



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

THAISE CRISTINE DE SOUZA OLIVEIRA

PRINCIPAIS COMPOSTOS BIOATIVOS E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE NA POLPA DO CAMU-CAMU (*Myrciaria dubia*) EM
DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

BELÉM - PARÁ

2014

THAISE CRISTINE DE SOUZA OLIVEIRA

**PRINCIPAIS COMPOSTOS BIOATIVOS E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE NA POLPA DO CAMU-CAMU (*Myrciaria dubia*) EM
DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, Instituto de Tecnologia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Alessandra Santos Lopes

Coorientadora: Dr.^a Rafaella de Andrade Mattietto

BELÉM - PA

2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Oliveira, Thaise Cristine de Souza, 1987-
Principais compostos bioativos e capacidade
antioxidante da polpa do camu-camu (*myrciaria
dubia*) em diferentes estádios de maturação /
Thaise Cristine de Souza Oliveira. - 2014.

Orientadora: Alessandra Santos Lopes;
Coorientadora: Rafaella de Andrade
Mattietto.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
do Pará, Instituto de Tecnologia, Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos, Belém, 2014.

1. Engenharia bioquímica. 2. Compostos
bioativos. 3. Antioxidantes. 4. Camu-camu. I.
Título.

CDD 22. ed. 660.63

THAISE CRISTINE DE SOUZA OLIVEIRA

**PRINCIPAIS COMPOSTOS BIOATIVOS E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE NA POLPA DO CAMU-CAMU (*Myrciaria dubia*) EM
DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

Data da Avaliação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Alessandra Santos Lopes
(PPGCTA/ITEC/UFPA - Orientadora)

Dr.^a Rafaella de Andrade Mattietto
(Embrapa Amazônia Oriental - Coorientadora)

Dr.^a Walnice Maria Oliveira do Nascimento
(Embrapa Amazônia Oriental - Membro)

Prof. Dr. Rosinelson da Silva Pena
(PPGCTA/ITEC/UFPA - Membro)

Aos meus pais, José Maria e Eleni, pelo apoio e amor incondicional em todas as etapas da minha vida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter concedido forças nos momentos de fraqueza e sabedoria para superar as dificuldades enfrentadas.

Aos meus queridos pais, José Maria e Eleni, por todo apoio e amor incondicional.

Aos meus irmãos Tamile, Tadeu e Tiago pelo companheirismo e apoio nos momentos mais adversos e aos meus sobrinhos Victor e Ana Luíze, um presente de Deus na minha vida, por me mostrarem que sempre há um motivo para sorrir.

Ao meu namorado Rafael Rodrigues, pela compreensão, apoio e incentivo durante o mestrado.

À Prof.^a Dr.^a Alessandra Santos Lopes, pela orientação, pelo apoio e por ter confiado a mim este trabalho. Muito obrigada por todo o aprendizado que eu obtive.

À Dr.^a Rafaella de Andrade Mattietto, pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental e coorientadora deste trabalho, pela oportunidade de realização deste na referida empresa, pela orientação, pelo acompanhamento durante a elaboração do estudo, pela atenção, pelo incentivo, por ter sido uma verdadeira amiga. Meu muito obrigada!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Rosinelson da Silva Pena e Dr.^a Walnice Maria Oliveira do Nascimento, pelas importantes contribuições apresentadas.

A todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) que muito auxiliaram e contribuíram para a minha formação.

À Dr.^a Walnice Maria Oliveira do Nascimento, pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, pela concessão do camu-camu utilizado nesta pesquisa.

À Dr.^a Ana Vânia Carvalho, pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, pelo auxílio nas análises de capacidade antioxidante.

À amiga e companheira de laboratório Aline Ozana de Souza pela amizade, cumplicidade e apoio nos bons e maus momentos.

Às técnicas do laboratório de Agroindústria da Embrapa Amazônia Oriental Lorena, Conceição e D. Ana pelo auxílio em parte das análises químicas.

Aos amigos do PPGCTA Aline Ozana, Francília, Deusa, Fabielle, Renan, Leilane, Wanessa Araújo, Wanessa Oliveira, Gilciane, Paula Moia, Bruno, Lúcia, Luciana, Aline Nakata, Cláudia, Paula Helayne, Márcio, Brenda, Suenne, Luã, Suanne, Ted, Cleidiane e Renato pelos valiosos momentos de estudo e descontração.

Ao amigo Nouglas Mendes pela importante contribuição nos dias de coleta do camu-camu. Muito obrigada!

Aos amigos Amanda, Jacqueline, Sérgio, Elaine e Bianca, pela agradável convivência no laboratório, por toda a ajuda prestada e amizade construída. Contem comigo sempre!

À Embrapa Amazônia Oriental pela permissão do uso de suas instalações para realização das minhas análises.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

Este estudo teve como objetivo determinar as características físicas, físico-químicas, compostos bioativos e a capacidade antioxidante da polpa de camu-camu de três progênies, provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de camucamuzeiro, da Embrapa Amazônia Oriental, em três estádios de maturação. Ao longo do amadurecimento, as massas e os diâmetros variaram ($p \leq 0,05$) somente na progênie 44 e o rendimento em polpa aumentou em todas as progênies, com valores superiores a 50% no estágio maduro. O estágio de maturação não mostrou efeito somente nos teores de umidade, cinzas e pH da progênie 38; cinzas da progênie 44 e lipídios e fibras insolúveis da progênie 17. Os demais resultados variaram com o amadurecimento, porém, com comportamentos diferentes em cada progênie, exceto os teores de açúcares totais, sólidos solúveis e relação SS/ATT, que mostraram tendência de aumento, e a acidez titulável total, que diminuiu em todas as progênies. No geral, foram obtidos maiores conteúdos de vitamina C no estágio verde, com uma primeira etapa de degradação, ao atingir o estágio semimaduro, seguido de uma etapa de síntese até o final da maturação, exceto na progênie 38, que mostrou somente redução. Quanto aos compostos fenólicos, durante o amadurecimento, as três progênies foram caracterizadas por processos de síntese e degradação de compostos fenólicos totais; os flavanóis totais diminuíram; os flavonóis comportaram-se de maneira distinta entre as progênies, com elevação do conteúdo nas progênies 17 e 38, e redução na progênie 44; devido à limitação do método utilizado para pequenas quantidades, foi possível quantificar antocianinas somente nas progênies 17 e 44 no estágio maduro. As capacidades antioxidantes, por meio dos métodos TEAC e DPPH, diminuíram em todas as progênies. Além do efeito significativo do estágio de maturação, os resultados mostraram que a variabilidade genética do camu-camu influenciou de forma significativa nas características físicas dos frutos e nos conteúdos de todos os compostos estudados, além das capacidades antioxidantes obtidas pelos métodos utilizados.

Palavras-chave: *Myrciaria dubia*, estágio de maturação, progênie, caracterização físico-química, compostos fenólicos, vitamina C.

ABSTRACT

This study aimed to determine physical and physico-chemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant capacity from camu-camu pulp of three different progenies, came from Active Germplasm Bank of camucamuzeiro, at Embrapa Amazônia Oriental, in three ripening stages. Over the ripening, the mass and the diameters varied ($p \leq 0.05$) just for progeny 44 and the pulp yield increased for all the progenies, with results over 50% in the ripe stage. The ripening stage didn't show effects in the moisture and ashes content and also pH for progeny 38; ashes for progeny 44 and fat and insoluble fibers for progeny 17. The others results varied with the ripening, but, with different behaviors to each progeny, except for the total sugar, soluble solids contents and the SS/TTA ratio, which showed a tendency to increase, and the total titratable acidity decreased in all the progenies. Overall, a higher level of vitamins C were obtained in the green stage, with a first step of degradation, as it reached the semi-ripe stage, followed by a synthesis step until the end of the ripening stage, except for the progeny 38, which showed a reduction. As for the phenolic compounds, during the ripening stage, the three progenies were characterized for synthesis and degradation processes of the total phenolic compounds; the total flavanols decreased; the flavonols content had a distinct behavior in each progeny, with an increasing in the progenies 17 and 38, and a decreasing in the progeny 44; due to a limitation of the method used to determine small quantities, It was possible to quantify anthocyanins only for progenies 17 and 44 in the ripening stage. The antioxidant capacity, determined through the methods TEAC and DPPH, decreased in all the progenies. Besides the significant effects of the ripening stage, the results showed that the genetic variability of camu-camu influenced significantly the physical characteristics of the fruits and the contents of all compounds studied, and still the antioxidant capacity obtained through the methods mentioned.

Keywords: *Myrciaria dubia*, ripening stage, progeny, physico-chemical characterization, phenolic compounds, vitamin C.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A) Camucamuzeiros em solo inundado; (B) Camucamuzeiros em terra firme.....	19
Figura 2. Aspectos do fruto camu-camu (<i>Myrciaria dubia</i>). (A) Frutos na planta; (B) Visualização interna do fruto maduro.....	21
Figura 3. Estrutura química dos principais grupos de compostos fenólicos.....	28
Figura 4. Estrutura química dos flavonoides.....	30
Figura 5. Estrutura básica do pigmento antocianidina, o cátion flavilium.....	31
Figura 6. Estrutura geral de proantocianidinas (R = OH: prodelfinidinas; R = H: procianidinas).....	33
Figura 7. Química do método da vanilina para taninos condensados.....	34
Figura 8. Química do ácido L-ascórbico.....	36
Figura 9. Via pentose fosfato para a síntese de compostos fenólicos.....	37
Figura 10. Vias propostas para a biossíntese do ácido L-ascórbico nas plantas e nos animais.....	38
Figura 11. Estabilização do radical ABTS ^{•+} por antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.....	44
Figura 12. Estrutura do DPPH e sua redução por um antioxidante (RH).....	45
Figura 13. Frutos de camu-camu utilizados nas análises.....	46
Figura 14. Massa fresca (g) dos frutos de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	55
Figura 15. Diâmetro longitudinal (cm) dos frutos de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	55
Figura 16. Diâmetro transversal (cm) dos frutos de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	56
Figura 17. Rendimento (%) em polpa dos frutos de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	58
Figura 18. Teor de umidade (%) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	59
Figura 19. Teor de cinzas (%) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	61
Figura 20. Teor de proteínas (%) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	62

Figura 21. Teor de lipídios (%) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	63
Figura 22. Teor de fibra insolúvel (%) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	65
Figura 23. Teor de açúcares totais (%) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	66
Figura 24. Acidez titulável total (g ácido cítrico/100 g de polpa seca) e potencial hidrogeniônico (pH) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação. (A) Progênie 17, (B) Progênie 38 e (C) Progênie 44.....	68
Figura 25. Teor de sólidos solúveis (°Brix) e relação SS/ATT da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação. (A) Progênie 17, (B) Progênie 38 e (C) Progênie 44.....	71
Figura 26. Teor de vitamina C (g/100 g) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	74
Figura 27. Teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/100 g) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	77
Figura 28. Teor de flavanóis totais (mg CE/100 g) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	80
Figura 29. Teor de flavonóis (mg QE/100 g) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	81
Figura 30. Capacidade antioxidante total pelo método TEAC (μ M Trolox equivalente/g) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	85
Figura 31. Cinética de reação do radical DPPH da polpa de camu-camu, nos três estádios de maturação: (A) Verde; (B) Semimaduro; (C) Maduro.....	87
Figura 32. Capacidade antioxidante total pelo método DPPH (EC_{50} expresso em g polpa/g DPPH) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição centesimal e propriedades físicas, físico-químicas e químicas de frutos de camu-camu de acordo com diferentes autores.....	24
Tabela 2. Características visuais utilizadas para diferenciação dos três estádios de maturação dos frutos de camu-camu.....	46
Tabela 3. Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as variáveis pH e acidez titulável total da polpa de camu-camu de três progênies, em função do estágio de maturação.....	70
Tabela 4. Teor de antocianinas (mg CGE/100 g) da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação.....	83
Tabela 5. Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os compostos bioativos e a capacidade antioxidante (base seca) da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação.....	90

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A - Características físicas dos frutos de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	107
APÊNDICE B - Rendimento (%) em polpa dos frutos de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	108
APÊNDICE C - Caracterização físico-química da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	109
APÊNDICE D - Teor de compostos fenólicos totais, flavanóis, flavonóis e antocianinas da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	111
APÊNDICE E - Capacidade antioxidante obtida por meio dos métodos ABTS e DPPH da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.....	112

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 GERAL.....	17
2.2 ESPECÍFICOS.....	17
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
3.1 CAMU-CAMU (<i>Myrciaria dubia</i>).....	18
3.1.1 Características botânicas e geográficas.....	18
3.1.2 Variabilidade genética e germoplasma.....	19
3.1.3 Características do fruto.....	20
3.1.4 Composição e valor nutricional.....	22
3.2 COMPOSTOS BIOATIVOS.....	25
3.2.1 Compostos fenólicos.....	26
3.2.1.1 Flavonoides.....	28
3.2.1.2 Flavonóis.....	30
3.2.1.3 Antocianinas.....	30
3.2.1.4 Flavanóis.....	32
3.2.2 Vitamina C (ácido ascórbico).....	35
3.3 BIOSÍNTESE DE COMPOSTOS BIOATIVOS.....	36
3.3.1 Biossíntese dos compostos fenólicos.....	36
3.3.2 Biossíntese da vitamina C.....	37
3.4 RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES.....	39
3.4.1 Métodos <i>in vitro</i> de determinação da capacidade antioxidante.....	41
3.4.1.1 Método TEAC.....	43
3.4.1.2 Método DPPH.....	44
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	46
4.1 MATERIAL.....	46
4.1.1 Matéria-prima.....	46
4.1.2 Tratamento e conservação das amostras.....	47
4.2 MÉTODOS.....	47
4.2.1 Caracterização física dos frutos de camu-camu.....	47
4.2.2 Caracterização físico-química da polpa de camu-camu.....	47
4.2.2.1 Umidade.....	48

4.2.2.2 Cinzas.....	48
4.2.2.3 Proteínas.....	48
4.2.2.4 Lipídios.....	48
4.2.2.5 Fibra insolúvel.....	48
4.2.2.6 Açúcares totais.....	48
4.2.2.7 Acidez titulável total (ATT).....	49
4.2.2.8 Potencial hidrogeniônico (pH).....	49
4.2.2.9 Sólidos solúveis (SS).....	49
4.2.2.10 Relação SS/ATT.....	49
4.2.3 Compostos bioativos da polpa de camu-camu.....	49
4.2.3.1 Vitamina C.....	49
4.2.3.2 Compostos fenólicos totais.....	50
4.2.3.3 Flavanóis totais.....	51
4.2.3.4 Flavonóis.....	51
4.2.3.5 Antocianinas totais.....	52
4.2.4 Capacidade antioxidante <i>in vitro</i>.....	52
4.2.4.1 Obtenção do extrato.....	52
4.2.4.2 Método TEAC.....	53
4.2.4.3 Método DPPH.....	53
4.3 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS.....	54
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS FRUTOS DE CAMU-CAMU.....	55
5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA POLPA DE CAMU-CAMU.....	59
5.2.1 Umidade.....	59
5.2.2 Cinzas.....	60
5.2.3 Proteínas.....	62
5.2.4 Lipídios.....	63
5.2.5 Fibra insolúvel.....	64
5.2.6 Açúcares totais.....	66
5.2.7 Acidez titulável total (ATT) e potencial hidrogeniônico (pH).....	67
5.2.8 Sólidos solúveis (SS) e Relação SS/ATT.....	70
5.3 COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE CAMU-CAMU.....	73
5.3.1 Vitamina C.....	73
5.3.2 Compostos fenólicos totais.....	76

5.3.3 Flavanóis totais.....	79
5.3.4 Flavonóis.....	81
5.3.5 Antocianinas totais.....	82
5.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i>	84
5.4.1 Método TEAC.....	84
5.4.2 Método DPPH.....	86
5.5 CORRELAÇÃO ENTRE OS COMPOSTOS BIOATIVOS E A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i>	89
6 CONCLUSÃO.....	92
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
APÊNDICES.....	107

1 INTRODUÇÃO

O camucamuzeiro (*Myrciaria dubia*) pertence à família Myrtaceae. É espécie arbustiva nativa da região Amazônica, que ocorre naturalmente às margens de rios e lagos, e está em fase de domesticação (RODRIGUES et al., 2004; CARVALHO, 2012). A planta produz frutos com grande potencial para as indústrias alimentícias, de cosméticos e fármacos. Apesar da importância, grande parte do Brasil ainda tem pouco acesso à fruta, além de pouco conhecimento sobre as suas propriedades (FUJITA et al., 2013).

Pesquisas sobre a domesticação do camucamuzeiro vêm sendo desenvolvidas por meio de programas de melhoramento genético da espécie visando o seu cultivo em terra firme. Nesse sentido, foi implantado pela Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, Estado do Pará, o Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de camucamuzeiro, formado por acessos provenientes de populações naturais dos estados do Amazonas e Pará, e que reúne a rica variabilidade genética do camu-camu. A preservação e a caracterização da diversidade genética encontrada no BAG são necessárias, visando sua manutenção e utilização sustentável em pesquisas que resultarão na identificação de genótipos promissores, atuando assim, como apoio aos programas de melhoramento genético da espécie.

Devido aos seus altos níveis de compostos bioativos, como a vitamina C e os compostos fenólicos, o camu-camu apresenta elevada capacidade antioxidante, sendo considerado fruto de alto valor nutricional, podendo ser utilizado para a produção de alimentos funcionais. Esses compostos apresentam a capacidade de prevenir doenças degenerativas e estimular o sistema imunológico, e sua presença no fruto do camu-camu foi evidenciada por vários estudos (ZANATTA et al., 2005; ZANATTA; MERCADANTE, 2007; REYNERTSON et al., 2008; CHIRINOS et al., 2010; MYODA et al., 2010).

O ácido ascórbico tem muitas funções biológicas e desempenha papel importante como antioxidante, prevenindo danos celulares causados pela oxidação. Os compostos fenólicos também atuam como antioxidantes, uma vez que são conhecidos como sequestradores de radicais livres (BARRETO; BENASSI; MERCADANTE, 2009).

Nos últimos anos, tem havido uma tendência mundial em uso de fitoquímicos naturais como antioxidantes e ingredientes funcionais, que estão presentes em alimentos como legumes, frutas, oleaginosas e ervas (AKTER et al., 2011). A importância dos antioxidantes na dieta é crucial para a saúde devido à sua capacidade de reduzir ou interromper a oxidação de radicais livres, que são moléculas que contêm um elétron não emparelhado (THOMAS,

2000), sendo responsáveis por muitas doenças degenerativas, como catarata, aterosclerose, morte celular e câncer (FRIEDMAN, 1997).

No processo de amadurecimento dos frutos de camu-camu, o epicarpo sofre alteração da cor verde para vermelho e roxo, o que ocorre devido a presença de antocianinas (ZANATTA et al., 2005). Mudanças no conteúdo e perfis de outros fitoquímicos como a vitamina C e compostos fenólicos também são evidentes (CHIRINOS et al., 2010). Portanto, a quantidade desses compostos no fruto dependerá do seu estágio de maturação. Fatores que também exercem influência são as características ambientais onde os frutos são produzidos, tais como o clima da região, tipo de solo, entre outros, bem como a variação genética.

Estudos científicos envolvendo frutos de camu-camu produzidos na região Amazônica, especialmente no Estado do Pará, sobre o efeito do estágio de maturação e das diferenças genéticas nos seus constituintes ainda são relativamente escassos, o que sugere a necessidade da avaliação desses compostos de acordo com o grau de maturação do fruto e com a variabilidade genética.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Quantificar os principais compostos bioativos e determinar a capacidade antioxidante na polpa de camu-camu, em função do estágio de maturação, em frutos de diferentes genótipos, provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de camucamuzeiro da Embrapa Amazônia Oriental.

2.2 ESPECÍFICOS

- Caracterizar fisicamente os frutos de camu-camu, em função do estágio de maturação;
- Caracterizar físico-quimicamente a polpa de camu-camu, em função do estágio de maturação;
- Determinar o teor de ácido ascórbico (vitamina C) na polpa de camu-camu, ao longo do amadurecimento, utilizando métodos titulométricos;
- Determinar o teor das principais famílias de compostos fenólicos na polpa de camu-camu, em função do estágio de maturação, utilizando métodos colorimétricos;
- Determinar a capacidade antioxidante *in vitro* da polpa de camu-camu, em função do estágio de maturação.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 CAMU-CAMU (*Myrciaria dubia*)

3.1.1 Características botânicas e geográficas

O camucamuzeiro (*Myrciaria dubia*) é encontrado naturalmente em toda a Amazônia brasileira, principalmente em áreas pantanosas ou inundadas, sendo encontrado na estação chuvosa parcial ou totalmente submerso (VIÉGAS; FRAZÃO; SILVA, 2004; CHIRINOS et al., 2010). Apresenta porte arbustivo, com 3 a 6 m de altura e pode apresentar várias ramificações. As folhas são opostas, simples, sem estípulas, elípticas, ovais ou estreitas, de 4,5 a 10 cm de comprimento e 1,5 a 4,5 cm de largura, base obtusa ou arredondada, ápice longo-acuminado e pecíolo de 3 a 6 mm de comprimento. Inflorescência mais ou menos axilar, geralmente formada por flores subsésseis, alvas e perfumadas (FERREIRA; RIBEIRO, 2006).

Geograficamente, o camucamuzeiro se distribui desde a região central do Estado do Pará, passando pelo médio e alto rio Amazonas, até a parte ocidental do Peru e extremo setentrião brasileiro, no Estado de Roraima, e no rio Casiquiare e grande parte da alta e média Bacia do Orinoco. Ao sul, no Estado de Rondônia, ocorre às margens dos rios Ji-Paraná e Candeias (RIBEIRO; MOTA; CORRÊA, 2002).

A planta consegue adaptar-se desde solos férteis, como os da várzea do Peru, onde há influência direta dos Andes, até solos pobres, como o da praia de areia branca no rio Negro, o que influencia o sistema radicular da planta. Esse fato pode influenciar diretamente na produção de fruto, onde a planta bem nutrida produz todos os anos, e as plantas em solos pobres produzem a cada dois ou três anos, acumulando a reserva para poder produzir o fruto (YUYAMA, 2011).

Apesar de sua ocorrência natural em regiões inundadas, o camucamuzeiro também pode ser cultivado em condições de terra firme, em solos com pH ácido de baixa fertilidade, em regiões que apresentam precipitações anuais variando de 1.700 a 3.000 mm (RIBEIRO; MOTA; CORRÊA, 2002). Em solos de terra firme, onde os nutrientes e a água podem ser controlados, a planta pode produzir mais de duas safras anuais (YUYAMA, 2011). As Figuras 1A e 1B apresentam camucamuzeiros no habitat original (solos inundados) e em terra firme, no campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental, localizada em Belém, no Estado do Pará, respectivamente.



Figura 1. (A) Camucamuzeiros em solo inundado (Fonte: CARVALHO, 2012); (B) camucamuzeiros em terra firme (Foto: Aline Souza).

O camucamuzeiro é planta típica do clima tropical quente e úmido, onde a temperatura média oscila entre 22 a 28 °C, suportando temperaturas mínima e máxima em torno de 17 e 35 °C e umidade relativa (UR) de 70% a até 95% (RIBEIRO; MOTA; CORRÊA, 2002).

Em terra firme, o camucamuzeiro inicia a floração entre 2,5 a 3 anos após o plantio. Nas condições edafo-climáticas de Belém, a planta demonstrou boa adaptação e desenvolvimento, florindo praticamente o ano inteiro, com a vantagem do ciclo de produção se estender durante todo o ano. O pico de produção vai de novembro a março, sendo verificados também índices menores de produção nos meses de julho e agosto (RIBEIRO; MOTA; CORRÊA, 2002). No estado silvestre o camu-camu tem apenas um período de safra, que vai de dezembro a março (PINEDO, 2002).

A produção das populações naturais em ambientes alagados na Região Amazônica varia de 3 a até 25 kg de frutos por planta (ZAMUDIO, 2007). De acordo com Ribeiro, Mota e Corrêa (2002), em pomares de camucamuzeiro implantados em condições de terra firme podem ser obtidas produções iniciais de até 6 kg de frutos frescos por planta/safra, que corresponde a 6,7 toneladas de frutos frescos por hectare/safra.

3.1.2 Variabilidade genética e germoplasma

O camucamuzeiro ocorre naturalmente em toda a bacia amazônica, o que significa que existem diferentes ecossistemas onde a planta se desenvolve e, dessa forma, haverá variação genética nas plantas originárias de diferentes regiões (YUYAMA, 2011). A manutenção dessa

variabilidade genética pode ocorrer por meio do estabelecimento de áreas de proteção ambiental e pela coleta e manutenção desses materiais, que passam então a ser denominados germoplasma (KOSHIKENE, 2009).

A preservação de germoplasma, sua avaliação e caracterização são necessárias visando à manutenção e utilização sustentável dos recursos genéticos em programas de melhoramento e pesquisas, que resultarão na identificação de genótipos promissores. Esta avaliação contribui para a prevenção de possíveis perdas genéticas, como as que podem acontecer durante as multiplicações dos acessos coletados, e possibilita o estabelecimento dos sítios ou áreas de coletas que contenham maior variabilidade, auxiliando assim na planificação de novas coletas (HOSBINO et al., 2002).

A variação genética foi comprovada quando camucamuzeiros oriundos de diferentes regiões foram instalados em terra firme no Campo Experimental do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), compondo a coleção de germoplasma de camu-camu, por meio da verificação da arquitetura da planta, análises físico-químicas dos frutos, tipo de plântula, morfologia foliar e outros (YUYAMA, 2011).

Em 1994 foi implantado o Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Camucamuzeiro, com credenciamento 035/2010-SECEX-CGEN, na Embrapa Amazônia Oriental localizada no município de Belém, Estado do Pará, com coordenadas geográficas de 48°26'45"W e 1°26'31"S. Os acessos foram provenientes de coletas realizadas as margens dos rios Javari e Jandiatuba, afluentes do rio Solimões, Estado do Amazonas, e dos rios Trombetas e Tapajós, Estado do Pará (GURGEL et al., 2012).

A espécie *Myrciaria dubia* é planta alógama de polinização cruzada, apresentando baixa taxa de geitonogamia (polinização por flores vizinhas, porém do mesmo indivíduo). Portanto, como o BAG é formado por plantas provenientes de sementes cada planta pode ser considerada uma progênie geneticamente diferente da outra (GURGEL et al., 2013).

A identificação adequada da espécie *Myrciaria dubia*, tanto em nível morfológico quanto em nível genético-molecular, atua no sentido de contribuir de modo decisivo para os programas de conservação e melhoramento genético da espécie (TEIXEIRA; CHAVES; YUYAMA, 2004).

3.1.3 Características do fruto

O fruto do camucamuzeiro é do tipo baga esférica com média de 2,5 cm de diâmetro, apresentando de 1 a 4 sementes por fruto, com formato reniforme e com fibrilas na superfície.

O epicarpo é liso e brilhante, de cor vermelho escuro até púrpura, ao amadurecer, devido à presença de antocianinas (Figura 2A). Possui mesocarpo carnoso (gelatinoso) e esbranquiçado (Figura 2B). Os frutos são conhecidos no Brasil como camu-camu, caçari ou araçá-de-água, sendo conhecidos por serem ricos em vitamina C (ALVES et al., 2002; RIBEIRO; MOTA; CORRÊA, 2002; DIB TAXI et al., 2003; ZANATTA; MERCADANTE, 2007; YUYAMA, 2011).

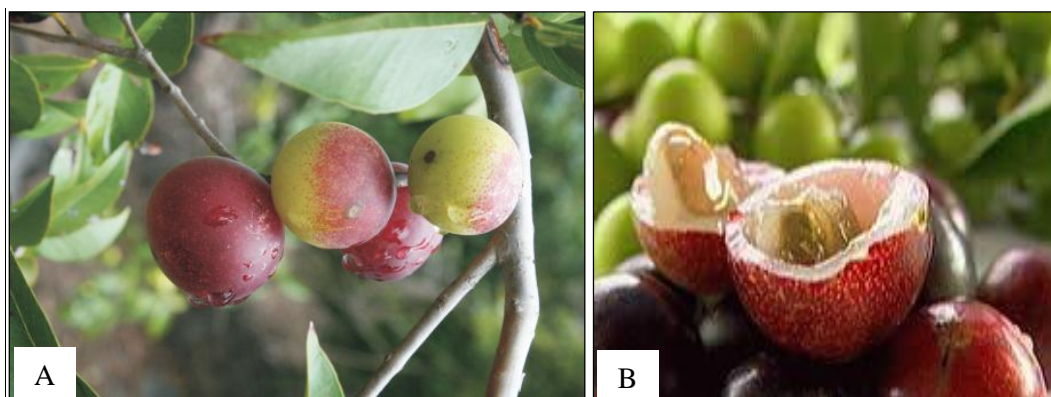


Figura 2. Aspectos do fruto camu-camu (*Myrciaria dubia*). (A) Frutos na planta (Fonte: SMIDERLE; SOUSA, 2008); (B) Visualização interna do fruto maduro (Fonte: KOSHIKENE, 2009).

Os pigmentos do camu-camu estão concentrados, predominantemente, no epicarpo (casca). Com a despolpa, esses pigmentos, bem como o ácido ascórbico, podem migrar para a polpa. Dessa forma, o método utilizado para o despulpamento contribui de maneira significativa para as quantidades desses compostos nas partes constituintes do fruto (PINEDO, 2002; MAEDA et al., 2006).

A polpa do camu-camu apresenta sabor cítrico e a casca é amarga, devido à presença de taninos, o que dificulta o consumo do fruto na forma *in natura*, levando à necessidade de pesquisas para o seu melhor aproveitamento. Devido ao seu teor particularmente elevado de vitamina C, o camu-camu é excelente alternativa para a mistura com outras matérias-primas, aumentando assim a qualidade vitamínica de produtos como sucos de frutas, néctares, doces, sorvetes, iogurtes e bebidas isotônicas (FRANCO; SHIBAMOTO, 2000; RODRIGUES et al., 2004; MAEDA et al., 2006). Na Amazônia peruana, os frutos são utilizados no preparo de refrescos, sorvetes, picolés, geleias, doces e licor; no Brasil para o preparo de cosméticos e, artesanalmente, em refrescos e licores, enquanto que nos Estados Unidos, Japão e França, as indústrias farmacêuticas os transformam em tabletes de vitamina C (VIÉGAS; FRAZÃO; SILVA, 2004).

A fruta também é considerada excelente fonte de outros compostos bioativos, como os compostos fenólicos, tais como flavanóis, flavonóis, flavanonas e antocianinas, podendo, dessa forma, ser utilizada como alimento funcional (ALVES et al., 2002). Esses compostos têm sido relatados na literatura como substâncias importantes para a prevenção de diversas doenças humanas (INOUE et al., 2008; CHIRINOS et al., 2010; GONÇALVES; LAJOLO; GENOVESE, 2010; MYODA et al., 2010; RUFINO et al., 2010; AKTER et al., 2011).

