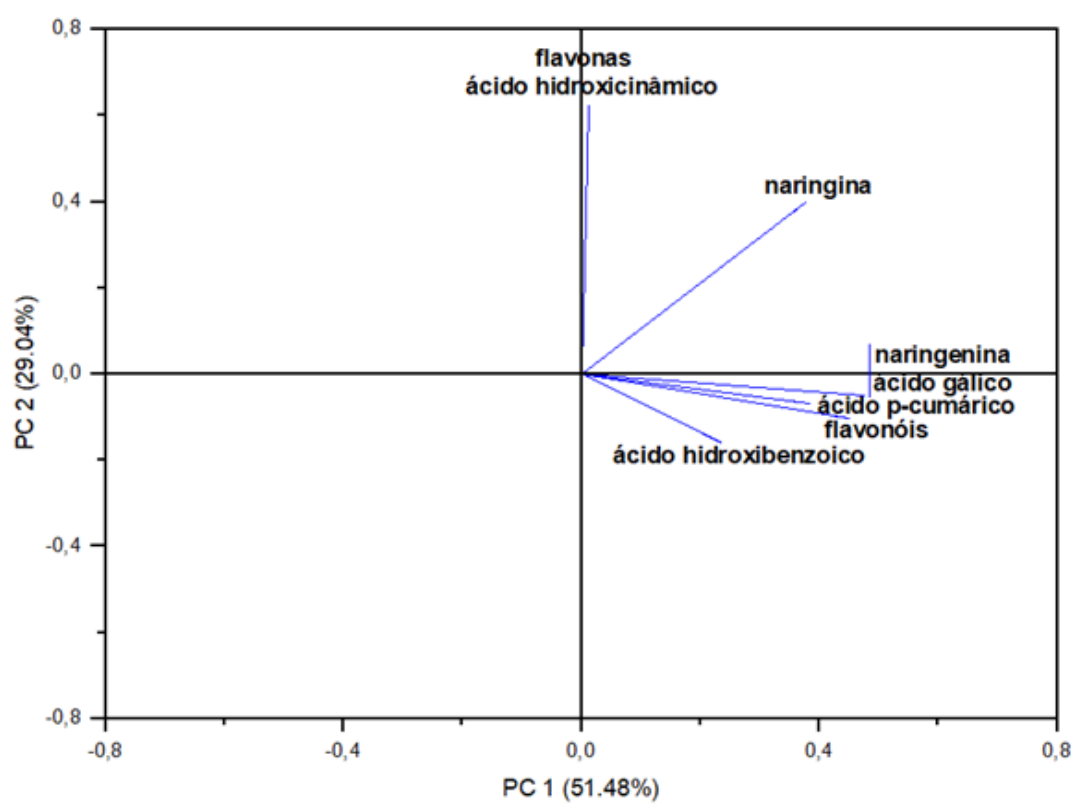


Figura 11. Análise de componentes principais dos compostos fenólicos em linhagens de pimenta cabacinha e dedo-de-moça amarela ($\alpha = 0,05$).

A linhagem DM1433, estabelecida positivamente na primeira componente e negativamente na segunda componente principal apresentou perfil de compostos fenólicos com a presença dos flavonoides naringina e naringenina, dos ácidos gálico e *p*-cumárico, de compostos derivados da classe dos flavonóis e do ácido hidroxibenzoico. Entre todas as linhagens de pimentas estudadas, esta é a que possui o melhor perfil de compostos fenólicos, considerando-a a linhagem com a maior presença e teor desses compostos.

As linhagens DM1441, CB1541, CB1517, DM1404 e DM1427, localizadas negativamente na CP1 e na CP2, e as linhagens DM1439 (assentada negativamente na CP1 e positivamente na CP2) e CB1531 (localizada positivamente na CP1 e negativamente na CP2) apresentam perfil de compostos fenólicos semelhantes entre si. No entanto, entre este grupo as linhagens DM1439 e CB1531, foram as que apresentaram o maior teor de compostos fenólicos.

A tabela 3, mostra os resultados de recuperação do processo de extração de compostos fenólicos em três níveis de concentração do ácido *p*-cumárico presente na amostra.

Tabela 3. Recuperação do processo de extração de compostos fenólicos em três níveis de concentração do ácido *p*-cumárico.

Amostra	Concentração $\mu\text{g g}^{-1}$		% Recuperação	CV
	Recuperada	Ácido <i>p</i> -cumárico		
Não fortificada	2,78 $\pm$ 0,02	-	-	-
	4,57 $\pm$ 0,01	2,00	89,36 $\pm$ 0,50	0,56
Fortificada	17,49 $\pm$ 0,05	15,00	98,06 $\pm$ 0,36	0,37
	51,23 $\pm$ 0,60	50,00	96,89 $\pm$ 1,20	1,23

De acordo com os protocolos internacionais de validação, os valores de recuperação da amostra estabelecidos como aceitáveis varia de 70 a 125% (13,14). Baseado nestas informações, observa-se que os valores obtidos para todos os níveis de fortificação (89,36-98,06%) se enquadram na faixa estabelecida como aceitável, considerando que todas as amostras de pimentas tiveram uma boa recuperação no processo de extração. Portanto, pode-se dizer que o processo de extração não influenciou no perfil de compostos fenólicos da amostra, mostrando que um bom nível de precisão e exatidão do método foi alcançado.

4 Considerações Finais

Os resultados mostraram que o ácido *p*-cumárico foi identificado e quantificado nas linhagens CB1531, DM1439 e DM1433. O ácido gálico e a naringenina foram detectados apenas na linhagem DM1433. Já o flavonoide naringina foi identificado nas linhagens CB1204 e DM1433.

Os compostos derivados da classe do ácido hidroxibenzoico, hidroxicinâmico, flavonas e flavonóis, não estão presentes em todas as linhagens de pimentas.

Entre as pimentas cabacinha, as linhagens CB1204 e CB1531 foram as que apresentaram melhor perfil de compostos fenólicos e maiores níveis destes compostos. Contudo, a linhagem dedo-de-moça amarela DM1433 foi a que apresentou o melhor perfil e o maior teor de compostos fenólicos entre todas as linhagens pimentas estudadas. Portanto, baseado no perfil de compostos fenólicos, pode-se considerar que as pimentas CB1204 e

DM1433 podem ser cultivadas e introduzidas na agricultura brasileira como pimentas de alto teor de compostos fenólicos.

5 Referências

- (1) Reifschneider FJB. *Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: Embrapa Hortaliças; 2000. 113 p.
- (2) Carvalho SIC de, Bianchetti LB, Bustamante PG, Silva DB da. Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.) da Embrapa Hortaliças. Brasília: Embrapa Hortaliças; 2003. 49 p.
- (3) Lutz DL, Freitas SC de. Valor nutricional. In: Ribeiro CSC, Lopes CA, Carvalho SIC, Henz GP, Reifschneider FJB. Pimentas *Capsicum*. Brasília: Embrapa Hortaliças; 2008. p. 31-8.
- (4) Rufino JLS, Penteado DCS. Importância econômica, perspectivas e potencialidades do mercado para pimenta. Inf Agropecuário. 2006; 27(235): 7-15.
- (5) Neitzke RS. Recursos genéticos de pimentas do gênero *Capsicum*: explorando a multiplicidade de usos. 2012. 116f. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.
- (6) Costa LM da; Moura NF de, Marangoni C, Mendes CE, Teixeira AO. Atividade antioxidante de pimentas do gênero *Capsicum*. Food Sci Technol. 2010; 30(1): 51-59.
- (7) Pereira MC, Steffens RS, Jablonski A, Hertz PF, Rios AO, Vizzotto M, et al. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. J Agric Food Chem. 2012; 60(12): 3061–7.
- (8) Gomis DB, Palomino NF, Alonso JJM. Capillary liquid chromatographic determination of neutral phenolic compounds in apple juices. Anal Chim Acta. 2001; 426(1): 111–7.
- (9) Zimmer AR, Leonardi B, Miron D, Schapoval E, Oliveira JR de, Gosmann G. Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Capsicum baccatum*: From traditional use to scientific approach. J Ethnopharmacol. 2012; 139(1): 228–33.

- (10) Melo PS, Massarioli AP, Denny C, Santos LF, Franchin M, Pereira GE, et al. Winery by-products: Extraction optimization, phenolic composition and cytotoxic evaluation to act as a new source of scavenging of reactive oxygen species. *Food Chem.* 2015; 181: 160–9.
- (12) Mesquita E, Monteiro M. Simultaneous HPLC determination of flavonoids and phenolic acids profile in Pêra-Rio orange juice. *Food Res Int.* 2018; 106: 54–63.
- (13) Thompson M, Ellison SLR, Wood R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis (IUPAC technical report). *J Pure Appl Chem.* 2002; 74(5): 835–855.
- (14) ICH (2005). Validation of analytical procedures: Text and methodology. ICH tripartite guideline. International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Chicago, USA.
- (15) Lianda RLP. Perfil de Substâncias Fenólicas de Méis Brasileiros por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e avaliação do Potencial Antioxidante. 2009. 185f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.
- (16) Ássimos AA. Avaliação da concentração e dos tipos de flavonoides no própolis utilizando métodos quimiométricos de classificação e calibração. 2014. 103f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.
- (17) Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS; Vyvyan JR. Introdução à Espectroscopia. 4^o ed. São Paulo: Cengage Learning; 2015. p. 365-397.
- (18) Kappel VD, Costa GM, Scola G, Silva FA, Landell MF, Valente P, et al. Phenolic content and antioxidant and antimicrobial properties of fruits of *Capsicum baccatum* L. var. pendulum at different maturity stages. *J Med Food.* 2008; 11(2): 267–274.
- (19) Quijada DMAM. Contenido de Compuestos Fitoquímicos y su Relación con la Capacidad Antioxidante de Extractos de Pimientos (*Capsicum annuum* L.) cultivados en el Noroeste de México. 2009. Tesis (Mestrado em Biociências), Universidad de Sonora, Sonora, 2009.
- (20) Wahyuni Y, Ballester AR, Sudarmonowati E, Bino RJ, Bovy AG.

Metabolite biodiversity in pepper (*Capsicum*) fruits of thirty-two diverse accessions: variation in health-related compounds and implications for breeding. *Phytochem.* 2011; 72(11/12): 1358-70.

(21) Chen L, Kang YH. Anti-inflammatory and antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annuum* L.) stalk extracts: Comparison of pericarp and placenta extracts. *J Funct Foods.* 2013; 5(4): 1724–31.

(22) Nogueira, L. Composição química e atividade antioxidante de diferentes variedades de pimento (*Capsicum annum* L.). 2013. Tesis (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar). Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, 2013.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela apresentam uma variabilidade de compostos primários e secundários na sua composição, destacando o alto teor de composto fenólicos, ácido ascórbico e carotenoides totais. As linhagens também apresentam elevada atividade antioxidante, influenciada principalmente, pela vitamina C e pelos compostos fenólicos como os flavonoides e os carotenoides. Entre as pimentas estudadas, as linhagens DM1433 e CB1505 foram as que apresentaram a maior concentração destes compostos bioativos.

Na análise do perfil de compostos fenólicos das linhagens de pimentas foram identificados e quantificados os ácidos *p*-cumárico e gálico, e os flavonoides naringina e naringenina por comparação dos espectros com os padrões analíticos. Entre todas as linhagens, a pimenta dedo-de-moça DM1433 foi a que apresentou o melhor perfil e maior teor de compostos fenólicos.

Desta forma, pode-se considerar que as linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela podem se tornar cultivares, do ponto de vista nutricional, e torna-las disponíveis a mesa dos consumidores brasileiros.

REFERÊNCIAS

- (1) Rufino JLS, Penteado DCS. Importância econômica, perspectivas e potencialidades do mercado para pimenta. Inf Agropecuário. 2006; 27(235): 7-15.
- (2) Nuez Viñals F, Gil Ortega R, Costa JCG. El cultivo de pimientos, chiles y ajies. España: Mundi-Prensa; 1996. 607 p.
- (3) Reifschneider FJB. *Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: Embrapa Hortaliças; 2000. 113 p.
- (4) Ferrão JEM. A aventura das plantas e os descobrimentos portugueses. 1^a ed. Lisboa:IICT; 1992. 288 p.
- (5) Macrae R, Robinson RK, Sadler MJ. Cellulose. In: Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition. 1^a ed. London: Academic Press; 1993. p. 3496-3504.
- (6) Vagner CM. Variabilidade e base genética de pungência e caracteres do fruto: implicações no melhoramento de uma população de *Capsicum annum* L. 2003. 104f. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.
- (7) Madail JCM, Schneid LF, Sima LF, Wedt AN. Economia da produção de pimenta vermelha no município de Turuçu-RS. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; 2005. 27 p.
- (8) Ribeiro CSC, Lopes CA, Carvalho SIC, Henz GP, Reifschneider FJB. Pimentas *Capsicum*. Brasília: Embrapa Hortaliças; 2008. 153 p.
- (9) Genuncio GC, Zonta E, Nascimento EC. Pimenta: tipos e ardências que fazem toda a diferença. Revista Campo e Negócios: hortifruti. 2015. [citado

24 de outubro de 2018]. Disponível em: <http://www.revistacampoenegocios.com.br>.

(10) Domenico CI, Lilli AJO, Santos JCS, Melo AMT. Caracterização de componentes produtivos de híbridos intra-específicos de pimenta-hortícola. *Hortic Bras.* 2010; 28(2): 1960-6.

(11) Ferrão LFV, Cecon PR, Finger FL, Silva FF, Puiatti M. Divergência genética entre genótipos de pimenta com base em caracteres morfo-agrômicos. *Hortic Bras.* 2011; 29(3): 354-8.

(12) Moreira GR, Caliman FRB, Silva DJH da, Ribeiro CSC. Espécies e variedades de pimenta. *Inf Agropecuário.* 2006; 27(235): 16-29.

(13) Carvalho SIC de, Bianchetti LB, Ribeiro CSC, Lopes CA. Pimentas do Gênero *Capsicum* no Brasil. 1^a ed. Brasília: Embrapa Hortaliças; 2006. 27 p.

(14) Carvalho SIC de, Bianchetti LB, Bustamante PG, Silva DB da. Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.) da Embrapa Hortaliças. Brasília: Embrapa Hortaliças; 2003. 49 p.

(15) Bae H, Jayaprakasha GK, Jifon J, Patil BS. Extraction efficiency and validation of an HPLC method for flavonoid analysis in peppers. *Food Chem.* 2012; 130(3): 751-8.

(16) Chuah AM, Lee YC, Yamaguchi T, Takamura H, Yin LJ, Matoba T. Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. *Food Chem.* 2008; 111(1): 20-8.

(17) Neitzke RS. Recursos genéticos de pimentas do gênero *Capsicum*: explorando a multiplicidade de usos. 2012. 116f. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

(18) Hornero-Méndez D, Mínguez-Mosquera, M I. Chlorophyll disappearance and chlorophyllase activity during ripening of *Capsicum annum* fruits. *Journal Food Sci Agric.* 2002; 82(13): 1564-70.

(19) Zancanaro RD. Pimentas: tipos, utilização na culinária e funções no organismo. 2008. 43f. Monografia (Especialização em Gastronomia e Saúde), Universidade de Brasília; Brasília, 2008.

(20) Simões CMO. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3^a ed.

Florianópolis: UFSC; 2010. 883 p.

