

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS  
ALIMENTOS

Propriedades físico-químicas e características histoquímicas do araçá  
vermelho (*Psidium catteyanum* Sabine).

Denise Wibelinger de Melo

Florianópolis – SC  
2019



# DENISE WIBELINGER DE MELO

Propriedades físico-químicas, funcionais e histoquímicas do araçá  
vermelho (*Psidium catteyanum* Sabine)

Dissertação submetida ao  
Programa de pós-graduação  
em Ciência dos Alimentos da  
Universidade Federal de Santa  
Catarina para a obtenção do  
Grau de Mestre em Ciência  
dos Alimentos

**Orientadora: Edna Regina  
Amante**

Florianópolis – SC  
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor  
com o Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da  
UFSC.

de Melo, Denise Wibelinger  
Propriedades físico-químicas e características  
histoquímicas do araçá vermelho (*Psidium cattelanum*  
Sabine). / Denise Wibelinger de Melo ;  
orientadora, Edna Regina Amante, 2019.  
83 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias,  
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos,  
Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. 2. Frutas . 3. Química  
de Alimentos . 4. Microbiologia . I. Amante, Edna  
Regina. II. Universidade Federal de Santa Catarina.  
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.  
III. Título.

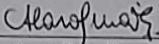
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E CARACTERÍSTICAS  
HISTOQUÍMICAS DO ARAÇÁ VERMELHO (*PSIDIUM  
CATTEYANUM* SABINE)

Por


**Denise Wibelinger de Melo**

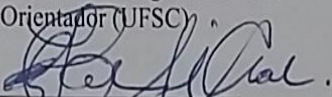
Esta Defesa de Dissertação foi julgada adequada para obtenção do  
Título “**Mestrado** em Ciência dos Alimentos”, e aprovada em sua forma  
final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

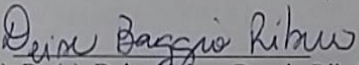
Florianópolis, 12 de fevereiro de 2019

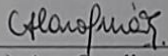
  
Prof. (a). Dr. (a). Ana Carolina de Oliveira Costa  
Coordenador

**Banca Examinadora:**

  
Prof.(a). Dr.(a). Edna Regina Amante,  
Orientador (UFSC)

  
Prof.(a). Dr.(a). Elisa Helena Stegel Moecke,  
Membro (UNISUL)

  
Prof.(a). Dr.(a). Deise Helena Baggio Ribeiro,  
Membro (UFSC)

  
Prof.(a). Dr.(a). Ana Carolina de Oliveira Costa,  
Membro (UFSC)

Este trabalho é dedicado aos meus  
amados pais Fermina e João.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e proteção.

Aos meus amados pais, Fermina e João, pelo amor incondicional, pelo exemplo de caráter, por sempre me apoiarem e me incentivarem nas minhas decisões, por sonharem comigo e pelos sacrifícios feitos.

A toda minha família, por toda sua torcida e incentivo e em especial aos meus avós José Sebastian Wibeling e a Emílio Azambuja de Melo que não estão mais entre nós, mas que sempre me incentivaram a ser uma pessoa melhor.

À minha orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Edna Regina Amante, pela oportunidade, confiança e paciência, pelo auxílio, conhecimento compartilhado, incentivo e por todo apoio durante a minha formação. Por ser um grande exemplo de profissional.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Deise Baggio Ribeiro, por todas as oportunidades e ensinamentos, por acreditar no meu potencial, e me puxar a orelha quando necessário, por me incentivar e ficar empolgada com os pequenos progressos, pelo carinho, confiança.

Aos meus amigos do Laboratório de Tecnologia de Frutas e Hortaliças: Iria Pedroso da Cunha, Bianca Darck Melo Cavalcante, Luis Eduardo Nascimento e Marilene da Rosa pessoas maravilhosas que não mediram esforços para me ajudar, agradeço pelos momentos de superações perante as dificuldades e pelos momentos de alegria nesses anos de mestrado.

À técnica e amiga Meri Zanetti, por toda a ajuda, incentivo, apoio e amizade incondicional. A equipe do Laboratório de Nutrição Animal, por me tratarem como se eu fizesse parte da equipe, adoro você.

A equipe do Laboratório de Reologia, principalmente a amiga Bianca Gasparini por toda a ajuda e amizade.

À Silvani Verruck e à Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Elane do Laboratório de Leites, pela parceria e por sempre estarem dispostas a ajudar.