De acordo com alguns autores, o camu-camu é fruto não-climatérico e, portanto, deve permanecer na planta até atingir a fase de maturação, visto que, como não apresenta elevação na taxa respiratória próximo ao final do período de maturação, não ocorrem modificações nos parâmetros físicos e químicos após a colheita (ANDRADE, 1991; PINEDO, 2002; PINTO, 2011). No entanto, Pinto et al. (2013) mostraram que o camu-camu apresenta comportamento típico de frutos climatéricos, que têm seus processos de amadurecimento continuados após a colheita do fruto fisiologicamente maduro. Além do aumento na atividade respiratória e na produção de etileno, os frutos evoluíram na qualidade, tanto em atributos físicos quanto em químicos. Segundo os autores, a provável colheita dos frutos de camu-camu antes da sua maturidade fisiológica pode ter contribuído para o comportamento não climatérico observado em alguns estudos.

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), a maturidade fisiológica corresponde ao momento em que o fruto acumulou a maior parte das reservas. Em frutos de padrão respiratório climatérico, quando esse estágio do desenvolvimento é atingido na planta, estes podem ser colhidos visando o armazenamento, podendo amadurecer normalmente fora da planta, sem que isso venha interferir na qualidade final do fruto.

3.1.4 Composição e valor nutricional

Característica importante que vem despertando crescente interesse pelos frutos de camu-camu é o elevado teor de vitamina C (ácido ascórbico), superior ao encontrado em frutos de acerola, espécie conhecida por ser ótima fonte dessa vitamina (ALVES et al., 2002; RODRIGUES; MARX, 2006; INOUE et al., 2008). De acordo com Yuyama (2011), o teor de vitamina C no camu-camu varia de 800 a 6.100 mg/100 g de polpa e apresenta boa estabilidade.

O camu-camu também é considerado fonte de minerais, como sódio, potássio, cálcio, zinco, magnésio, manganês e cobre, além de possuir pequena quantidade de pectina e amido (AKTER et al., 2011). Glicose e frutose constituem os principais carboidratos presentes na

fruta. São encontrados diferentes tipos de aminoácidos, tais como serina, valina, leucina, glutamato, 4-aminobutanoato, prolina, fenilalanina, treonina e alanina, além de ácidos orgânicos, como o ácido cítrico, o ácido isocítrico e o ácido málico (ZAPATA; DUFOUR, 1993). Essas características, bem como a presença de carotenoides e antocianinas, fazem do camu-camu fruta de elevado valor nutricional (ZANATTA; MERCADANTE, 2007). Valores de composição centesimal e propriedades físicas, físico-químicas e químicas de frutos de camu-camu, obtidos por diferentes autores, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição centesimal e propriedades físicas, físico-químicas e químicas de frutos de camu-camu de acordo com diferentes autores.

Componentes	Justi et al. (2000)	Alves et al. (2002)	Chirinos et al. (2010)
Peso fresco total (g)	-	7,05	-
Polpa + casca (%)	-	81,24	-
Semente (%)	-	18,75	-
Comprimento (mm)	-	22,11	-
Diâmetro (mm)	-	23,06	-
Umidade (g/100 g)	94,1 ± 0,1	-	-
Proteína (g/100 g)	0,4 ± 0,0	-	-
Cinzas (g/100 g)	0,3 ± 0,0	-	-
Fibra bruta (g/100 g)	0,1 ± 0,0	-	-
Lipídeos (g/100 g)	0,2 ± 0,0	-	-
Carboidrato (g/100 g)	3,5	-	-
Sólidos solúveis totais (°Brix)	-	6,36	-
Acidez total titulável (%)	-	2,63	-
°Brix/Acidez	-	2,42	-
pH	-	2,54	-
Açúcares totais (%)	-	1,48	-
Sódio (mg/kg)	111,3 ± 4,3	-	-
Potássio (mg/kg)	838,8 ± 36,2	-	-
Cálcio (mg/kg)	157,3 ± 4,4	-	-
Ferro (mg/kg)	5,3 ± 0,4	-	-
Magnésio (mg/kg)	123,8 ± 8,7	-	-
Manganês (mg/kg)	21,1 ± 1,1	-	-
Zinco (mg/kg)	3,6 ± 0,1	-	-
Cobre (mg/kg)	2,0 ± 0,2	-	-
Vitamina C (mg/100 g)	1410 ± 20	2061,04	2010 ± 65
Polifenóis totais (mg AGE ¹ /100 g)	-	-	1320 ± 102

¹ Ácido gálico equivalente

Rufino et al. (2010), avaliando o teor de vitamina C em dezoito frutas tropicais, observaram os maiores teores em camu-camu (1.882,0 mg/100 g de fruta) e acerola (1.357,0

mg/100 g de fruta). Diferentes pesquisas mostraram que o conteúdo dos compostos bioativos, tais como a vitamina C e os compostos fenólicos, presentes no fruto do camu-camu, depende do seu estágio de maturação (ZAPATA; DUFOUR, 1993; JUSTI et al., 2000; CHIRINOS et al., 2010; YUYAMA, 2011), o que contribui para as diferentes capacidades antioxidantes apresentadas pelo fruto em cada estágio.

Azevedo-Meleiro e Rodriguez-Amaya (2004) identificaram por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) os principais carotenoides presentes em polpa de camu-camu obtida de frutos maduros, onde a luteína foi encontrada como o carotenoide principal, seguida do β -caroteno e da zeaxantina. Picos correspondentes à neoxantina, β -criptoxantina, β -caroteno-5,6-epóxido e *cis*- β -caroteno também foram identificados, porém, em níveis muito baixos. Segundo os autores, a quantidade dos carotenoides encontrados na polpa foi pequena, o que inviabilizou a análise por HPLC acoplado à espectrometria de massas (HPLC-MS). Em estudo recente, Silva (2012) mostrou que o teor de carotenoides é mais evidente na casca de frutos de camu-camu, em detrimento da polpa.

3.2 COMPOSTOS BIOATIVOS

Os compostos bioativos ou fitoquímicos são substâncias não nutrientes presentes em frutas, vegetais, grãos e outros alimentos do reino vegetal, responsáveis por modular processos do metabolismo, estresse oxidativo e inflamação, e têm sido associados à redução do risco de doenças crônicas. Essas substâncias podem ser classificadas como carotenoides, compostos fenólicos, alcaloides, compostos que contêm nitrogênio e compostos orgânicos de enxofre. Dentre esses compostos, os mais estudados são os compostos fenólicos, a vitamina C e os carotenoides (LIU, 2003; LIU, 2004; BURTON-FREEMAN, 2010; GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011).

Muitos alimentos já receberam o título de “alimentos funcionais” que, além de atenderem os requisitos básicos de nutrição, devem possuir a capacidade de proporcionar benefícios fisiológicos adicionais, como evitar ou retardar o aparecimento de doenças crônicas (KAUR; KAPOOR, 2001). As frutas são alimentos essenciais para a manutenção da saúde e seu consumo vem aumentando, o que se deve ao elevado teor de compostos bioativos. Essas substâncias têm atraído a atenção dos cientistas, concentrada principalmente sobre a capacidade de proteger o organismo dos danos causados pelos radicais livres atuando, dessa forma, na prevenção de doenças causadas como resultado do estresse oxidativo (NERI-NUMA et al., 2013). O estresse oxidativo, que liberta radicais livres no organismo, tem sido

responsabilizado pelas desordens, incluindo disfunção cardiovascular, cataratas, câncer, reumatismo e muitas outras doenças autoimunes, além de envelhecimento (KAUR; KAPOOR, 2001; AKTER et al., 2011).

3.2.1 Compostos fenólicos

Além de fibras, vitaminas, fitoesteróis, compostos de enxofre, carotenoides e ácidos orgânicos, os vegetais contêm uma grande variedade de compostos fenólicos, também conhecidos como polifenóis. Esses compostos contribuem para a promoção da saúde, sendo cada vez mais considerados como agentes eficazes de proteção (MANACH et al., 2005), quando consumidos como parte de uma dieta equilibrada (TOMÁS-BARBERÁN; ANDRÉS-LACUEVA, 2012).

Os polifenóis são produzidos como resultado do metabolismo secundário das plantas (LIU, 2004; GALLEANO et al., 2012), proporcionando funções essenciais na reprodução e crescimento vegetal, agindo como mecanismo de defesa contra a radiação ultravioleta e agentes patogênicos, parasitas e predadores, bem como contribuem para a coloração das plantas (MANACH et al., 2004). Além de suas funções nos vegetais, os compostos fenólicos presentes na dieta podem fornecer benefícios à saúde associados com o risco reduzido de doenças crônicas (LIU, 2004; GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011).

Existe uma ampla variedade de moléculas com estrutura fenólica, tendo um ou mais grupos hidroxila no anel aromático, podendo variar desde moléculas simples, que contêm somente um anel de fenol, como os ácidos fenólicos e os álcoois fenólicos, a compostos altamente polimerizados, como os taninos (BRAVO, 1998; KRIS-ETHERTON et al., 2002; D'ARCHIVIO et al., 2007; HAN; SHEN; LOU, 2007; MARTEL; MONTEIRO; CALHAU, 2010). A estrutura dos compostos fenólicos é um fator determinante da sua atividade como sequestradores de radicais livres e como agentes quelantes de metais contribuindo, dessa forma, para as diferentes capacidades antioxidantes apresentadas por cada composto (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

Mais de 8.000 compostos fenólicos já foram relatados e estão amplamente dispersos em todo o reino vegetal (WILLIAMSON; CLIFFORD, 2010). Primariamente, eles ocorrem na forma conjugada, com um ou mais resíduos de açúcar ligados a grupos hidroxila, embora também existam ligações diretas de açúcar unido a um átomo de carbono aromático. Os açúcares ligados podem ser monossacarídeos, dissacarídeos ou ainda oligossacarídeos. A glicose é o resíduo de açúcar mais comum, embora a galactose, a ramnose, a xilose e a

arabinose também possam ser encontradas, bem como os ácidos glucurônicos, galacturônicos e muitos outros. Essas associações com açúcares fazem dos polifenóis moléculas solúveis em água. Os polifenóis podem ser encontrados na natureza como agliconas, apenas ocasionalmente. Associações com outros compostos, como os ácidos carboxílicos e ácidos orgânicos, aminas e lipídeos, e ligações com outros fenóis também são comuns (BRAVO, 1998; ROSS; KASUM, 2002).

Os efeitos benéficos dos polifenóis na saúde humana dependem da sua absorção no intestino e da sua biodisponibilidade. Estas, por sua vez, são determinadas pela sua estrutura, incluindo a conjugação com outros fenólicos, o grau de glicosilação/acilação, tamanho da molécula e sua solubilidade (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; SAURACALIXTO; SERRANO; GOÑI, 2007).

Os polifenóis são divididos em várias classes, de acordo com o número de anéis fenólicos que contêm e os elementos estruturais que ligam esses anéis entre si (MANACH et al., 2004). Os principais grupos de polifenóis são: flavonoides, ácidos fenólicos, álcoois fenólicos, estilbenos e lignanas (D'ARCHIVIO et al., 2007; WELCH; WU; SIMON, 2008; SINGH; HOLVOET; MERCENIER, 2011). Suas estruturas químicas estão apresentadas na Figura 3.

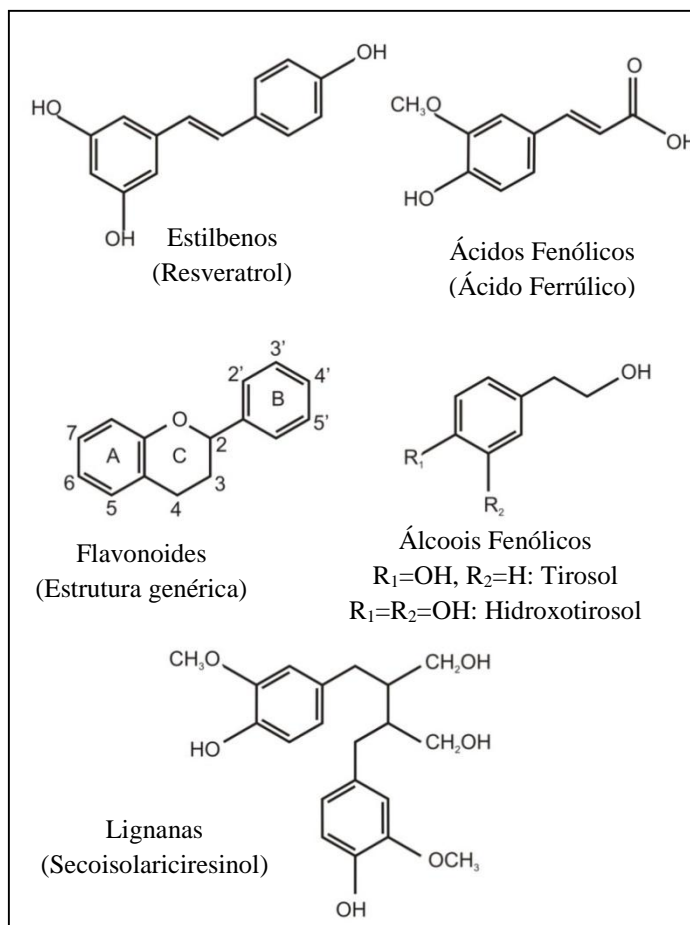


Figura 3. Estrutura química dos principais grupos de compostos fenólicos.

Fonte: D'Archivio et al. (2007); Singh, Holvoet e Mercenier (2011).

Como antioxidantes, os polifenóis podem proteger as células contra danos oxidativos limitando, dessa forma, o risco de várias doenças degenerativas associadas ao estresse oxidativo (D'ARCHIVIO et al., 2007). Um polifenol pode ser definido como antioxidante se cumprir duas condições. Primeiramente, quando presente em baixas concentrações em relação ao substrato a ser oxidado pode atrasar, retardar ou evitar a oxidação mediada por radicais livres e, em segundo lugar, os radicais resultantes formados após a limpeza devem ser estáveis. Os polifenóis podem ser estabilizados através de ligação de hidrogênio intramolecular ou pela oxidação adicional (KAUR; KAPOOR, 2001).

3.2.1.1 Flavonoides

O grupo dos flavonoides compreende uma variedade de compostos bioativos que são os mais abundantes nas plantas e frutas e, como resultado, constitui a maioria dos polifenóis que são consumidos diariamente na dieta (KRIS-ETHERTON et al., 2002; KOSMIDER;

OSIECKA, 2004; SINGH; HOLVOET; MERCENIER, 2011; HUI et al., 2013). Pertence a uma grande classe de metabólitos secundários envolvendo mais de 10.000 estruturas (AGATI et al., 2012). Eles são sintetizados pela via polipropanoide tendo como componente de partida a molécula fenilalanina (GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011).

Os flavonoides são compostos fenólicos de baixo peso molecular, constituídos por 15 átomos de carbono, dispostos numa configuração $C_6-C_3-C_6$, com um ou mais substituintes hidroxila (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; PEREIRA et al., 2009; NEMA et al., 2012) e apresentam potenciais benefícios à saúde (CAO et al., 2010; GALLEANO et al., 2012; PADAYACHEE et al., 2012). Nas plantas, normalmente esses compostos são encontrados como glicosídeos (HOFFMANN-RIBANI; HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA, 2009; GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011). Além de glicosilação, a estrutura dos flavonoides pode possuir substituições, tais como hidrogenação, hidroxilação, malonilação, metilação e sulfatação, sendo a primeira a mais frequente entre este grupo de moléculas (SANTOS et al., 2011).

Os flavonoides representam um importante grupo de compostos bioativos obtidos de fontes vegetais, atuando como removedores de radicais livres, em virtude do seu potencial redutor, promovendo a proteção do corpo contra reações oxidativas que possam ocorrer (ROUTRAY; ORSAT, 2012). São compostos antioxidantes altamente potentes que têm sido associados à redução da incidência de acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca, diabetes, câncer e doenças neurodegenerativas (WILLIAMS; SPENCER; RICE-EVANS, 2004; GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011). Eles têm uma estrutura genérica que consiste em dois anéis aromáticos (anéis A e B) ligados por três átomos de carbono, que estão geralmente em um anel heterocíclico oxigenado, ou um anel C (Figura 3) (WELCH; WU; SIMON, 2008; GALLEANO et al., 2012).

Os flavonoides podem ainda ser classificados em diferentes subgrupos, tais como os flavonóis, flavonas, flavanonas, isoflavonas, antocianidinas e flavanóis, dependendo do posicionamento dos grupos hidroxila nas estruturas do anel aromático. As diferentes estruturas químicas dos flavonoides podem causar impactos importantes sobre os seus efeitos biológicos (BIRT; HENDRICH; WANG, 2001; D'ARCHIVIO et al., 2007; HOOPER et al., 2008; SANTOS et al., 2011). As estruturas químicas de algumas destas substâncias estão apresentadas na Figura 4.

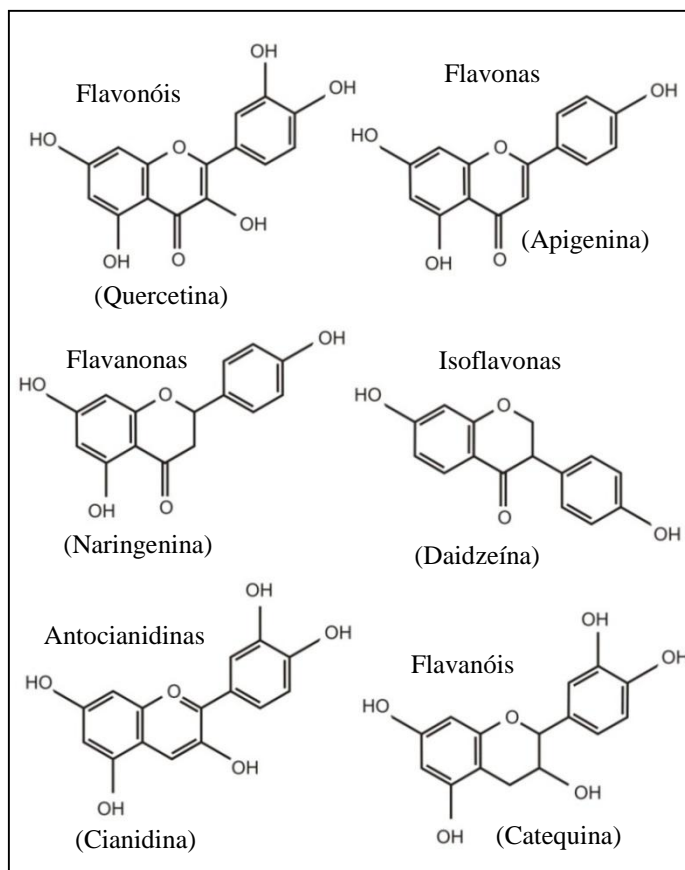


Figura 4. Estrutura química dos flavonoides.

Fonte: D'Archivio et al. (2007).

3.2.1.2 Flavonóis

Os flavonóis possuem uma dupla ligação entre C_2 e C_3 , com um grupo hidroxila na posição C_3 (Figura 4). Eles representam os flavonoides mais comuns em alimentos e os exemplos incluem a quercetina, o kaempferol e a miricetina, sendo a quercetina o composto mais representativo (D'ARCHIVIO et al., 2007). As maiores fontes desses compostos são as cebolas, a couve, o alho-poró, o brócolis, os mirtilos assim como o vinho tinto e o chá. Os flavonóis são muitas vezes encontrados como glicosídeos na natureza, possuem tendência de acumular-se na casca de frutas e nas folhas das plantas e sua biossíntese é estimulada pela luz (WELCH; WU; SIMON, 2008).

3.2.1.3 Antocianinas

Antocianinas (do grego: *anthos* = flores; *kianos* = azul) são pigmentos solúveis em água responsáveis, em grande parte, pelas cores atrativas de flores, frutos e folhas, variando

do vermelho ao violeta e azul (TIMBERLAKE, 1980). Esse grupo de flavonoides é encontrado em ampla variedade de alimentos, tais como uvas, amoras, framboesas, cerejas, ameixas, berinjelas, entre outros (VALLS et al., 2009).

Quimicamente, as antocianinas são glicosídeos (ligados a uma porção de açúcar) de antocianidinas (agliconas), que correspondem às estruturas básicas desses compostos, sendo derivadas do cátion flavilium (2-fenilbenzopirilium) (KERIO et al., 2012), cuja estrutura química está apresentada na Figura 5. Os açúcares mais comuns são a glicose, a galactose, a ramnose e a arabinose. Estes são geralmente ligados na posição 3 do anel C ou nas posições 5 e 7 do anel B, ocorrendo como monossacarídeo, dissacarídeo ou trissacarídeo (PEREIRA et al., 2009).

Várias antocianidinas estão presentes na natureza, porém, entre elas, as mais comuns em frutas e vegetais são: pelargonidina, cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina e malvidina. Devido à sua natureza polar, as antocianinas são solúveis em solventes polares, tais como metanol, etanol e água (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; MARTEL; MONTEIRO; CALHAU, 2010; KERIO et al., 2012).

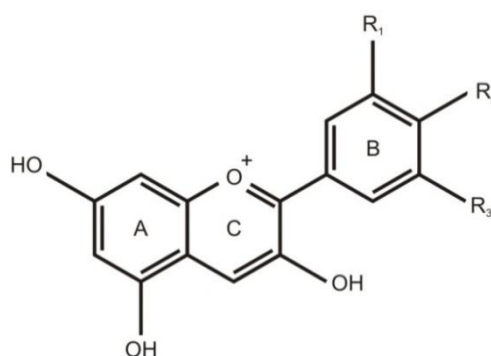


Figura 5. Estrutura básica do pigmento antocianidina, o cátion flavilium.

Fonte: Kerio et al. (2012).

Dependendo do pH, as antocianinas podem apresentar-se nas cores vermelha, roxa ou azul e são sintetizadas pela via fenilpropanoide (WELCH; WU; SIMON, 2008; IGNAT; VOLF; POPA, 2011). As antocianinas são amplamente distribuídas na dieta humana, sendo encontradas no vinho tinto, certas variedades de cereais e alguns vegetais (repolho, feijão, cebola, rabanetes), porém, são encontradas com maior abundância nas frutas (WANG; CAO; PRIOR, 1997; D'ARCHIVIO et al., 2007). Cianidina-3-glicosídeo foi identificada como a principal antocianina presente em frutos de camu-camu, seguida de delphinidina-3-glicosídeo (ZANATTA et al., 2005; CHIRINOS et al., 2010).

As diferentes estruturas de antocianinas influenciam suas propriedades químicas, que, por sua vez, têm implicações importantes para a sua estabilidade, o seu equilíbrio aquoso, sua cor, seus efeitos de copigmentação, sua reatividade e suas propriedades antioxidantes (VALLS et al., 2009).

As antocianinas podem ser quantificadas espectrofotometricamente por meio de métodos que consideram o comportamento estrutural dessa classe de flavonoides em função do pH. O método do pH diferencial tem sido amplamente utilizado para avaliação da qualidade de frutas e vegetais frescos e processados. Possibilita a quantificação do conteúdo de antocianinas totais e monoméricas, baseado na mudança estrutural desses compostos em diferentes condições de pH (LEE; DURST; WROLSTAD, 2005).

3.2.1.4 Flavanóis

Os flavanóis constituem outro importante grupo de flavonoides. Eles contêm uma cadeia de três carbonos saturada com um grupo hidroxila no C₃ (Figura 4). Os flavanóis existem nas formas monoméricas e poliméricas (catequinas e proantocianidinas, respectivamente). As proantocianidinas também são conhecidas como taninos condensados (GARCÍA-ALONSO et al., 2004; D'ARCHIVIO et al., 2007; WELCH; WU; SIMON, 2008; MARTEL; MONTEIRO; CALHAU, 2010). Essa denominação ocorre porque as proantocianidinas são decompostas em antocianidinas por ruptura da ligação C-O quando aquecidas em soluções alcoólicas fortemente ácidas. Quando o produto desta reação for apenas cianidina, estas moléculas recebem o nome de procianidinas que constituem o maior grupo de proantocianidinas e são formadas pela polimerização de catequinas e epicatequinas ligadas covalentemente (WILLIAMSON; MANACH, 2005; KOLECKAR et al., 2008; NASCIMENTO, 2011). Os taninos são divididos em dois grandes grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados (proantocianidinas).

Os taninos hidrolisáveis incluem os gallotaninos e os ellagitaninos, polímeros derivados dos ácidos gálico e elágico, respectivamente (MUELLER-HARVEY, 2001). Esse grupo de taninos pode ocorrer em madeira, casca, folhas, frutas e galhos (MUELLER-HARVEY, 2001).

As proantocianidinas (Figura 6) são oligômeros e polímeros de duas ou mais unidades monoméricas de flavan-3-ol, geralmente catequina e epicatequina, unidas principalmente por ligações interflavânicas C₄-C₈ e em menores quantidades por ligações C₄-C₆ (SCHOFIELD; MBUGUA; PELL, 2001; BARBEHENN; CONSTABEL, 2011; VALLS et al., 2009). São

CONSTABEL, 2011). Por outro lado, a análise de taninos torna-se complexa devido à diversidade de estruturas existentes dentro desse grupo de compostos (SCHOFIELD; MBUGUA; PELL, 2001; AWIKA; ROONEY, 2004; AOUF et al., 2013).

Os métodos normalmente utilizados incluem despolimerização oxidativa de proantocianidinas, reações do anel A com um aldeído aromático e reações de oxidação-redução (SCHOFIELD; MBUGUA; PELL, 2001). Esses testes diferem quanto à sua especificidade para determinados compostos, sendo o método do butanol-HCl o mais específico para os taninos condensados (BARBEHENN; CONSTABEL, 2011).

Os flavan-3-óis podem sofrer reações de substituição eletrofílica com aldeídos, em meio ácido. Quando essa reação ocorre com a vanilina forma-se um produto intermediário que se desidrata rapidamente para formar o produto final da reação, um composto corado, usado para a análise espectrofotométrica dos flavan-3-óis e seus derivados, nomeadamente as proantocianidinas (MARQUES, 2008).

O método da vanilina-HCl detecta tanto flavanóis monoméricos quanto poliméricos, porém, ele é específico para uma classe limitada de compostos que apresentam uma ligação simples na posição 2,3 e grupos hidroxila em posições alternadas no anel A (AGOSTINI-COSTA; LIMA; LIMA, 2003). O teste depende da reação de catequinas e proantocianidinas com vanilina na presença de HCl ocorrendo a formação de um produto de condensação vermelho. A catequina comercial é empregada como padrão (SCHOFIELD; MBUGUA; PELL, 2001; AGOSTINI-COSTA; LIMA; LIMA, 2003). A reação básica está apresentada na Figura 7.

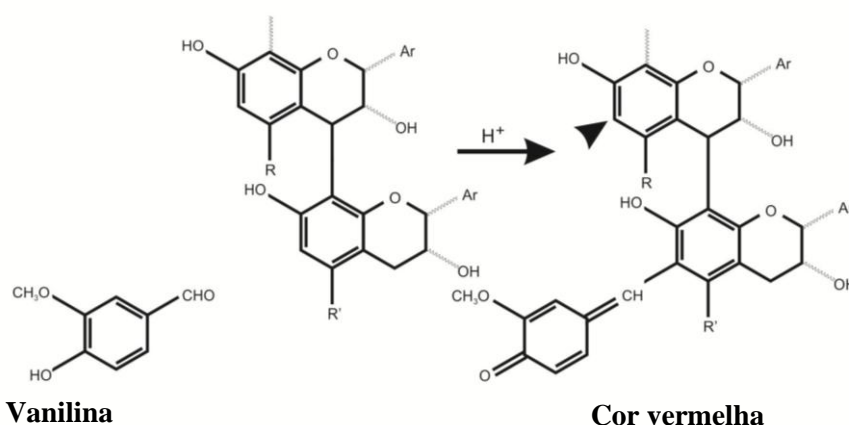


Figura 7. Química do método da vanilina para taninos condensados. A seta aponta para um segundo local potencialmente reativo.

Fonte: Schofield, Mbugua e Pell (2001).

3.2.2 Vitamina C (ácido ascórbico)

A vitamina C, composto hidrossolúvel, é um agente redutor com propriedades antioxidantes importantes para a saúde humana (BARRETO; BENASSI; MERCADANTE, 2009; HUCK et al., 2013). Ela é sintetizada a partir da glicose, no fígado de muitas espécies de mamíferos, mas não pelos seres humanos, por não possuírem a enzima gulonolactona oxidase, essencial para a síntese da 2-ceto-1-gulonolactona, precursor imediato na síntese de ácido ascórbico (PADAYATTY, 2003). Dessa forma, os humanos devem obter a vitamina C por meio de uma dieta diária e seus requisitos variam muito entre os indivíduos (BOWIE; O'NEILL, 2000; NAGAPPAN et al., 2012). Quando essa ingestão não ocorre, o organismo assume um estado de deficiência, apresentando várias manifestações clínicas. A expressão clínica da deficiência de vitamina C, o escorbuto, é uma condição letal, a menos que devidamente tratada, o que torna essa vitamina um nutriente essencial (PADAYATTY, 2003).

A vitamina C é um dos compostos bioativos mais comumente encontrados em frutas, como acerola e camu-camu, que representam importantes fontes dentre o grupo de frutas tropicais (AKTER et al., 2011). O ácido L-ascórbico, principal forma biologicamente ativa da vitamina C, está amplamente distribuído nas plantas desempenhando papel importante no metabolismo e crescimento destas (ALBERTINO et al., 2009). Estruturalmente, o ácido L-ascórbico é uma das mais simples vitaminas. Ele está relacionado com açúcares C₆, sendo a aldona-1,4-lactona de um ácido hexônico (L-galactônico ou ácido L-gulônico), e contém um grupo enediol nos carbonos 2 e 3. O estereoisômero do ácido L-ascórbico, ácido D-isoascórbico (isoácido D-ascórbico, ácido D-araboscórbico, ácido D-aritórbico), têm pouca ou nenhuma atividade antiescorbútica e não deve ser confundido com D-ácido eritroascórbico, que é o análogo C₅ de ácido L-ascórbico, encontrado em muitas leveduras e fungos (Figura 8) (DAVEY et al., 2000).

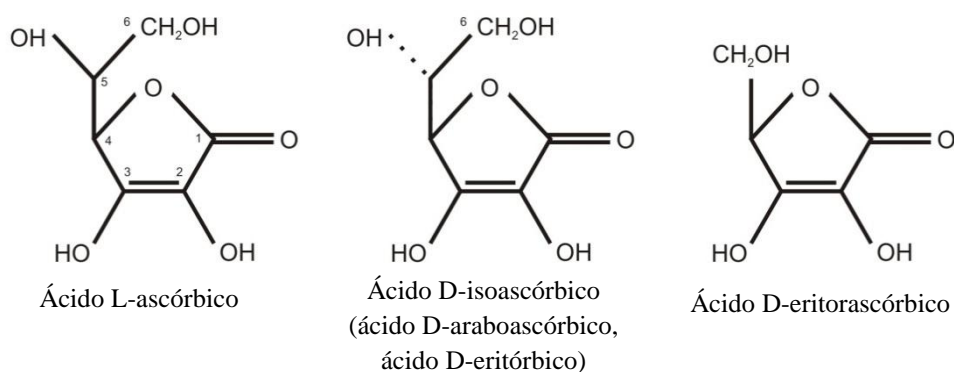


Figura 8. Química do ácido L-ascórbico.