- (21) Wahyuni Y, Ballester AR, Sudarmonowati E, Bino RJ, Bovy AG. Metabolite biodiversity in pepper (*Capsicum*) fruits of thirty-two diverse accessions: Variation in health-related compounds and implications for breeding. *Phytochemistry*. 2011; 72(11): 1358-70.
- (22) Topuz A, Dincer C, Özdemir KS, Feng H, Kushad M. Influence of different drying methods on carotenoids and capsaicinoids of paprika (Cv., Jalapeno). *Food Chem*. 2011; 129(3): 860-5.
- (23) Rodríguez-maturino A, Valenzuela-Solorio A, Troncoso-Rojas R, González-Mendoza D, Grimaldo-Juarez O, Aviles-Marin M, et al. Antioxidant activity and bioactive compounds of Chiltepin (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) and Habanero (*Capsicum chinense*): A comparative study. *J Med Plants Res*. 2012; 6(9): 1758-63.
- (24) Lutz DL, Freitas SC de. Valor nutricional. In: Ribeiro CSC, Lopes CA, Carvalho SIC, Henz GP, Reifschneider FJB. *Pimentas Capsicum*. Brasília: Embrapa Hortaliças; 2008. p. 31-8.
- (25) Hervert-Hernandez D, Sayago-Ayerdi SG, Goni I. Bioactive compounds of four hot pepper varieties (*Capsicum annuum* L.): antioxidant capacity, and intestinal bioaccessibility. *J Agric Food Chem*. 2010; 58(6): 3399-3406.
- (26) Vermerris W, Nicholson R. Biosynthesis of Flavonoids and Condensed Tannins. In: *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer; 2006. 288 p.
- (27) Peleg H, Bodine KK, Noble AC. The Influence of Acid on Astringency of Alum and Phenolic Compounds. *Chem Senses*. 1998; 23(3): 371-8.
- (28) Shahidi F, Naczki M. Phenolics in foods and nutraceuticals. 2^a ed. Florida: CRC Press; 2003. 576 p.
- (29) Conforti F, Statti GA, Menichini F. Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annuum* var. *acuminatum* L.) in relation to maturity stage. *Food Chem*. 2007; 102(4): 1096-104.
- (30) Li H, Wang X, Li Y, Li P, Wang H. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chem*. 2009; 112(2): 454-60.

- (31) Gutiérrez IH. Compuestos fenólicos en alimentos: propiedades y análisis. Ciudad Real: Instituto Regional de Investigación Científica Aplicada (IRICA); 2014. 49 p.
- (32) Bogusz Junior, S. Caracterização química da fração volátil e estudo do potencial antioxidante em pimentas do gênero *Capsicum*. 2010. 141f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.
- (33) Zhuang Y, Chen L, Sun L, Cao J. Bioactive characteristics and antioxidant activities of nine peppers. J Funct Foods. 2012; 4(1): 331-8.
- (34) Angelo PM, Jorge N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. Rev. Inst. Adolfo Lutz. 2007; 66(1): 1-9.
- (35) Yunes RA CJ. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. 4^a ed. Chapecó: Artigos; 2001. p. 318-334.
- (36) Soares EE. Ácidos fenólicos como antioxidantes. Rev Nutr. 2002; 15(1): 71-81.
- (37) Silva GLS, Silva AMA, Nóbrega GH, Azevedo SA, Pereira-Filho JM, Alcalde CR. Intake, digestibility and milk production of dairy goats fed with different fat sources. Acta Sci Anim Sci. 2010; 32(1): 47-53.
- (38) Ássimos AA. Avaliação da concentração e dos tipos de flavonoides no própolis utilizando métodos quimiométricos de classificação e calibração. 2014. 103f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica), Universidade Federal de Minas gerais, Belo Horizonte, 2014.
- (39) Oldoni TLC. Isolamento e identificação de compostos com atividade de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera*. 2007. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- (40) Gattuso G, Barreca D, Gargiulli C, Leuzzi U, Caristi C. Flavonoid composition of citrus juices. Molecules. 2007; 12(8): 1641-73.
- (41) Simões CMO. Farmacognosia. 2^o ed. São Paulo: Atheneu; 2009. 883 p.
- (42) Mesquita E, Monteiro M. Simultaneous HPLC determination of flavonoids and phenolic acids profile in Pêra-Rio orange juice. Food Res Int.

2018; 106: 54–63.

(43) Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS; Vyvyan JR. Introdução à Espectroscopia. 4^o ed. São Paulo: Cengage Learning; 2015. p. 365-397.

(44) Barreca D, Bellocchio E, Caristi C, Leuzzi U, Gattuso G. Distribution of C- and O-glycosyl flavonoids, (3-hydroxy-3-methylglutaryl)glycosyl flavanones and furocoumarins in *Citrus aurantium* L. juice. *Food Chem.* 2011; 124(2): 576-82.

(45) Rodríguez-Bernaldo A de Q, Costa HS. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. *J Food Compos Anal.* 2006; 19(2): 97-111.

(46) McNulty HP, Byun J, Lockwood SF, Jacob RF, Mason RP. Differential effects of carotenoids on lipid peroxidation due to membrane interactions: X-ray diffraction analysis. *Biochim Biophys Acta: Biomembr.* 2007; 1768(1): 167-74.

(47) Sikora E, Cieřlik E, Leszczyńska T, Filipiak-Florkiewicz A, Pisulewski PM. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. *Food Chem.* 2008; 107(1): 55-9.

(48) Bontempo M. Pimenta e seus benefícios à saúde. São Paulo: Alaúde; 2007. 152 p.

(49) Mantovani NC. Propagação vegetativa e cultivo in vitro de *Bixa orellana* L. e *Ginkgo biloba* L. 2007. 135f. Tese (Doutorado em Botânica), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

(50) Rodríguez-Burruezo A, González-Mas Mdel C, Nuez F. Carotenoid composition and vitamin A value in ají (*Capsicum baccatum* L.) and rocoto (*C. pubescens* R. & P.), 2 pepper species from the Andean region. *J Food Sci.* 2010; 75(8): S446-53.

(51) Matsufuji H; Ishikawa K; Nunomura O; Chino M; Takeda M. Antioxidant content of different coloured sweet peppers, white, green, yellow, orange and red (*Capsicum annuum* L.). *J Food Sci Technol.* 2007; 42(12): 1482-8.

(52) Wahyuni Y, Ballester AR, Sudarmonowati E, Bino RJ, Bovy AG. Metabolite biodiversity in pepper (*Capsicum*) fruits of thirty-two diverse accessions: variation in health-related compounds and implications for

breeding. *Phytochem.* 2011; 72(11/12): 1358-70.

(53) Kalt W. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *J Food Sci.* 2005; 70(1): 11-9.

(54) Moraes FP, Colla LM. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. *Rev Eletrônica Farmácia.* 2006; 3(2): 109-22.

(55) Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 269, Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. 22 de setembro de 2005.

(56) Ochi T, Takaishi Y, Kogure K, Yamauti I. Antioxidant activity of a new capsaicin derivative from *Capsicum annuum*. *J Nat Prod.* 2003; 66(8): 1094-6.

(57) Wink M. Special Nitrogen Metabolism. In: *Special Nitrogen Metabolism*. San Diego: Academic Press; 1997. p. 438-86.

(58) Luo XJ, Peng J, Li YJ. Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids. *Eur J Pharmacol.* 2011; 650(1): 1-7.

(59) Pinto CMF, Oliveira CLP, Donzeles SML. Pimenta *Capsicum*: propriedades químicas, nutricionais, farmacológicas e medicinais e seu potencial para o pepper *Capsicum*. *Rev Bras Agropecuária Sustentável.* 2013; 3(2):108-20.

(60) Carvalho JCT, Gosmann G, Schenkel EP. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3^a ed. Porto Alegre: UFRGS; 2001. p. 443-59.

(61) Alvarez-Parrilla E, De La Rosa LA, Amarowicz R, Shahidi F. Antioxidant activity of fresh and processed Jalapeño and Serrano peppers. *J Agric Food Chem.* 2011; 59(1): 163-173.

(62) Costa LM da; Moura NF de, Marangoni C, Mendes CE, Teixeira AO. Atividade antioxidante de pimentas do gênero *Capsicum*. *Food Sci Technol.* 2010; 30(1): 51-59.

(63) Maisuthisakul P, Suttajit M, Pongsawatmanit R. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants.

Food Chem. 2007; 100(4): 1409-18.

(64) Mínguez-Mosquera MI, Hornero-Méndez D. Separation and quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annuum* L.) paprika, and oleoresin by reversed-phase HPLC. J Agric Food Chem. 1993; 41(10): 1616-20.

(65) Levy A, Harel S, Palevitch D, Akiri B, Menagem E, Kanner J. Carotenoid Pigments and .beta.-Carotene in Paprika Fruits (*Capsicum* spp.) with Different Genotypes. J Agric Food Chem. 1995; 43(2): 362-6.

(66) Weissenberg M, Schaeffler I, Menagem E, Barzilai M, Levy A. Isocratic non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of capsanthin and capsorubin in red peppers (*Capsicum annuum* L.), paprika and oleoresin. J Chromatogr A. 1997; 757(1): 89-95.

(67) Oliver J, Palou A, Pons A. Semi-quantification of carotenoids by high-performance liquid chromatography: saponification-induced losses in fatty foods. J Chromatogr A. 1998; 829(1): 393-9.

(68) Maoka T, Mochida K, Kozuka M, Ito Y, Fujiwara Y, Hashimoto K, et al. Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annuum* L. Cancer Lett. 2001; 172(2): 103-9.

(69) Doymaz I, Pala M. Hot-air drying characteristics of red pepper. J Food Eng. 2002; 55(4): 331-5.

(70) Materska M, Piacente S, Stochmal A, Pizza C, Oleszek W, Perucka I. Isolation and structure elucidation of flavonoid and phenolic acid glycosides from pericarp of hot pepper fruit *Capsicum annuum* L. Phytochemistry. 2003; 63(8): 893-8.

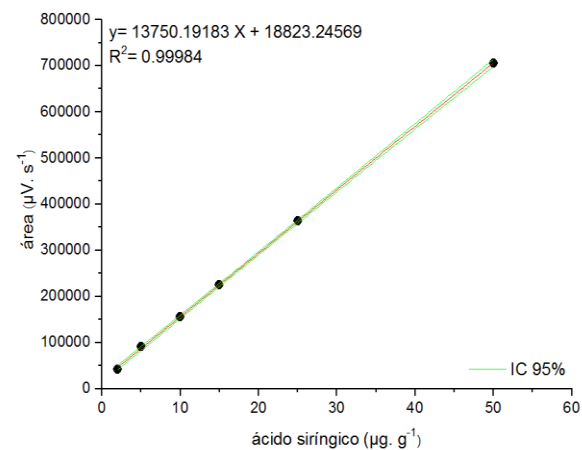
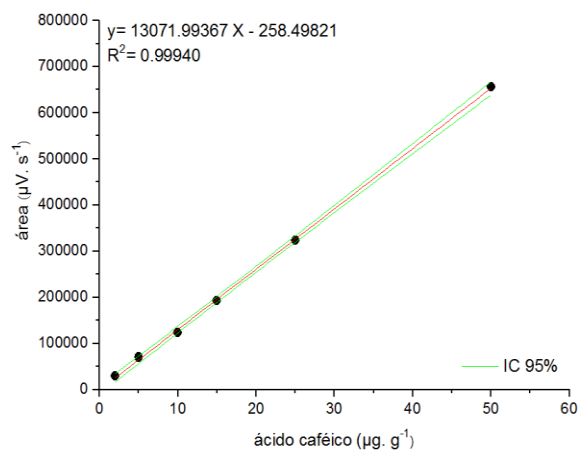
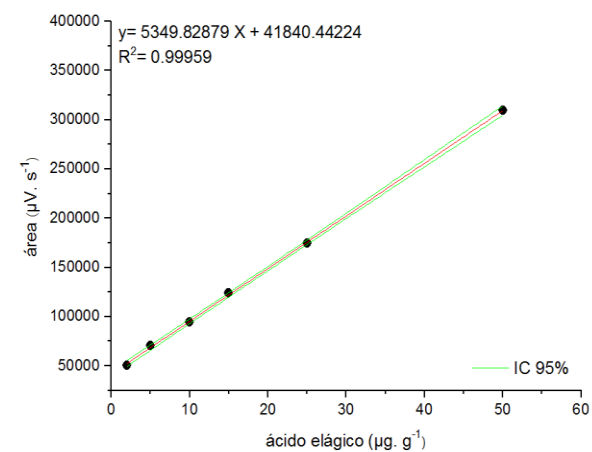
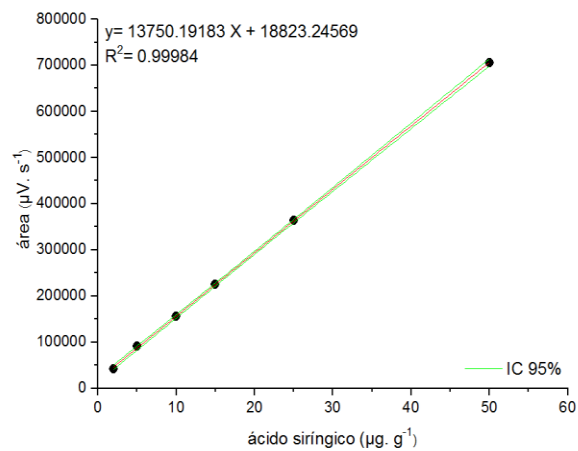
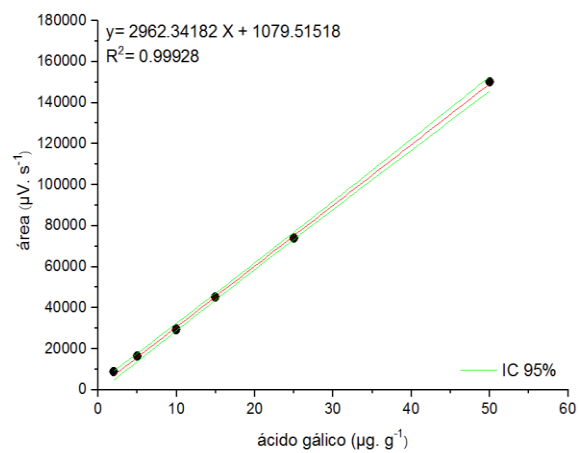
(71) Collera-Zúñiga O, Jiménez FG, Gordillo RM. Comparative study of carotenoid composition in three mexican varieties of *Capsicum annuum* L. Food Chem. 2005; 90(1): 109-14.

(72) Sim KH, Sil HY. Antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annuum*) pericarp and seed extracts. J Food Sci Technol. 2008; 43(10): 1813–23.

(73) Dutra FLA, Branco IG, Madrona GS.; Haminiuk WI. Avaliação sensorial e influência do tratamento térmico no teor de ácido ascórbico de sorvete de pimenta. Rev Bras Tecnol Agroindustrial. 2010; 4(2): 243-51.