A equipe do Lameb – UFSC em especial: a Chirle, a Emily e Laise vocês são especiais, não tenho palavras para agradecer toda a ajuda, atenção e carinho que vocês me deram durante as minhas análises no Lameb.

A equipe do Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC por toda a ajuda nas análises de MEV e EDS.

Ao Prof. Dr. Luciano Vitali, pela parceria nas análises de HPLC.

Aos meus grandes amigos: Ilana Popoviche, Cheila Roeder, Taís Zavareze, Valentine Belzarena, Bibiana Caporal, Luciana Caporal,

Daniele Pedroso, Daiane Araujo, Itamar, Vanessa e Bruno por sempre me ajudarem, me incentivarem e me apoiarem.

A CAPES pelo auxílio financeiro, ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos e a Universidade Federal de Santa Catarina pelo ensino público gratuito e de qualidade. E a todos os professores que de certa forma contribuíram para que eu chegasse até aqui. A todos os servidores que me ajudaram com as documentações e burocracias.



## RESUMO

O araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) é um fruto silvestre nativo brasileiro ainda pouco conhecido, mas que apresenta potencial econômico tanto para seu consumo *in natura* quanto em produtos processados como: geleias, sucos, chás, sorvetes entre outros. Isso se deve a sua composição físico-química e propriedade antioxidante benéfica à saúde. O objetivo desse trabalho foi avaliar as características físico-químicas, histológicas e histoquímicas do araçá. Avaliar o teor de fenólicos totais, flavonoides, atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos acidificados. Determinar os compostos fenólicos por HPLC-ESI-MS/MS (com cromatografia líquida de alta eficiência ionização por eletrospray e espectrometria de massa) e avaliar o perfil de minerais por microscopia eletrônica de varredura MEV e espectrômetro com dispersão de energia EDS. Os frutos de araçá apresentaram teor de umidade entre 80,83 a 81,41g 100g<sup>-1</sup> e pH na faixa de 3,37 a 3,50. Através da histologia e histoquímica foi possível observar que ambas as temperaturas de congelamento (-20 e -80 °C) danificaram o tecido do fruto, mas que o tratamento a -80 °C manteve um maior número de células preservadas. Pela microscopia de fluorescência foi possível identificar que os compostos fenólicos estão localizados em maior quantidade no epicarpo, isso se deve a característica de proteção desses compostos. Os resultados de compostos fenólicos totais e os flavonoides ficaram entre 370,90 a 457,93 mg equivalente de ácido gálico (EAG)100 g<sup>-1</sup> e 44 a 49 mg equivalente de rutina (ER)100 g<sup>-1</sup> de fruto fresco, respectivamente. A atividade antioxidante *in vitro* por FRAP e DPPH apresentaram valores entre 23,60 a 32,42 µmol de (equivalente de trolox) TEAC g<sup>-1</sup> de amostra fresca para o FRAP e de 51,18 a 51,78 µmol de TEAC g<sup>-1</sup> em base úmida para o radical DPPH. Os compostos fenólicos identificados por HPLC-ESI-MS/MS foram: ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido cinâmico, catequina, epicatequina, quercetina e ácido clorogênico. Sendo que o ácido gálico e o ácido clorogênico foram os majoritários. Em relação a atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos acidificados dos frutos esses apresentaram potencial inibitório frente as cepas testadas, exceto para o extrato metanólico 70 % acidificado com HCl 0,1 % (araçá - safra 2018) que não apresentou inibição à *Salmonella*. Através dos resultados obtidos neste estudo foi possível afirmar que o consumo dos frutos de araçá pode contribuir significativamente para a ingestão diária recomendada de nutrientes e compostos antioxidantes, além de um potencial para o controle do desenvolvimento microbiano.

**Palavras-chave:** Araçá vermelho, composição nutricional, compostos fenólicos, microscopia, antioxidantes, atividade antimicrobiana.