Fonte: Davey (2000).

3.3 BIOSÍNTESE DE COMPOSTOS BIOATIVOS

3.3.1 Biossíntese dos compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são sintetizados principalmente pela via da pentose fosfato (PPP), chiquimato e vias fenilpropanoide (Figura 9). A PPP oxidativa fornece o precursor eritrose-4-fosfato para a via do chiquimato. A via do chiquimato converte esse açúcar fosfato para aminoácidos aromáticos que passam a ser os precursores para a via fenilpropanoide. Os aminoácidos aromáticos que originam a maioria dos compostos fenólicos em vegetais são fenilalanina ou tirosina (RANDHIR; LIN; SHETTY, 2004; PEREIRA et al., 2009).

Esses aminoácidos são desaminados a ácidos cinâmicos, que entram na via fenilpropanoide. Um passo chave nessa via biossintética é a introdução de um ou mais grupos hidroxila no anel de fenil. Como resultado, esses compostos são derivados a partir de um esqueleto carbônico comum: o C₆-C₃ unidade fenilpropanoide. A biossíntese, de acordo com essa via, produz uma grande variedade de fenóis vegetais: os ácidos cinâmicos (C₆-C₃), ácidos benzoicos (C₆-C₁), flavonoides (C₆-C₃-C₆), proantocianidinas [(C₆-C₃-C₆)_n], cumarinas (C₆-C₃), estilbenos (C₆-C₂-C₆), lignanas (C₆-C₃-C₃-C₆) e ligninas [(C₆-C₃)_n] (PEREIRA et al., 2009).

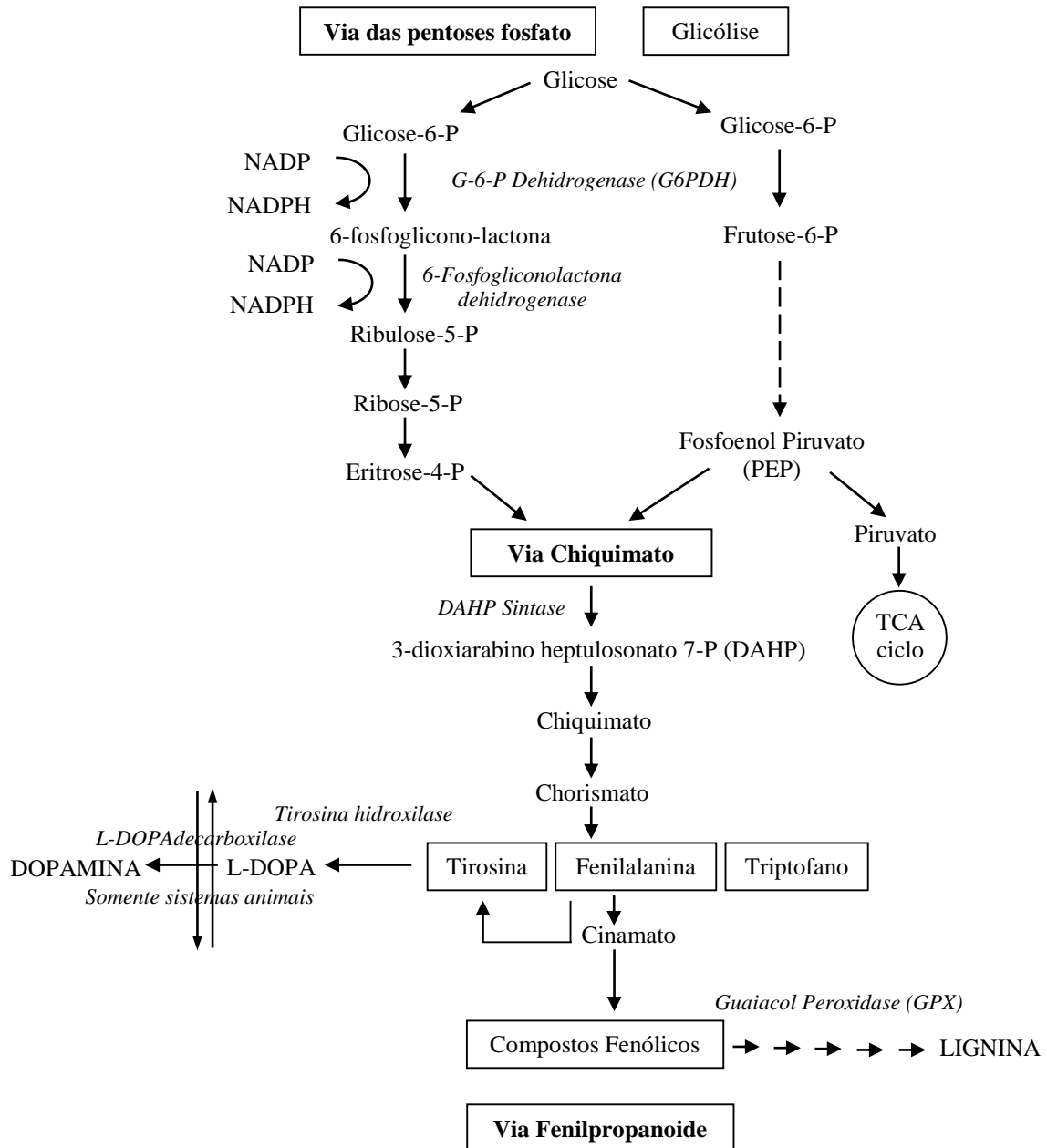


Figura 9. Via pentose fosfato para a síntese de compostos fenólicos.

Fonte: Randhir, Lin e Shetty (2004).

3.3.2 Biossíntese da vitamina C

Plantas, algas e a maioria dos animais são capazes de sintetizar a vitamina C. Porém, os seres humanos não possuem essa capacidade devido à falta da L-gulono-1,4-lactona oxidase, a última enzima da via da vitamina C nos animais e necessitam de ácido L-ascórbico como um micronutriente essencial (WOLUCKA; MONTAGU, 2003).

A via biossintética da vitamina C difere entre as plantas e os animais. A biossíntese do ácido ascórbico se dá a partir da D-glicose. Nos animais, o intermediário final da síntese é o

L-glucono-1,4-lactona, já nos vegetais o último intermediário é L-galactono-1,4-lactona (Figura 10). As enzimas que catalisam as reações estão numeradas e são as seguintes: 1, *myo*-inositol oxigenase, 2, fosfoglucomutase, 3, UDP-glicose pirofosforilase, 4, UDP-glicose desidrogenase, 5, glucuronato-1-fosfato uridililtransferase, 6, glucuronoquinase, 7, glucuronato redutase; 8, aldonolactonase; 9, gulono-1,4-lactona desidrogenase, 10, glicose-6-fosfato isomerase, 11, manose-6-fosfato isomerase, 12, fosfomannomutase, 13, GDP-manose pirofosforilase, 14, GDP-manose-3,5-epimerase, 15, fosfodiesterase, 16, açúcar fosfatase, 17, L-galactose-1-desidrogenase, 18, L-galactono-1,4-lactona desidrogenase, 19, metil-esterase, 20, D-galacturonato redutase, 21, aldono-lactonase (RADZIO et al., 2003).

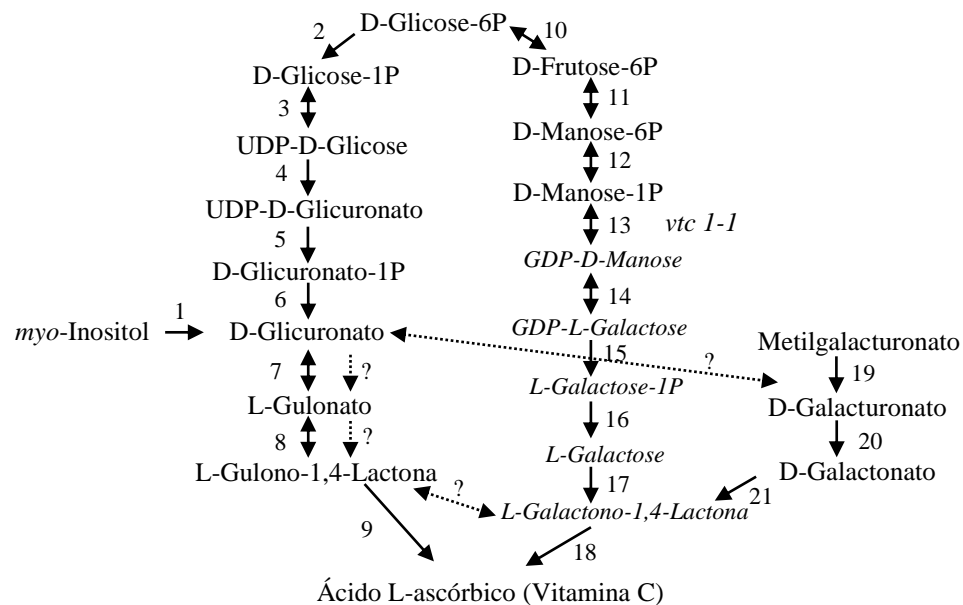


Figura 10. Vias propostas para a biossíntese do ácido L-ascórbico nas plantas (reações 10-18) e nos animais (reações 2-9). São apresentadas duas vias que operam nas plantas, as vias do ácido galacturônico e a via de *myo*-inositol. Setas duplas indicam reações enzimáticas reversíveis. Setas tracejadas indicam a possível via de *myo*-inositol para o ácido ascórbico e as atividades das epimerases putativos. Fonte menor e itálico em parte da via manose indicam intermediários limitantes para a produção de ácido ascórbico em vitamina C.

Fonte: Radzio et al. (2003).

Nos vegetais, a parte externa exposta à luz solar contém uma quantidade mais elevada de vitamina C do que a região interna, visto que o ácido ascórbico é sintetizado a partir dos açúcares pela fotossíntese das plantas. Em geral, quanto menor a intensidade de luz durante o crescimento, menor será o teor de ácido ascórbico nos tecidos da planta (PINEDO, 2007). Radzio et al. (2003) citaram que as vias de síntese da vitamina C nos vegetais ainda não estão

bem estabelecidas. Os autores mencionaram que são conhecidas duas vias biossintéticas para a síntese de vitamina C nos vegetais: a via da D-manose, que parece prevalecer no tecido da folha, e a via do ácido D-galacturônico que opera em frutos em desenvolvimento.

3.4 RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES

É contraditório que o oxigênio, molécula considerada essencial para a vida, também seja relatado por ser tóxico. Dessa forma, a molécula apresenta efeitos benéficos e também prejudiciais aos sistemas biológicos. Sua toxicidade é resultado do processo que libera os radicais livres (KAUR; KAPOOR, 2001; BURTON; JAUNIAUX, 2011).

Os radicais livres são subprodutos naturais de muitos processos biológicos das células (REYNERTSON et al., 2008; BANSAL et al., 2012) surgindo normalmente durante o metabolismo oxidativo (CAO; PRIOR, 1998). Assim, é importante destacar os papéis benéficos desses radicais, tais como geração de adenosina-5-trifosfato (ATP), desintoxicação de xenobióticos pelas enzimas do citocromo P450 (enzimas oxidativas), apoptose de células defeituosas, eliminação de microrganismos e de células cancerosas por macrófagos e linfócitos citotóxicos e oxigenases (por exemplo, COX: ciclo-oxigenases, LOX: lipoxigenases) para a produção de prostaglandinas e leucotrienos, que possuem muitas funções reguladoras (DEVASAGAYAM et al., 2004). Consequentemente, o nosso corpo está sob ataque oxidativo constante por espécies reativas de oxigênio (ROS), que são uma família de moléculas ativas, contendo radicais livres, estando envolvidas na modulação da função biológica da célula (CHEN et al., 2012).

Contudo, fatores ambientais, tais como o fumo, a poluição do ar, as radiações e os herbicidas também podem produzir radicais livres. Assim, por um lado, esses radicais podem produzir efeitos benéficos, porém, se gerados em excesso, também podem induzir a oxidação prejudicial e causar sérios danos celulares (BIANCHI; ANTUNES, 1999; KAUR; KAPOOR, 2001; BLOMHOFF, 2005).

Os radicais livres são moléculas instáveis, altamente reativas e energizadas que são caracterizadas por possuir elétrons desemparelhados (McCORD, 2000; KAUR; KAPOOR, 2001). Podem ser gerados a partir de muitos elementos, porém, nos sistemas biológicos, aqueles que envolvem oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS) são os mais importantes (BURTON; JAUNIAUX, 2011). Em geral, os radicais livres possuem meia vida curtíssima, de mili, micro ou nano segundos (DEVASAGAYAM et al., 2004). Sendo assim, eles reagem rapidamente com outros compostos na tentativa de capturar os elétrons necessários para

adquirir estabilidade. Geralmente, eles atacam as moléculas estáveis mais próximas, para “roubar” seus elétrons. Quando a molécula atacada perde o seu elétron, ela se torna um novo radical livre, dando início a uma reação em cadeia. Uma vez que o processo é iniciado, a reação pode ocorrer como cascata, iniciando a peroxidação lipídica que resulta na desestabilização e desintegração das membranas celulares, ou na oxidação de outros componentes celulares, tais como proteínas e DNA, resultando finalmente na ruptura das células (HALLIWELL et al., 1995; KAUR; KAPOOR, 2001). Os danos às membranas celulares e ao DNA podem provocar mutações cancerosas e a peroxidação lipídica está associada com a promoção de doenças cardíacas (REYNERTSON et al., 2008).

Em um corpo humano normal e saudável, a geração de pró-oxidantes, na forma de ROS e RNS são efetivamente mantidos sob controle pelos variados níveis de defesa antioxidante (DEVASAGAYAM et al., 2004) que incluem várias enzimas e antioxidantes de alto e baixo peso molecular (KAUR; KAPOOR, 2001). Os antioxidantes sintetizados no nosso corpo incluem as defesas enzimáticas e as defesas não enzimáticas (PIETTA, 2000).

Antioxidantes são definidos como substâncias que, quando presentes em baixas concentrações em relação a um substrato oxidável, retardam ou impedem significativamente a oxidação deste (KOLECKAR et al., 2008). Os antioxidantes neutralizam a ação dos radicais livres doando um de seus elétrons, encerrando assim a reação de “roubo” de elétrons. Ao doar seus elétrons, os antioxidantes não se convertem em novos radicais livres porque eles são estáveis nas duas formas. Estes agem como limpadores de radicais livres antes que eles possam causar danos ao organismo. Assim, eles podem também ser definidos como substâncias capazes de cessar ou estabilizar a ação dos radicais livres (KAUR; KAPOOR, 2001) evitando ou retardando a oxidação de lipídeos, proteínas e DNA (ADIL et al., 2007). Os processos envolvidos na antioxição incluem: eliminação de radicais livres para prevenir sua propagação (esse processo define como os antioxidantes funcionam); hidrólise enzimática de ligações éster para remover ácidos graxos peroxidados por lipídeos; sequestro de íons de metais de transição e redução de peróxidos catalisada por enzimas. Os três últimos processos não cessam a ação dos radicais, porém, previnem a acumulação de moléculas capazes de promover reações de radicais livres (THOMAS, 2000).

Os níveis dos antioxidantes normalmente produzidos pelo organismo não podem ser manipulados por meios simples. Por outro lado, os níveis dos compostos antioxidantes como vitaminas, tais como o ácido ascórbico, α -tocoferol, e β -caroteno, podem ser aumentados facilmente por meio da dieta ou suplementação (FREI; ENGLAND; AMES, 1989).

É importante para o organismo a manutenção do equilíbrio entre compostos oxidantes e compostos antioxidantes para estabelecer melhores condições fisiológicas no corpo (LIU, 2003). Em uma célula normal, existe um equilíbrio apropriado entre a produção de substâncias pró-oxidantes e antioxidantes. No entanto, este equilíbrio pode ser deslocado na direção dos pró-oxidantes, o que ocorre quando a produção de espécies reativas de oxigênio é aumentada grandemente ou, quando os níveis de antioxidantes são diminuídos. Este estado de desequilíbrio leva ao estresse oxidativo (CHING et al., 2006; BURTON-FREEMAN, 2010; GULÇIN, 2012). O estresse oxidativo tem sido implicado na etiologia de diversas doenças humanas e no processo de envelhecimento (DEVASAGAYAM et al., 2004).

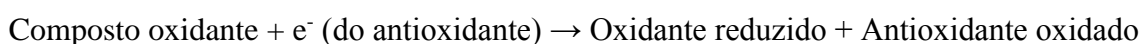
Para prevenir ou retardar o estresse oxidativo induzido por radicais livres, quantidades suficientes de antioxidantes devem ser consumidos na dieta (LIU, 2003). Muitos nutrientes presentes em frutas e vegetais, tais como fibras, ácido fólico, potássio, flavonoides e vitaminas antioxidantes têm sido associados com a redução do risco de doenças cardiovasculares (DCV), por isso, acredita-se que um maior consumo desses alimentos atua na proteção do organismo contra esse tipo de doenças (HU, 2003). Os efeitos de proteção de frutas e vegetais estão associados não apenas com a presença de antioxidantes como as vitaminas A, C e E, mas também com outras substâncias naturais, tais como os carotenoides e vários compostos fenólicos, que mostram a capacidade de agir como antioxidantes (BARRETO; BENASSI; MERCADANTE, 2009; OLIVEIRA et al., 2009). Esses compostos são capazes de atuar como inibidores de radicais livres, decompositores de peróxidos, supressores de oxigênio singlete, inibidores de enzimas e agentes sinérgicos (RUFINO et al., 2011).

3.4.1 Métodos *in vitro* de determinação da capacidade antioxidante

Evidências epidemiológicas crescentes do papel dos antioxidantes dos alimentos na prevenção de certas doenças têm conduzido ao desenvolvimento de um grande número de métodos para determinar a capacidade antioxidante (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006).

Existem vários métodos analíticos descritos na literatura para a determinação da capacidade antioxidante de uma grande variedade de compostos, tanto na sua forma pura como em uma mistura complexa como ervas, especiarias, frutas e extratos de sementes (BORTOLOMEAZZI et al., 2010). Estes métodos são basicamente classificados em dois grupos, dependendo do mecanismo de reação: métodos baseados na transferência de átomo de

hidrogênio e métodos baseados na transferência de elétrons (HUANG; OU; PRIOR, 2005; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2009; ZULUETA; ESTEVE; FRÍGOLA, 2009). Entre eles, os ensaios que envolvem reação de transferência de elétrons incluem o teste FRAP que mede a redução do Fe(III) a Fe(II) (BLOMHOFF, 2005), o teste “Trolox equivalent antioxidant capacity” (TEAC), a redução de cobre (teste CUPRAC) e o 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) que possui a habilidade de sequestrar radicais livres (TABART et al., 2009). Estes testes se baseiam na seguinte reação de transferência de elétrons (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2009):



O composto oxidante extrai um elétron do antioxidante provocando uma mudança de coloração no oxidante. O grau de mudança de cor é proporcional à capacidade antioxidante. A mudança de absorbância é representada graficamente em função da concentração de antioxidante, dando uma curva linear em que o declive da curva reflete a capacidade de reduzir (expresso como equivalente Trolox ou sulfato de amônio ferroso - no caso do teste FRAP) (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2009; ZULUETA; ESTEVE; FRÍGOLA, 2009).

Os testes que se baseiam na reação de transferência de hidrogênio incluem o “total peroxy radical-trapping antioxidant parameter” (TRAP) e o “oxygen radical absorbance capacity” (ORAC) (TABART et al., 2009). Eles medem a capacidade do substrato em doar átomos de hidrogênio (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2009).

Alguns dos métodos mais utilizados atualmente são TEAC, FRAP, DPPH e ORAC (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006; PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008; BORTOLOMEAZZI et al., 2010; RUFINO et al., 2010), no entanto, ainda não existe nenhum método oficial padronizado (FRANKEL; MEYER, 2000). De acordo com Pérez-Jiménez et al. (2008), é recomendada a utilização de no mínimo dois dos métodos citados anteriormente, mas de preferência recomenda-se a utilização de todos (quando possível), de modo a proporcionar uma informação completa sobre a capacidade antioxidante total de um produto alimentar, tendo em conta as vantagens e desvantagens de cada ensaio, bem como a sua aplicabilidade.

3.4.1.1 Método TEAC

O teste TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) ou ABTS baseia-se na capacidade dos antioxidantes em sequestrar o radical cátion $ABTS^{*\cdot}$. Este radical é produzido pela reação do ABTS com persulfato de potássio e possui coloração azul esverdeado. Ao adicionar compostos antioxidantes a esta solução, o radical $ABTS^{*\cdot}$ volta à sua forma estável original ABTS, que é incolor. A descoloração indica a decomposição das espécies radicais pela sua redução após a adição de um antioxidante (TAFULO et al., 2010). Esta decomposição produz uma diminuição da absorbância, a um determinado comprimento de onda, o que corresponde quantitativamente à concentração de antioxidantes presentes (ZULUETA; ESTEVE; FRÍGOLA, 2009). As leituras de absorbância da mistura do radical e do antioxidante em momentos diferentes são representadas graficamente juntamente com as leituras do branco. Então, a área sob a curva gerada por esta inibição da absorbância é calculada. Os resultados são interpolados em uma curva de calibração de Trolox e expressos como equivalentes de Trolox (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006).

O método TEAC é comumente aplicado a matrizes alimentares devido à sua simplicidade e rapidez (DURMAZ, 2012). Ele monitora o decaimento do radical $ABTS^{*\cdot}$ causado pela adição de antioxidante (TAFULO et al., 2010). Esse radical é solúvel em água e solventes orgânicos, o que permite a determinação da capacidade antioxidante de compostos hidrofílicos e lipofílicos, representando uma vantagem em relação aos demais métodos (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2009; GULÇIN, 2012). A Figura 11 apresenta a reação de formação do radical $ABTS^{*\cdot}$ pela adição de persulfato de potássio e sua estabilização pela adição do antioxidante.

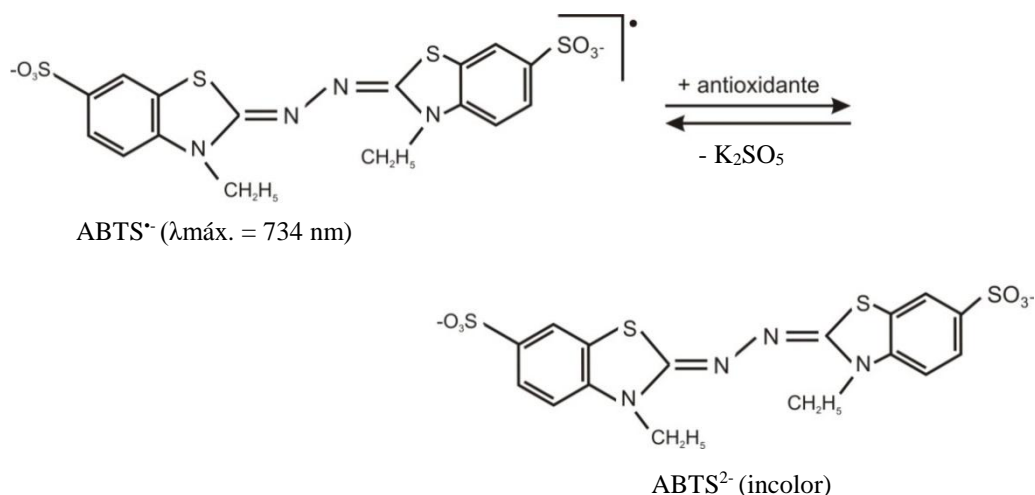
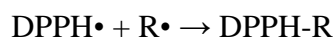


Figura 11. Estabilização do radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ por antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.

Fonte: Huang, Ou e Prior (2005).

3.4.1.2 Método DPPH

Para avaliar a atividade antioxidante de compostos ou extratos específicos, esses últimos podem reagir com um radical estável, 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH^{\bullet}), em uma solução de metanol. A redução do DPPH^{\bullet} , tal como indicado abaixo, é seguida pela monitorização da diminuição da sua absorvância a um comprimento de onda característico, até que a reação atinja um estado estável. Na sua forma de radical, o DPPH^{\bullet} absorve a 515 nm e apresenta coloração violeta-intenso, mas com a redução provocada por um antioxidante (AH) ou uma espécie radical (R^{\bullet}), a absorção desaparece (Equação 1) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995).



A evolução de diferentes cinéticas de reação depende da natureza do antioxidante a ser testado (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Assim, dependendo do composto, a reação com o DPPH^{\bullet} pode ocorrer lenta ou rapidamente.

O DPPH^{\bullet} é um radical livre que pode ser obtido diretamente por dissolução do reagente em meio orgânico (RUFINO et al., 2007a). Considerando o radical DPPH^{\bullet} e o doador de molécula RH (antioxidante), a reação primária (Figura 12) é a formação do radical R^{\bullet} e a redução da forma DPPH^{\bullet} . O radical livre produzido pode ser submetido a outras reações que

controlam o número de moléculas de DPPH reduzidas por uma molécula do redutor (PAIXÃO et al., 2007).

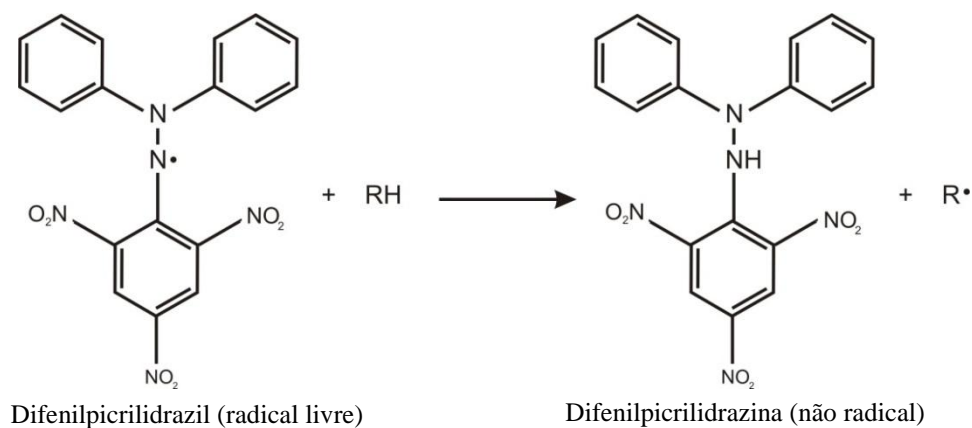


Figura 12. Estrutura do DPPH e sua redução por um antioxidante (RH).

Fonte: Paixão et al. (2007).

O método DPPH é amplamente utilizado devido à sua estabilidade, simplicidade e o seu sistema de reação simples, que envolve somente a reação direta entre o radical e um antioxidante (NOIPA et al., 2011). Ele apresenta como vantagem a disponibilidade de se obter comercialmente o radical DPPH, facilitando seu uso, pois não há a necessidade de geração do radical (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET, 1995).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Matéria-prima

Os frutos de camu-camu foram coletados de plantas estabelecidas no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de camucamuzeiro da Embrapa Amazônia Oriental, localizado na cidade de Belém, Estado do Pará, com coordenadas geográficas de 48°26'45"W e 1°26'31"S.

Foram selecionados frutos de três progênies. Tomando-se como referência a coloração da casca, foram definidos três estádios de maturação dos frutos (Figura 13), conforme características descritas na Tabela 2.



Figura 13. Frutos de camu-camu utilizados nas análises.

Foto: Aline Ozana.

Tabela 2. Características visuais utilizadas para diferenciação dos três estádios de maturação dos frutos de camu-camu.

Estádios de maturação	Coloração da casca
Verde	Totalmente verde
Semimaduro	Vermelho-esverdeada
Maduro	Totalmente vermelha

Fonte: O autor.

4.1.2 Tratamento e conservação das amostras

Os frutos inteiros foram selecionados, fazendo-se o descarte daqueles que apresentaram sinais de deterioração ou que tivessem sofrido danos físicos. Após a seleção, os frutos foram lavados em água corrente e submetidos à sanitização, feita por imersão em solução sanitizante à base de cloro, na concentração de 100 ppm (100 mg/L) de cloro ativo durante 15 minutos. Em seguida, visando evitar a transferência de compostos (por exemplo, os pigmentos) da casca para a polpa, os frutos foram despulpados manualmente um a um, onde foi realizada a separação da polpa, da casca e das sementes. A polpa foi homogeneizada, acondicionada em embalagens plásticas e armazenada em temperatura de congelamento (-20 °C) até a realização das análises químicas.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Caracterização física dos frutos de camu-camu

Para a caracterização física foram utilizados aproximadamente 50 unidades de frutos de cada progênie, nos três estádios de maturação. As dimensões (diâmetro longitudinal e diâmetro transversal) foram determinadas com o auxílio de um paquímetro e os resultados expressos em centímetros (cm). A massa fresca dos frutos foi determinada com o auxílio de balança analítica e os resultados expressos em gramas (g). A separação das sementes, polpa e casca foi realizada manualmente para o cálculo do rendimento em polpa do fruto, expresso em percentual (%), a partir da diferença entre o peso dos frutos inteiros e o peso das sementes e das cascas. A determinação do peso para o cálculo do rendimento foi realizada com o auxílio de balança digital semianalítica. As avaliações físicas foram realizadas no dia da colheita dos frutos.

4.2.2 Caracterização físico-química da polpa de camu-camu

Para determinação da caracterização físico-química da polpa de camu-camu foram realizadas as seguintes análises, em triplicata:

4.2.2.1 Umidade

Foi determinada via método gravimétrico, por secagem em estufa a 105°C, até peso constante, sendo os resultados expressos em porcentagem (%), de acordo com o método 920.151 da AOAC (2002).

4.2.2.2 Cinzas

Foram determinadas gravimetricamente, por calcinação da amostra a 550°C, de acordo com o método 940.26 da AOAC (2002). Os resultados foram expressos em % (b.s.).

4.2.2.3 Proteínas

Foram determinadas a partir do nitrogênio total contido na amostra, de acordo com o método Kjeldahl, número 920.152 da AOAC (2002). Na conversão nitrogênio em proteína foi utilizado o fator 6,25. Os resultados foram expressos em % (b.s.).

4.2.2.4 Lipídios

Foram determinados por extração com mistura de solventes a frio, de acordo com o método de Bligh e Dyer (1959). Os resultados foram expressos em % (b.s.).

4.2.2.5 Fibra insolúvel

Foi determinada por meio do método detergente-ácido, número 973.18 da AOAC (1997). Os resultados foram expressos em % (b.s.).