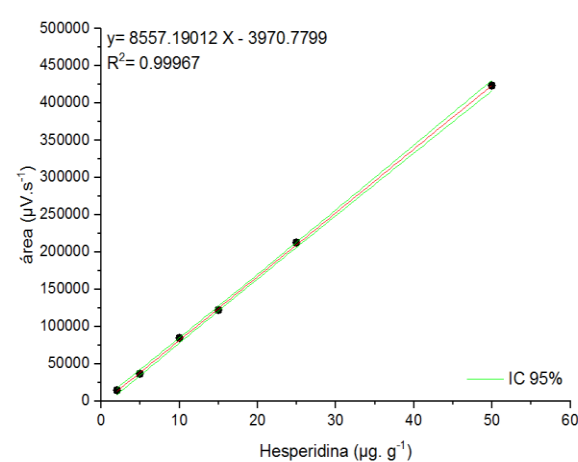
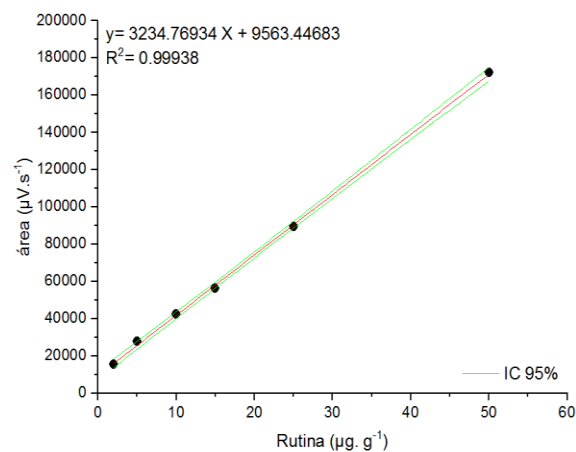
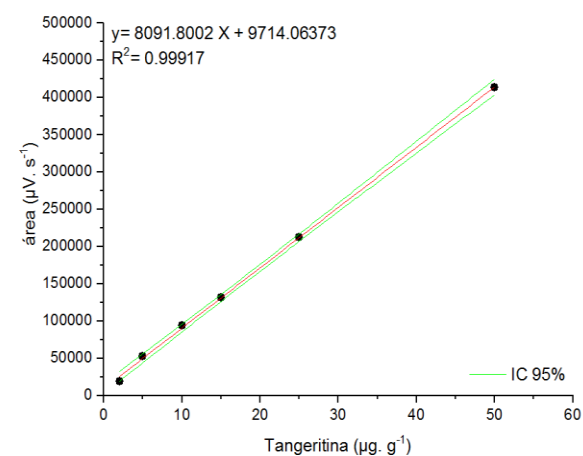
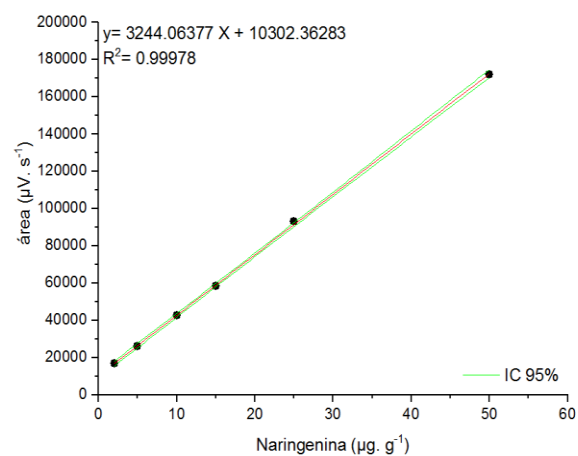
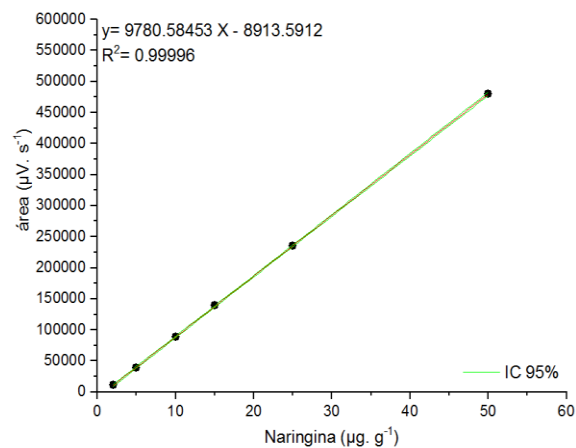
- (74) Bianchetti LDB. Aspectos morfológicos, ecológicos e biogeográficos de dez taxons de *Capsicum* (Solanaceae) ocorrentes no Brasil. 1996. 174f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade de Brasília, Brasília, 1996.
- (75) Meghvansi MK, Siddiqui S, Khan MH, Gupta VK, Vairale MG, Gogoi HK, et al. *Naga chilli*: a potential source of capsaicinoids with broadspectrum ethnopharmacological applications. J Ethnopharmacol. 2010; 132(1): 1-14.
- (76) Arora R, Gill NS, Chauhan G, Rana AC. An overview about versatile molecule Capsaicin. J Pharm Sci Drug Res. 2011; 3(4): 280-6.
- (77) Oliveira AMC de. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e atividade antifúngica de pimentas do gênero *Capsicum* spp. 2011. 81f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição), Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.
- (78) López P, Gorzalczany S, Acevedo C, Alonso R, Ferraro G. Chemical study and anti-inflammatory activity of *Capsicum* chacoense and *C. baccatum*. Rev Bras Farmacogn. 2012; 22(2): 455-8.
- (79) Bessalho Filho JC, Guerra EP, Oliveira R. Introdução ao Melhoramento de Planta. In: Bessalho Filho JC, Guerra EP, Oliveira R. Melhoramento de Plantas. [citado 25 de outubro de 2018]. Disponível em: <http://www.bespa.agrarias.ufpr.br>. p. 1-9.
- (80) Bianchetti LB, Carvalho SI. Subsídios à coleta de germoplasma de espécies de pimentas e pimentões do gênero *Capsicum*. In: Walter BMT, Cavalcante TB. Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; 2005. p. 355-85.

ANEXO 1



Anexo 1. Curva de calibração para quantificação de ácidos fenólicos ($\alpha = 0,05$).

ANEXO 2



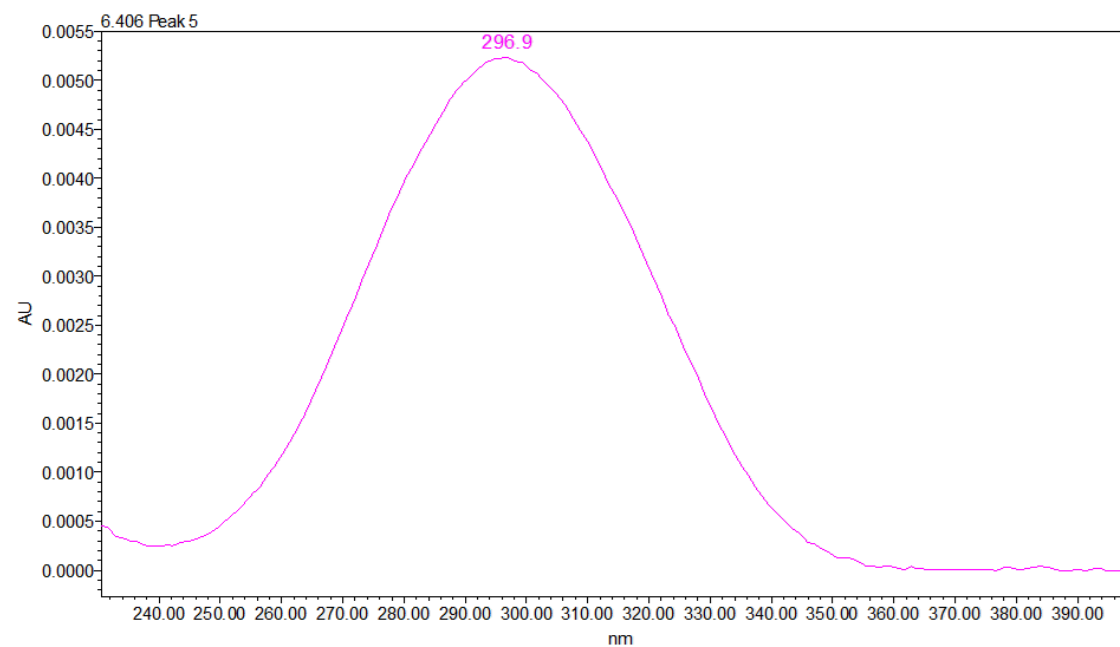
Anexo 2. Curva de calibração para quantificação de flavonoides ($\alpha = 0,05$).

ANEXO 3

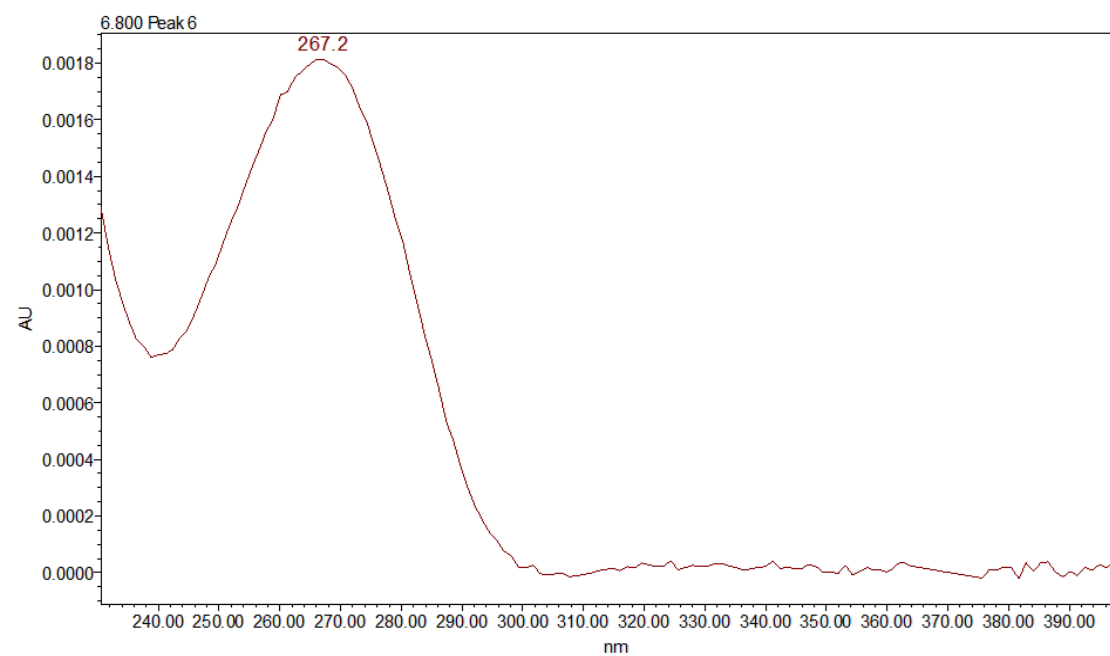
Anexo 3. Identificação e classificação de compostos fenólicos em linhagens de pimentas cabacinha e dedo-de-moça amarela.

Pico	Composto	Tr	Espectro de absorção UV/Vis
Pimenta CB1204			

2 Derivado do ácido *p*-cumárico 6,40 ± 0,01



3 Derivado de ácido
 siríngico $6,81 \pm 0,01$



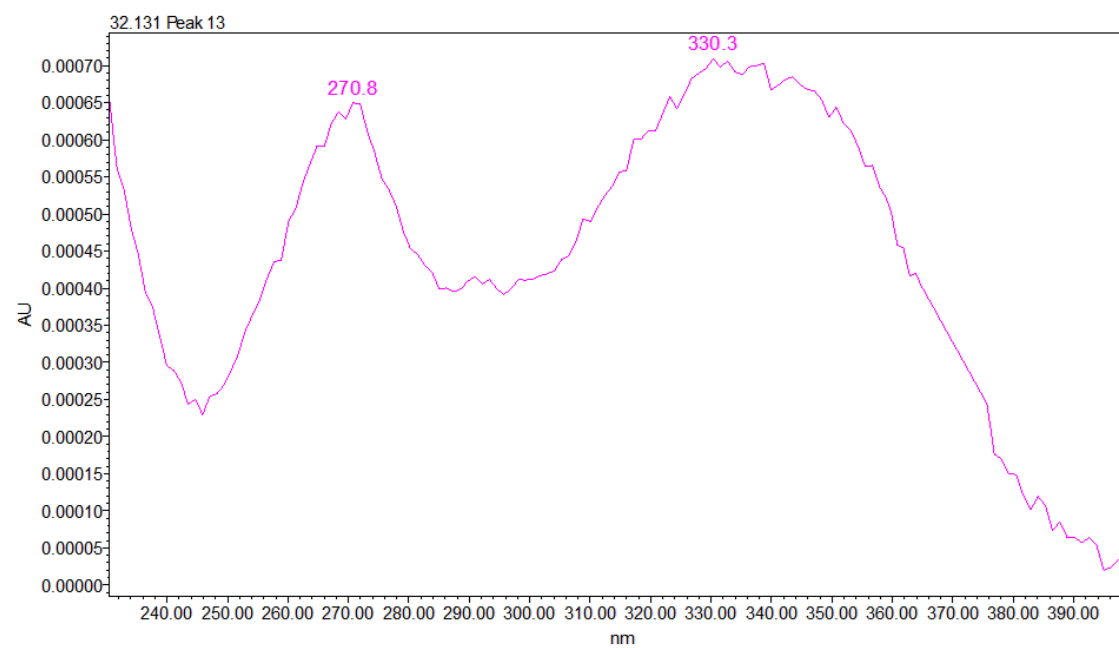
5 Derivado do ácido
protocatecuico $20,87 \pm 0,02$



7

Derivado de
tangeritina

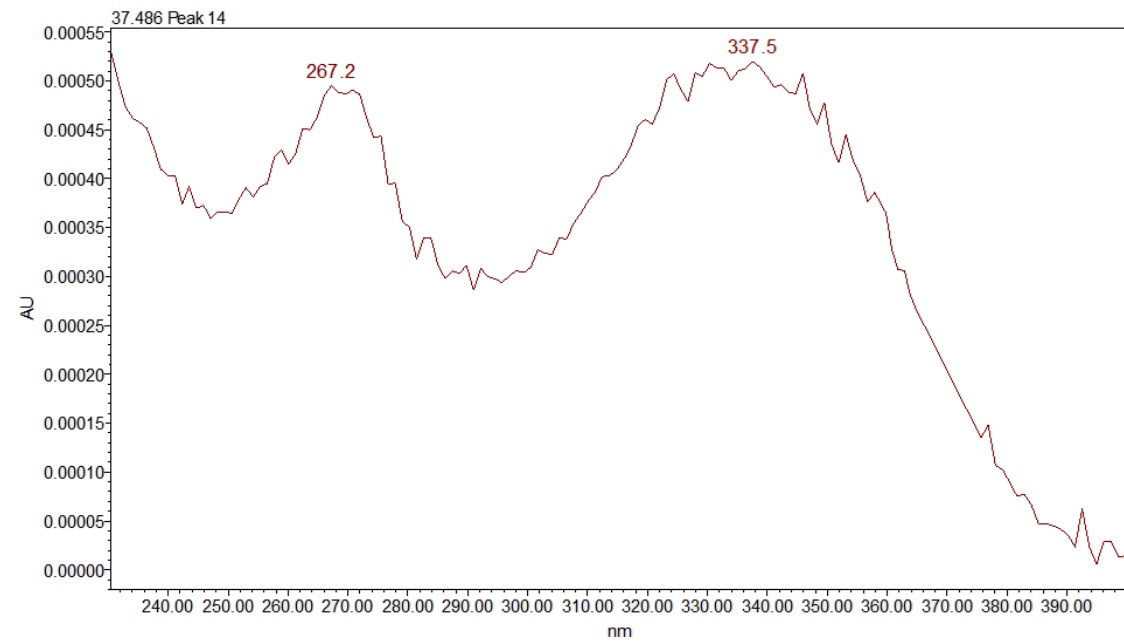
$32,16 \pm 0,03$



8

Derivado de
tangeritina

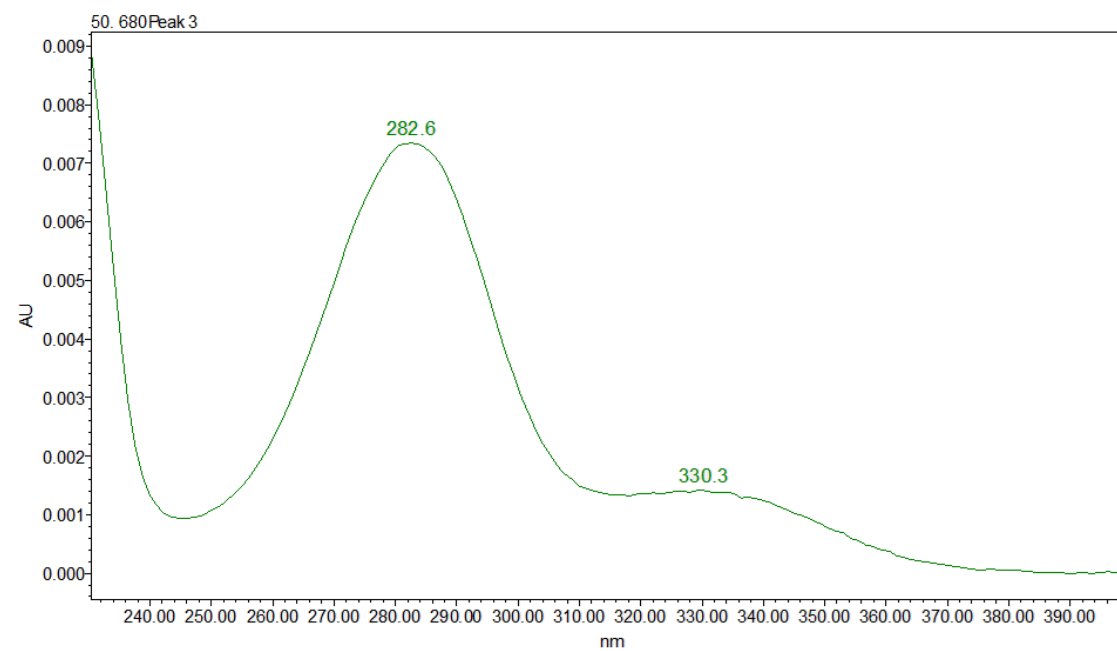
$37,44 \pm 0,04$



10

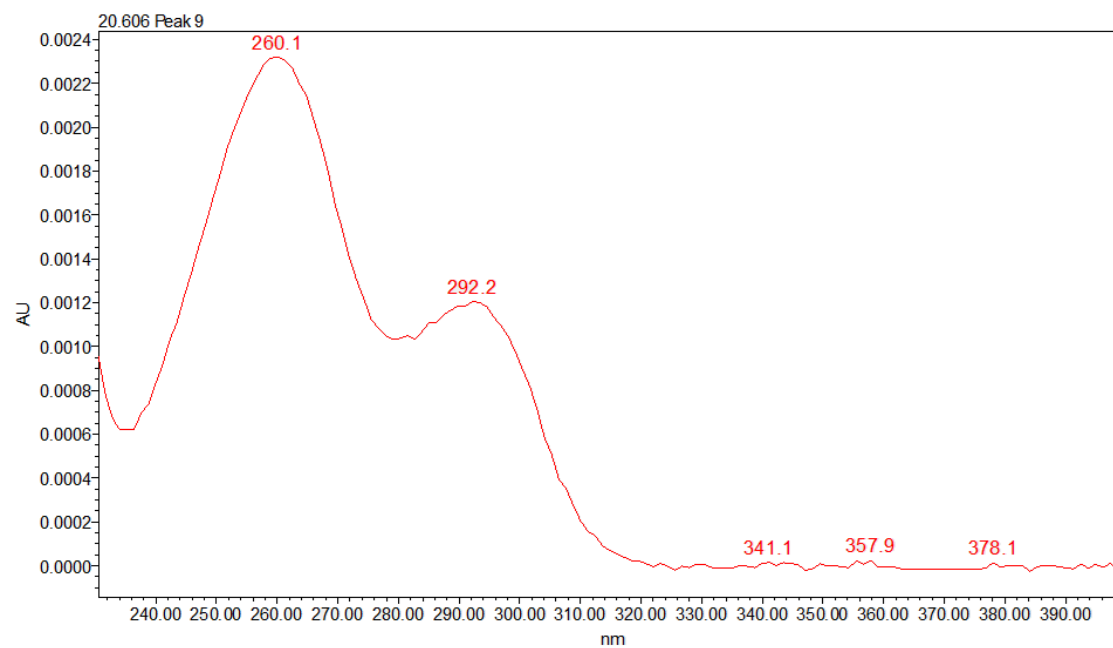
Naringina

50,68 ± 0,01



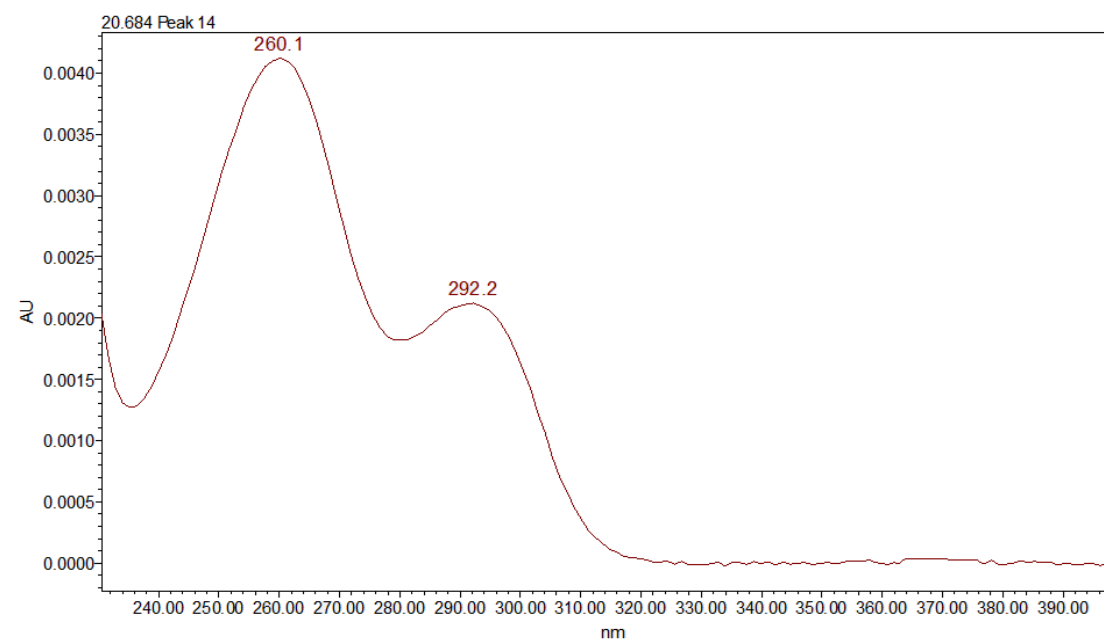
Pimenta CB1517

5 Derivado do ácido
protocatecuico $20,73 \pm 0,25$

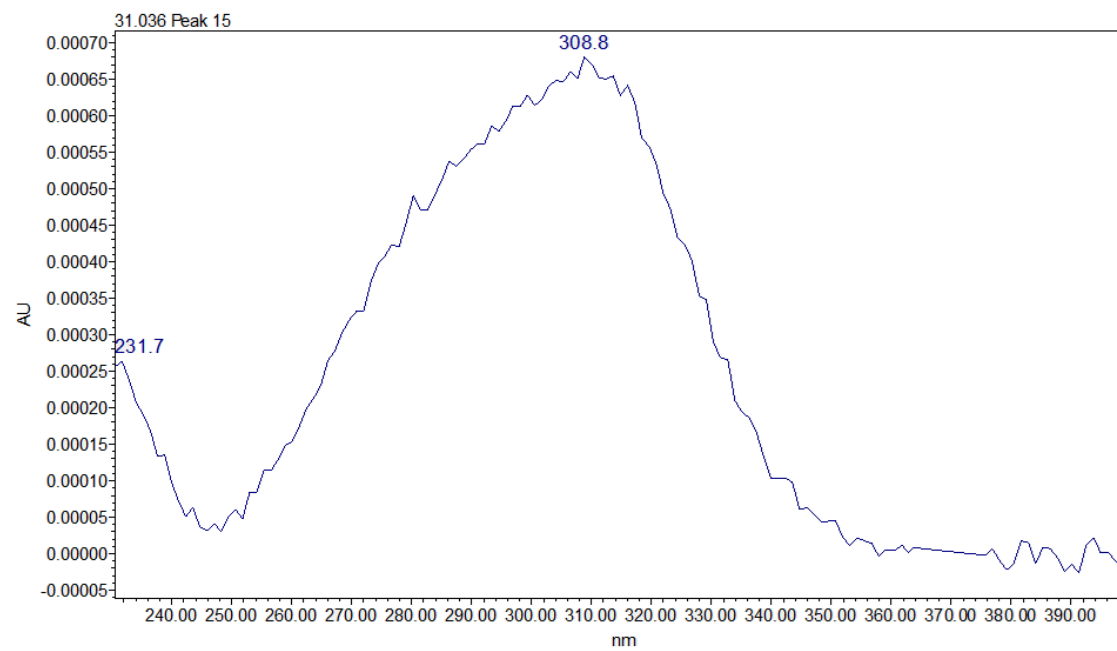


Pimenta CB1531

5 Derivado do ácido
protocatecuico $20,71 \pm 0,03$



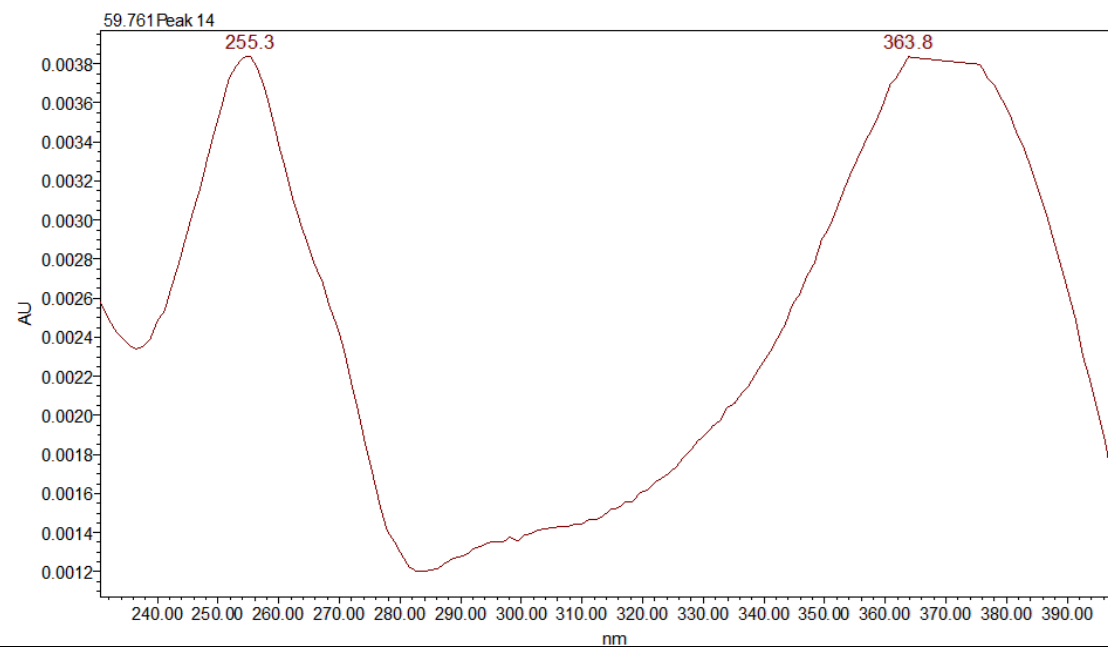
6 Ácido *p*-cumárico $31,20 \pm 0,03$



11

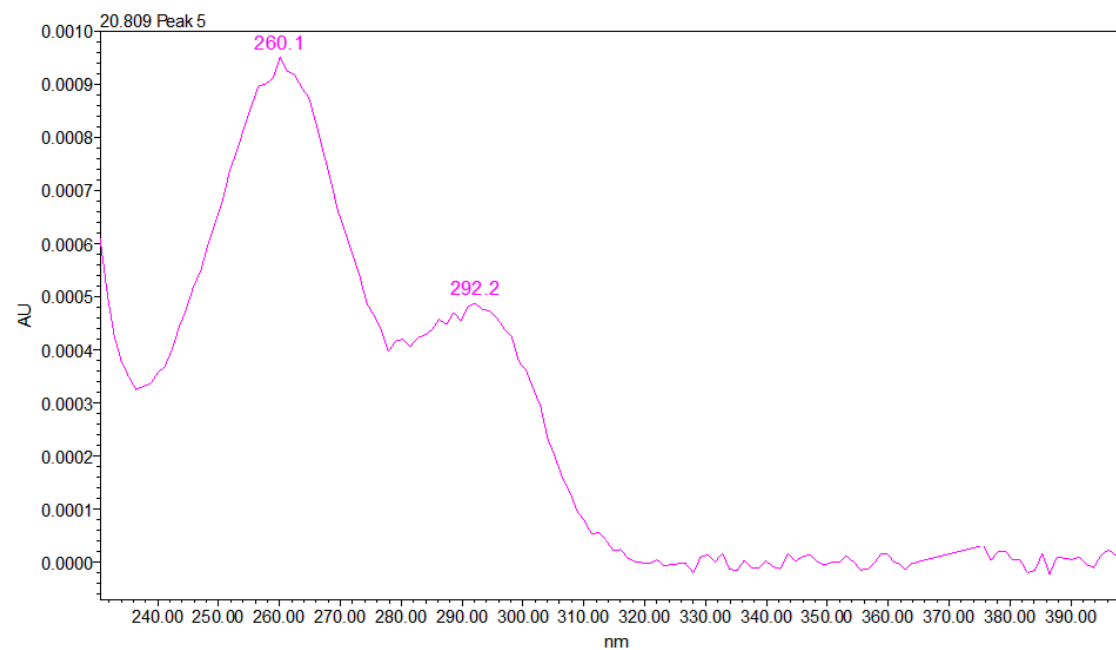
Derivado de
quercetina

59,76 ± 0,01