4.2.2.6 Açúcares redutores

Foram determinados pelo método de Lane e Eynon (titulação de oxirredução), segundo o método 31.034-6 da AOAC (1984). Os resultados foram expressos em % (b.s.).

4.2.2.7 Acidez titulável total (ATT)

Foi determinada por titulação com NaOH 0,1 N, com o auxílio de um pHMETRO, sendo os resultados expressos em mg de ácido cítrico/100 g (b.u.), segundo método 942.15 da AOAC (2002).

4.2.2.8 Potencial hidrogeniônico (pH)

Foi determinado em potenciômetro da marca Hanna Instruments, modelo HI9321, previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0, de acordo com o método 943.15 da AOAC (2002).

4.2.2.9 Sólidos solúveis (SS)

Foi obtido pela leitura direta em refratômetro digital, sendo os resultados expressos em °Brix, de acordo com o método nº 932.12 da AOAC (2002).

4.2.2.10 Relação SS/ATT

A relação foi determinada pelo quociente entre o teor de sólidos solúveis e a acidez titulável total.

4.2.3 Compostos bioativos da polpa de camu-camu

4.2.3.1 Vitamina C

Foi quantificada de acordo com o método titulométrico nº 43.065 da AOAC (1984), modificado por Benassi (1990), que se baseia na oxidação do ácido ascórbico a ácido deidroascórbico. O ensaio utiliza o 2,6-dicloro-fenol-indofenol (DCFI), conhecido como reativo de Tillmans, que é reduzido pela solução ácida do ácido ascórbico. Os resultados foram expressos em g/100 g (b.s.).

4.2.3.2 Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método descrito por Singleton e Rossi (1965) e modificado por Georgé et al. (2005), que se baseia na reação com o reagente de Folin-Ciocalteu. Este método baseia-se na redução dos ácidos fosfomolibdênico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) e fosfotungístico ($H_3PW_{12}O_{40}$), presentes no reagente de Folin-Ciocalteu, a óxido de tungstênio (W_8O_{23}) e óxido de molibdênio (Mo_8O_{23}), pelos compostos fenólicos em meio alcalino, produzindo um complexo de coloração azul. Segundo Naczki e Shahidi (2004), além dos compostos fenólicos, o reagente Folin-Ciocalteu também é capaz de reduzir substâncias como o ácido ascórbico, açúcares e alguns aminoácidos. Dessa forma, esses compostos atuam como interferentes nos resultados.

A extração dos compostos fenólicos da polpa foi realizada com solução aquosa de acetona 70% (v/v). A mistura foi mantida sob agitação magnética por 30 minutos (na ausência de luz). O extrato obtido foi filtrado e, posteriormente, diluído em água destilada a fim de corrigir a concentração de acetona para 7%, obtendo-se o extrato bruto.

Para a remoção de compostos interferentes na análise, uma alíquota de 2 mL do extrato bruto foi eluída em um cartucho de separação OASIS[®] HLB 3cc (*Waters Corporation*, EUA), previamente ativado com metanol puro e água destilada. Os compostos fenólicos foram absorvidos na coluna e o extrato composto somente por substâncias redutoras (ácido ascórbico e/ou açúcares redutores) foi eluído por meio da passagem de duas alíquotas de 2 mL de água destilada. Os filtrados foram recolhidos em uma proveta e homogeneizados, resultando no extrato lavado.

Uma alíquota de 0,5 mL dos diferentes extratos (bruto e lavado) foi submetida à reação com 2,5 mL de Folin-Ciocalteu e, após 2 minutos de repouso em temperatura ambiente, foram adicionados 2,0 mL de solução aquosa de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 7,5% (m/v). A mistura foi levada ao banho-maria a 50 °C por 15 minutos e, em seguida, ao banho de gelo por 15 segundos. Para o branco, a alíquota de extrato foi substituída pela mesma quantidade de acetona 7%. A quantificação foi feita por leitura espectrofotométrica a 760 nm.

Ácido gálico foi utilizado para obtenção da curva padrão. O teor de compostos fenólicos totais, expresso em mg de ácido gálico equivalente/100 g (b.s.), foi calculado pela diferença entre os valores obtidos para o extrato bruto e para o extrato lavado.

4.2.3.3 Flavanóis totais

Para determinação do teor de flavanóis totais foi utilizado o procedimento proposto por Julkunen-Tiitto (1985).

Para a extração dos flavanóis da polpa utilizou-se solução aquosa de acetona 80% (v/v). Uma alíquota de amostra foi homogeneizada com 30 mL da solução de extração, sendo a mistura mantida sob agitação magnética por 20 minutos à temperatura ambiente. O conteúdo foi centrifugado e, em seguida, o sobrenadante filtrado para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se 30 mL de acetona 80% ao resíduo da extração submetendo-se a mistura à agitação magnética por 20 minutos. Em seguida, o conteúdo foi centrifugado e o sobrenadante filtrado para o balão volumétrico de 100 mL contendo o primeiro filtrado. O procedimento foi repetido mais uma vez e, ao final das três extrações, o balão foi aferido com o mesmo solvente.

Para um tubo de ensaio previamente revestido com papel alumínio, foi transferido 0,5 mL do extrato obtido. Em seguida, foram adicionados 3,0 mL da solução metanólica de vanilina 4% (m/v) e a mistura agitada vigorosamente em agitador de tubos. Após a agitação, foi adicionada alíquota de 1,5 mL de HCl concentrado e a mistura novamente submetida à agitação. Os tubos foram mantidos em repouso por 20 minutos à temperatura ambiente. Decorrido esse tempo, procedeu-se a leitura em espectrofotômetro em comprimento de onda de 500 nm. Para obtenção da curva padrão utilizou-se uma solução estoque na concentração de 2500 mg/L, com posterior diluição, variando sua concentração de 100 até 500 mg de catequina equivalente por litro de solução. Os resultados foram expressos em mg de catequina equivalente/100 g (b.s.).

4.2.3.4 Flavonóis

A quantificação de flavonóis foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Meda et al. (2005).

A extração dos flavonóis da polpa integral de camu-camu foi feita pesando-se quantidade suficiente de amostra e adicionando-se solução aquosa de metanol 50% (v/v). Uma alíquota de 5 mL de solução de cloreto de alumínio (AlCl_3) 2% (m/v), em metanol, foi transferida para um tubo de ensaio e misturada com o mesmo volume do extrato. Após incubação à temperatura ambiente por 10 minutos, a absorbância da mistura foi medida em espectrofotômetro a 415 nm. Para o branco, a quantidade de cloreto de alumínio 2% foi

substituída pela mesma quantidade de metanol, sem AlCl_3 . Quercetina foi utilizada para obtenção da curva padrão. Os resultados foram expressos em mg de quercetina equivalente/100 g (b.s.).

4.2.3.5 Antocianinas totais

A quantificação de antocianinas totais foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico do pH diferencial, que utiliza solução tampão pH 1,0 e 4,5, conforme descrito por Fuleki e Francis (1968).

Uma alíquota de amostra foi pipetada para 2 tubos de ensaio e, em seguida, adicionou-se 10 mL de solução tampão pH 1,0 (HCl/KCl) ao primeiro tubo e 10 mL de tampão pH 4,5 (HCl/ CH_3COONa) ao segundo tubo. A mistura foi homogeneizada em vortex e filtrada em papel filtro fibra de vidro. A absorbância das soluções foi determinada em espectrofotômetro, em comprimentos de onda de 510 e 700 nm, utilizando água destilada como branco. Para o cálculo das antocianinas totais foi utilizada a Equação 2.

$$C \text{ (mg/L)} = \frac{[(\text{Abs}_{510\text{nm}} - \text{Abs}_{700\text{nm}})_{\text{pH}1,0} - (\text{Abs}_{510\text{nm}} - \text{Abs}_{700\text{nm}})_{\text{pH}4,5}] \times \text{MM} \times \text{FD} \times 1000}{\text{AM}} \quad (2)$$

Onde C é igual a concentração de antocianinas presentes na amostra e a diferença dos valores de absorbância em pH 1,0 e 4,5 é diretamente proporcional à concentração de antocianinas. O cálculo foi baseado na cianidina-3-glicosídeo, antocianina predominante na amostra (ZANATTA et al., 2005), com massa molecular (MM) de 449,2 g/mol e absorvidade molar de 26.900 L/mol/cm (AM). Para o cálculo do fator de diluição (FD) dividiu-se o volume final da solução, após a adição do tampão, pelo volume da alíquota de amostra utilizada. Os resultados foram expressos em mg de cianidina-3-glicosídeo equivalente/100 g (b.s.).

4.2.4 Capacidade antioxidante *in vitro*

4.2.4.1 Obtenção do extrato

Para obtenção dos extratos, a amostra foi pesada em béquer e homogeneizada com 40 mL de metanol/água (50:50 v/v) permanecendo em repouso por 1 hora à temperatura

ambiente. A mistura foi centrifugada a 11.000 rpm durante 20 minutos e o sobrenadante transferido para um balão volumétrico âmbar de 100 mL. Em seguida, adicionou-se 40 mL de acetona/água (70:30 v/v) ao resíduo da primeira extração permanecendo em repouso por 1 hora à temperatura ambiente, seguido de centrifugação a 11.000 rpm durante 20 minutos. O sobrenadante foi transferido para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante e o volume aferido para 100 mL com água destilada. Os extratos foram filtrados com o auxílio de papel de filtro Whatman n° 6 e acondicionados em frascos de vidro âmbar.

4.2.4.2 Método TEAC

A capacidade antioxidante pelo método TEAC foi determinada de acordo com o procedimento proposto por Rufino et al. (2007b). O radical ABTS^{•+} foi obtido a partir da reação da solução aquosa de ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzo-thiazoline-6-ácido sulfônico)) 7 mM com a solução de persulfato de potássio 140 mM. A mistura foi mantida ao abrigo da luz, à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), durante 16 horas. Uma vez formado, o radical ABTS^{•+} foi diluído em etanol P.A. a fim de obter um valor de absorvância de $0,7 \pm 0,05$, em comprimento de onda de 734 nm.

A partir do extrato obtido no item 4.2.4.1 foram preparadas cinco diluições diferentes em triplicata. Em ambiente protegido da luz, transferiu-se uma alíquota de 30 μL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio e adicionou-se 3,0 mL do radical ABTS^{•+}. Após 6 minutos foi realizada a leitura da absorvância a 734 nm, utilizando etanol como branco para calibrar o espectrofotômetro. Obteve-se uma curva a partir dos valores das absorvâncias e das concentrações das amostras. Como referência foi obtida uma curva padrão com o Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico), um antioxidante sintético análogo à vitamina E. Os resultados da capacidade antioxidante total foram expressos em μM Trolox/g (b.s.) (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

4.2.4.3 Método DPPH

A capacidade antioxidante pelo método DPPH (2,2-Difenil-1-picril-hidrazil) foi determinada de acordo com o procedimento proposto por Rufino et al. (2007a). No ensaio ocorre a captura do radical DPPH pelos antioxidantes presentes na amostra, produzindo decréscimo da absorvância a 515 nm. Esse método foi idealizado por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) e modificado por Sánchez-Moreno et al. (1998), introduzindo os

parâmetros cinéticos: EC_{50} (quantidade de antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH•) e t_{EC50} (tempo que essa concentração necessita para reduzir em 50% a quantidade inicial do radical) e a eficiência antirradical ($AE = 1/(EC_{50} * t_{EC50})$).

A partir da solução inicial de DPPH (60 μ M) foram preparadas em balões volumétricos de 10 mL soluções variando a concentração de 10 a 60 μ M. Posteriormente, foram utilizadas todas as concentrações para geração da curva, obtendo-se suas absorbâncias no espectrofotômetro a 515 nm, utilizando metanol como branco.

Foi gerada uma cinética para determinar o tempo de estabilização da absorbância para cada amostra. Nessa etapa, foram preparadas em tubos de ensaio cinco diluições diferentes (10, 7, 6, 5 e 4 mg/mL) do extrato obtido para as amostras em três estádios de maturação adicionando-se, em seguida, 3,9 mL do radical DPPH. O decréscimo da absorbância foi monitorado a cada minuto, a 515 nm, até sua estabilização. As absorbâncias obtidas foram comparadas com um controle em branco, sem antioxidantes.

Determinado o tempo de estabilização, foram preparadas cinco diluições diferentes em triplicata, a partir do extrato obtido no item 4.2.4.1. Uma alíquota de 100 μ L de cada diluição foi adicionada a 3,9 mL de solução metanólica contendo 0,06 mM de DPPH. Todas as determinações foram acompanhadas de um controle feito substituindo-se o volume do extrato por igual volume do solvente utilizado na extração. A leitura da absorbância final para o cálculo do EC_{50} foi feita após a estabilização da absorbância (tempo EC_{50}).

A capacidade antioxidante foi expressa como a concentração de antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH (EC_{50}). O decréscimo da absorbância do DPPH foi expresso como g de polpa/g de DPPH (b.s).

4.3 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS

Para verificar a existência de diferença significativa entre as progênes e os estádios de maturação, as médias foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, com auxílio do programa STATISTICA® versão 7.0. Para avaliar a associação entre pares de variáveis, ao longo do amadurecimento, foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson, aos níveis de 1% e 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS FRUTOS DE CAMU-CAMU

Os valores obtidos para a massa fresca, o diâmetro longitudinal e o diâmetro transversal dos frutos de camu-camu das três progênie, em função do estágio de maturação, estão apresentados nas Figuras 14, 15 e 16, respectivamente, e no Apêndice A.

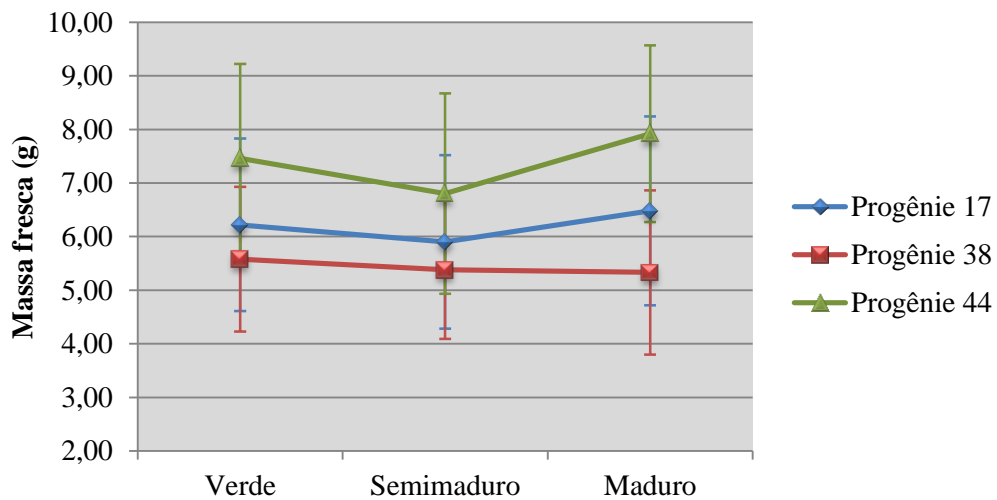


Figura 14. Massa fresca (g) dos frutos de camu-camu das três progênie, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de cinquenta repetições. Barras verticais representam o desvio padrão.

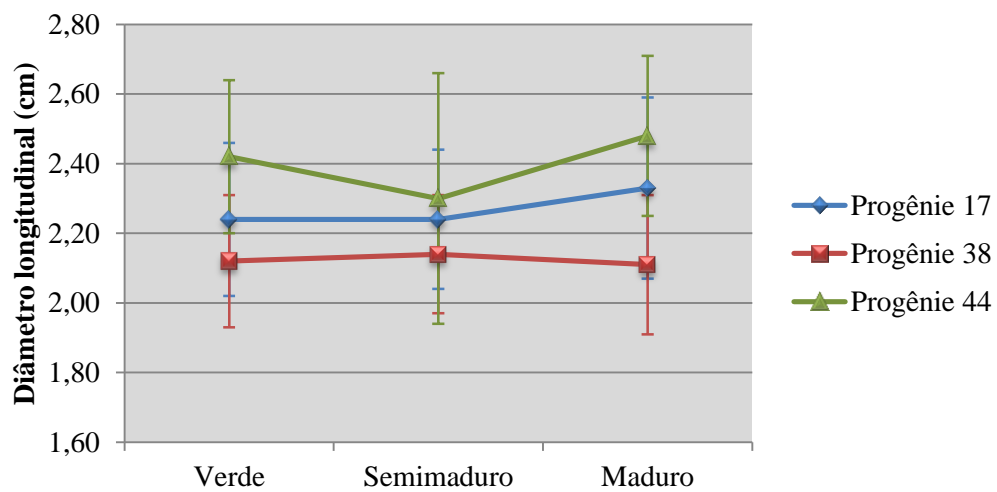


Figura 15. Diâmetro longitudinal (cm) dos frutos de camu-camu das três progênie, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de cinquenta repetições. Barras verticais representam o desvio padrão.

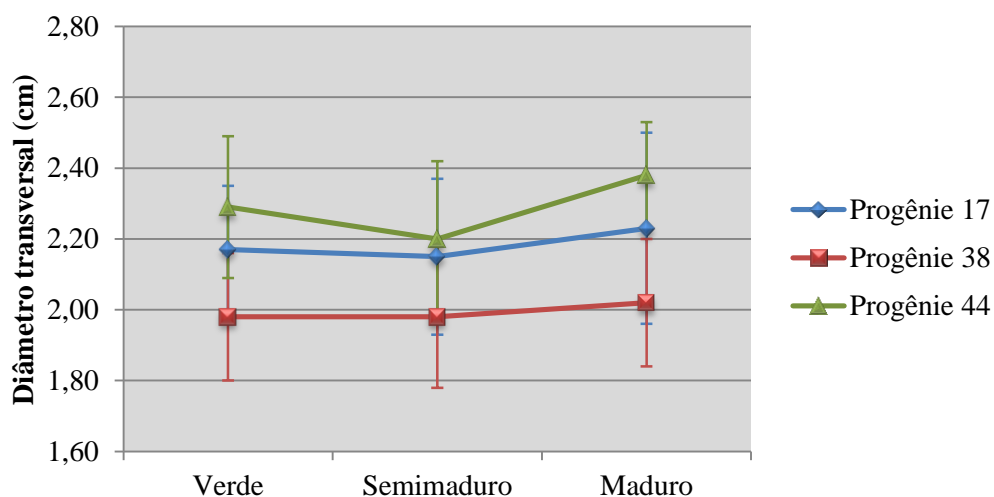


Figura 16. Diâmetro transversal (cm) dos frutos de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de cinquenta repetições. Barras verticais representam o desvio padrão.

Os frutos das três progênies estudadas mostraram-se irregulares, independente do estágio de maturação, considerando-se os coeficientes de variação observados na massa dos frutos e nos diâmetros longitudinal e transversal, conforme Apêndice A, o que indica que em uma mesma planta são encontrados frutos com massas e dimensões muito diferentes. Smiderle e Sousa (2008) também observaram grande variação para a massa de frutos de camu-camu, oriundos de Roraima, com valores que variaram de 3,70 a 17,60 g. Em estudo com frutos de camu-camu cultivados em dois municípios, localizados no Estado de São Paulo, Pinedo (2007) observou diâmetros que variaram de 1,27 a 3,41 cm e massas que variaram de 3,75 a 21,70 g, o que ocorreu em função das diferentes regiões de procedência dos frutos, além dos períodos de safra.

No estágio de maturação verde, as massas frescas obtidas foram 6,22 e 5,58 g, os diâmetros longitudinais 2,24 e 2,12 cm e os diâmetros transversais 2,17 e 1,98 cm para as progênies 17 e 38, respectivamente, e não variaram ($p \leq 0,05$) com o avanço do amadurecimento. Por outro lado, na progênie 44 houve aumento da massa fresca e do diâmetro transversal quando os frutos passaram do estágio semimaduro (6,80 g e 2,20 cm) para o maduro (7,92 g e 2,38 cm) e diminuição do diâmetro longitudinal quando os frutos passaram do estágio verde (2,42 cm) para o semimaduro (2,30 cm), com posterior aumento ao atingir o estágio maduro (2,48 cm). As menores massas e diâmetros observados nesta progênie no estágio intermediário de maturação podem ter ocorrido devido a uma diferença de amostragem, uma vez que os frutos são irregulares, conforme já comentado anteriormente.

Um estudo conduzido por Alves et al. (2002), com frutos de camu-camu provenientes de Belém, Estado do Pará, não mostrou diferença estatística para as características físicas obtidas ao longo do amadurecimento, com valores médios para a massa de 6,58 e 7,05 g, diâmetros de 2,23 e 2,31 cm e comprimentos de 2,14 e 2,21 cm para os estádios de maturação verde e maduro, respectivamente. Massas superiores às obtidas nas três progênies estudadas foram encontradas por Smiderle e Sousa (2008), com valores médios de 9,00 e 11,80 g nos estádios de maturação verde e maduro, respectivamente. Para frutos de camu-camu maduros, provenientes do Estado do Amazonas, Maeda et al. (2006) obtiveram massa média, diâmetro e comprimento superiores aos observados no presente trabalho, no mesmo estágio de maturação, com valores de 9,21 g, 2,57 cm e 2,59 cm, respectivamente. Valores superiores também foram observados por Alves et al. (2012), em estudo com duas populações de camu-camu, provenientes do Estado de Roraima, que obtiveram massas de 11,90 e 8,99 g, diâmetros de 2,63 e 2,46 cm e alturas de 2,50 e 2,30 cm para frutos maduros das populações coletadas em Corredeiras do Bem Querer e Lago do Rei, respectivamente.

As características físicas dos frutos podem variar devido a diferentes fatores como a região produtora, formas de cultivo, material genético, estádios de maturação, entre outros, o que justifica as diferenças entre os valores encontrados na literatura quando comparados aos obtidos no presente trabalho.

As massas frescas obtidas na progênie 44 foram maiores ($p \leq 0,05$), quando comparadas às demais, em todos os estádios de maturação. Os diâmetros longitudinal e transversal de todas as progênies, no estágio verde, foram diferentes entre si. No estágio semimaduro, o diâmetro longitudinal diferiu na progênie 38 e o diâmetro transversal diferiu entre as progênies 38 e 44. Ao final do amadurecimento, as características físicas avaliadas foram diferentes em todas as progênies, com maiores valores observados na progênie 44, que apresentou massa fresca, diâmetro longitudinal e diâmetro transversal 22%, 6% e 7%, respectivamente, superior à progênie 17 e 50%, 18% e 18%, respectivamente, superior à progênie 38. Esses resultados confirmaram que a variabilidade genética do camu-camu influencia significativamente nas características físicas dos frutos.

Os valores obtidos para o rendimento em polpa dos frutos de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Figura 17 e no Apêndice B.

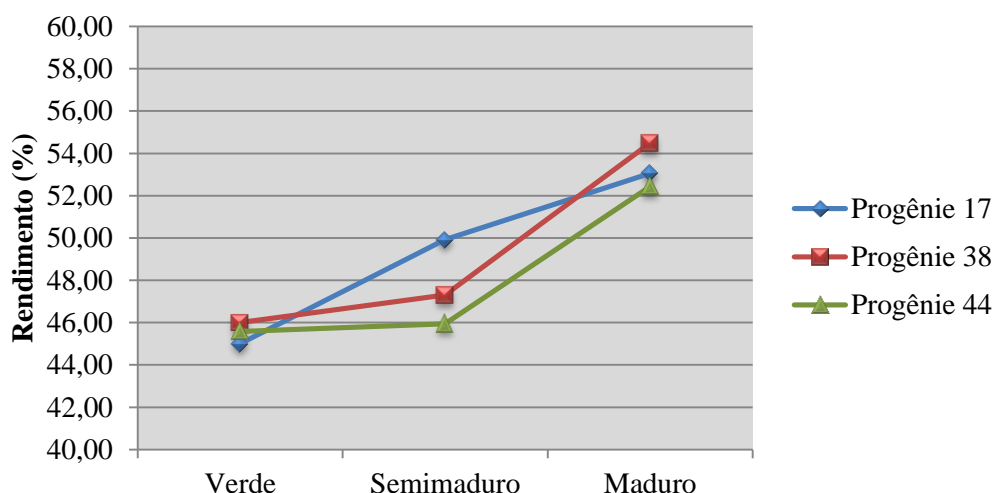


Figura 17. Rendimento (%) em polpa dos frutos de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação.

Em todas as progênies estudadas, a porcentagem em polpa aumentou, em função do estágio de maturação, mostrando que frutos maduros obtêm maior rendimento, o que indica o acúmulo de matéria fresca durante seu amadurecimento nessa parte dos frutos. Comportamento semelhante foi observado por Araújo et al. (2010), em estudo com frutos de jaboticaba, também pertencente ao gênero *Myrciaria*, e observaram acúmulo de matéria fresca na polpa dos frutos durante o seu amadurecimento.

No estágio de maturação maduro, os rendimentos em polpa das três progênies foram superiores a 50%, e assemelharam-se aos obtidos por Alves et al. (2012) em frutos maduros, oriundos das populações coletadas em Corredeiras do Bem Querer e Lago do Rei, com valores iguais a 53,39 e 54,75%, respectivamente.

Baixos rendimentos em polpa, em relação aos encontrados no presente trabalho, foram obtidos por Smiderle e Sousa (2008), que realizaram o despulpamento dos frutos com o auxílio de liquidificador, seguido de peneiramento para retirada das cascas e sementes, e encontraram rendimento de 27,34% no estágio de maturação maduro e 19,00% para o estágio verde, indicando que o método de despulpamento utilizado também influencia no rendimento em polpa dos frutos, além do local de produção e época de colheita.

5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA POLPA DE CAMU-CAMU

5.2.1 Umidade

Os valores obtidos nas determinações do teor de umidade da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Figura 18 e no Apêndice C.

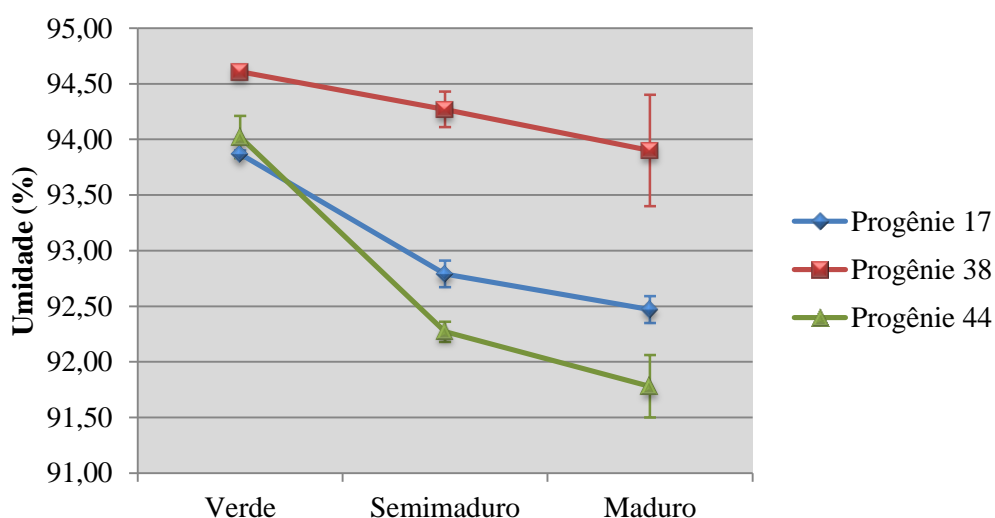


Figura 18. Teor de umidade (%) da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de três repetições. Barras verticais representam o desvio padrão.

Para a progênie 17, o teor de umidade obtido no estágio de maturação verde foi 93,87%, com diminuição ($p \leq 0,05$) de 1,5% ao longo do amadurecimento. Para a progênie 38, o conteúdo de umidade obtido no estágio verde foi 94,61% e não variou ao longo do amadurecimento. Na progênie 44 foi obtido teor de 94,02% no estágio verde e, ao longo do amadurecimento, houve redução de 2,4%, sem diferença estatística nos dois últimos estágios de maturação.

A diminuição da umidade pode ter ocorrido devido à perda de água pela respiração (PINTO, 2013) ou pela forte insolação e alta demanda evaporativa que predominam na região amazônica (SILVA, 2012).

Ribeiro (2012) observou teores de umidade estatisticamente iguais entre si, ao longo do amadurecimento, com valores de 92,21 e 91,79% nos estágios verde e maduro, respectivamente, para a parte comestível de frutos de camu-camu, oriundos do Estado do

Amazonas, conforme observado na progênie 38. Para frutos de camu-camu, oriundos de Manaus, Andrade (1991) observou acúmulo de água no decorrer da maturação, com redução no período de senescência.

Os teores de umidade descritos na literatura para a polpa obtida de frutos de camu-camu maduros situaram-se na faixa de 82,82 a 94,10% (JUSTI et al., 2000; PINEDO, 2002; SILVA; PINEDO; KIECKBUSCH, 2005; MAEDA et al., 2006; SILVA; SOBRAL; KIECKBUSCH, 2006a; MAEDA et al., 2007; PEUCKERT et al., 2010; RUFINO et al., 2010; FUJITA et al., 2013). A grande variação observada pode ser explicada pelas diferenças genéticas, local e épocas de cultivo, além do método de despolpamento utilizado.

Analisando as diferenças genéticas foi observado que a progênie 38 apresentou a maior ($p \leq 0,05$) umidade, em todos os estádios de maturação. Nos estádios verde e maduro as progênies 17 e 44 apresentaram teores estatisticamente iguais entre si. No estágio semimaduro, todas as progênies apresentaram teores de umidade diferentes, com menor valor obtido na progênie 44. Os resultados indicaram que os teores de umidade da polpa de camu-camu sofrem influência significativa de fatores genéticos.

5.2.2 Cinzas

Os valores obtidos nas determinações do teor de cinzas da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Figura 19 e no Apêndice C.

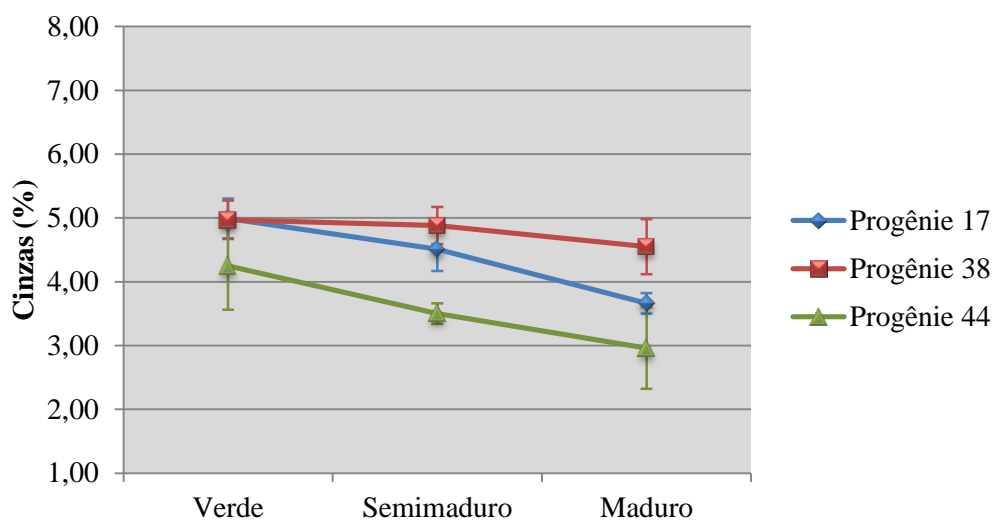


Figura 19. Teor de cinzas (%) da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de três repetições (base seca). Linhas verticais representam o desvio padrão.