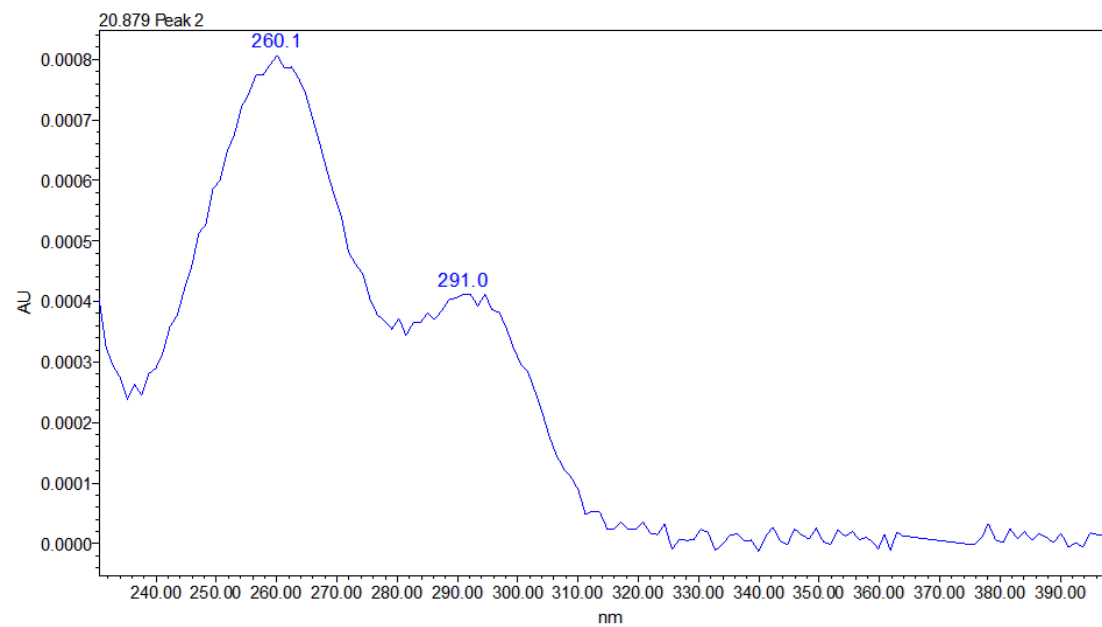
Pimenta CB1541

5 Derivado do ácido
protocatecuico $20,79 \pm 0,02$



Pimenta DM1404

5 Derivado do ácido
protocatecuico 20,88 ± 0,00



Pimenta DM1427

-

-

-

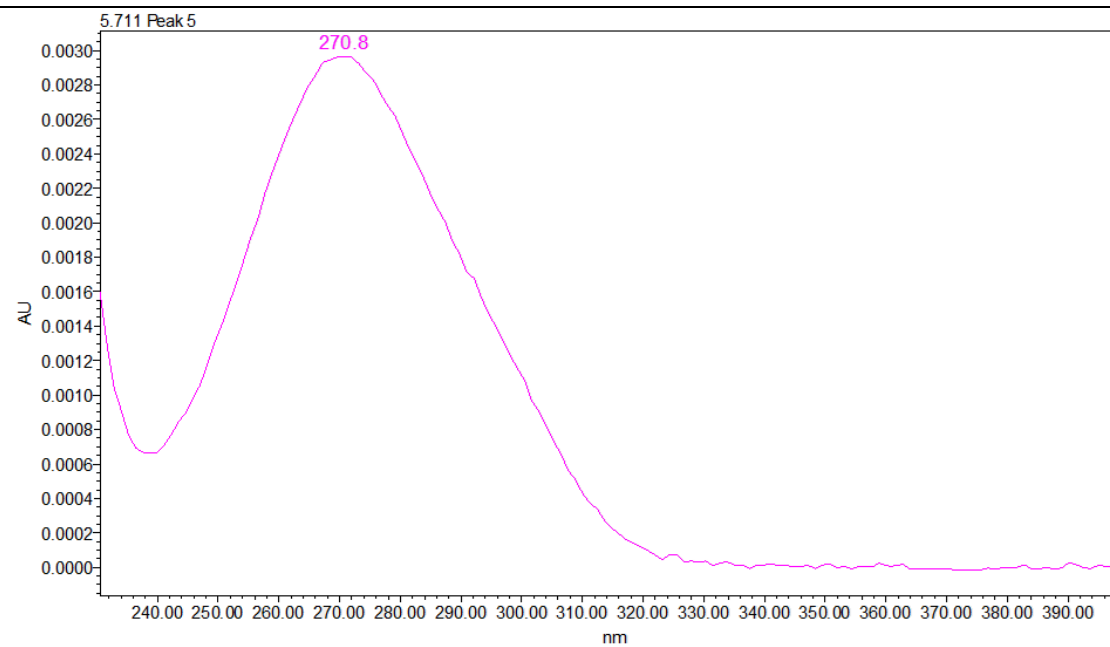
-

Pimenta DM1433

1

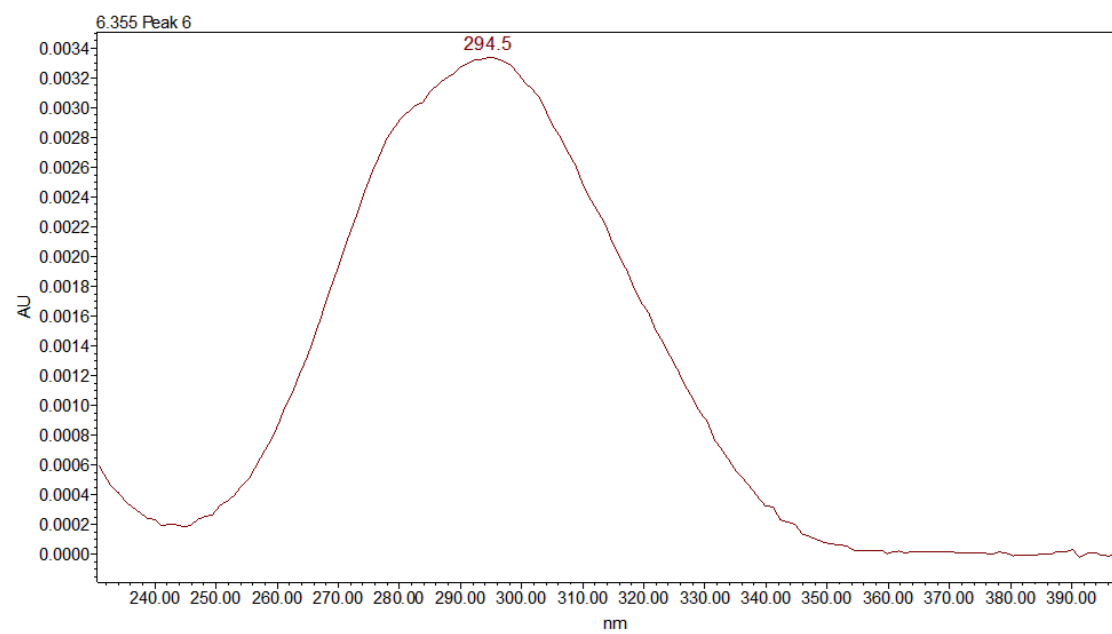
Ácido gálico

$5,65 \pm 0,05$

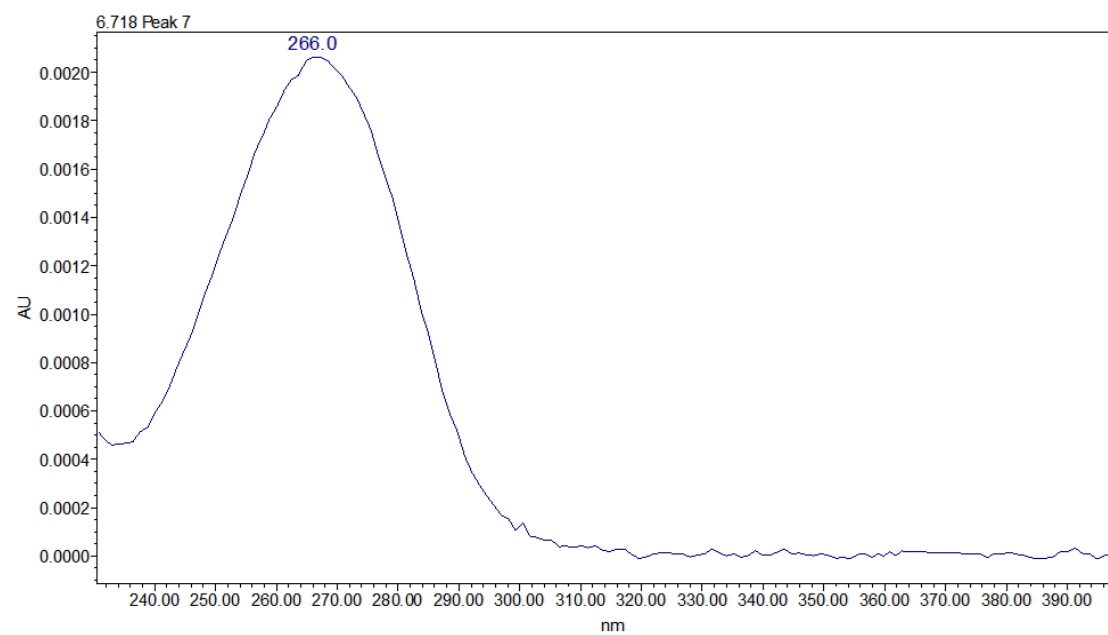


2

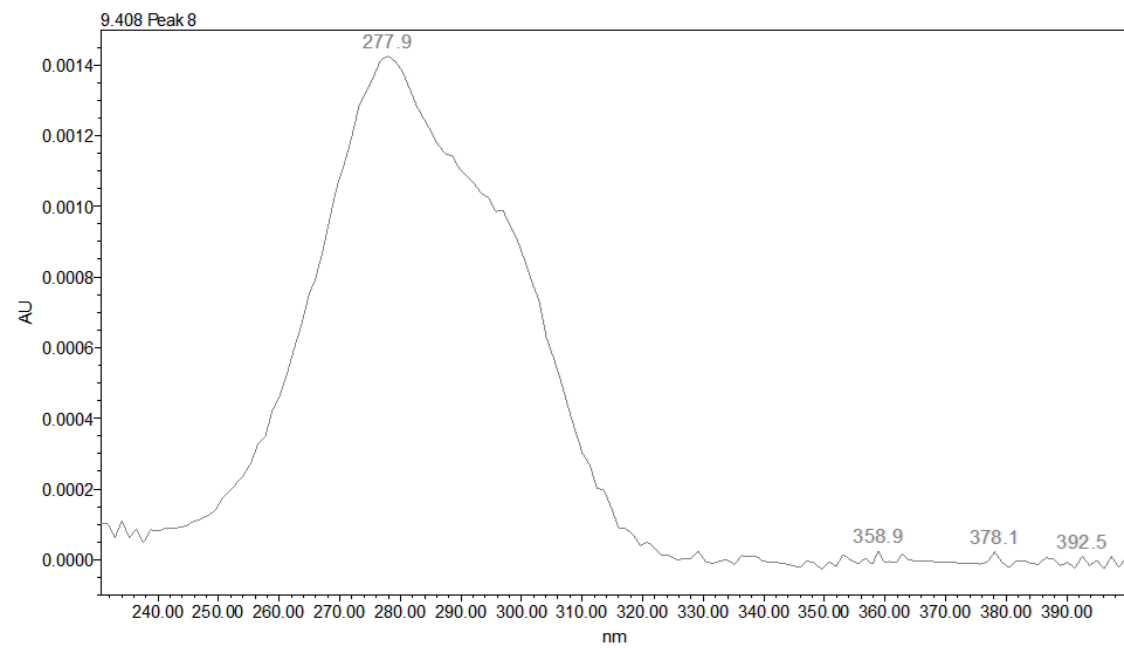
Derivado do ácido
p-cumárico $6,39 \pm 0,02$



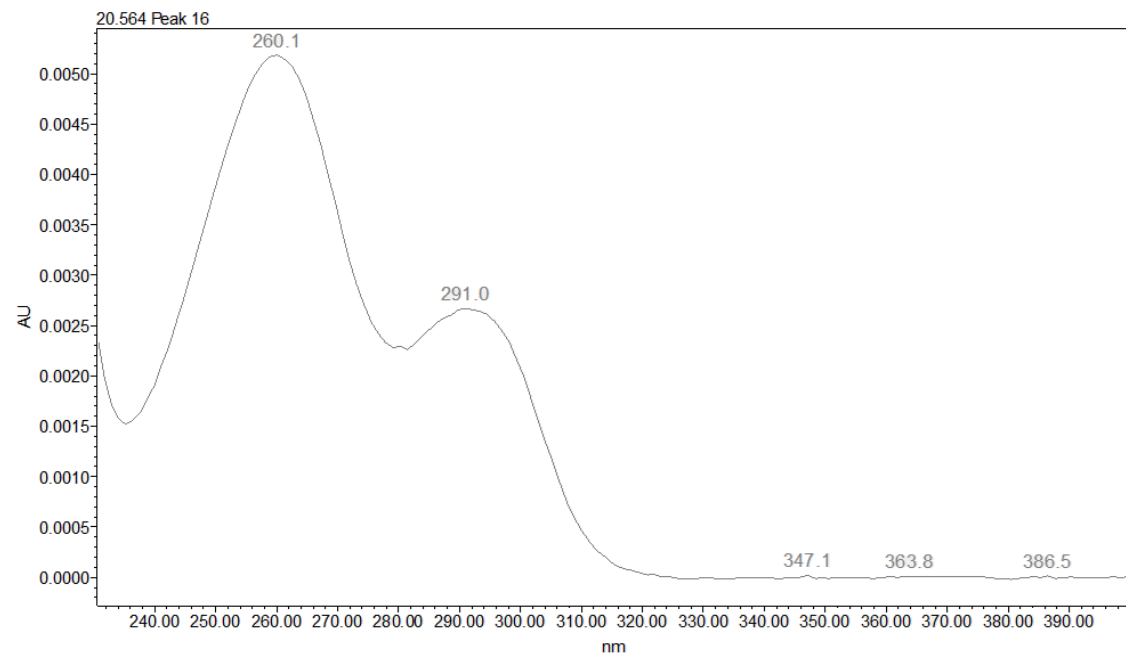
3 Derivado do ácido
 siríngico $6,78 \pm 0,05$



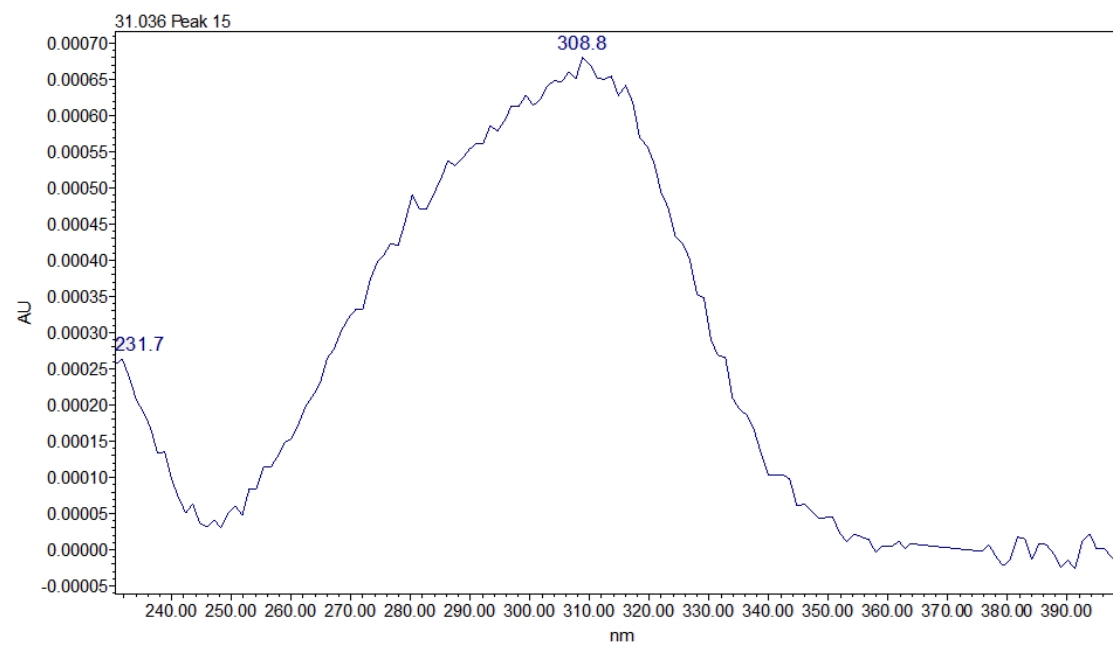
4 Derivado do ácido
 gálico $9,42 \pm 0,03$



5 Derivado do ácido $20,70 \pm 0,11$
protocatecuico



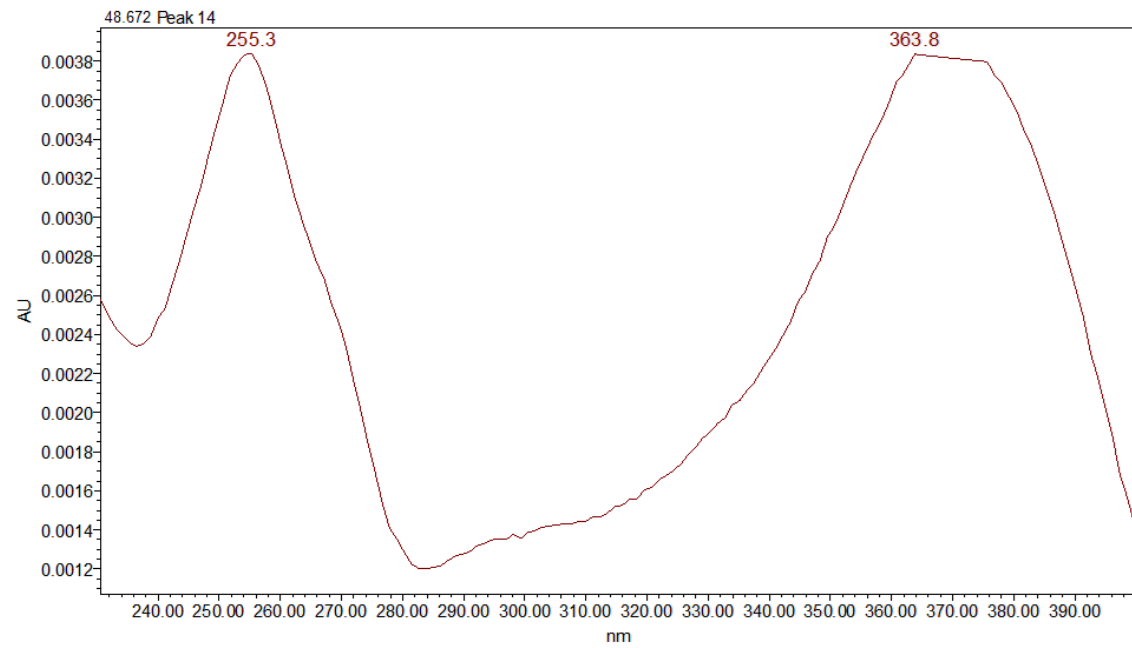
6 Ácido *p*-cumárico $31,16 \pm 0,13$



9

Derivado de
quercetina

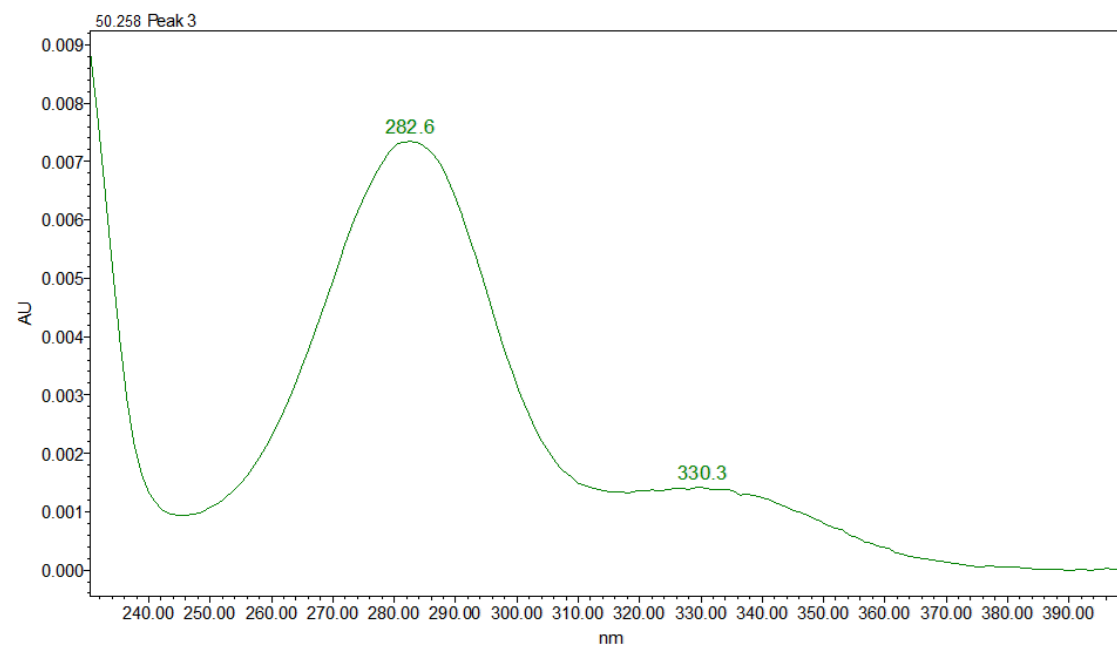
$48,67 \pm 0,11$



10

Naringina

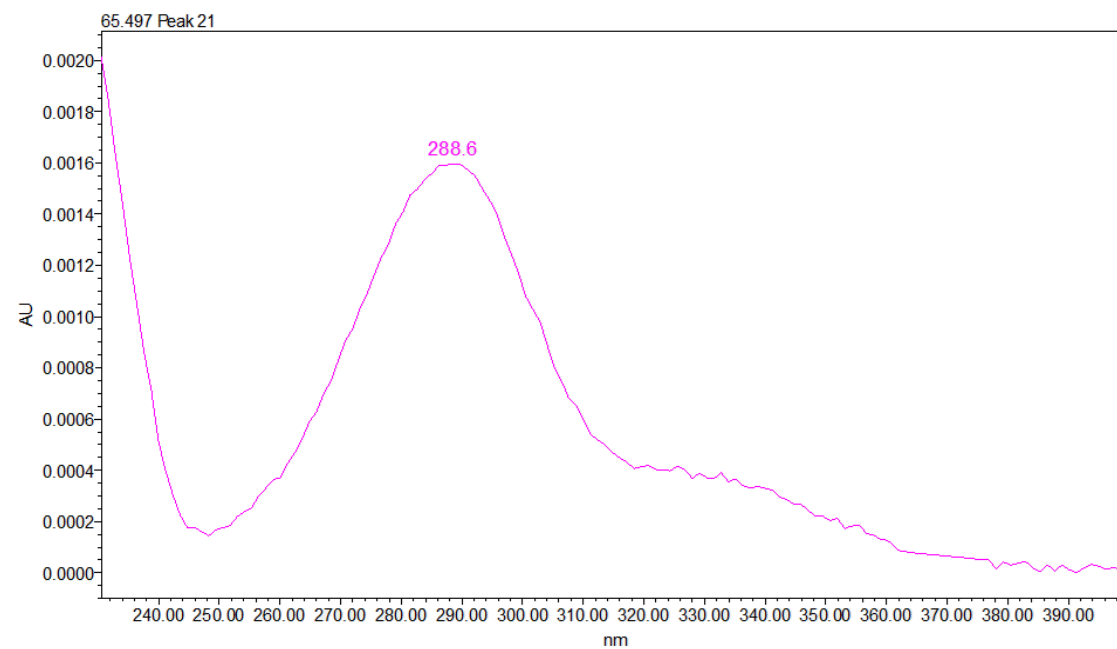
50,26± 0,10



12

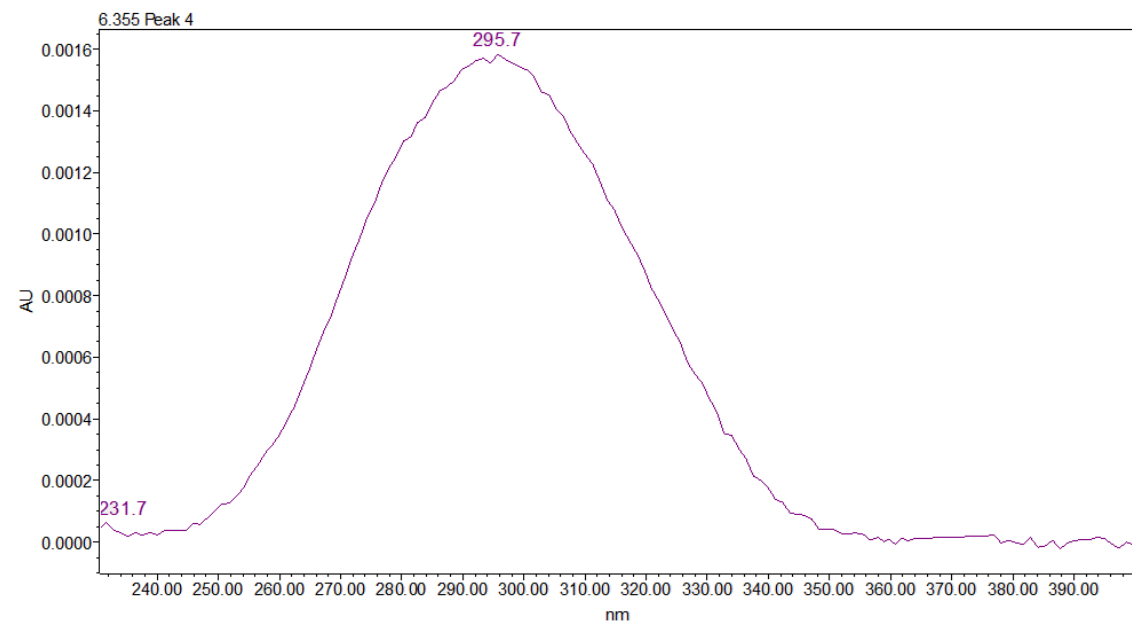
Naringenina

65,51± 0,07

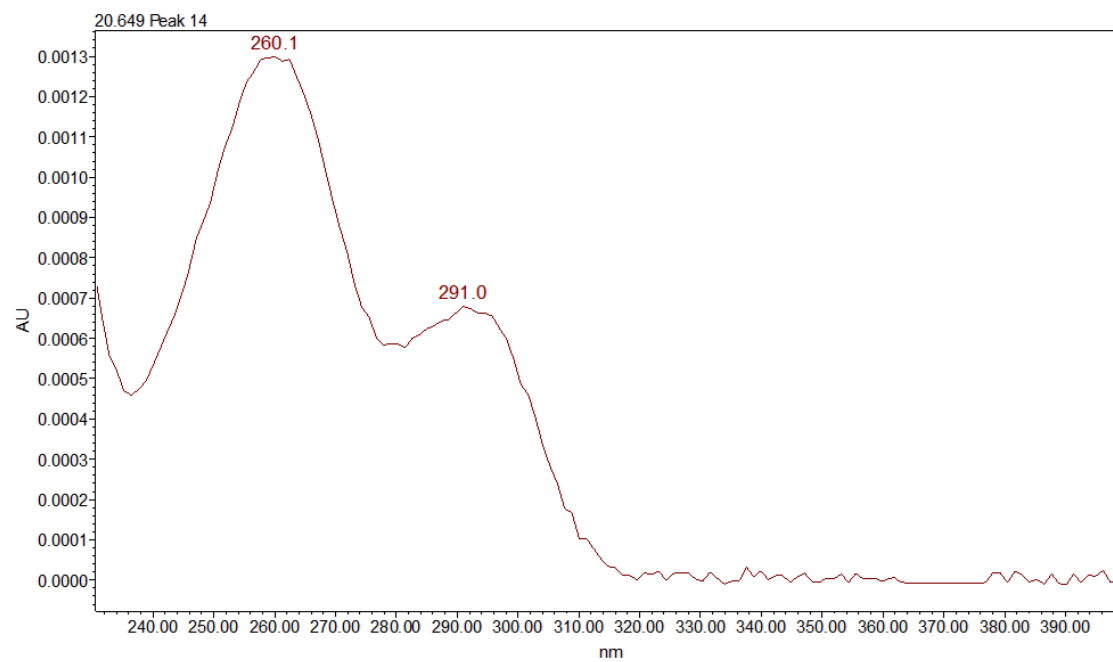


Pimenta DM1439

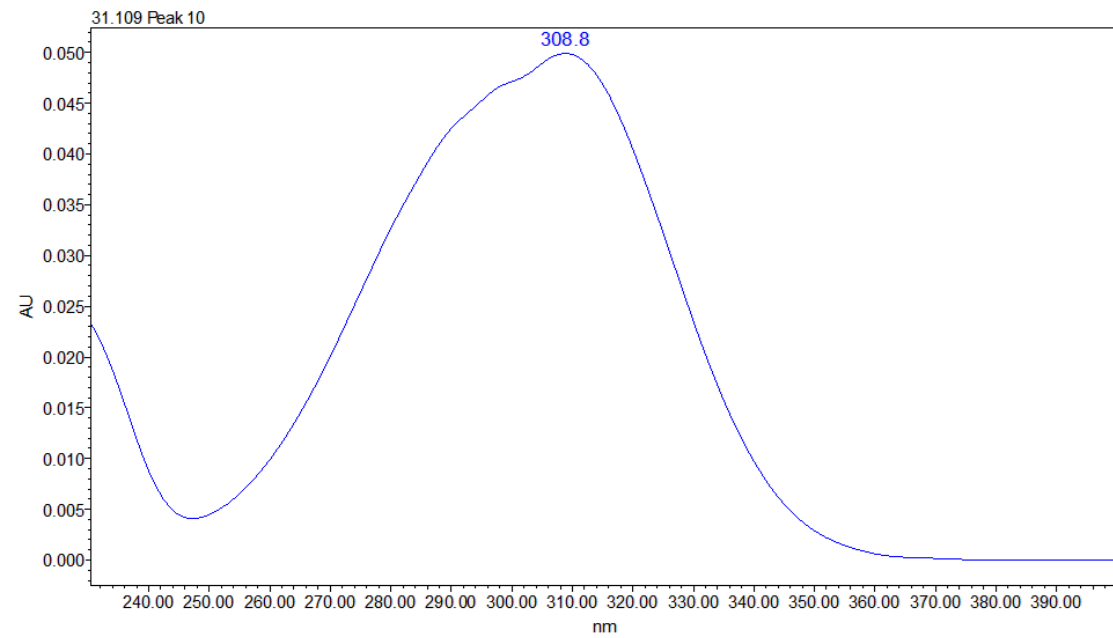
2 Derivado do ácido $6,36 \pm 0,01$
 p-cumárico