Para as progênies 38 e 44, os teores de cinzas obtidos no estágio de maturação verde foram 4,97 e 4,25%, respectivamente, e não variaram ($p \leq 0,05$) ao longo do amadurecimento. Por outro lado, na progênie 17, o teor de cinzas obtido no estágio verde (4,99%) manteve-se estatisticamente igual quando a polpa atingiu o estágio semimaduro e, posteriormente, houve diminuição ao atingir o estágio maduro (3,66%), o que correspondeu a uma redução de 26,7% ao longo do amadurecimento. Não foram encontrados na literatura estudos sobre as variações nos conteúdos de cinzas da polpa do camu-camu, em função do estágio de maturação, não sendo possível, dessa forma, fazer comparação de resultados.

Nos alimentos, as cinzas relacionam-se ao resíduo inorgânico remanescente da queima da matéria orgânica, e sua composição corresponde à quantidade de substâncias minerais presentes, devido às perdas por volatilização ou mesmo pela reação entre os componentes. As cinzas são consideradas como medida geral de qualidade e frequentemente são utilizadas como critério na identificação dos alimentos (CHAVES et al., 2004).

A variabilidade genética do camu-camu exerceu influência significativa ($p \leq 0,05$) nos teores de cinzas da polpa nos dois últimos estágios de maturação. No estágio semimaduro, a progênie 44 apresentou teor inferior às demais e, no estágio maduro, as progênies 38 e 44 foram diferentes entre si, com menor teor obtido na progênie 44.

5.2.3 Proteínas

Os valores obtidos nas determinações do teor de proteínas da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Figura 20 e no Apêndice C.

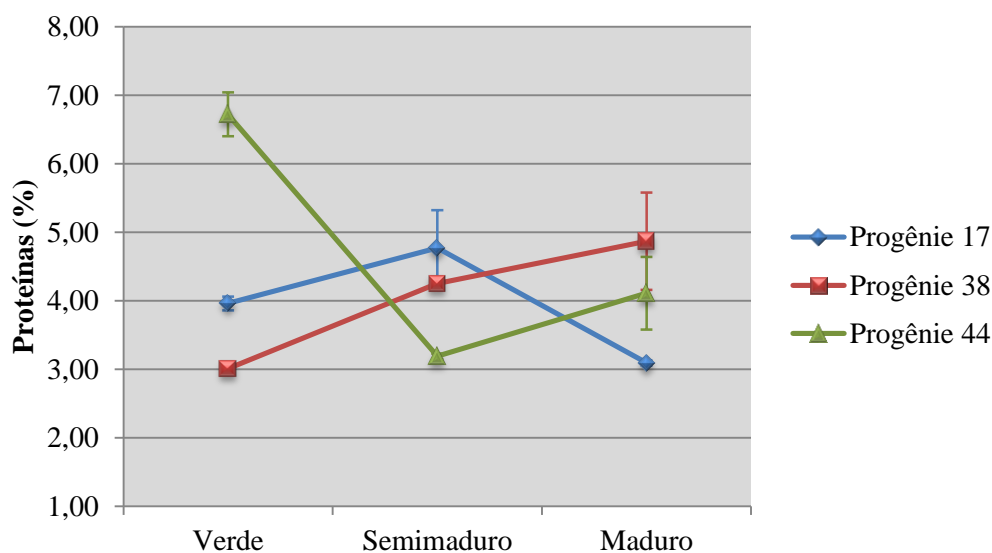


Figura 20. Teor de proteínas (%) da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de três repetições (base seca). Linhas verticais representam o desvio padrão.

Para a progênie 17 houve aumento ($p \leq 0,05$) do conteúdo de proteínas quando a polpa passou do estágio de maturação verde (3,96%) para o semimaduro (4,77%), com posterior diminuição quando atingiu a maturidade, correspondendo a uma redução de 22,0% ao longo do amadurecimento. Na progênie 38 houve aumento do conteúdo de proteínas quando a polpa passou do estágio verde (3,01%) para o semimaduro (4,25%), mantendo-se estatisticamente igual ao atingir o estágio maduro, correspondendo a uma elevação de 61,8% ao longo do amadurecimento. Para a progênie 44 houve diminuição quando a polpa passou do estágio verde (6,72%) para o semimaduro (3,19%), mantendo-se estatisticamente igual ao atingir a maturidade. A redução do teor de proteínas observada nessa progênie foi de 38,8% ao longo do amadurecimento.

Não foram encontrados estudos sobre as variações dos teores de proteínas da polpa de camu-camu, ao longo do amadurecimento. Para a parte comestível dos frutos, oriundos de Manaus, Andrade (1991) observou diminuição dos teores de proteínas, ao longo da

maturação. Porém, os valores apresentados pelo autor referem-se à base úmida. Em estudo com frutos de acerola (*Malpighia puniceifolia* L.), Vendramini e Trugo (2000) observaram redução do conteúdo de proteínas ao longo do amadurecimento, passando de 13,33% (b.s.) no estágio verde para 11,84% (b.s.) no estágio maduro. Os autores atribuíram esse comportamento à utilização de aminoácidos para formação de compostos voláteis durante a maturação dos frutos. Em estudo com polpa de camu-camu maduro, Maeda et al. (2006) obtiveram teor de proteínas de 3,95% (b.s.), valor próximo aos obtidos no presente trabalho no mesmo estágio de maturação.

Em todos os estádios de maturação os teores de proteínas da polpa de camu-camu sofreram influência significativa de fatores genéticos. No estágio verde, todas as progênies apresentaram teores diferentes ($p \leq 0,05$). No estágio semimaduro, somente a progênie 44 diferiu das demais e, no estágio maduro, as progênies 17 e 38 apresentaram conteúdos diferentes.

5.2.4 Lipídios

Os valores obtidos nas determinações do teor de lipídios da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Figura 21 e no Apêndice C.

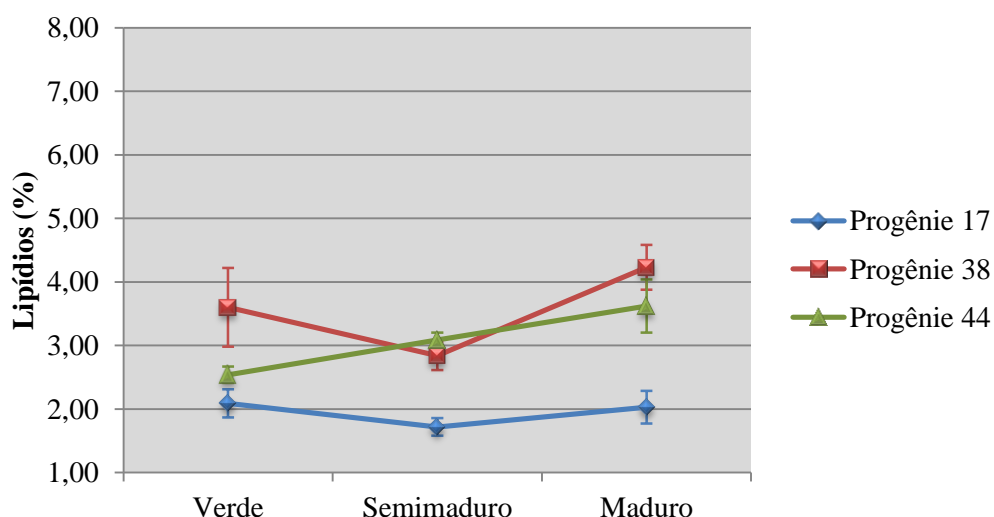


Figura 21. Teor de lipídios (%) da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de três repetições (base seca). Linhas verticais representam o desvio padrão.

Para a progênie 17, o teor de lipídios obtido no estágio de maturação verde foi 2,09%, não sendo observada variação ($p \leq 0,05$) ao longo do amadurecimento. Para a progênie 38 houve aumento quando a polpa passou do estágio semimaduro (2,84%) para o maduro (4,23%). A progênie 44 mostrou conteúdo de 2,54% no estágio verde, chegando ao final do amadurecimento com teor 42,5% superior.

Para fins de comparação, não há estudos publicados que relatem as variações nos conteúdos de lipídios da polpa do camu-camu, em função do estágio de maturação. Os baixos teores encontrados nas três progênies estudadas, independente do estágio de maturação, indicaram que a polpa de camu-camu não representa fonte considerável do macronutriente. Para a polpa obtida de frutos de camu-camu maduros, coletados no Amazonas, Maeda et al. (2006) obtiveram conteúdo de 0,68% (b.s.) de lipídios, estando inferior aos obtidos no presente trabalho no mesmo estágio de maturação.

A variabilidade genética do camu-camu contribuiu para os teores de lipídios da polpa, visto que, no estágio de maturação verde, a progênie 38 apresentou diferença ($p \leq 0,05$) das demais e, nos estádios semimaduro e maduro, a progênie 17 mostrou diferença, com valores inferiores às demais.

5.2.5 Fibra insolúvel

Os valores obtidos nas determinações do teor de fibra insolúvel da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Figura 22 e no Apêndice C.

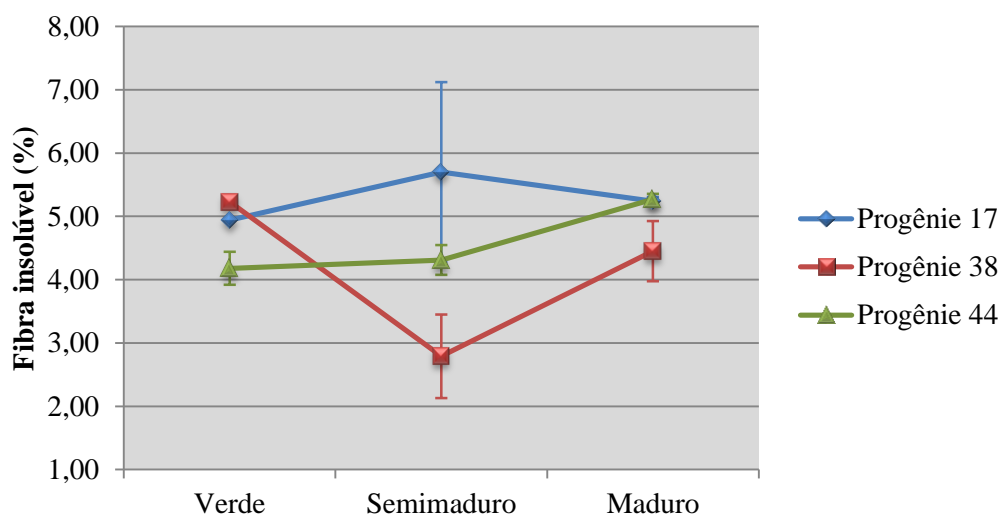


Figura 22. Teor de fibra insolúvel (%) da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de três repetições (base seca). Linhas verticais representam o desvio padrão.

Os teores de fibras insolúveis obtidos, em função do estágio de maturação, apresentaram comportamentos divergentes para cada progênie. Para a progênie 17, o teor obtido no estágio de maturação verde foi 4,94% e não houve variação ($p \leq 0,05$) ao longo do amadurecimento. Para a progênie 38 houve diminuição quando a polpa passou do estágio verde (5,23%) para o semimaduro (2,79%), com posterior aumento quando atingiu a maturidade (4,45%). Na progênie 44, o teor obtido no estágio verde (4,18%) não variou ao atingir o estágio semimaduro, e, ao final do amadurecimento, houve aumento para 5,27%.

Não foram encontrados na literatura estudos sobre as variações nos conteúdos de fibras insolúveis da polpa do camu-camu, em função do estágio de maturação. Dessa forma, não foi possível fazer comparação de resultados. Para a polpa obtida de frutos de camu-camu maduros, coletados no Amazonas, Nascimento et al. (2013) obtiveram conteúdo de 6,53% (b.s.) de fibras insolúveis, teor superior aos obtidos no presente trabalho no mesmo estágio de maturação.

Em todos os estágios de maturação, os teores de fibras insolúveis da polpa de camu-camu sofreram influência significativa de fatores genéticos. No estágio verde, todas as progênies apresentaram teores diferentes ($p \leq 0,05$) entre si. No estágio semimaduro, as progênies 17 e 38 obtiveram conteúdos diferentes entre si e, no estágio maduro, a progênie 38 apresentou o menor conteúdo.

5.2.6 Açúcares redutores

Os valores obtidos nas determinações do teor de açúcares redutores da polpa de camu-camu das três progênie, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Figura 23 e no Apêndice C.

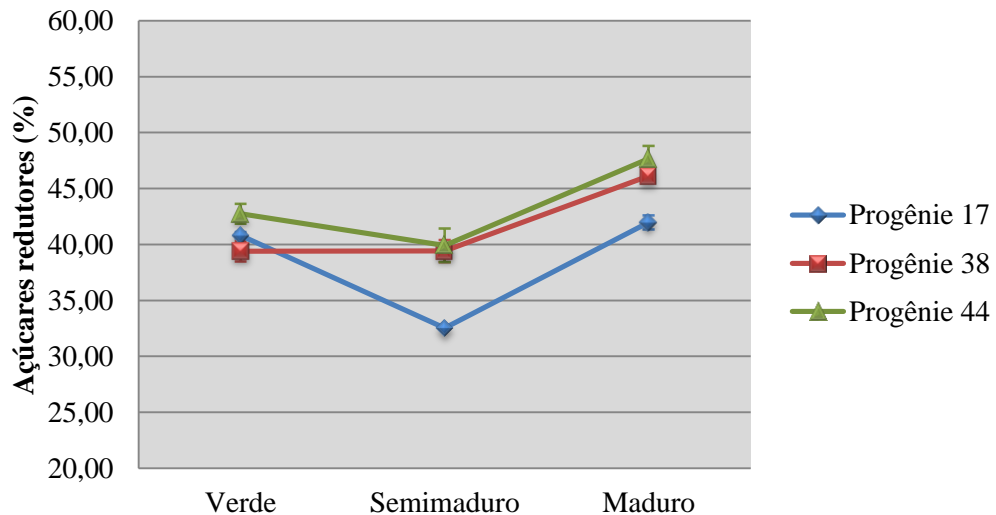


Figura 23. Teor de açúcares redutores (%) da polpa de camu-camu das três progênie, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de três repetições (base seca). Linhas verticais representam o desvio padrão.

Para a progênie 17 houve diminuição ($p \leq 0,05$) do teor de açúcares redutores quando a polpa passou do estágio de maturação verde (40,81%) para o semimaduro (32,53%), seguido de aumento quando atingiu a maturidade (41,97%). Nessa progênie houve acúmulo de somente 2,8% de açúcares redutores ao longo da maturação. Para as progênie 38 e 44, os teores obtidos no estágio verde (39,39% e 42,74%, respectivamente) não variaram ao atingir o estágio semimaduro e, quando a polpa atingiu o estágio maduro, houve aumento do teor para 46,13% e 47,66%, respectivamente, o que correspondeu a um acúmulo de 17,1% e 11,5% nas respectivas progênie.

De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), o teor de açúcares das frutas atinge o valor máximo ao final da maturação, corroborando com os resultados obtidos no presente trabalho. Para a polpa obtida de frutos de camu-camu maduros, provenientes de São Paulo, Silva, Sobral e Kieckbusch (2006) obtiveram conteúdo de açúcares redutores de 48,87% (b.s.), estando próximo aos obtidos no presente estudo para a polpa madura. Em estudo com polpa de camu-camu maduro, proveniente do Amazonas, Nascimento et al. (2013) obtiveram

conteúdo de 59,86% (b.s.), teor superior aos observados no presente trabalho no mesmo estágio de maturação.

A variabilidade genética do camu-camu influenciou os conteúdos de açúcares redutores da polpa nos três estádios de maturação. No estágio verde, a progênie 44 apresentou conteúdo diferente ($p \leq 0,05$) das demais. Nos estádios semimaduro e maduro, a progênie 17 apresentou diferença em relação às demais.

5.2.7 Acidez titulável total (ATT) e potencial hidrogeniônico (pH)

Os valores obtidos nas determinações do teor de acidez titulável total e pH da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Figura 24 e no Apêndice C.

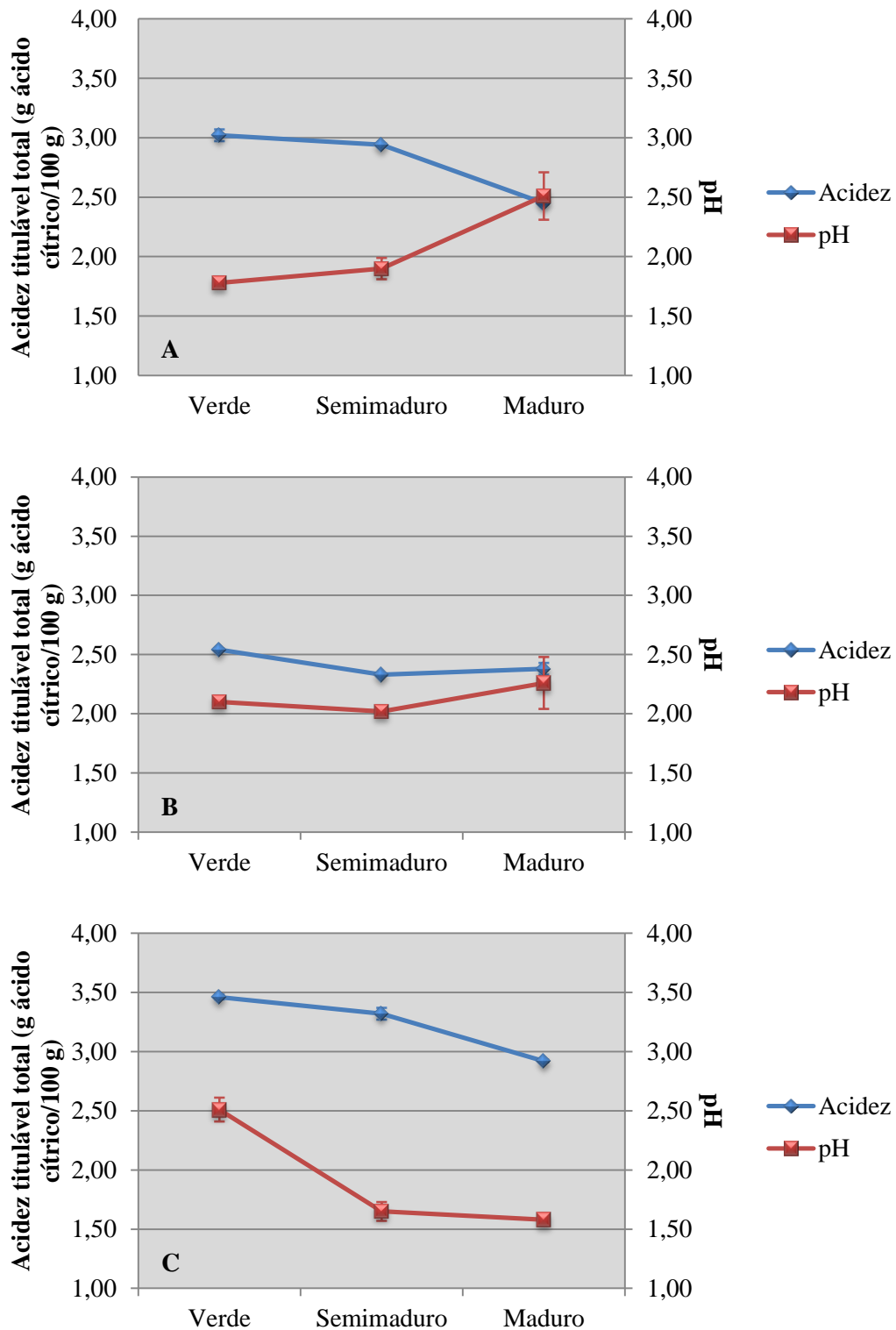


Figura 24. Acidez titulável total (g ácido cítrico/100 g) e potencial hidrogeniônico (pH) da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação. (A) Progênie 17, (B) Progênie 38 e (C) Progênie 44. Os valores representam a média de três repetições. Linhas verticais representam o desvio padrão.

As três progênies apresentaram decréscimo ($p \leq 0,05$) dos teores de acidez titulável em função do estágio de maturação. Na progênie 17 houve redução de 18,9% de acidez, ao longo do amadurecimento, em relação ao conteúdo obtido no estágio verde (3,02 g ácido cítrico/100 g). Na progênie 38 foi obtido teor de 2,54 g ácido cítrico/100 g no estágio verde e, ao longo do amadurecimento, houve redução de 6,3%, sem diferença estatística nos dois últimos estádios de maturação. A progênie 44 apresentou diminuição de 15,6% de acidez ao final do amadurecimento, em relação ao conteúdo obtido no estágio verde (3,46 g ácido cítrico/100 g).

Os teores de acidez das frutas normalmente diminuem com o amadurecimento, o que ocorre em virtude do consumo de ácidos orgânicos na respiração ou de sua conversão em açúcares (FENNEMA, 2010). Chitarra e Chitarra (2005) afirmaram que, durante a maturação, os ácidos orgânicos são utilizados como fonte de energia pelos frutos, sofrendo oxidação no ciclo de Krebs para a geração de compostos intermediários importantes para o metabolismo secundário.

Alves et al. (2002) e Pinto et al. (2013), estudando o efeito do estágio de maturação sobre os teores de acidez da polpa de camu-camu também observaram redução do teor de ácidos orgânicos ao longo do amadurecimento. Araújo et al. (2010) também observaram decréscimos nos teores de acidez titulável com o amadurecimento de jabuticaba, fruto que pertence à mesma família botânica do camu-camu.

Houve efeito significativo das diferenças genéticas do camu-camu nos teores de acidez da polpa, visto que, nos estádios de maturação verde e semimaduro, todas as progênies mostraram-se diferentes ($p \leq 0,05$) entre si e, no estágio maduro, a progênie 44 apresentou conteúdo diferente das demais.

Para a progênie 17, o pH obtido no estágio verde (1,78) não variou ($p \leq 0,05$) ao atingir o estágio semimaduro e, ao final do amadurecimento, houve aumento para 2,25. Conforme a Tabela 3, para essa progênie foi obtido coeficiente de correlação negativo e significativo entre as variáveis acidez e pH, indicando que o aumento do pH correspondeu à diminuição da acidez, já que os valores são inversamente proporcionais. Por outro lado, na progênie 38, o pH obtido no estágio verde foi 2,10, mantendo-se estável ao longo do amadurecimento. Para essa progênie foi obtido coeficiente de correlação positivo e não significativo entre o pH e a acidez, indicando que os valores de pH obtidos ao longo do amadurecimento não corresponderam à diminuição da acidez. A progênie 44 mostrou diminuição do pH quando a polpa passou do estágio verde (2,51) para o semimaduro (1,65), mantendo-se estatisticamente igual ao atingir o estágio maduro, o que resultou em correlação positiva e significativa entre as variáveis pH e acidez, já que em ambas houve diminuição ao

longo do amadurecimento. Tal comportamento indica que a variação observada no pH não correspondeu à diminuição da acidez.

Tabela 3. Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as variáveis pH e acidez titulável total da polpa de camu-camu de três progênies, em função do estágio de maturação.

Progênie	Coefficiente de correlação de Pearson (r)
17	-0,88*
38	0,13 ^{ns}
44	0,72**

* Significativo a $p \leq 0,01$.

** Significativo a $p \leq 0,05$.

ns Não significativo.

O pH representa o inverso da concentração de íons hidrogênio (H^+) e, normalmente, apresenta comportamento oposto ao da acidez. Dessa forma, à medida que a acidez diminui, com o avanço da maturação, o pH se eleva. No entanto, Andrade (1991) relata que alguns frutos possuem ação tamponante, ou seja, permitem a ocorrência de grandes variações de acidez sem levar a grandes variações no pH. Em seu estudo, o autor observou este comportamento em frutos de camu-camu, provenientes de Manaus. Silva (2012) observou pouca variação no pH do camu-camu, oriundo de Roraima, correspondendo à variação da acidez somente nos últimos estádios de maturação. Alves et al. (2002) não observaram diferença no pH da polpa de camu-camu, oriundo de Belém, em função do estágio de maturação, apesar da diminuição na acidez.

No estágio de maturação verde, os valores de pH obtidos para as três progênies foram diferentes ($p \leq 0,05$) entre si. Nos demais estádios, a progênie 44 apresentou valor diferente das demais. Dessa forma, a variabilidade genética do camu-camu contribuiu significativamente para o pH da polpa.

5.2.8 Sólidos solúveis (SS) e Relação SS/ATT

Os valores obtidos nas determinações do teor de sólidos solúveis (°Brix) e a relação SS/ATT da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Figura 25 e no Apêndice C.

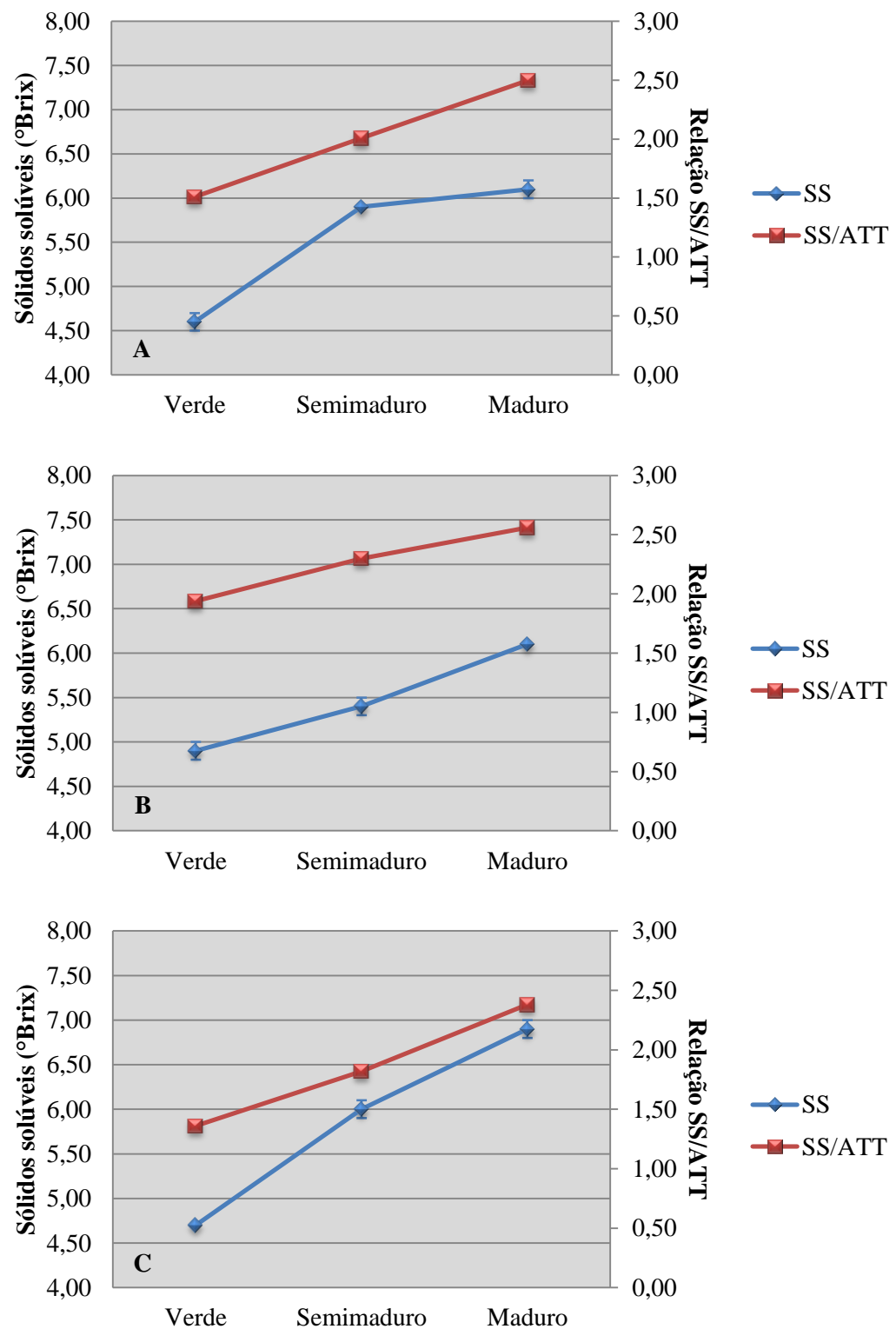


Figura 25. Teor de sólidos solúveis (°Brix) e relação SS/ATT da polpa de camu-camu das três progêneses, em função do estágio de maturação. (A) Progênie 17, (B) Progênie 38 e (C) Progênie 44. Os valores representam a média de três repetições (base úmida). Linhas verticais representam o desvio padrão.

A três progênes apresentaram elevação ($p \leq 0,05$) dos teores de sólidos solúveis totais nos três estádios de maturação. Na progênie 17 houve aumento de 32,6% de sólidos solúveis, ao longo do amadurecimento, em relação ao conteúdo obtido no estádio verde (4,6 °Brix). Na progênie 38, o aumento observado correspondeu a 24,5% do conteúdo obtido no estádio verde (4,9 °Brix). A progênie 44 apresentou aumento de 46,8% de sólidos solúveis ao final do amadurecimento, em relação ao conteúdo obtido no estádio verde (4,7 °Brix).

O teor de sólidos solúveis é indicativo da quantidade de açúcares presente nos frutos, embora outras substâncias também estejam dissolvidas, como vitaminas, ácidos, aminoácidos e algumas pectinas. Durante a maturação, a biossíntese de açúcares solúveis ou a degradação de polissacarídeos resulta na elevação do teor de sólidos solúveis totais (CHITARRA; CHITARRA, 2005), o que o torna um parâmetro estimativo do grau de maturidade das frutas.

De forma semelhante à observada no presente trabalho, Andrade (1991) mostrou elevação dos teores de sólidos solúveis da parte comestível de camu-camu, oriundo de Manaus, no decorrer do amadurecimento. Do mesmo modo, Pinto et al. (2013) observaram aumento do teor de sólidos solúveis da polpa de camu-camu, coletado em São Paulo, em função do estádio de maturação. Em contrapartida, Alves et al. (2002) não observaram diferença estatística nos teores de sólidos solúveis da polpa de camu-camu, proveniente de Belém, ao longo do amadurecimento.