5 Derivado do ácido $20,70 \pm 0,10$
protocatecuico

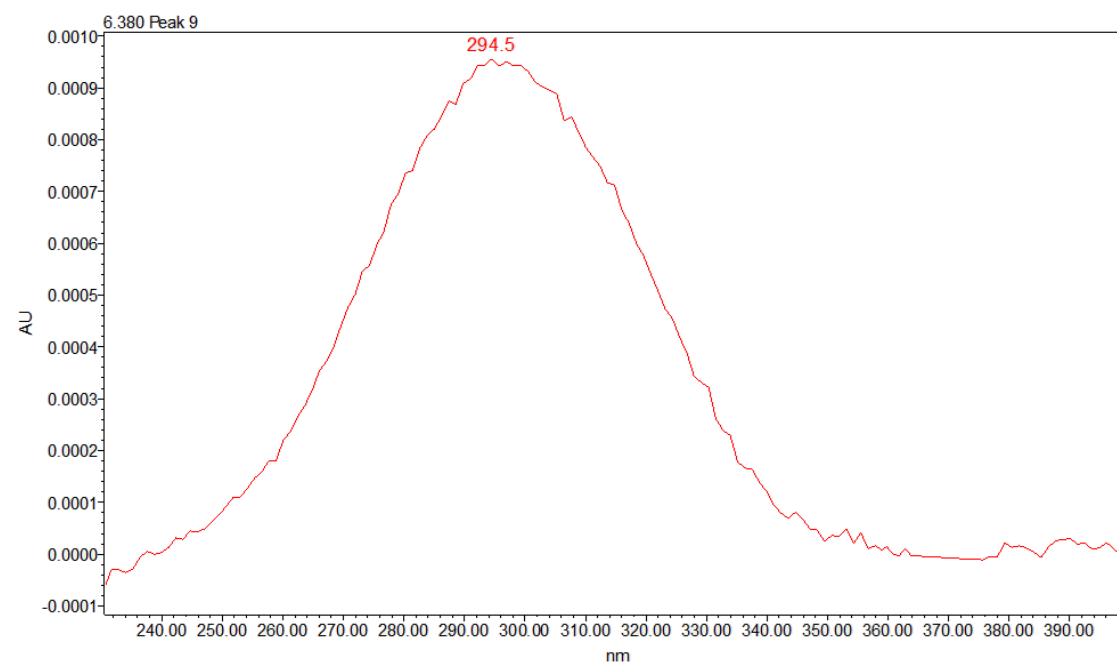


6 Ácido *p*-cumárico $31,20 \pm 0,20$

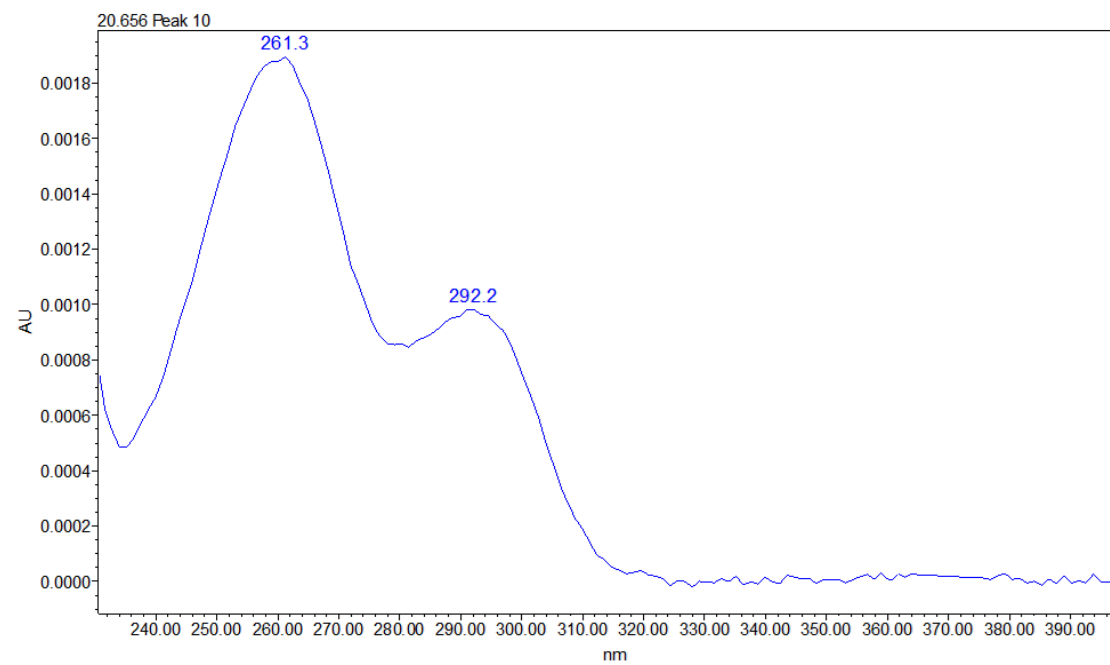


Pimenta DM1441

2 Derivado do ácido $6,37 \pm 0,01$
 p-cumárico

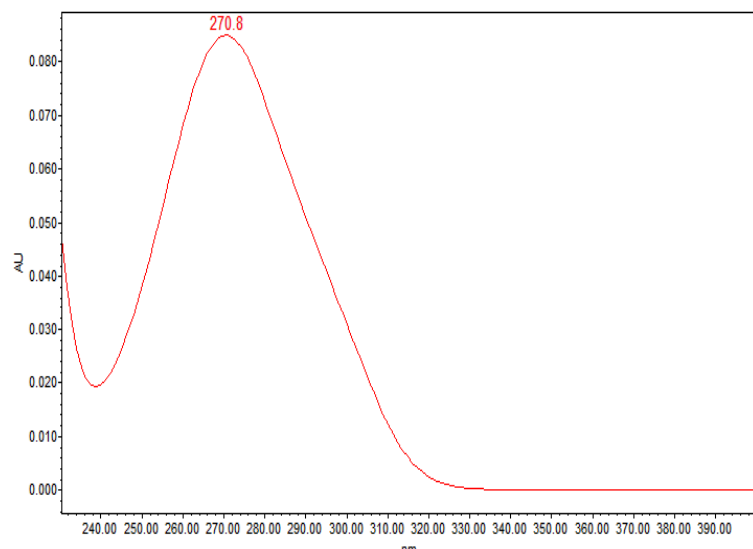


5 Derivado do ácido
protocatecuico $20,74 \pm 0,08$

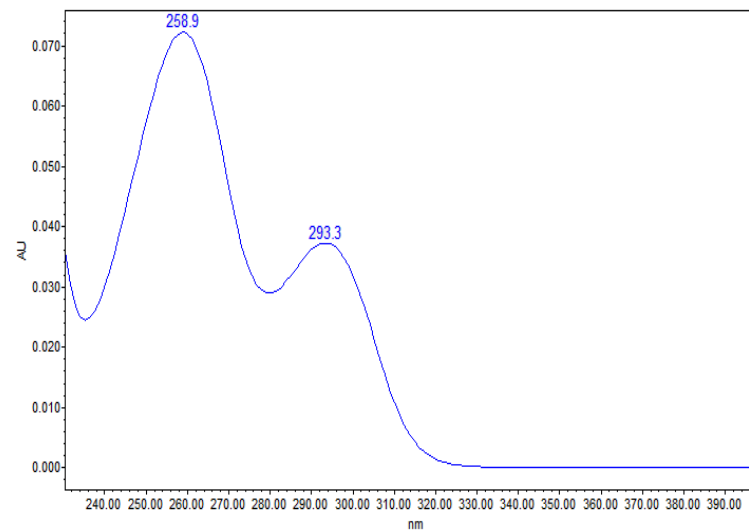


ANEXO 4

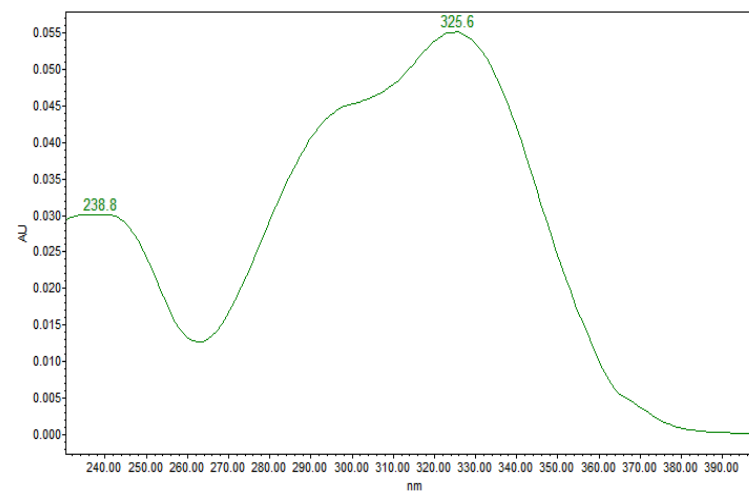
Anexo 4. Espectro de absorção no UV/Vis dos ácidos fenólicos e flavonoides.

Composto	Classe química	T _R (min)	λ máximo (nm)	Espectro absorção do UV/Vis
Ácido gálico	Ácido hidroxibenzoico	5,65 ± 0,01	270	 The figure is a line graph representing the UV-Vis absorption spectrum of Gallic acid. The x-axis is labeled 'nm' and ranges from 240.00 to 390.00 with major ticks every 10.00 units. The y-axis is labeled 'AU' (Absorbance Units) and ranges from 0.000 to 0.080 with major ticks every 0.010 units. A red curve shows the absorbance across this wavelength range. The curve starts at approximately 0.045 AU at 240 nm, dips to a local minimum of about 0.020 AU at 250 nm, then rises to a prominent peak at 270.8 nm, which is labeled with its wavelength in red text. The peak absorbance is approximately 0.082 AU. After the peak, the absorbance decreases steadily, reaching about 0.010 AU at 320 nm and remaining near 0.000 AU from 330 nm to 390 nm.

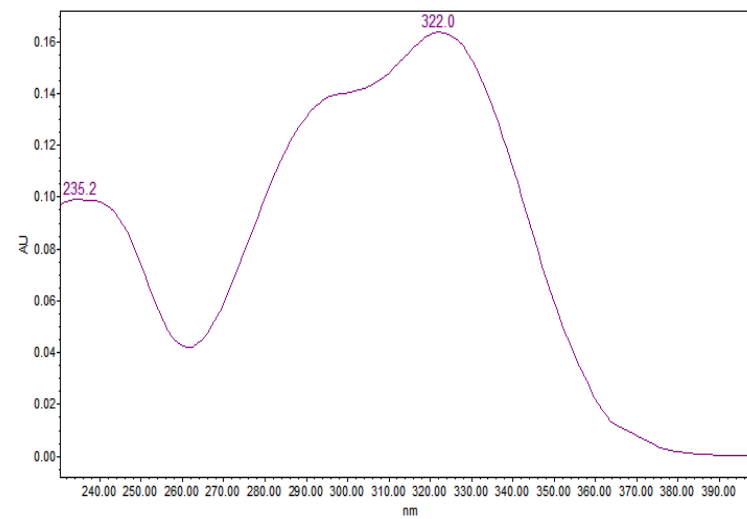
Ácido protocatecuico Ácido
hidroxibenzoico $10,54 \pm 0,01$ 255



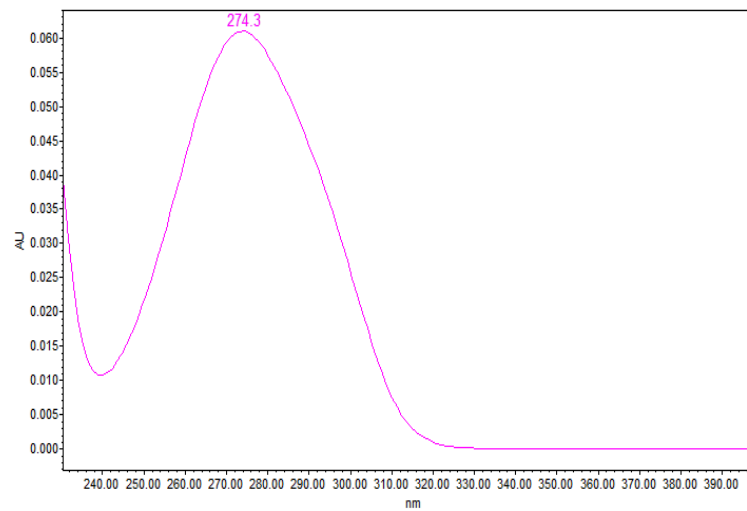
Ácido clorogênico Ácido
hidroxicinâmico $18,64 \pm 0,01$ 322



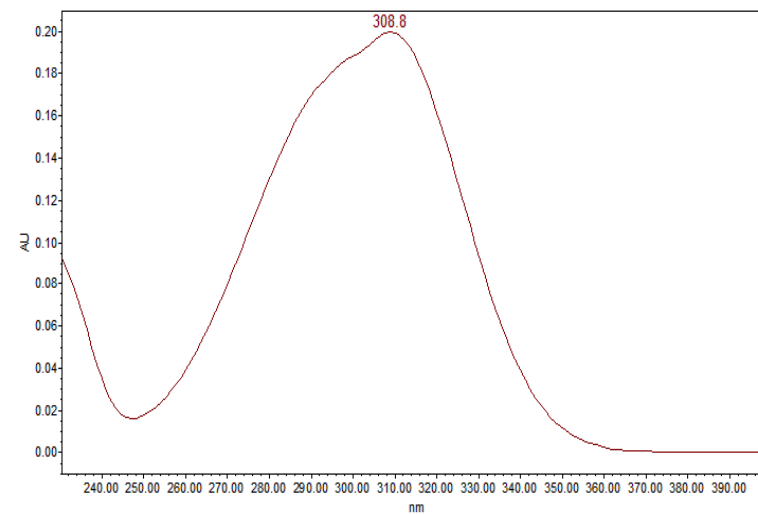
Ácido caféico Ácido
hidroxicinâmico $21,94 \pm 0,02$ 322



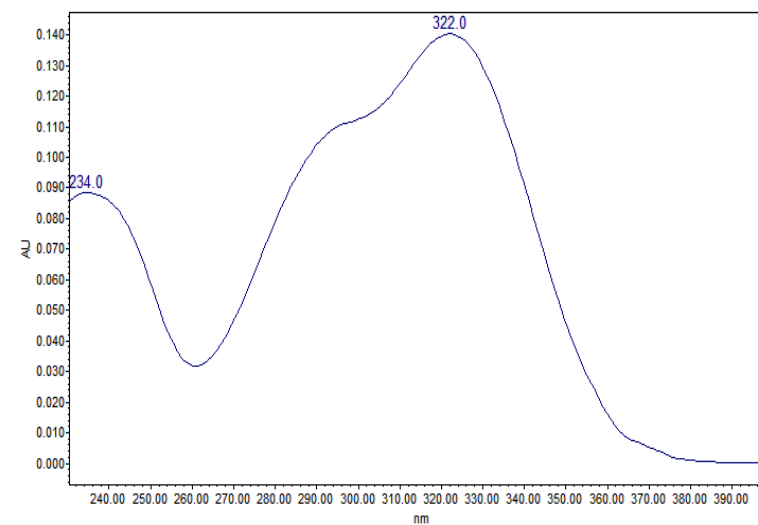
Ácido siríngico Ácido
hidroxibenzoico $23,05 \pm 0,01$ 270



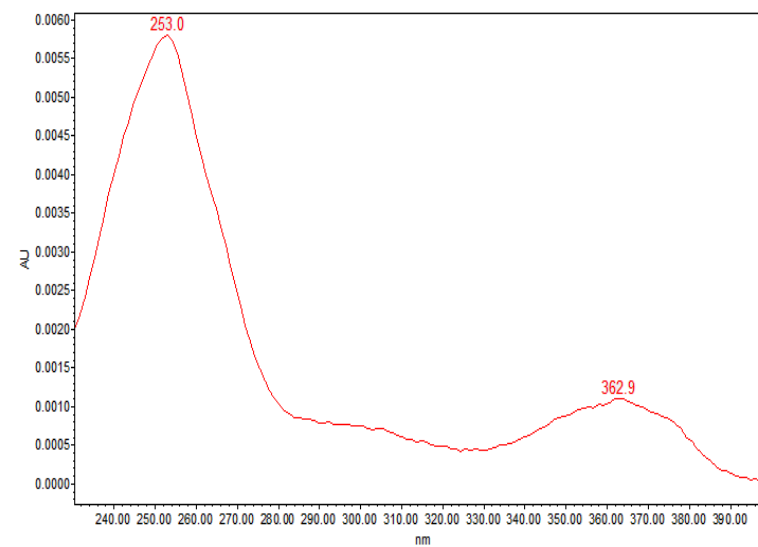
Ácido *p*-cumárico Ácido
hidroxicinâmico $31,38 \pm 0,03$ 322



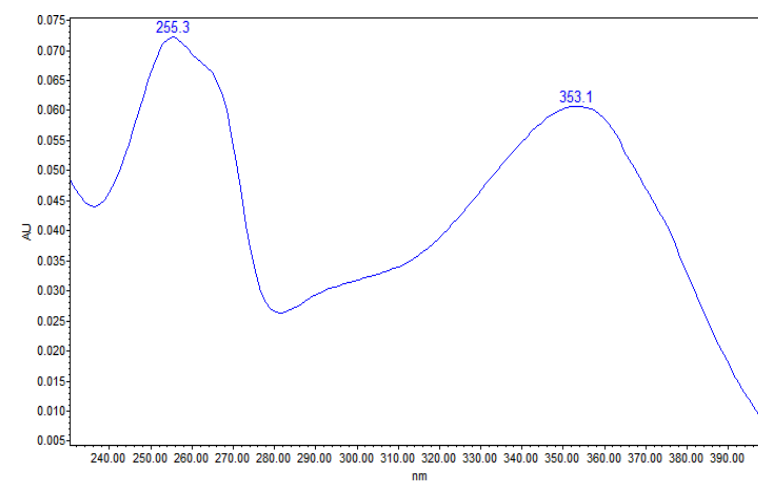
Ácido ferúlico Ácido
hidroxicinâmico $36,36 \pm 0,03$ 322