Por conta da variação inversa observada entre o teor de sólidos solúveis (SS) e a acidez titulável total (ATT) durante a maturação do camu-camu, a relação SS/ATT aumentou ($p \leq 0,05$), com o avanço da maturação, nas três progênes. Dessa forma, baixos teores de SS e elevada ATT no estádio verde resultaram em menores índices de palatabilidade (SS/ATT) nesse estádio, com valores de 1,51, 1,94 e 1,36 para as progênes 17, 38 e 44, respectivamente. Com o avanço da maturação, os teores de SS elevaram-se e a ATT diminuiu, o que resultou em maiores índices de palatabilidade nos frutos maduros, sendo que esse aumento correspondeu a 65,6%, 32% e 75% para as progênes 17, 38 e 44, respectivamente.

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), a relação SS/ATT constitui um importante atributo qualitativo, pois indica o sabor inerente ao produto, o qual é resultado da contribuição dos componentes responsáveis pela acidez e pela doçura. Para as polpas de camu-camu aqui estudadas, apesar do significativo aumento, o parâmetro continuou muito baixo, mesmo na polpa madura, o que contribui significativamente para a restrição do seu consumo na forma *in natura*.

Em polpa de frutos de umbu-cajá, Santos et al. (2010) encontraram relação SS/ATT de 7,57. Malgarim et al. (2007) obtiveram relação de 12,13 para ameixas maduras. Entretanto,

para a polpa de camu-camu, a literatura consultada mostra valores bem inferiores, conforme observado no presente trabalho. Alves et al. (2002) mostraram relação SS/ATT de 2,24 para a polpa obtida de frutos verdes e 2,42 para a polpa madura, valores estatisticamente iguais entre si. Para o estágio verde, o valor obtido pelos autores foi superior aos encontrados no presente trabalho, em todas as progênies, e no estágio maduro o valor foi próximo. Villanueva-Tiburcio, Condezo-Hoyos e Asquiere (2010) observaram elevação da relação SS/ATT da polpa de camu-camu peruano, em função do avanço da maturação, com valores de 1,31, 1,90 e 2,41 para os estádios de maturação verde, semimaduro e maduro, respectivamente. Zapata e Dufour (1993) obtiveram relação SS/ATT de 1,6, 1,8 e 2,2 para a polpa obtida de frutos verdes, semimaduros e maduros, respectivamente.

Analisando o efeito das diferenças genéticas, observou-se que nos estádios de maturação verde e semimaduro todas as progênies apresentaram teores de sólidos solúveis e relação SS/ATT diferentes ($p \leq 0,05$) entre si. No estágio maduro, a progênie 44 diferiu das demais. Os resultados indicaram que a variabilidade genética dos frutos de camu-camu influencia de forma significativa nos teores de sólidos solúveis totais e na relação SS/ATT encontrados na polpa.

5.3 COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE CAMU-CAMU

5.3.1 Vitamina C

Os resultados obtidos para o teor de vitamina C da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Figura 26 e no Apêndice D.

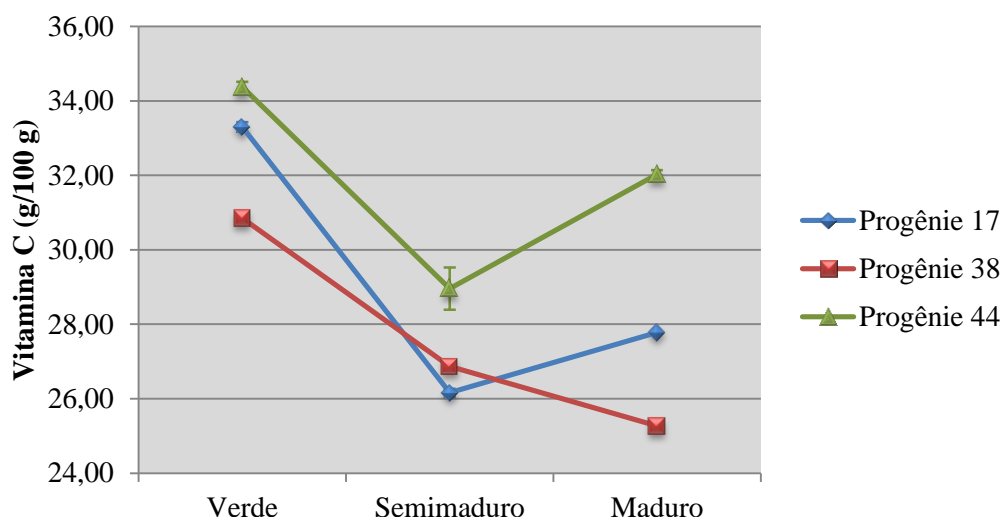


Figura 26. Teor de vitamina C (g/100 g) da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de três repetições (base seca). Linhas verticais representam o desvio padrão.

Os teores de vitamina C obtidos para as três progênies foram maiores ($p \leq 0,05$) no estágio de maturação verde. Dessa forma, caso o destino pretendido seja a extração desse composto bioativo, por exemplo, pela indústria farmacêutica, o momento mais adequado para a colheita dos frutos é no estágio de maturação verde. Além disso, a colheita no estágio imaturo evita perdas ocorridas pela queda dos frutos no pomar e facilita o seu transporte, visto que haverá diminuição de perdas por danos físicos, pois os frutos verdes apresentam maior rigidez. Maior conteúdo de vitamina C no estágio de maturação verde também foi observado em frutos de acerola (VENDRAMINI; TRUGO, 2000; BATISTA; FIGUEIRÊDO; QUEIROZ, 2002; NOGUEIRA et al., 2002; FERREIRA et al., 2009) e goiaba (BASHIR; ABU-GOUKH, 2003).

Ao longo do amadurecimento, as progênies 17 e 44 foram caracterizadas por processos de síntese e degradação de vitamina C, já que houve decréscimo do teor da vitamina quando a polpa passou do estágio de maturação verde (33,30 e 34,38 g/100 g, respectivamente) para o semimaduro (26,16 e 28,96 g/100 g, respectivamente), com posterior elevação no último estágio (27,78 e 32,03 g/100 g, respectivamente). Os percentuais de redução de vitamina C, ao final do amadurecimento, foram 16,6 e 6,8% para as progênies 17 e 44, respectivamente, com relação aos teores máximos observados no estágio verde. A progênie 38 apresentou diminuição do teor de vitamina C durante o amadurecimento, com conteúdo de 25,27 g/100 g no estágio maduro. Nesta progênie, o percentual de redução da vitamina ao longo do amadurecimento foi 18,1%. Os conteúdos de vitamina C obtidos,

independente do estágio de maturação, foram superiores aos observados em frutos considerados fontes desse composto bioativo, como a acerola (15,08 g/100 g b.s.) e o caju (1,45 g/100 g b.s.) (RUFINO et al., 2010), o que confirma a importância do camu-camu como fonte de vitamina C.

Vários estudos descreveram o efeito do estágio de maturação nos teores de vitamina C do camu-camu, e apresentaram comportamentos divergentes. No entanto, os resultados apresentados pelos autores são frequentemente expressos em base úmida, não levando em conta as variações do teor de umidade da amostra, em função do avanço da maturação. Nesse contexto, Justi et al. (2000) observaram diminuição do teor de vitamina C da polpa de camu-camu, proveniente do Paraná, ao longo do amadurecimento, e atribuíram isso às possíveis transformações bioquímicas do ácido ascórbico durante o processo de maturação. Zamudio (2007) também observou diminuição do teor de vitamina C da polpa de camu-camu, oriundo de Belém, com o avanço da maturação, e relatou que a concentração de ácido ascórbico decresce à medida que o fruto amadurece, independente da matriz estudada e do clima da região, sendo esse comportamento atribuído à atuação de enzimas como a ascorbato oxidase, fenolase, citocromo oxidase e peroxidase. Chirinos et al. (2010) avaliando a influência do estágio de maturação da parte comestível de frutos de camu-camu peruanos, observaram que os frutos maduros apresentaram 12% menos vitamina C que os verdes.

Outros estudos mostraram aumento no conteúdo de ácido ascórbico, em função do amadurecimento dos frutos. Pinto et al. (2013), em estudo com frutos de camu-camu, provenientes de São Paulo, observaram que a polpa no estágio de maturação maduro apresentou 41% mais vitamina C que a polpa no estágio verde, e associaram esse comportamento ao aumento da síntese de intermediários metabólicos, ao longo do amadurecimento, os quais são precursores do ácido ascórbico. Alves et al. (2002) também observaram elevação do conteúdo de ácido ascórbico da polpa do camu-camu, oriundo de Belém, em função do estágio de maturação. Para a parte comestível de camu-camu, oriundo de Manaus, Andrade (1991) observou acúmulo de ácido ascórbico ao longo do amadurecimento dos frutos.

De forma contrária, Ribeiro (2012), em estudo com frutos de camu-camu cultivados no Estado do Amazonas, não observou diferença estatística entre os teores de vitamina C obtidos em função do estágio de maturação. Smiderle e Sousa (2008) também obtiveram teores de vitamina C estatisticamente iguais entre si para a polpa de camu-camu, proveniente de Roraima, ao longo do amadurecimento.

Estudos mostraram que a concentração de ácido ascórbico no camu-camu é maior na casca do que na polpa (MAEDA et al., 2006; PINEDO, 2007). Isso ocorre devido a região externa dos frutos estar mais exposta à luz solar do que a região interna, já que o ácido ascórbico é sintetizado a partir de açúcares pela fotossíntese das plantas (PINEDO, 2007). Dessa forma, o conteúdo de vitamina C obtido para a polpa do fruto dependerá do método utilizado para sua obtenção. Outros fatores que também influenciam significativamente nos teores são as diferenças genéticas, a época e o local de cultivo, bem como o estágio de maturação.

Analisando o efeito das diferenças genéticas, nos estádios de maturação verde e maduro, todas as progênes apresentaram conteúdos de vitamina C diferentes ($p \leq 0,05$) entre si. No estágio semimaduro, a progênie 44 mostrou teor diferente das demais. A progênie 44 se destacou com teores de vitamina C significativamente superiores, em todos os estádios de maturação. Esses resultados confirmaram que a variação genética dos frutos de camu-camu influencia de forma significativa os teores de vitamina C encontrados, o que torna importante a elaboração de estudos envolvendo progênes.

5.3.2 Compostos fenólicos totais

Os conteúdos de compostos fenólicos totais da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Figura 27 e no Apêndice D.

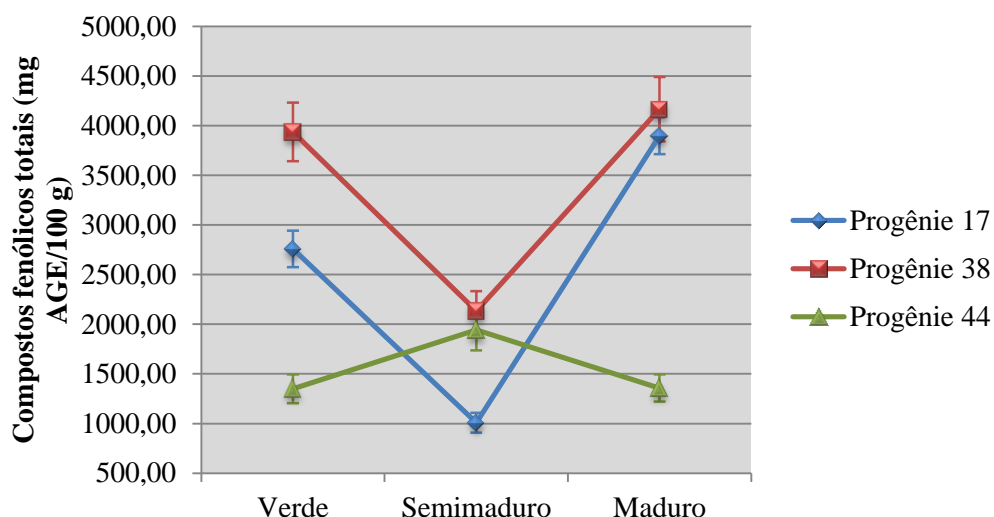


Figura 27. Teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/100 g) da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de três repetições (base seca). Linhas verticais representam o desvio padrão.

Nas três progênies foi observado comportamento irregular dos teores de compostos fenólicos totais, ao longo da maturação, ocorrendo processos de síntese e degradação. Para a progênie 17, o teor obtido no estágio de maturação verde foi 2757,82 mg AGE/100 g e, quando a polpa atingiu o estágio semimaduro, houve redução ($p \leq 0,05$) acentuada do teor, sendo que somente 36,6% do conteúdo obtido no estágio verde foi encontrado nesse estágio. Quando a polpa atingiu o estágio maduro houve aumento da síntese de compostos fenólicos totais, com conteúdo de 3898,66 mg AGE/100 g. A mesma tendência foi observada na progênie 38, em que o conteúdo obtido no estágio verde foi 3937,74 mg AGE/100 g e, ao atingir o estágio semimaduro, 54,2% desse teor manteve-se presente. Ao atingir a maturidade houve aumento da síntese dos compostos fenólicos totais, com conteúdo de 4166,31 mg AGE/100 g. Com valores expressos em base úmida, Andrade (1991) mostrou que, ao longo da maturação de frutos de camu-camu, oriundos de Manaus, houve decréscimo nos teores de compostos fenólicos totais e elevação nos estádios finais, comportamento semelhante ao observado nas progênies 17 e 38. O autor relaciona o maior conteúdo dos compostos no final da maturação com a síntese de antocianinas, mais acentuada nesse período.

Na progênie 44 ocorreu aumento ($p \leq 0,05$) da síntese de compostos fenólicos totais quando a polpa passou do estágio de maturação verde (1349,36 mg AGE/100 g) para o semimaduro (1943,85 mg AGE/100 g), que apresentou o maior conteúdo. Ao atingir o estágio maduro houve decréscimo do teor de compostos fenólicos totais, sendo que 69,8% do conteúdo obtido no estágio semimaduro manteve-se presente na polpa ao final do

amadurecimento. A mesma tendência foi observada por Silva (2012) em polpa de camu-camu, oriundo de Roraima, com aumento dos teores de compostos fenólicos totais no período inicial até os 88 dias após a antese, que correspondeu ao início do amadurecimento, quando apresentaram valores máximos. No final da maturação, o autor observou decréscimo dos teores de fenólicos totais.

Chirinos et al. (2010), em estudo sobre o efeito do estágio de maturação sobre os teores de compostos fenólicos totais da parte comestível de frutos de camu-camu, oriundos do Peru, porém expressando seus resultados em base úmida, observaram que o conteúdo obtido no estágio maduro foi 18% superior ao obtido no estágio verde. Um estudo conduzido por Grigio (2013), com frutos de camu-camu oriundos de Roraima, mostrou conteúdo de compostos fenólicos totais no estágio de maturação maduro 183% superior ao obtido no estágio verde.

Os compostos fenólicos são produzidos pelo metabolismo secundário, atuando como mecanismo de defesa dos vegetais. Dessa forma, alterações na síntese desses metabólitos ocorrem, em grande parte, devido às condições de estresse em que a planta é submetida, como por exemplo, o ataque de predadores e de microrganismos patogênicos, que induzem o metabolismo secundário a uma maior produção de compostos secundários (TAIZ; ZEIGER, 2004). Já a diminuição do conteúdo de compostos fenólicos ao longo do amadurecimento dos frutos pode ser atribuída à atuação de enzimas, como a polifenol oxidase (GULL et al., 2012) e à conversão de compostos fenólicos solúveis em compostos fenólicos insolúveis, que estão ligados a polissacarídeos na parede celular (BENCHIKH et al., 2014).

Rufino et al. (2010) obtiveram teor de compostos fenólicos totais de 11615,00 mg AGE/100 g de matéria seca para o camu-camu maduro, proveniente de Belém, Estado do Pará, valor muito superior aos obtidos no presente estudo no mesmo estágio de maturação. No entanto, a diferença pode ser explicada por meio do método utilizado para a quantificação dos compostos, já que os autores citados não levaram em consideração a interferência dos compostos (ácido ascórbico e/ou açúcares redutores) que também sofrem redução pelo Folin-Ciocalteu e estão presentes em grandes quantidades no camu-camu, principalmente a vitamina C, o que pode ter levado a uma superestimação do teor de compostos fenólicos totais do material em estudo. Além disso, os resultados apresentados pelos autores referem-se à parte comestível dos frutos, o que contribui para teores superiores aos reportados somente para a polpa, já que na casca do camu-camu são obtidos teores superiores dos compostos mencionados, conforme observado por Maeda et al. (2006), Cohen et al. (2010) e Silva (2012).

A influência da quantificação de compostos fenólicos totais no camu-camu, com e sem a remoção de interferentes, foi estudada por Ribeiro (2012), com frutos provenientes do Estado do Amazonas, em dois estádios de maturação. Os teores dos compostos obtidos na amostra bruta, ou seja, sem a remoção de interferentes, foram 1145,70 e 1426,27 mg AGE/100 g de matéria fresca para os estádios verde e maduro, respectivamente. Após a purificação do extrato, ou seja, fração livre de interferentes, os teores sofreram redução, com conteúdos de 900,22 e 1180,42 mg AGE/100 g de matéria fresca nos estádios verde e maduro, respectivamente. Os percentuais de redução, em relação à amostra bruta, foram 21% para os frutos verdes e 17% para os frutos maduros.

Analisando o efeito das diferenças genéticas, observou-se que no estádio de maturação verde todas as progênies apresentaram diferença ($p \leq 0,05$) entre si. No estádio semimaduro, a progênie 17 mostrou teor inferior às demais e, no estádio maduro, a progênie 44 mostrou teor inferior às demais. Dessa forma, a variabilidade genética do camu-camu contribuiu significativamente para os conteúdos de compostos fenólicos totais da polpa.

5.3.3 Flavanóis totais

Os resultados obtidos para o teor de flavanóis totais da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estádio de maturação, estão apresentados na Figura 28 e no Apêndice D.

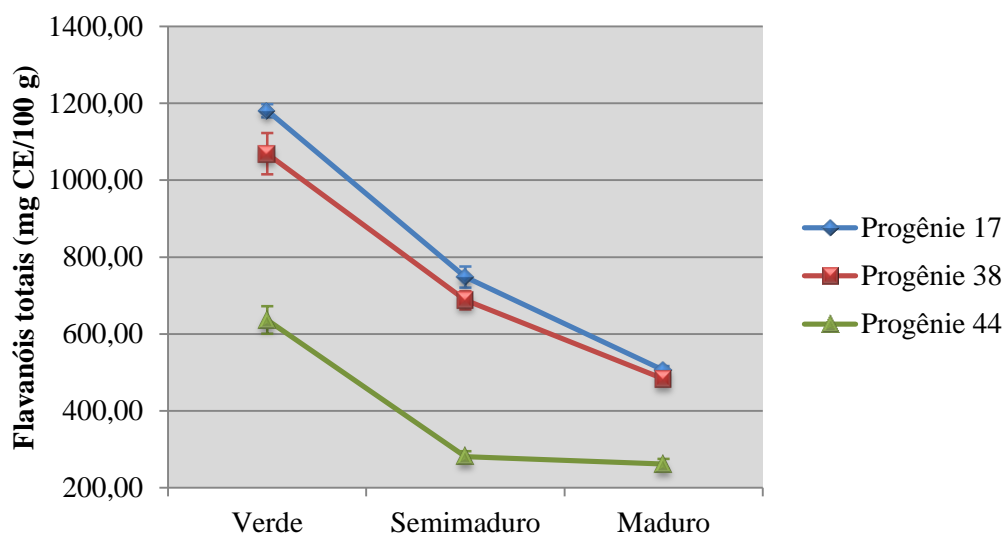


Figura 28. Teor de flavanóis totais (mg CE/100 g) da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de três repetições (base seca). Linhas verticais representam o desvio padrão.

Os teores de flavanóis totais obtidos para as três progênies reduziram ($p \leq 0,05$) com o avanço da maturação. A progênie 17 apresentou diminuição de 57,1% de flavanóis ao final do amadurecimento, em relação ao conteúdo obtido no estágio verde (1180,69 mg CE/100 g). Na progênie 38 houve redução de 54,8% de flavanóis, ao longo do amadurecimento, em relação ao conteúdo obtido no estágio verde (1068,91 mg CE/100 g). Para a progênie 44, a redução observada correspondeu a 58,8% do conteúdo obtido no estágio verde (636,41 mg CE/100 g).

Segundo D'Archivio et al. (2007), os flavanóis presentes nas frutas são compostos fenólicos que estão associados à sua adstringência, característica que diminui ao longo do amadurecimento. Dessa forma, o conteúdo desses compostos sofre redução com o avanço da maturação, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo.

Para fins de comparação, não há estudos publicados que relatem as variações nos conteúdos de flavanóis totais da polpa do camu-camu, em função do estágio de maturação. Para a parte comestível de frutos de camu-camu, provenientes do Peru, com valores expressos em base úmida, Chirinos et al. (2010), por meio de análise cromatográfica (HPLC), reportaram os grupos de flavan-3-ol e ácido elágico como os principais compostos fenólicos presentes. Os autores observaram aumento dos teores de flavanóis ao longo do amadurecimento do camu-camu, comportamento não observado para as polpas aqui estudadas.

As polpas de camu-camu das três progênies estudadas foram consideradas boas fontes de flavanóis totais, já que o conteúdo dos compostos, ao longo do amadurecimento, perfizeram, em média, 32%, 22% e 25% dos compostos fenólicos totais obtidos nas progênies 17, 38 e 44, respectivamente.

Os conteúdos de flavanóis totais da polpa de camu-camu foram influenciados significativamente pelas diferenças genéticas, visto que, nos estádios de maturação verde e semimaduro, todas as progênies diferiram ($p \leq 0,05$) entre si e, no estágio maduro, a progênie 44 apresentou teor diferente das demais.

5.3.4 Flavonóis

Os resultados obtidos para o teor de flavonóis da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Figura 29 e no Apêndice D.

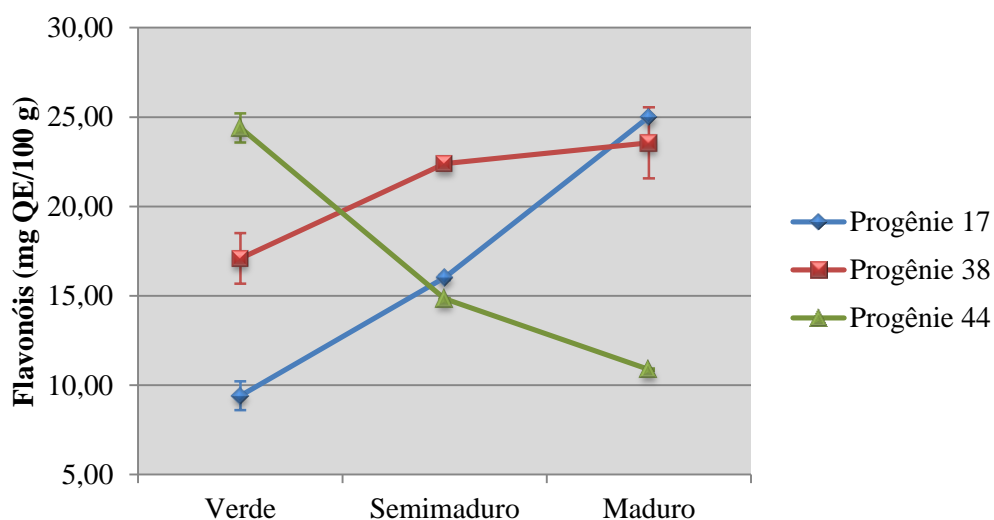


Figura 29. Teor de flavonóis (mg QE/100 g) da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de três repetições (base seca). Linhas verticais representam o desvio padrão.

Para a progênie 17 houve aumento ($p \leq 0,05$) acentuado da síntese de flavonóis nos três estádios de maturação. Esse aumento correspondeu a 166%, em relação ao conteúdo obtido no estágio verde (9,41 mg QE/100 g). Na progênie 38 houve aumento da síntese dos compostos quando a polpa passou do estágio verde (17,09 mg QE/100 g) para o semimaduro (22,39 mg QE/100 g) mantendo-se estatisticamente igual quando atingiu o estágio maduro.

Nessa progênie, o aumento observado ao longo do amadurecimento foi de 33,9%. Para a progênie 44, o comportamento observado foi oposto às demais, com diminuição dos teores em função do grau de maturação, correspondendo a uma redução de 55,5% em relação ao conteúdo obtido no estágio verde (24,40 mg QE/100 g).

Em estudo sobre o efeito do grau de maturação nos teores de flavonóis do camu-camu, Grigio (2013) e Chirinos et al. (2010), com valores expressos em base úmida, observaram menor conteúdo de flavonóis no estágio de maturação verde, quando comparado aos obtidos no estágio maduro, conforme observado no presente trabalho para as progênies 17 e 38.

Silva (2012), em estudo com casca e polpa de camu-camu, em diferentes estádios de maturação, mostrou que o ajuste polinomial para os flavonóis foi possível somente para os valores da casca, não sendo possível qualquer ajuste significativo para os valores da polpa. O autor relata que esse comportamento retrata a maior produção e concentração desse grupo de flavonoides na casca de camu-camu, onde foi observado maior conteúdo no estágio maduro.

Na parte comestível de frutos maduros, Gonçalves, Lajolo e Genovese (2010) observaram, por meio de análise cromatográfica, maior quantidade de quercetina e seus derivados em camu-camu, dentre os dezesseis frutos nativos brasileiros estudados, com teor de 42 mg/100 g de matéria seca, valor superior aos obtidos no presente trabalho para frutos maduros, o que ressalta a grande contribuição da casca do camu-camu para maiores teores desse grupo de compostos. As diferenças observadas também podem ter ocorrido devido às características próprias de cada região onde os frutos foram cultivados, além de fatores genéticos.

As polpas de camu-camu aqui estudadas não foram consideradas boas fontes de flavonóis, visto que os teores obtidos corresponderam, em média, a somente 0,6% dos compostos fenólicos totais nas progênies 17 e 38, e 1,1% na progênie 44.

O conteúdo de flavonóis da polpa de camu-camu sofreu influência significativa de fatores genéticos, já que, nos estádios de maturação verde e semimaduro, todas as progênies apresentaram diferença ($p \leq 0,05$) entre si e, no estágio maduro, a progênie 44 mostrou menor conteúdo de flavonóis.

5.3.5 Antocianinas totais

Os resultados obtidos para o teor de antocianinas totais da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Tabela 4 e no Apêndice D.

Tabela 4. Teor de antocianinas totais (mg CGE/100 g) da polpa de camu-camu das três progênie, em função do estágio de maturação.

Progênie	Estádio de maturação		
	Verde	Semimaduro	Maduro
17	N.D.	Q.N.D.	23,48 ± 0,01 ^B
38	N.D.	Q.N.D.	Q.N.D.
44	N.D.	Q.N.D.	24,74 ± 0,01 ^A

CGE: Cianidina-3-glicosídeo equivalente. N. D.: Não determinado. Q.N.D.: quantidade não detectável. Os valores representam a média de três repetições ± desvio padrão (base seca). Comparações entre as diferentes progênie (coluna) são representadas por letra maiúscula. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A síntese das antocianinas ocorre naturalmente pelo metabolismo da planta com a evolução da maturação dos frutos. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), nessa fase, uma das principais mudanças é a da coloração da casca, quando a clorofila presente nos cloroplastos é quebrada pela enzima clorofilase, resultando na perda da coloração verde e desenvolvimento de coloração característica de cada espécie, dando origem aos cromoplastos. Sendo assim, para as três progênie estudadas, no estágio de maturação verde, não foi realizada a quantificação do pigmento. No estágio semimaduro foi observada, visualmente, coloração levemente rosada na polpa, o que é indicativo da presença dos pigmentos antociânicos. Porém, as quantidades do pigmento não foram suficientes para serem detectadas pelo método utilizado. No estágio de maturação maduro, somente nas progênie 17 e 44 foi possível quantificar teor de antocianinas. Estes foram diferentes entre si ($p \leq 0,05$), com maior teor obtido na progênie 44.

Algumas considerações devem ser levantadas para justificar os resultados obtidos no presente trabalho para o conteúdo de antocianinas. Como o estudo objetivou quantificar os compostos presentes somente na polpa, o despulpamento foi realizado manualmente, fruto por fruto, para que se pudesse evitar a transferência de compostos da casca para a polpa, principalmente os pigmentos, já que nos frutos de camu-camu, esses estão concentrados predominantemente na casca. Devido a grande quantidade de amostra coletada, não foi possível realizar o despulpamento dos frutos logo após a coleta fazendo-se necessário mantê-los congelados até a realização do despulpamento. Tal situação não ocorreu com a progênie 38 no estágio de maturação maduro, que foi despulpada no dia da coleta. Foi observado,

visualmente, que com o congelamento houve a migração de pigmentos da casca para a polpa, o que provocou aumento do teor de antocianinas na polpa de frutos maduros.

O alto teor de antocianinas na casca de camu-camu em detrimento da polpa foi observado por Maeda et al. (2006), em estudo com frutos maduros provenientes do Estado do Amazonas, que observaram conteúdo de 138,38 mg/100 g de matéria fresca na casca e somente 0,14 mg/100 g de matéria fresca na polpa. Os autores relataram a influência do tipo de despolpamento no conteúdo de pigmentos da polpa de camu-camu. Silva (2013) relatou em seu estudo a migração dos pigmentos da casca para a polpa dos frutos de camu-camu submetidos à refrigeração. O autor comparou, por meio de fotografia, um corte dos frutos no primeiro dia de refrigeração com frutos mantidos nessa condição após treze dias e constatou a perda de cor do epicarpo e o aumento no mesocarpo, no decorrer do armazenamento. Ele sugere o estudo sobre essa migração para trabalhos futuros, já que não foi encontrado na literatura qualquer estudo referenciando esse fenômeno.

5.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO*

5.4.1 Método TEAC

Os resultados obtidos para a capacidade antioxidante pelo método TEAC dos extratos de polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Figura 30 e no Apêndice E.

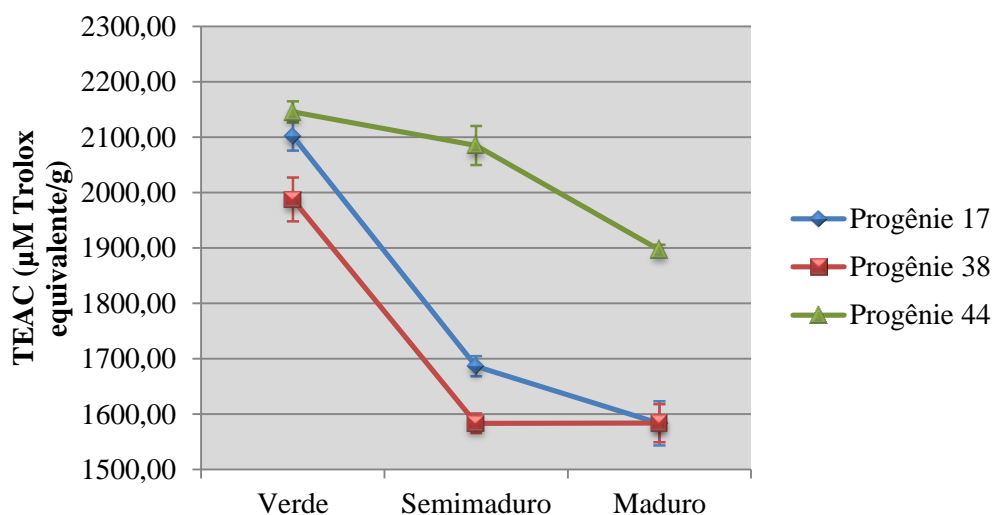


Figura 30. Capacidade antioxidante total pelo método TEAC (μM Trolox equivalente/g) da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de três repetições (base seca). Linhas verticais representam o desvio padrão.

O método TEAC pode medir a capacidade antioxidante equivalente em compostos de natureza lipofílica e hidrofílica. As três progênies apresentaram maior capacidade antioxidante no estágio de maturação verde. Para as progênies 17 e 44, os valores de TEAC obtidos no estágio verde foram 2101,95 e 2145,78 μM Trolox equivalente/g, respectivamente, e reduziram ($p \leq 0,05$) nos três estágios de maturação, correspondendo a uma diminuição de 25% e 12% nas respectivas progênies. A progênie 38 também apresentou redução da capacidade antioxidante, ao longo do amadurecimento, porém, sem diferença estatística nos dois últimos estágios. Nessa progênie houve redução de 20%, em relação ao valor obtido no estágio verde (1987,45 μM Trolox equivalente/g).

Ribeiro (2012), estudando a parte comestível de frutos de camu-camu, oriundos de Roraima, observou aumento da capacidade antioxidante, obtida por meio do método TEAC, em função do amadurecimento, com valores de 1058,54 e 1418,25 μM Trolox equivalente/g de matéria seca para os estágios de verde e maduro, respectivamente, comportamento não observado nas polpas aqui estudadas. O autor atribuiu a menor capacidade antioxidante observada no estágio verde à menor quantidade de compostos fenólicos totais obtida por ele nesse estágio.

Rufino et al. (2010), estudando a capacidade antioxidante de dezoito frutas tropicais não tradicionais, mostraram que a polpa de camu-camu maduro obteve a maior capacidade antioxidante, dentre os frutos estudados, pelos métodos TEAC e FRAP. O valor obtido pelos autores para o método TEAC foi de 1237,00 μM Trolox equivalente/g de matéria seca,

estando, portanto, inferior aos obtidos para as três progênies estudadas, no estágio de maturação maduro.

Por meio da comparação entre as progênies observou-se que, no estágio de maturação verde, a progênie 38 apresentou capacidade antioxidante diferente ($p \leq 0,05$) das demais. Nos estádios semimaduro e maduro, a progênie 44 mostrou a maior capacidade antioxidante. Os resultados confirmaram a influência de fatores genéticos para as diferentes capacidades antioxidantes apresentadas pela polpa do camu-camu.

5.4.2 Método DPPH

Na avaliação da capacidade antioxidante estimada pelo método DPPH, ocorre a captura do radical livre DPPH pelos antioxidantes contidos na amostra. A solução metanólica de DPPH apresenta inicialmente coloração violeta e sofre descoloração, tornando-se amarela, à medida que ocorre a reação com o antioxidante. Essa descoloração provoca diminuição da absorvância, monitorada por espectrofotômetro, indicando o potencial antioxidante do extrato. No presente trabalho os resultados foram expressos por meio do cálculo da quantidade de antioxidante necessária para consumir metade do radical DPPH contido na solução, parâmetro denominado EC_{50} . O potencial antioxidante do extrato é inversamente proporcional ao valor do EC_{50} , ou seja, quanto menor o valor de EC_{50} apresentado pelo extrato, menor quantidade de amostra no extrato é necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH e, dessa forma, maior sua capacidade antioxidante.

Na Figura 31 podem ser visualizadas as curvas cinéticas de degradação do radical DPPH pelos extratos obtidos da polpa de camu-camu, nos três estádios de maturação, em cinco concentrações diferentes, monitorado por 10 minutos. Para obtenção destas, as absorvâncias obtidas de diferentes diluições do extrato foram comparadas à absorvância do controle, sem antioxidantes (tempo zero).

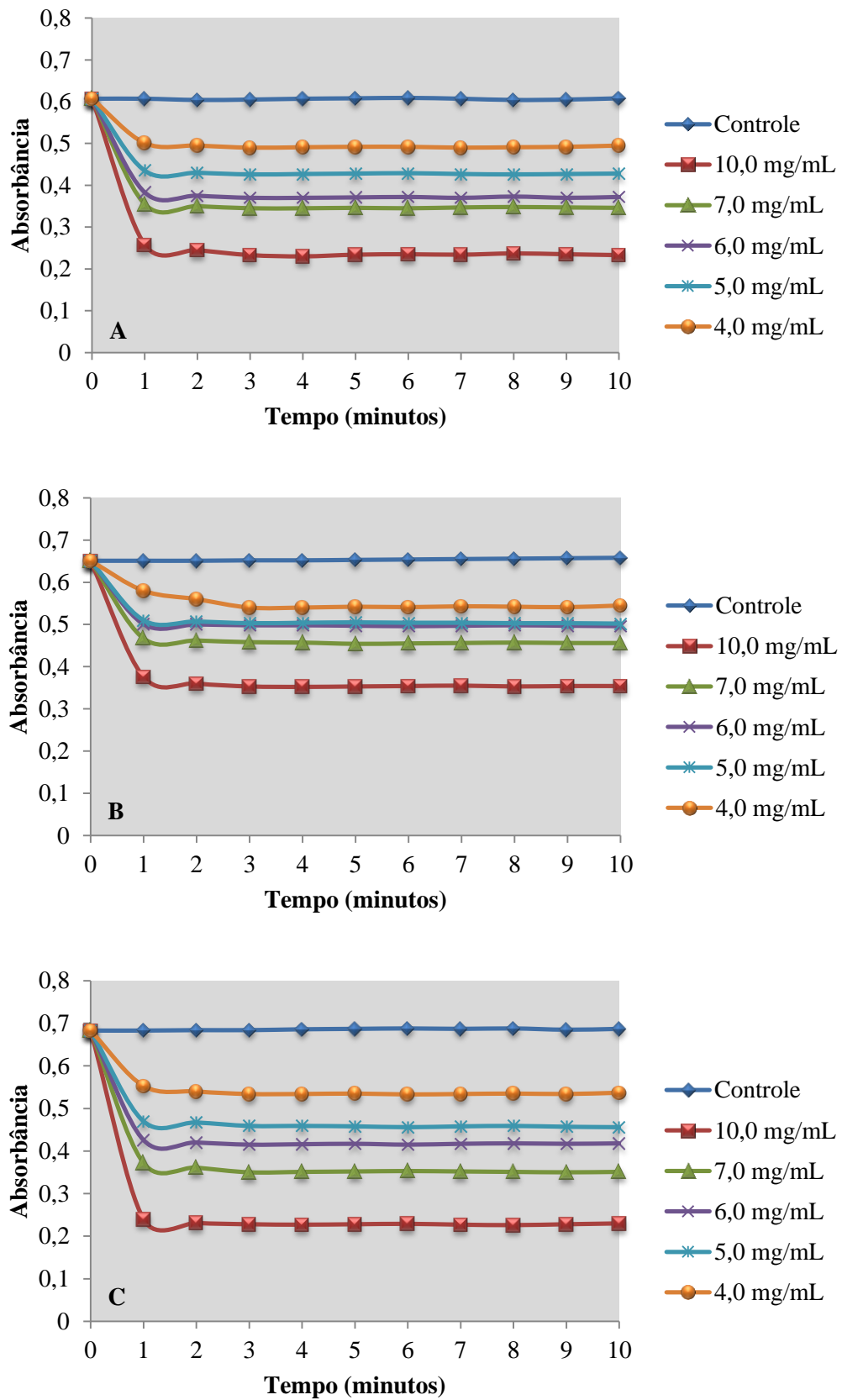


Figura 31. Cinética de reação do radical DPPH da polpa de camu-camu, nos três estádios de maturação: (A) Verde; (B) Semimaduro; (C) Maduro.

Observou-se que as diferentes concentrações testadas comportaram-se de maneiras distintas, apresentado maior capacidade de sequestro do radical DPPH quanto mais concentrado foi o extrato, obtendo-se, dessa forma, menor valor de absorbância. A polpa de camu-camu nos três estádios de maturação estudados, bem como em diferentes concentrações, apresentou elevada capacidade antioxidante no primeiro minuto de reação, percebendo-se um decréscimo acentuado da absorbância nesse período. Posteriormente, ocorreu pequeno decréscimo até o terceiro minuto de reação, onde a partir de então, o valor obtido permaneceu inalterado. Dessa forma, o tempo necessário para estabilização da absorbância foi de 3 minutos, independente do estágio de maturação, indicando que os antioxidantes contidos na polpa de camu-camu estudada possuem ação rápida de combate aos radicais livres.

Os resultados obtidos para a capacidade antioxidante (EC_{50} em g polpa/g DPPH) dos extratos da polpa de camu-camu das três progêneses, em função do estágio de maturação, por meio do método DPPH, estão apresentados na Figura 32 e no Apêndice E.

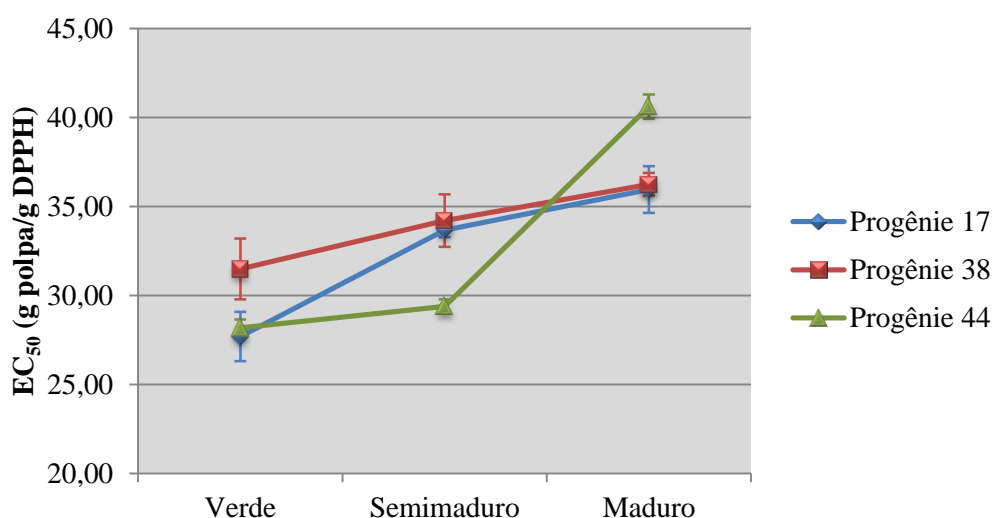


Figura 32. Capacidade antioxidante total pelo método DPPH (EC_{50} expresso em g polpa/g DPPH) da polpa de camu-camu das três progêneses, em função do estágio de maturação. Os valores representam a média de três repetições (base seca). Linhas verticais representam o desvio padrão.

Amostras que apresentam alto potencial em sequestrar radicais livres DPPH possuem baixo valor de EC_{50} . Sendo assim, quanto menor o valor de EC_{50} maior a capacidade antioxidante do material em estudo. Na progênie 17, a capacidade antioxidante total, obtida por meio do método DPPH, diminuiu ($p \leq 0,05$) quando a polpa passou do estágio de maturação verde para o semimaduro, fato observado pelo aumento do EC_{50} , mantendo-se estatisticamente igual quando atingiu a maturidade. Para as progêneses 38 e 44 foi observada

uma tendência regressiva da capacidade antioxidante ao longo da maturação, mostrando que a polpa no estágio verde apresenta maior capacidade de sequestro dos radicais DPPH. Esses resultados estão de acordo com os observados por Alezandro et al. (2013), que obtiveram redução da capacidade antioxidante por DPPH ao longo do amadurecimento de jabuticaba.

Chirinos et al. (2010), em estudo com frutos de camu-camu provenientes do Peru, em três estádios de maturação, observaram aumento da capacidade antioxidante pelo método DPPH quando os frutos passaram do estágio totalmente verde para o verde-avermelhado, mantendo-se estatisticamente igual ao atingirem a maturidade, comportamento não observado para as polpas de camu-camu aqui estudadas. Porém, os resultados mostrados pelos autores referem-se à base úmida.

Ao analisar a capacidade antioxidante da polpa de camu-camu, em base seca, por meio do método DPPH, em função da maturação, Silva (2012) observou aumento nos períodos iniciais até atingir um máximo aos 88 dias após a antese, período que correspondeu ao início do amadurecimento, onde, a partir de então, houve diminuição até a completa maturidade.

Os frutos de camu-camu apresentam alto potencial antioxidante, conforme observado por Gonçalves, Lajolo e Genovese (2010), em estudo com dezesseis frutos nativos do Brasil, onde o camu-camu apresentou a maior capacidade antioxidante, pelo método DPPH, dentre os frutos estudados. Rufino et al. (2010) obtiveram valor de 42,6 g de polpa seca/g de DPPH para o camu-camu maduro, estando próximo ao encontrado na progênie 44 no mesmo estágio de maturação. A capacidade antioxidante observada pelos autores para a polpa de camu-camu foi a maior, dentre as dezoito frutas estudadas, seguida da acerola, que apresentou valor igual a 49,2 g de polpa seca/g de DPPH.

Por meio da comparação entre as progênies observou-se que, no estágio de maturação verde, as progênies 38 e 44 apresentaram diferença ($p \leq 0,05$) entre si. Nos estádios semimaduro e maduro, a progênie 44 apresentou capacidade antioxidante diferente das demais. Os resultados confirmaram a influência de fatores genéticos para as diferentes capacidades de sequestro dos radicais livres DPPH apresentadas pela polpa do camu-camu.

5.5 CORRELAÇÃO ENTRE OS COMPOSTOS BIOATIVOS E A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO*

Os coeficientes de correlação de Pearson obtidos entre os teores de vitamina C, compostos fenólicos totais, flavanóis totais, flavonóis e a capacidade antioxidante avaliada

pelos métodos TEAC e DPPH da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação, estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os compostos bioativos e a capacidade antioxidante (base seca) da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.

Progênie	r	Vitamina C	Compostos fenólicos totais	Flavanóis totais	Flavonóis
17	TEAC	0,91*	-0,07 ^{ns}	0,98*	-0,90*
	DPPH	-0,77**	0,26 ^{ns}	-0,94*	0,90*
38	TEAC	0,95*	0,41 ^{ns}	0,91*	-0,87*
	DPPH	-0,87*	0,00 ^{ns}	-0,84*	0,71**
44	TEAC	0,17 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,70**	0,85*
	DPPH	-0,04 ^{ns}	-0,35 ^{ns}	-0,63 ^{ns}	0,80**

* Significativo a $p \leq 0,01$.

** Significativo a $p \leq 0,05$.

ns Não significativo.

Para as progênes 17 e 38 foi encontrada correlação positiva e significativa entre os conteúdos de vitamina C e a capacidade antioxidante por TEAC, bem como entre os teores de flavanóis totais e TEAC, indicando que os dois compostos contribuíram de maneira significativa para a capacidade antioxidante da polpa de camu-camu, obtida por meio do método em questão. Nessas progênes foi encontrada correlação negativa e significativa entre os teores de vitamina C e a capacidade antioxidante por DPPH e flavanóis totais e DPPH, indicando que esses compostos atuam diretamente na reação de sequestro dos radicais livres DPPH. Isso ocorre devido ao método citado produzir uma relação inversa entre o valor de EC_{50} e a capacidade antioxidante da amostra. Dessa forma, quanto maior o teor dos dois compostos mencionados maior a capacidade antioxidante por DPPH. Os coeficientes de correlação obtidos indicaram que, nesses genótipos, a maior contribuição para as capacidades antioxidantes encontradas pelos dois métodos utilizados foi da vitamina C e dos flavanóis totais.

Para a progênie 44, os compostos que contribuíram significativamente para a capacidade antioxidante obtida por meio do método TEAC foram os flavanóis totais e os flavonóis, visto que houve correlação positiva e significativa entre os dois compostos

mencionados e a capacidade antioxidante por TEAC. Nesse genótipo, a capacidade antioxidante testada pelo método DPPH não se correlacionou negativa e significativamente com nenhum composto bioativo estudado, sugerindo que outros compostos podem ter contribuído para a reação de inibição frente ao radical DPPH.

Chirinos et al. (2010) mostraram correlação linear significativa entre o conteúdo de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante por DPPH ($r^2 = 0,931$) para a parte comestível de camu-camu em três estádios de maturação, e não obtiveram correlação linear significativa para os teores de vitamina C e DPPH ($r^2 = 0,190$), sugerindo que a capacidade antioxidante do fruto deriva dos compostos fenólicos totais, o que não ocorreu com as polpas de camu-camu aqui estudadas.

No entanto, em estudo com casca de camu-camu maduro, Villanueva-Tiburcio, Condezo-Hoyos e Asquieri (2010) obtiveram correlação significativa entre o teor de vitamina C e DPPH ($r = 0,999$), conforme observado para as progênies 17 e 38. Os autores também mostraram correlação significativa entre o teor de compostos fenólicos totais e DPPH ($r = 0,999$). Resultados semelhantes foram obtidos por Silva (2012), que encontrou alta correlação entre compostos fenólicos totais e DPPH ($r = 0,991$) e ácido ascórbico e DPPH ($r = 0,979$).

6 CONCLUSÃO

As progênies apresentam comportamento semelhante para as características físicas avaliadas (massa fresca, diâmetro longitudinal e diâmetro transversal) nos três estádios de maturação.

Com o avanço da maturação, a síntese de constituintes da polpa de camu-camu não mostrou comportamento similar para todas as progênies avaliadas e os parâmetros que não apresentaram variação significativa foram: umidade, cinzas e pH da progênie 38; cinzas da progênie 44 e lipídios e fibras insolúveis da progênie 17.

No estádio de maturação verde ocorre o ápice da síntese de vitamina C, no entanto, mesmo no estádio maduro os teores de vitamina C encontrados são consideravelmente elevados (25 a 32 g/100g) e, dependendo da aplicação dada a esta polpa, a colheita dos frutos no estádio maduro pode ser economicamente viável e rentável.

No estádio de maturação verde foram observados os maiores valores para a capacidade antioxidante mensurada pelos métodos TEAC e DPPH.

A variabilidade genética do camu-camu influenciou de forma significativa nas características físicas dos frutos e nos conteúdos de todos os compostos avaliados, além das capacidades antioxidantes obtidas pelos métodos utilizados.

As progênies de camu-camu avaliadas apresentam elevados teores de flavanóis totais, diferentemente dos teores encontrados para os flavonóis.

Há elevada correlação entre os valores de TEAC e DPPH para as progênies 17 e 38 com os teores de flavanóis totais e com a vitamina C. Na progênie 44, apesar dos altos conteúdos de vitamina C, os flavanóis totais e os flavonóis foram responsáveis pela capacidade antioxidante por TEAC, e nenhum composto estudado foi responsável pela capacidade antioxidante obtida por DPPH, indicando que algum outro composto não estudado pode ter contribuído para a capacidade antioxidante apresentada por essa progênie.

Neste estudo, a progênie 44 apresenta rendimento em polpa ligeiramente inferior em relação às demais. Apesar disso, pode ser considerado o genótipo mais promissor, devido aos maiores conteúdos de vitamina C, em todos os estádios de maturação, e maiores capacidades antioxidantes pelo método TEAC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADIL, I. H.; ETIN, H. I. C.; YENER, M. E.; BAYINDIRLI, A. Subcritical (carbon dioxide + ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 43, n. 1, p. 55-63, 2007.
- AGATI, G.; AZZARELLO, E.; POLLASTRI, S.; TATTINI, M. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. **Plant Science**, v. 196, n. 1, p. 67-76, 2012.
- AGOSTINI-COSTA, T. S.; LIMA, A.; LIMA, M. V. Determinação de tanino em pedúnculo de caju: método da vanilina *versus* método do butanol ácido. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 763-765, 2003.
- AKTER, M. S.; OH, S.; EUN, J.; AHMED, M. Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit: A review. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1728-1732, 2011.
- ALARCÓN, E.; CAMPOS, A. M.; EDWARDS, A. M.; LISSI, E.; LÓPEZ-ALARCÓN, C. Antioxidant capacity of herbal infusions and tea extracts: A comparison of ORAC-fluorescein and ORAC-pyrogallol red methodologies. **Food Chemistry**, v. 107, n. 3, p. 1114-1119, 2008.
- ALBERTINO, A.; BARGEA, B.; CRAVOTTO, G.; GENZINI, L.; GOBETTO, R.; VINCENTI, M. Natural origin of ascorbic acid: Validation by ¹³C NMR and IRMS. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 715-720, 2009.
- ALEZANDRO, A. R.; DUBÉ, P.; DESJARDINS, Y.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg. and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 468-477, 2013.
- ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; TULIPANI, S.; ROMANDINI, S.; VIDAL, A.; BATTINO, M. Methodological Aspects about Determination of Phenolic Compounds and In Vitro Evaluation of Antioxidant Capacity in the Honey: A Review. **Current Analytical Chemistry**, v. 5, n. 4, p. 293-302, 2009.
- ALVES, J. K. B.; BACELAR-LIMA, C. G.; CHAGAS, E. A.; LOZANO, R. M. B.; RIBEIRO, M. I. G.; VILENA, J. O. Caracterização biométrica e química de frutos de populações de camu-camu, Caracaraí, Roraima/RR-Brasil. **XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Bento Gonçalves - RS. 2012.
- ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C.; MOURA, C. F. H.; ARAÚJO, N. C. C.; ALMEIDA, A. S. Camu-Camu (*Myrciaria dubia* McVaugh): A Rich Natural Source of Vitamin C. **Proceedings of the InterAmerican Society for Tropical Horticulture**, v. 46, p. 11-13, 2002.
- ANDRADE, J. S. **Curvas de maturação e características nutricionais do camu-camu *Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh cultivado em terra firme na Amazônia Central Brasileira**. 1991. 194p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 14^a ed., Arlington, VA, USA, 1984.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. Edited by Patricia Cunniff . 16^a ed., 3 rd, v. 2, cap. 37, 1997.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC international**. 17^a ed., Washington, 2002.

AOUF, C.; GUERNEVÉ, C. L.; CAILLOL, S.; FULCRAND, H. Study of the O-glycidylation of natural phenolic compounds. The relationship between the phenolic structure and the reaction mechanism. **Tetrahedron**, v. 69, n. 4, p. 1345-1353, 2013.

ARAÚJO F. M. M. C.; MACHADO, A. V.; LIMA, H. C.; CHITARRA, A. B. Alterações físicas e químicas do fruto da jaboticabeira (*Myrciaria jaboticaba* Berg cv. *Sabará*) durante seu desenvolvimento. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 5, n. 2, p. 109-116, 2010.

AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. **Phytochemistry**, v. 65, n. 9, p. 1199-1221, 2004.

AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, n. 3, p. 385-396, 2004.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BANSAL, S.; SYAN, N.; MATHUR, P.; CHOUDHARY, S. Pharmacological profile of green tea and its polyphenols: a review. **Medicinal Chemistry Research**, v. 21, n. 11, p. 3347-3360, 2012.

BARBEHENN, R. V.; CONSTABEL, C. P. Tannins in plant-herbivore interactions. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1551-1565, 2011.

BARRETO, G. P. M.; BENASSI, M. T.; MERCADANTE, A. Z. Bioactive Compounds from Several Tropical Fruits and Correlation by Multivariate Analysis to Free Radical Scavenger Activity. **Journal of The Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 10, p. 1856-1861, 2009.

BASHIR, H. A.; ABU-GOUKH, A.-B. A. Compositional changes during guava fruit ripening. **Food Chemistry**, v. 80, n. 4, p. 557-563, 2003.

BATISTA, M. S.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Parâmetros físicos e químicos da acerola (*Malpighia puniceifolia*, L.) em diferentes fases de maturação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 2, n. 2, p. 19-24, 2000.

BENASSI, M. T. **Análise dos efeitos de diferentes parâmetros na estabilidade de vitamina C em vegetais processados**. 1990. 159p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas.

BENCHIKH, Y.; LOUAILECHE, H.; GEORGE, B.; MERLIN, A. Changes in bioactive phytochemical content and *in vitro* antioxidant activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) as influenced by fruit ripening. **Industrial Crops and Products**, v. 60, n. 6, p. 298-303, 2014.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BIRT, D. F.; HENDRICH, S.; WANG, W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 90, n. 2, p. 157-177, 2001.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BLOMHOFF, R. Dietary antioxidants and cardiovascular disease. **Current Opinion in Lipidology**, v. 16, n. 1, p. 47-54, 2005.

BORTOLOMEAZZI, R.; VERARDO, G.; LIESSI, A.; CALLEA, A. Formation of dehydrodiisoeugenol and dehydrodieugenol from the reaction of isoeugenol and eugenol with DPPH radical and their role in the radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 118, n. 2, p. 256-265, 2010.

BOWIE, A. G.; O'NEILL, L. A. J. Vitamin C Inhibits NF-kB Activation by TNF Via the Activation of p38 Mitogen-Activated Protein Kinase. **The Journal of Immunology**, v. 165, n. 12, p. 7180-7188, 2000.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BURTON, G. J.; JAUNIAUX, E. Oxidative stress. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 25, n. 3, p. 287-299, 2011.

BURTON-FREEMAN, B. Postprandial metabolic events and fruit-derived phenolics: a review of the science. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. S3, p. S1-S14, 2010.

CAO, G.; PRIOR, R. L. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. **Clinical Chemistry**, v. 44, n. 6, p. 1309-1315, 1998.

CAO, J.; ZHANG, Y.; CHEN, W.; ZHAO, X. The relationship between fasting plasma concentrations of selected flavonoids and their ordinary dietary intake. **British Journal of Nutrition**, v. 103, n. 2, p. 249-255, 2010.

CARVALHO, A. S. **Ocorrência, distribuição geográfica e estudo fenológico de camu-camuzeiro (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) no Estado de Roraima**. 2012. 79p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Roraima.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859-871, 2009.

CHAVES, M. C. V.; GOUVEIA, J. P. G.; ALMEIDA, F. A. C.; LEITE, J. C. A.; SILVA, F. L. H. Caracterização físico-química do suco da acerola. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 4, n. 2, p. 1-10, 2004.

CHEN, Z. -T.; CHU, H. -L.; CHYAU, C. -C.; CHU, C. -C.; DUH, P. -D. Protective effects of sweet orange (*Citrus sinensis*) peel and their bioactive compounds on oxidative stress. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2119-2127, 2012.

CHING, S. Y. L.; HALL, J.; CROFT, K.; BEILBY, J.; ROSSI, E.; GHISALBERTI, E. Antioxidant inhibition of oxygen radicals for measurement of total antioxidant capacity in biological samples. **Analytical Biochemistry**, v. 353, n. 2, p. 257-265, 2006.

CHIRINOS, R.; GALARZA, J.; BETALLELUZ-PALLARDEL, I.; PEDRESCHI, R.; CAMPOS, D. Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. **Food Chemistry**, v. 120, n. 4, p. 1019-1024, 2010.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2 ed. rev. e amp. Lavras: UFLA, 2005.

COHEN, K. O.; MONTE, D. C.; PAES, N. S.; RIBEIRO, S. I. Determinação de Compostos Antioxidantes nos Frutos de Camu-camu. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Embrapa Cerrados**, 16 p. Ed. 266, 2010.

D'ARCHIVIO, M.; FILESI, C.; BENEDETTO, R.; GARGIULO, R.; GIOVANNINI, C.; MASELLA, R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Annali dell'Istituto superiore di sanità**, v. 43, n. 4, p. 348-361, 2007.

DAVEY, M. W.; MONTAGU, M. V.; INZÉ, D.; SANMARTIN, M.; KANELIS, A.; SMIRNOFF, N.; BENZIEIRIS, I. J.; STRAIN, J. J.; FAVELL, D.; FLETCHER, J. Review Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 825-860, 2000.

DEVASAGAYAM, T. P. A.; TILAK, J. C.; BOLOOR, K. K.; SANE, K. S.; GHASKADBI, S. S.; LELE, R. D. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. **The Journal of the Association of Physicians of India**, v. 52, p. 794-804, 2004.

DIB TAXI, C. M. A.; MENEZES, H. C.; SANTOS, A. B.; GROSSO, C. R. F. Study of the microencapsulation of camu-camu (*Myrciaria dubia*) juice. **Journal of Microencapsulation**, v. 20, n. 4, p. 443-448, 2003.

DURMAZ, G. Freeze-dried ABTS^{•+} method: A ready-to-use radical powder to assess antioxidant capacity of vegetable oils. **Food Chemistry**, v. 133, n. 4, p. 1658-1663, 2012.

FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

FERREIRA, M. G. R.; RIBEIRO, G. D. Coleção de fruteiras tropicais da Embrapa Rondônia. Embrapa Rondônia: **Comunicado Técnico 306**. Porto Velho-RO. 14p., 2006.

FERREIRA, R. M. A.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, P. A.; QUEIROZ, R. F.; FILHO, F. S. T. P. Ponto de colheita da acerola visando à produção industrial de polpa. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 4, n. 2, p. 13-16, 2009.

FRANCO, M. R. B.; SHIBAMOTO, T. Volatile Composition of Some Brazilian Fruits: Umbu-caja (*Spondias citherea*), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Araça-boi (*Eugenia stipitata*), and Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 4, p. 1263-1265, 2000.

FRANKEL, E. N.; MEYER, A. S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 13, p. 1925-1941, 2000.

FREI, B.; ENGLAND, L.; AMES, B. N. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 86, n. 16, p. 6377-6381, 1989.

FRIEDMAN, M. Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 5, p. 1523-1540, 1997.

FUJITA, A.; BORGES, K.; CORREIA, R.; FRANCO, B. D. G. M.; GENOVESE, M. I. Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh). **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 495-500, 2013.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 33, n. 1, p. 72-77, 1968.

GALLEANO, M.; CALABRO, V.; PRINCE, P. D.; LITTERIO, M. C.; PIOTRKOWSKI, B.; VAZQUEZ-PRIETO, M. A.; MIATELLO, R. M.; OTEIZA, P. I.; FRAGA, C. G. Flavonoids and metabolic syndrome. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1259, p. 87-94, 2012.

GARCÍA-ALONSO, M.; PASCUAL-TERESA, S.; SANTOS-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO, J. C. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. **Food Chemistry**, v. 84, n. 1, p. 13-18, 2004.

GEORGÉ, S.; BRAT, P.; ALTER, P.; AMIOT, M. J. Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1370-1373, 2005.

GHASEMZADEH, A.; GHASEMZADEH, N. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 31, p. 6697-6703, 2011.

GONÇALVES, A. E. S. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Chemical Composition and Antioxidant/Antidiabetic Potential of Brazilian Native Fruits and Commercial Frozen Pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 4666-4674, 2010.