Ácido elágico Ácido
hidroxibenzoico $37,64 \pm 0,18$ 255



Rutina Flavonol $40,31 \pm 0,03$ 255

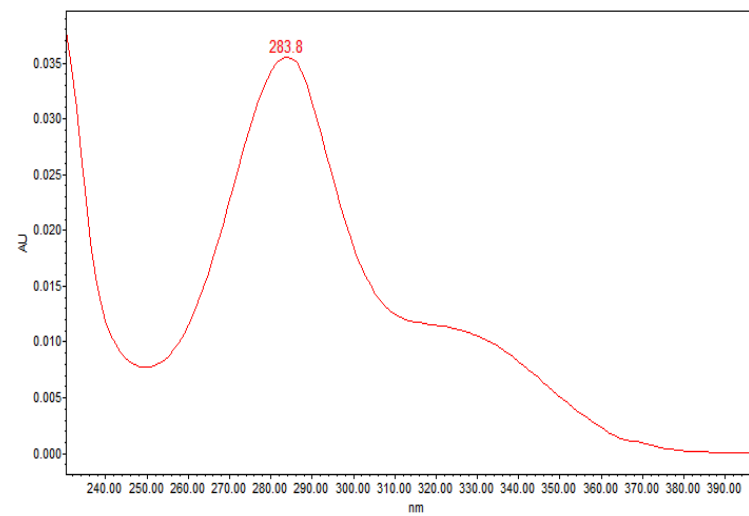


Eriocitrina

Flavanona

$40,77 \pm 0,03$

280

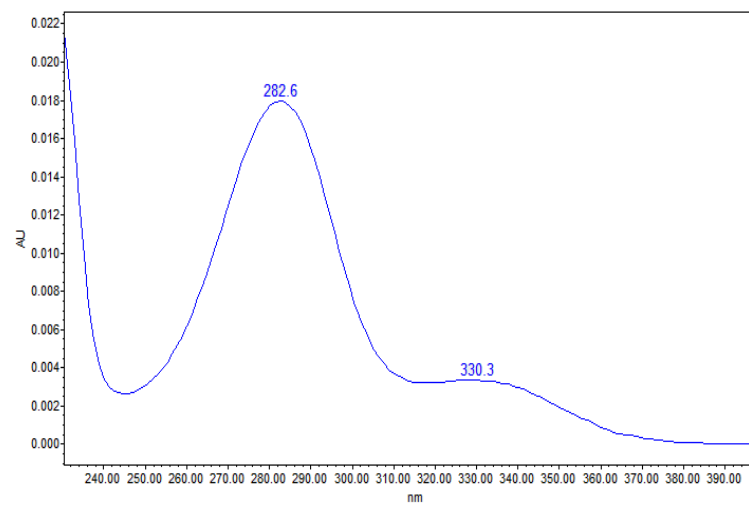


Narirutina

Flavanona

$48,22 \pm 0,04$

280

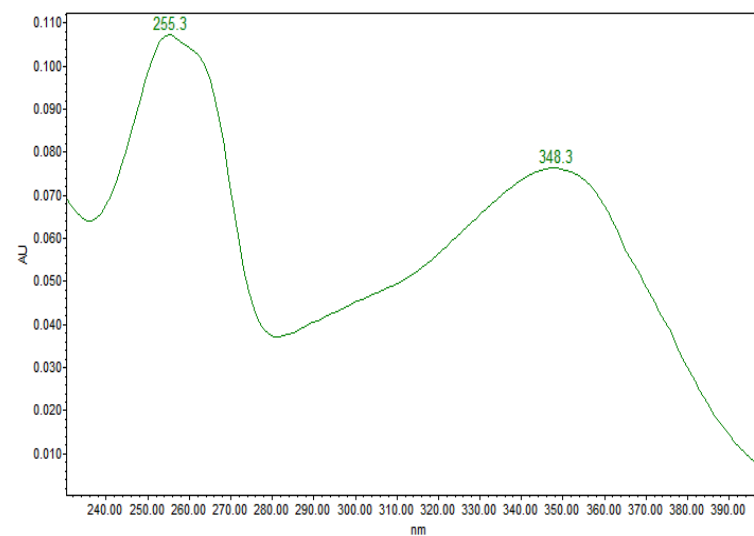


Quercitrina

Flavonol

$48,95 \pm 0,04$

255

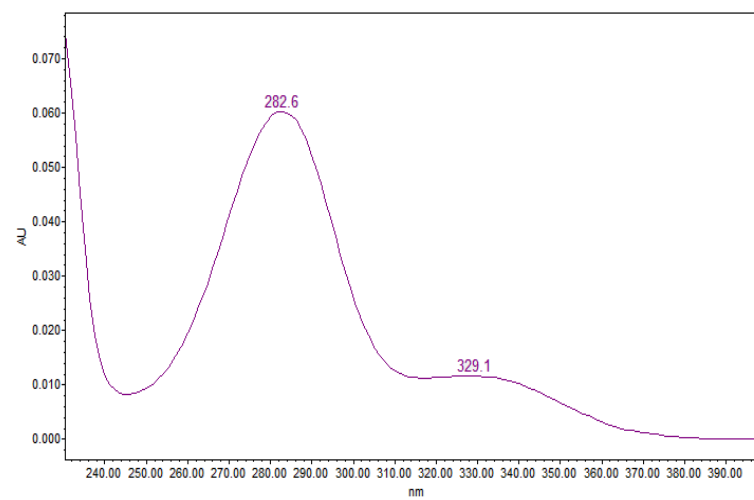


Naringina

Flavanona

$50,99 \pm 0,04$

280

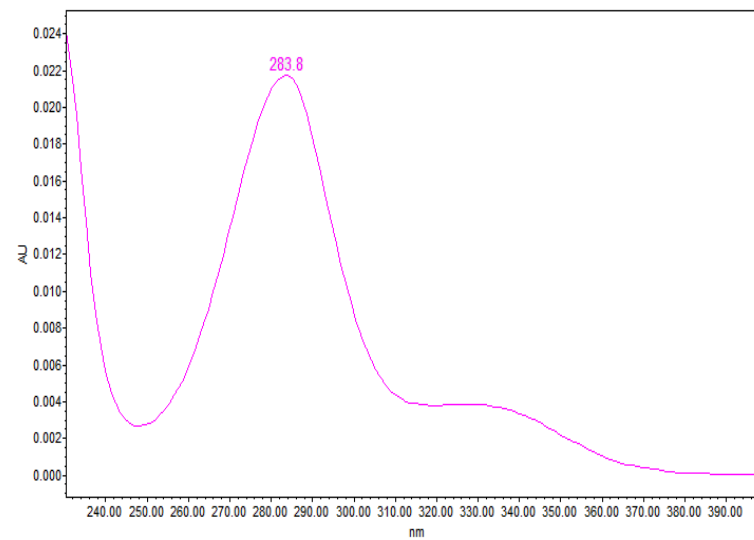


Hesperidina

Flavanona

53,02 ± 0,03

280

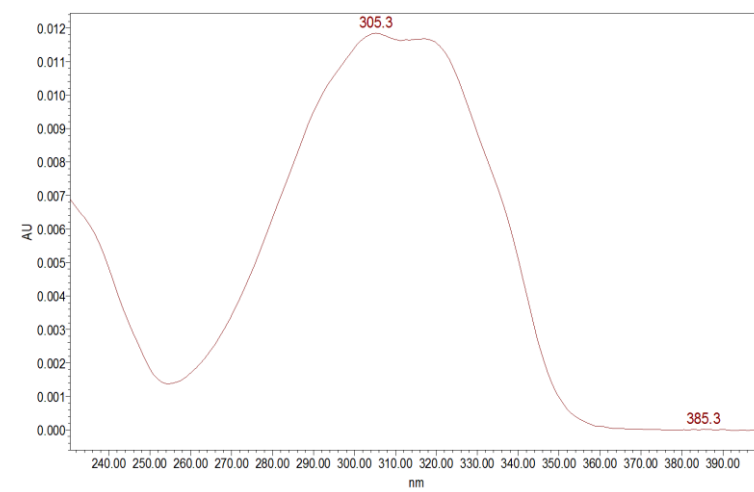


Resveratrol

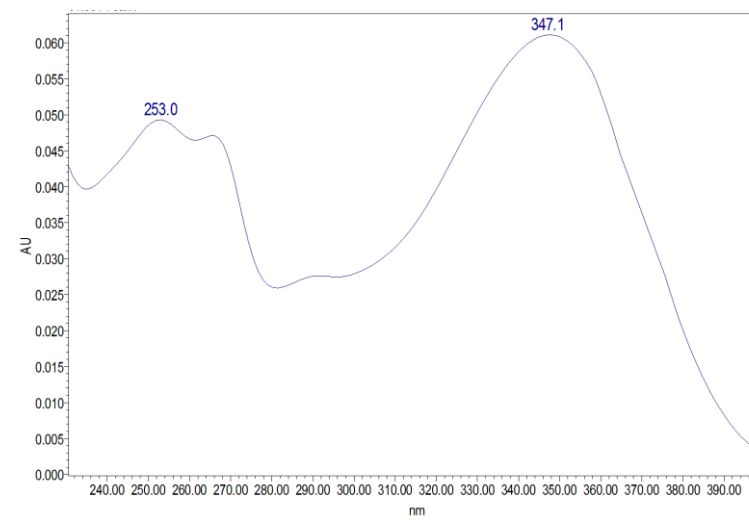
Flavona

56,08 ± 0,01

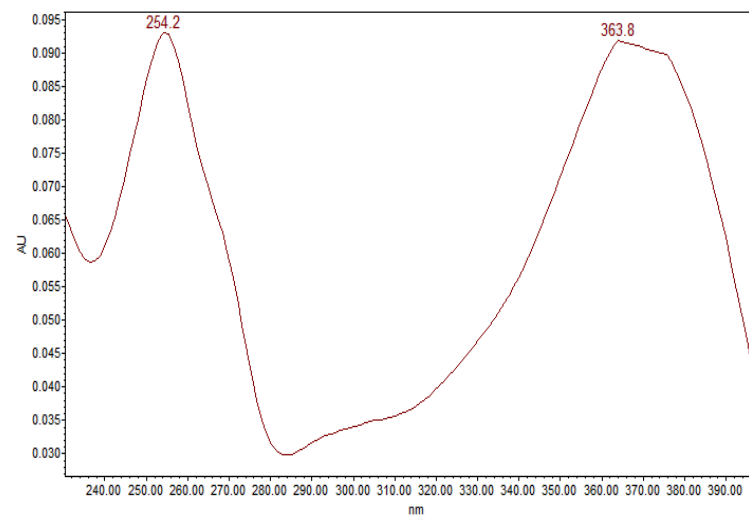
322



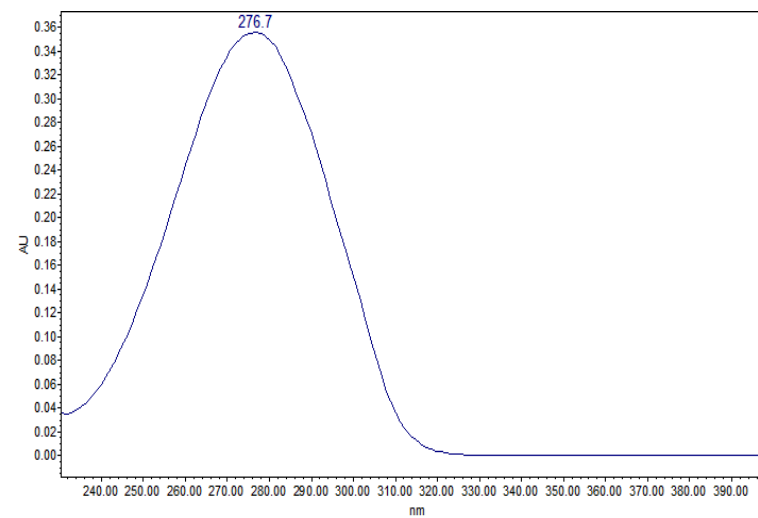
Luteolina Flavona $61,33 \pm 0,00$ 322



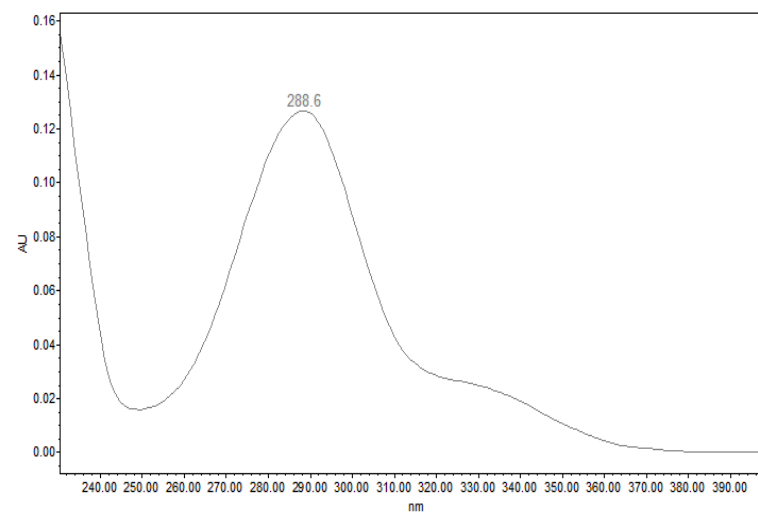
Quercetina Flavonol $61,48 \pm 0,14$ 255



Ácido trans-cinâmico Ácido
hidroxicinâmico $62,53 \pm 0,03$ 270



Naringenina Flavona $65,67 \pm 0,03$ 280

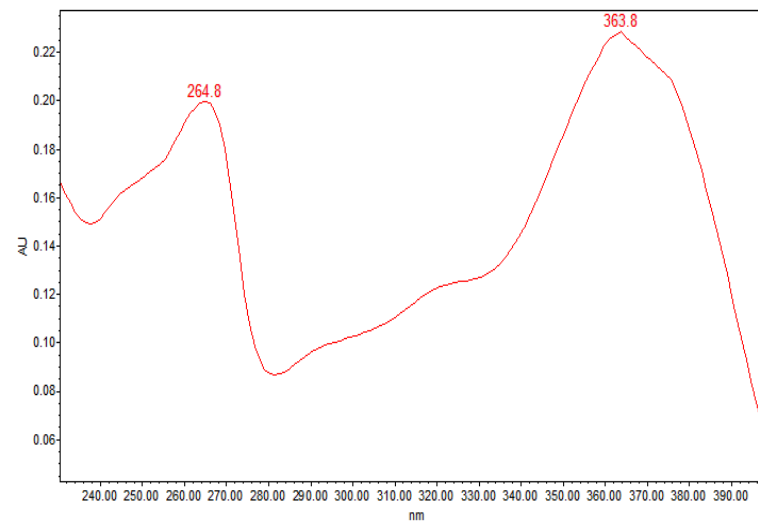


kaempferol

Flavonol

$66,42 \pm 0,02$

255

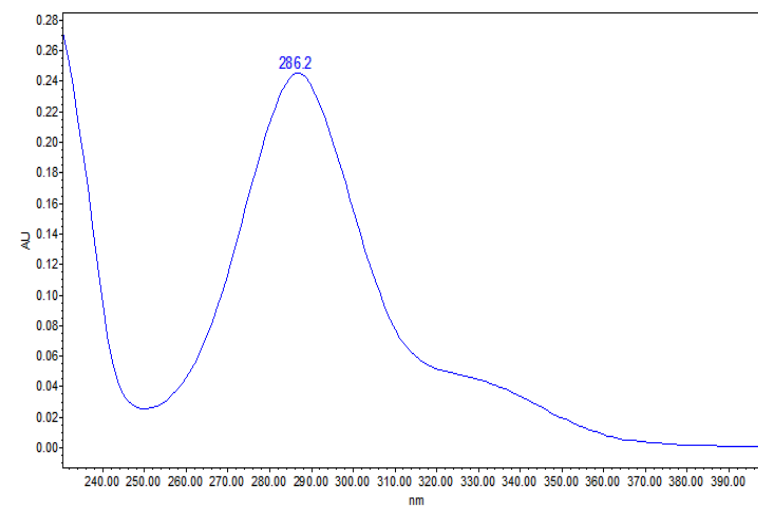


Hesperitina

Flavanona

$67,16 \pm 0,02$

280

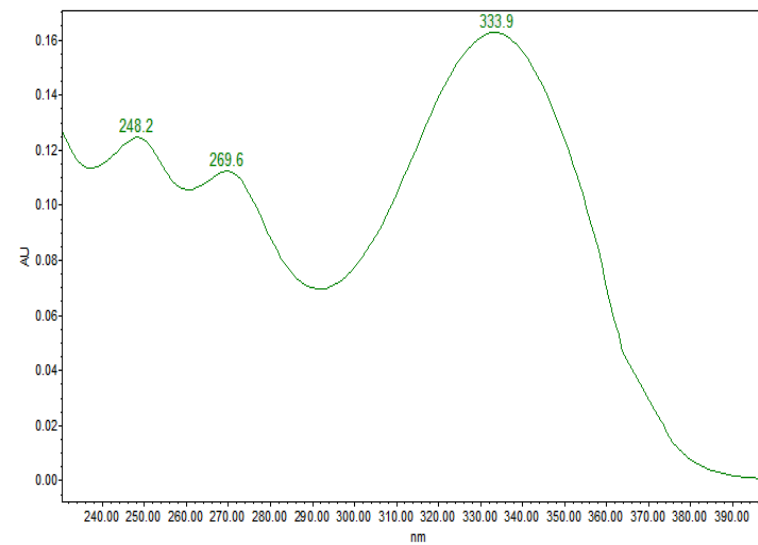


Nobiletina

Flavona

73,90 ± 0,01

322



Tangeritina

Flavona

76,61 ± 0,01

322