GRIGIO, M. L. **Caracterização e conservação pós-colheita de camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh)**. 2013. 72p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Roraima.

GULL, J.; SULTANA, B.; ANWAR, F.; NASEER, R.; ASHRAF, M.; ASHRAFUZZAMAN, M. Variation in Antioxidant Attributes at Three Ripening Stages of Guava (*Psidium guajava* L.) Fruit from Different Geographical Regions of Pakistan. **Molecules**, v. 17, n. 3, p. 3165-3180, 2012.

GULÇIN, I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology**, v. 86, n. 3, p. 345-391, 2012.

GURGEL, F. L.; GURGEL, R. S.; NASCIMENTO, W. M. O.; SOARES, A. C. S. Localização geográfica de acessos do banco ativo de germoplasma de camucamuzeiro (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) da Embrapa Amazônia Oriental. **Anais XVI Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, Foz do Iguaçu - PR. 2013.

GURGEL, F. L.; NASCIMENTO, W. M. O.; RIBEIRO, O. D.; BHERING, L. L. Importância relativa de caracteres e dissimilaridade em acessos de camucamuzeiro. **XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Bento Gonçalves - RS. 2012.

HALLIWELL, B.; MURCIA, M. A.; CHIRICO, S.; AUROMA, O. I. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work? Critical Review in **Food Science and Nutrition**, v. 35, n. 1/2, p. 7-20, 1995.

HAN, X.; SHEN, T.; LOU, H. Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 8, n. 9, p. 950-988, 2007.

HOFFMANN-RIBANI, R.; HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonols in fresh and processed Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 4, p. 263-268, 2009.

HOOPER, L.; KROON, P. A.; RIMM, E. B.; COHN, J. S.; HARVEY, I.; CORNU, K. A. L.; RYDER, J. J.; HALL, W. L.; CASSIDY, A. Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 1, p. 38-50, 2008.

HOSBINO, A. A.; PALARIERI, D. A.; BRAVO, J. P.; PEREIRA, T. E. B.; LOPES, G. R. GIMENES, M. A. Marcador microssatélite na conservação de germoplasma vegetal. **Biotechnology Ciência e Desenvolvimento**, n. 29, p. 146-150, 2002.

HU, F. B. Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, n. 3, p. 544S-51S, 2003.

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

HUCK, C. J.; JOHNSTON, C. S.; BEEZHOLD, B. L.; SWAN, P. D. Vitamin C status and perception of effort during exercise in obese adults adhering to a calorie-reduced diet. **Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 42-45, 2013.

HUI, C.; QI, X.; QIANYONG, Z.; XIAOLI, P.; JUNDONG, Z.; MANTIAN, M. Flavonoids, Flavonoid Subclasses and Breast Cancer Risk: A Meta-Analysis of Epidemiologic Studies. **PloS one**, v. 8, n. 1, p. e54318, 2013.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, 2011.

INOUE, T.; KOMODA, H.; UCHIDA, T.; NODE, K. Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties. **Journal of Cardiology**, v. 52, n. 2, p. 127-132, 2008.

JULKUNEN-TIITTO, R. Phenolic constituents in the leaves of Northern Willows: methods for the analysis of certain phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 33, n. 2, p. 213-217, 1985.

JUSTI, K. C.; VISENTAINER, I. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Nutritional composition and vitamin C stability in stored camu-camu (*Myrciaria dubia*) pulp. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 50, n. 4, p. 405-408, 2000.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 36, n. 7, p. 703-725, 2001.

KERIO, L. C.; WACHIRA, F. N.; WANYOKO, J. K.; ROTICH, M. K. Characterization of anthocyanins in Kenyan teas: Extraction and identification. **Food Chemistry**, v. 131, n. 1, p. 31-38, 2012.

KOLECKAR, V.; KUBIKOVA, K.; REHAKOVA, Z.; KUCA, K.; JUN, D.; JAHODAR, L.; OPLETAL, L. Condensed and Hydrolysable Tannins as Antioxidants Influencing the Health. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 5, p. 436-447, 2008.

KOSHIKENE, D. **Análise da variabilidade genética de populações do Banco de Germoplasma de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) utilizando marcadores microssatélites.** 2009. 97p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Amazonas.

KOSMIDER, B.; OSIECKA, R. Flavonoid Compounds: A Review of Anticancer Properties and Interactions with cis-Diamminedichloroplatinum (II). **Drug Development Research**, v. 63, n. 4, p. 200-211, 2004.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HECKER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S. M.; BINKOSKI, A. E.; HILPERT, K. F.; GRIEL, A. E.; MED, ETHERTON, T. D. Bioactive Compounds in Foods: Their Role in the Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. **The American Journal of Medicine**, v. 113, n. 9, p. 71S-88S, 2002.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 5, p. 1269-1278, 2005.

LIU, R. H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, n. 3, p. 517S-20S, 2003.

LIU, R. H. Potential Synergy of Phytochemicals in Cancer Prevention: Mechanism of Action. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 12, p. 3479S-3485S, 2004.

MAEDA, R. N.; PANTOJA, L.; YUYAMA, L. K. O.; CHAAR, J. M. Determinação da formulação e caracterização do néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 70-74, 2006.

MAEDA, R. N.; PANTOJA, L.; YUYAMA, L. K. O.; CHAAR, J. M. Estabilidade de ácido ascórbico e antocianinas em néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 313-316, 2007.

MALGARIM, M. B.; CANTILLANO, R. F.; TREPTOW, R. O.; SOUZA, E. L. Estádio de maturação e variação da temperatura na qualidade pós-colheita de ameixas cv. Reubennel. **Revista Brasileira de Agrociências**, v. 13, n. 1, p. 61-67, 2007.

MANACH, C. SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MANACH, C.; WILLIAMSON, G.; MORAND, C.; SCALBERT, A.; RÉMÉSY, C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 230S-42S, 2005.

MARQUES, O. C. P. **Desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas orais de *Uncaria tomentosa* com actividade antioxidante**. 2008. 210p. Dissertação (Mestrado em Farmácia), Universidade de Coimbra.

MARTEL, F.; MONTEIRO, R.; CALHAU, C. Effect of polyphenols on the intestinal and placental transport of some bioactive compounds. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, n. 1, p. 47-64, 2010.

McCORD, J. M. The Evolution of Free Radicals and Oxidative Stress. **The American Journal of Medicine**, v. 108, n. 8, p. 652-659, 2000.

MEDA, A.; LAMIEN, C. E.; ROMITO, M.; MILLOGO, J.; NACOULMA, O. G. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 91, n. 3, p. 571-577, 2005.

MUELLER-HARVEY, I. Analysis of hydrolysable tannins. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, n. 1-2, p. 3-20, 2001.

MYODA, T.; FUJIMURA, S.; PARK, B.; NAGASHIMA, T.; NAKAGAWA, J.; NISHIZAWA, M. Antioxidative and antimicrobial potential of residues of camu-camu juice production. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 8, n. 2, p. 304-307, 2010.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1-2, p. 95-111, 2004.

NAGAPPAN, A.; PARK, K. I.; PARK, H. S.; KIM, J. A.; HONG, G. E.; KANG, S. R.; LEE, D. H.; KIM, E. H.; LEE, W. S.; WONA, C. K.; KIM, G. S. Vitamin C induces apoptosis in AGS cells by down-regulation of 14-3-3 σ via a mitochondrial dependent pathway. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1920-1928, 2012.

NASCIMENTO, A. P. R. **Quantificação dos taninos dos vinhos por transformada de Fourier dos espectros no infravermelho médio (FTIR)**. 2011. 70p. Dissertação (Mestrado em Viticultura e Enologia), Universidade Técnica de Lisboa.

NASCIMENTO, O. V.; BOLETI, A. P. A.; YUYAMA, L. K. O.; LIMA, E. S. Effects of diet supplementation with camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) fruit in a rat model of diet-induced obesity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 1, n. 85, p. 355-363, 2013.

NEMA, R.; JAIN, P.; KHARE, S.; PRADHAN, A. Flavonoid and cancer prevention – Mini review. **Research in Pharmacy**, v. 2, n. 2, p. 46-50, 2012.

NERI-NUMA, I. A.; CARVALHO-SILVA, L. B.; MORALES, J. P.; MALTA, L. G.; MURAMOTO, M. T.; FERREIRA, J. E. M.; CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; JUNIOR, M. R. M.; PASTORE, G. M. Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* McVaugh - Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 70-76, 2013.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A.; SILVA JÚNIOR, J. F. Efeito do estágio de maturação nas características físico-químicas de acerola. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, v. 37, n. 4, p. 463-470, 2002.

NOIPA, T.; SRIJARANAI, S.; TUNTULANI, T.; NGEONTAE, W. New approach for evaluation of the antioxidant capacity based on scavenging DPPH free radical in micelle systems. **Food Research International**, v. 44, n. 3, p. 798-806, 2011.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; BARROS, M. P.; MANO, C. M.; GOULART, M. O. F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 469-475, 2009.

PADAYACHEE, A.; NETZEL, G.; NETZEL, M.; DAY, L.; ZABARAS, D.; MIKKELSEN, D.; GIDLEY, M. J. Binding of polyphenols to plant cell wall analogues-Part 1: Anthocyanins. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 155-161, 2012.

PADAYATTY, S. J.; KATZ, A.; WANG, Y.; PETER, E.; KWON, O.; LEE, J.; CHEN, S.; CORPE, C.; DUTTA, A.; DUTTA, S. K.; LEVINE, M. Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 22, n. 1, p. 18-35, 2003.

PAIXÃO, N.; PERESTRELO, R.; MARQUES, J. C.; CÂMARA, J. S. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. **Food Chemistry**, v. 105, n. 1, p. 204-214, 2007.

PEREIRA, D. M.; VALENTÃO, P.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P. B. Phenolics: From Chemistry to Biology. **Molecules**, v. 14, n. 6, p. 2202-2211, 2009.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNERO, M.; DÍAZ-RUBIO, M. E.; SERRANO, J.; GOÑI, I.; SAURA-CALIXTO, F. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v. 41, n. 3, p. 274-285, 2008.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, n. 7, p. 791-800, 2006.

PEUCKERT, Y. P.; VIERA, V. B.; HECKTHEUER, L. H. R.; MARQUES, C. T.; ROSA, C. S. Caracterização e aceitabilidade de barras de cereais adicionadas de proteína texturizada de soja e camu-camu (*Myrciaria dubia*). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 1, p. 147-152, 2010.

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

PINEDO, R. A. **Manutenção dos atributos de qualidade do camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. (McVaugh)) desidratado, durante armazenamento.** 2002. 115p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas.

PINEDO, R. A. **Estudo da estabilização da polpa de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) congelada visando a manutenção de ácido ascórbico e de antocianinas.** 2007. 180p. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas.

PINTO, C. E. D. L. **Produção e qualidade do fruto de camu-camu sob efeito de adubação orgânica e mineral no município de Presidente Figueiredo - AM.** 2011. 48p. Dissertação (Mestrado em Agricultura no Trópico Úmido), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

PINTO, M. P. **Pós-colheita de abiu, bacupari e camu-camu, nativos da Região Amazônica, cultivados no Estado de São Paulo.** 2013. Tese (Doutor em Fitotecnologia), Universidade de São Paulo.

PINTO, P. M.; JACOMINO, A. P.; SILVA, S. R.; ANDRADE, C. A. W. Ponto de colheita e maturação de frutos de camu-camu colhidos em diferentes estádios. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 6, p. 605-612, 2013.

QUIÑONES, M.; MIGUEL, M.; ALEIXANDRE, A. Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. **Pharmacological Research**, v. 68, n. 1, p. 125-131, 2013.

RADZIO, J. A.; LORENCE, A.; CHEVONE, B. I.; NESSLER, C. L. L-Gulono-1,4-lactone oxidase expression rescues vitamin C-deficient Arabidopsis (*vtc*) mutants. **Plant Molecular Biology**, v. 53, n. 6, p. 837-844, 2003.

RANDHIR, R.; LIN, Y.-T.; SHETTY, K. Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 13, n. 3, p. 295-307, 2004.

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

RIBEIRO, P. F. A. **Compostos bioativos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) em função do ambiente de cultivo e do estágio de maturação**. 2012. 138p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa.

RIBEIRO, S. I.; MOTA, M. G. C.; CORRÊA, M. L. P. Recomendações para o Cultivo do Camucamuzeiro no Estado do Pará. Embrapa Amazônia Oriental: **Circular Técnica 31**. Belém-PA. 9p., 2002.

RODRIGUES, R. B.; MARX, F. Camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh]: a promising fruit from the Amazon Basin. **Nutrition**, v. 30, n. 9, p. 376-381, 2006.

RODRIGUES, R. B.; MENEZES, H. C.; CABRAL, L. M. C.; DORNIER, M. C.; RIOS, G. M.; REYNES, M. Evaluation of reverse osmosis and osmotic evaporation to concentrate camu-camu juice (*Myrciaria dubia*). **Journal of Food Engineering**, v. 63, n. 1, p. 97-102, 2004.

ROSS, J. A.; KASUM, C. M. Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. **Annual review of nutrition**, v. 22, n. 1, p. 19-34, 2002.

ROUTRAY, W.; ORSAT, V. Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 2, p. 409-424, 2012.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Embrapa Agroindustrial Tropical: **Comunicado Técnico 127**. Fortaleza - CE. 4p., 2007a.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS⁺. Embrapa Agroindustrial Tropical: **Comunicado Técnico 128**. Fortaleza - CE. 4p., 2007b.

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

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; FERNANDES, F. A. N.; BRITO, E. S. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2072-2075, 2011.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 76, n. 2, p. 270-276, 1998.

SANTOS, M. B.; CARDOSO, R. L.; FONSECA, A. A. O.; CONCEIÇÃO, M. N. Caracterização e qualidade de frutos de umbu-cajá (*Spondias tuberosa* X *S. mombin*) Provenientes do recôncavo Sul da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1089-1097, 2010.

SANTOS, M. C. S.; GONÇALVES, C. F. L.; VAISMAN, M.; FERREIRA, A. C. F.; CARVALHO, D. P. Impact of flavonoids on thyroid function. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 10, p. 2495-2502, 2011.

SAURA-CALIXTO, F.; SERRANO, J.; GOÑI, I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 492-501, 2007.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D. M.; PELL, A. N. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, n. 1-2, p. 21-40, 2001.

SILVA, I. G. **Qualidade pós-colheita de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh) em diferentes estádios de maturação, submetidos à radiação gama e refrigeração**. 2013. 100p. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo.

SILVA, M. A.; PINEDO, R. A.; KIECKBUSCH, T. G. Ascorbic acid thermal degradation during hot air drying of camu-camu (*Myrciaria dubia* [H.B.K.] McVaugh) slices at different air temperatures. **Drying Technology**, v. 23, n. 9/11, p. 2277-2287, 2005.

SILVA, M. A.; SOBRAL, P. J. A.; KIECKBUSCH, T. G. Water sorption and glass transition of freeze-dried camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) pulp. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 84, n. 2, p. 435-439, 2006.

SILVA, V. X. **Determinação do ponto de colheita do camu-camu [*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh] por meio de atributos de qualidade e funcionais**. 2012. 109p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Roraima.

SINGH, A.; HOLVOET, S.; MERCENIER, A. Dietary polyphenols in the prevention and treatment of allergic diseases. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 41, n. 10, p. 1346-359, 2011.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SMIDERLE, O. J.; SOUSA, R. C. P. Teor de vitamina C e características físicas do camu-camu em dois estádios de maturação. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 2, n. 2, p. 61-63, 2008.

STRINGANO, E.; CARBONERO, C. H.; SMITH, L. M. J.; BROWN, R. H.; MUELLER-HARVEY, I. Proanthocyanidin diversity in the EU 'HealthyHay' sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) germplasm collection. **Phytochemistry**, v. 77, p. 197-208, 2012.

TABART, J.; KEVERS, C.; PINCEMAIL, J.; DEFRAIGNE, J. -O.; DOMMESA, J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1226-1233, 2009.

TAFULO, P. A. R.; QUEIRÓS, R. B.; DELERUE-MATOS, C. M.; SALES, M. G. F. Control and comparison of the antioxidant capacity of beers. **Food Research International**, v. 43, n. 6, p. 1702-1709, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed., Porto Alegre: Artmed, 2004.

TEIXEIRA, A. S.; CHAVES, L. S.; YUYAMA, K. Esterases no exame da estrutura populacional de camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh-Myrtaceae). **Acta Amazonica**, v. 34, n. 1, p. 89-96, 2004.

THOMAS, M. J. The Role of Free Radicals and Antioxidants. **Nutrition**, v. 16, n. 7/8, p. 716-718, 2000.

TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins - occurrence, extraction and chemistry. **Food Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 69-80, 1980.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ANDRÉS-LACUEVA, C. Polyphenols and Health: Current State and Progress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 36, p. 8773-8775, 2012.

TSAO, R. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. **Nutrients**, v. 2, n. 12, p. 1231-1246, 2010.

VALLS, J.; MILLÁN, S.; MARTÍ, M. P.; BORRÀS, E.; AROLA, L. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 43, p. 7143-7172, 2009.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 195-198, 2000.

VIÉGAS, I. J. M.; FRAZÃO, D. A. C.; SILVA, J. F. Camucamuzeiro: Nutrição, calagem e adubação. Embrapa Amazônia Oriental: **Circular Técnica 38**. Belém-PA. 6p., 2004.

VILLANUEVA-TIBURCIO, J. E.; CONDEZO-HOYOS, L. A.; ASQUIERI, E. A. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 151-160, 2010.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 304-309, 1997.

WELCH, C. R.; WU, Q.; SIMON, J. E. Recent Advances in Anthocyanin Analysis and Characterization. **Current Analytical Chemistry**, v. 4, n. 2, p. 75-101, 2008.

WILLIAMS, R. J.; SPENCER, J. P. E.; RICE-EVANS, C. Serial Review: Flavonoids and Isoflavones (Phytoestrogens): Absorption, Metabolism, and Bioactivity. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 36, n. 7, p. 838-849, 2004.

WILLIAMSON, G.; CLIFFORD, M. N. Colonic metabolites of berry polyphenols: the missing link to biological activity? **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. S3, p. S48-S66, 2010.

WILLIAMSON, G.; MANACH, C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. **American Journal Of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 243S-255S, 2005.

WOLFE, R. M.; TERRILL, T. H.; MUIR, J. P. Drying method and origin of standard affect condensed tannin (CT) concentrations in perennial herbaceous legumes using simplified butanol-HCl CT analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 6, p. 1060-1067, 2008.

WOLUCKA, B. A.; MONTAGU, M. V. GDP-Mannose 3',5'-Epimerase Forms GDP-L-gulose, a Putative Intermediate for the de Novo Biosynthesis of Vitamin C in Plants. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 48, p. 47483-47490, 2003.

YUYAMA, K. The camu-camu culture in Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 335-690, 2011.

ZAMUDIO, L. H. B. **Caracterização de Vitamina C em frutos de camu-camu *Myrciaria dubia* (H. B. K.) em diferentes estádios de maturação do Banco Ativo de Germoplasma de Embrapa.** 2007. 121p. Monografia (Especialização em Nutrição Humana), Universidade de Brasília.

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

ZANATTA, C. F.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1526-1532, 2007.

ZAPATA, S. M.; DUFOUR, J. P. Camu-camu *Myrciaria dubia* [H.B.K.] McVaugh - chemical composition of fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 61, n. 3, p. 349-351, 1993.

ZULUETA, A.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 310-316, 2009.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Características físicas dos frutos de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.

Determinações	Progênes	Estádios de maturação		
		Verde	Semimaduro	Maduro
Massa (g)	17	6,22 ± 1,61 ^{ab} (25,81%)*	5,90 ± 1,62 ^{ab} (27,42%)*	6,48 ± 1,76 ^{ab} (27,13%)*
	38	5,58 ± 1,35 ^{ab} (24,29%)*	5,38 ± 1,29 ^{ab} (23,91%)*	5,33 ± 1,53 ^{aC} (28,72%)*
	44	7,46 ± 1,76 ^{abA} (23,53%)*	6,80 ± 1,87 ^{bA} (27,53%)*	7,92 ± 1,65 ^{aA} (20,85%)*
Diâmetro longitudinal (cm)	17	2,24 ± 0,22 ^{ab} (9,74%)*	2,24 ± 0,20 ^{aA} (8,94%)*	2,33 ± 0,26 ^{ab} (11,05%)*
	38	2,12 ± 0,19 ^{aC} (9,03%)*	2,14 ± 0,17 ^{ab} (8,15%)*	2,11 ± 0,20 ^{aC} (9,39%)*
	44	2,42 ± 0,22 ^{bA} (9,20%)*	2,30 ± 0,36 ^{cA} (15,50%)*	2,48 ± 0,23 ^{aA} (9,43%)*
Diâmetro transversal (cm)	17	2,17 ± 0,18 ^{ab} (8,28%)*	2,15 ± 0,22 ^{aAB} (10,07%)*	2,23 ± 0,27 ^{ab} (11,87%)*
	38	1,98 ± 0,18 ^{aC} (9,32%)*	1,98 ± 0,20 ^{ab} (10,14%)*	2,02 ± 0,18 ^{aC} (9,06%)*
	44	2,29 ± 0,20 ^{abA} (8,67%)*	2,20 ± 0,22 ^{bA} (9,96%)*	2,38 ± 0,15 ^{aA} (6,30%)*

Os valores representam a média de cinquenta repetições ± desvio padrão. *Coeficiente de variação. Comparações entre os frutos em diferentes estádios de maturação (linha) são representadas por letra minúscula e comparações entre as diferentes progênes em cada determinação (coluna) estão representadas por letra maiúscula. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

APÊNDICE B - Rendimento (%) em polpa dos frutos de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação.

Progênie	Estádio de maturação		
	Verde	Semimaduro	Maduro
17	45,00	49,93	53,05
38	46,00	47,30	54,50
44	45,58	45,95	52,43

APÊNDICE C - Características físico-químicas da polpa de camu-camu das três progênes, em função do estágio de maturação.

Determinações	Progênes	Estádios de maturação		
		Verde	Semimaduro	Maduro
Umidade (%)	17	93,87 ± 0,03 ^{ab}	92,79 ± 0,12 ^{bb}	92,47 ± 0,12 ^{cb}
	38	94,61 ± 0,04 ^{aA}	94,27 ± 0,16 ^{aA}	93,90 ± 0,50 ^{aA}
	44	94,02 ± 0,19 ^{ab}	92,27 ± 0,09 ^{bc}	91,78 ± 0,28 ^{bb}
Cinzas (%)	17	4,99 ± 0,31 ^{aA}	4,51 ± 0,34 ^{aA}	3,66 ± 0,16 ^{baB}
	38	4,97 ± 0,30 ^{aA}	4,88 ± 0,29 ^{aA}	4,55 ± 0,43 ^{aA}
	44	4,25 ± 0,69 ^{aA}	3,50 ± 0,16 ^{ab}	2,96 ± 0,64 ^{ab}
Proteínas (%)	17	3,96 ± 0,10 ^{bb}	4,77 ± 0,55 ^{aA}	3,09 ± 0,04 ^{cb}
	38	3,01 ± 0,05 ^{bc}	4,25 ± 0,09 ^{aA}	4,87 ± 0,71 ^{aA}
	44	6,72 ± 0,32 ^{aA}	3,19 ± 0,04 ^{bb}	4,11 ± 0,53 ^{baB}
Lipídios (%)	17	2,09 ± 0,22 ^{ab}	1,72 ± 0,14 ^{ab}	2,03 ± 0,26 ^{ab}
	38	3,60 ± 0,62 ^{abA}	2,84 ± 0,22 ^{ba}	4,23 ± 0,35 ^{aA}
	44	2,54 ± 0,13 ^{bb}	3,09 ± 0,12 ^{abA}	3,62 ± 0,42 ^{aA}
Fibra insolúvel (%)	17	4,94 ± 0,01 ^{ab}	5,70 ± 1,42 ^{aA}	5,24 ± 0,07 ^{aA}
	38	5,23 ± 0,03 ^{aA}	2,79 ± 0,66 ^{bb}	4,45 ± 0,47 ^{ab}
	44	4,18 ± 0,26 ^{bc}	4,31 ± 0,23 ^{baB}	5,27 ± 0,08 ^{aA}
Açúcares redutores (%)	17	40,81 ± 0,31 ^{bb}	32,53 ± 0,12 ^{cb}	41,97 ± 0,64 ^{ab}
	38	39,39 ± 0,90 ^{bb}	39,41 ± 0,99 ^{ba}	46,13 ± 0,07 ^{aA}
	44	42,74 ± 0,89 ^{ba}	39,92 ± 1,51 ^{ba}	47,66 ± 1,16 ^{aA}

Os valores representam a média de três repetições ± desvio padrão (base seca). Comparações entre as polpas em diferentes estádios de maturação (linha) são representadas por letra minúscula e comparações entre as diferentes progênes (coluna) estão representadas por letra maiúscula. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Continuação APÊNDICE C - Caracterização físico-química da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação.

Determinações	Progênies	Estádios de maturação		
		Verde	Semimaduro	Maduro
Acidez titulável total (g de ácido cítrico/100 g)	17	3,02 ± 0,05 ^{aB}	2,94 ± 0,01 ^{bB}	2,45 ± 0,01 ^{cB}
	38	2,54 ± 0,01 ^{aC}	2,33 ± 0,01 ^{bC}	2,38 ± 0,05 ^{bB}
	44	3,46 ± 0,02 ^{aA}	3,32 ± 0,05 ^{bA}	2,92 ± 0,01 ^{cA}
Potencial hidrogeniônico (pH)	17	1,78 ± 0,01 ^{bC}	1,90 ± 0,09 ^{bA}	2,25 ± 0,20 ^{aA}
	38	2,10 ± 0,03 ^{aB}	2,02 ± 0,02 ^{aA}	2,26 ± 0,22 ^{aA}
	44	2,51 ± 0,10 ^{aA}	1,65 ± 0,08 ^{bB}	1,58 ± 0,01 ^{bB}
Sólidos solúveis (°Brix)	17	4,6 ± 0,1 ^{cC}	5,9 ± 0,0 ^{bB}	6,1 ± 0,1 ^{aB}
	38	4,9 ± 0,1 ^{cA}	5,4 ± 0,1 ^{bC}	6,1 ± 0,1 ^{aB}
	44	4,7 ± 0,0 ^{cB}	6,0 ± 0,1 ^{bA}	6,9 ± 0,1 ^{aA}
Relação SS/ATT	17	1,51 ± 0,02 ^{cB}	2,01 ± 0,01 ^{bB}	2,50 ± 0,04 ^{aA}
	38	1,94 ± 0,03 ^{cA}	2,30 ± 0,02 ^{bA}	2,56 ± 0,05 ^{aA}
	44	1,36 ± 0,01 ^{cC}	1,82 ± 0,03 ^{bC}	2,38 ± 0,01 ^{aB}

Os valores representam a média de três repetições ± desvio padrão (base úmida). Comparações entre as polpas em diferentes estádios de maturação (linha) são representadas por letra minúscula e comparações entre as diferentes progênies (coluna) estão representadas por letra maiúscula. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

APÊNDICE D - Compostos bioativos da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação.

Determinações	Progênies	Estádios de maturação		
		Verde	Semimaduro	Maduro
Vitamina C (g/100 g)	17	33,30 ± 0,13 ^{aB}	26,16 ± 0,11 ^{cB}	27,78 ± 0,00 ^{bB}
	38	30,85 ± 0,14 ^{aC}	26,87 ± 0,14 ^{bB}	25,27 ± 0,13 ^{cC}
	44	34,38 ± 0,13 ^{aA}	28,96 ± 0,57 ^{cA}	32,03 ± 0,11 ^{bA}
Compostos fenólicos totais (mg AGE/100 g)	17	2757,82 ± 183,98 ^{bB}	1008,57 ± 99,5 ^{cB}	3898,66 ± 186,02 ^{aA}
	38	3937,74 ± 295,59 ^{aA}	2133,72 ± 198,41 ^{bA}	4166,31 ± 323,79 ^{aA}
	44	1349,36 ± 144,25 ^{bC}	1943,85 ± 208,11 ^{aA}	1357,21 ± 136,48 ^{bB}
Flavanóis (mg CE/100 g)	17	1180,69 ± 17,21 ^{aA}	747,90 ± 27,45 ^{bA}	506,06 ± 10,69 ^{cA}
	38	1068,91 ± 53,52 ^{aB}	687,63 ± 23,81 ^{bB}	483,39 ± 16,76 ^{cA}
	44	636,41 ± 35,47 ^{aC}	280,81 ± 14,12 ^{bC}	261,98 ± 13,10 ^{bB}
Flavonóis (mg QE/100 g)	17	9,41 ± 0,80 ^{cC}	16,01 ± 0,15 ^{bB}	25,01 ± 0,05 ^{aA}
	38	17,09 ± 1,41 ^{bB}	22,39 ± 0,24 ^{aA}	23,56 ± 1,99 ^{aA}
	44	24,40 ± 0,81 ^{aA}	14,83 ± 0,03 ^{bC}	10,87 ± 0,07 ^{cB}

AGE: Ácido gálico equivalente. CE: Catequina equivalente. QE: Quercetina equivalente. Os valores representam a média de três repetições ± desvio padrão (base seca). Comparações entre as polpas em diferentes estádios de maturação (linha) são representadas por letra minúscula e comparações entre as diferentes progênies (coluna) estão representadas por letra maiúscula. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

APÊNDICE E - Capacidade antioxidante pelos métodos TEAC e DPPH da polpa de camu-camu das três progênies, em função do estágio de maturação.

Determinações	Progênies	Estádios de maturação		
		Verde	Semimaduro	Maduro
TEAC (μ M de Trolox equivalente/g)	17	2101,95 \pm 26,04 ^{aA}	1686,39 \pm 18,22 ^{bB}	1583,34 \pm 39,84 ^{cB}
	38	1987,45 \pm 39,59 ^{aB}	1583,64 \pm 17,72 ^{bC}	1583,70 \pm 34,55 ^{bB}
	44	2145,78 \pm 19,05 ^{aA}	2085,04 \pm 35,18 ^{bA}	1896,81 \pm 8,87 ^{cA}
EC ₅₀ (g de polpa/g de DPPH)	17	29,97 \pm 1,39 ^{bAB}	33,66 \pm 0,39 ^{aA}	35,95 \pm 1,30 ^{aB}
	38	31,49 \pm 1,72 ^{bA}	34,21 \pm 1,48 ^{abA}	36,24 \pm 0,64 ^{aB}
	44	27,70 \pm 0,48 ^{cB}	29,38 \pm 0,41 ^{bB}	40,61 \pm 0,69 ^{aA}

Os valores representam a média de três repetições \pm desvio padrão (base seca). Comparações entre as polpas em diferentes estádios de maturação (linha) são representadas por letra minúscula e comparações entre as diferentes progênies (coluna) estão representadas por letra maiúscula. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.