## ABSTRACT

The red strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) is a wild native Brazilian fruit, still little known. This fruit has great economic potential, both in natura and processed products such as jellies, juices, teas, ice creams and others. This is due to its physico-chemical composition and beneficial antioxidant properties. The objective of this study was to evaluate the physical-chemical, histological and histochemical characteristics of the araçá. In addition, establishing the content of total phenolics, flavonoids, antioxidant, and antimicrobial activity of their acidified hydroalcoholic extracts. Finally, identify and quantify the phenolic compounds by liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry HPLC-ESI-MS/MS and evaluate the mineral profile by Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive Spectroscopy SEM/EDS. The fruits of *P. cattleianum* presented high moisture content between 80.23 to 81.41g 100g<sup>-1</sup> e and acidic pH in the range 3.37 to 3.50. Histology and histochemistry revealed that both temperatures freezing (-20 and -80 ° C) damaged the fruit tissue, but treatment at -80 ° C preserved a larger number of cells. Fluorescence microscopy has identified that higher concentration of the phenyl compounds in the epicarp region. This is due to the protection characteristic of these compounds. Total phenolic compounds and flavonoids were between 370.90 to 457.93 mg equivalent of gallic acid (EAG) 100 g<sup>-1</sup> and 44 to 49 mg rutin equivalent (ER) 100 g<sup>-1</sup> of fresh fruit respectively. The antioxidant activity in vitro by Ferric reducing antioxidant potential FRAP and 2,2 difenil-1-picrilhidrazila DPPH presented values between 23.60 and 32.42 µmol of TEAC g<sup>-1</sup> of fresh sample for FRAP and 51.18 to 51.78 µmol of equivalent of trolox TEAC g<sup>-1</sup> on wet basis for the radical DPPH. The phenolic compounds identified by HPLC-ESI-MS/MS were: gallic acid, protocatecuic acid, cinnamic acid, catechin, epicatechin, quercetin and chlorogenic acid. Gallic acid and chlorogenic acid were the majority. Antimicrobial activity of the acidified hydroalcoholic extracts of fruits showed an inhibitory potential against the strains tested, except for the 70% methanolic extract acidified with HCl 0.1% (sample at 2018). This did not present inhibition against *Salmonella*. In view of this results it is possible to infer that the consumption of *P. cattleianum* can be significantly to the recommended daily intake of nutrients and antioxidant compounds, besides these extracts presented a potential for control microbial development.

Keywords: red strawberry guava, centesimal composition, phenolic compound, microscopy, antioxidants, antimicrobial activity.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>19</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>21</b>
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>23</b>
3.1 MYRTACEAE	23
3.2 ARAÇÁ	25
<b>3.2.1 Um breve histórico botânico</b>	<b>25</b>
3.3 EFEITO DO CONGELAMENTO SOBRE A ESTRUTURA DOS FRUTOS	26
3.4 COMPOSTOS FENÓLICOS	28
3.5 FLAVONOIDES	29
3.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	30
3.7 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS E ÁGUA (DTHA)	32
3.8 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	33
3.9 MICROSCOPIA EM ALIMENTOS VEGETAIS	33
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>35</b>
4.1 AMOSTRAS	36
4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS	36
<b>4.2.1 Liofilização</b>	<b>37</b>
4.3 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	37
<b>4.3.1 Açúcares redutores e açúcares redutores totais</b>	<b>38</b>
4.4 ACIDEZ TITULÁVEL, PH, SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS E ÍNDICE DE REFRAÇÃO DO ÓLEO	38
4.5 MÉTODO DE EXTRAÇÃO PARA COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, FLAVONOIDES TOTAIS E ANTIOXIDANTES.	38
4.6 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	39
4.7 FLAVONOIDES TOTAIS	39
4.8 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO POR DPPH E FRAP	39
<b>4.8.1 FRAP</b>	<b>39</b>
<b>4.8.2 DPPH</b>	<b>40</b>
4.9 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS	40
<b>4.9.1 Preparo dos extratos</b>	<b>40</b>
<b>4.9.2 Difusão em disco</b>	<b>42</b>

4.10 MICROSCOPIA DAS AMOSTRAS CONGELADAS A – 20 °C e a – 80 °C	41
<b>4.10.1 Processamento do material para microscopia óptica de luz dos frutos de araçá</b>	<b>41</b>
<b>4.10.2 Inclusão para o preparo das amostras em parafina</b>	<b>42</b>
<b>4.10.3 Emblocamento das amostras de araçá</b>	<b>43</b>
<b>4.10.4 Microtomia das amostras</b>	<b>43</b>
<b>4.10.5 Coloração das lâminas permanentes do araçá</b>	<b>43</b>
4.10.5.1 Azul de astra e fucsina básica	43
4.10.5.2 Azul de toluidina (ATO)	44
4.10.5.3Azul brilhante de comassie (CBB)	44
4.10.5.4 Ácido periódico de Schiff (PAS)	44
<b>4.10.6 Preparo das amostras para análise de fluorescência e para coloração não permanente</b>	<b>45</b>
<b>4.10.7 Preparo da amostra para a coloração não permanente</b>	<b>45</b>
<b>4.10.8 Microscopia Eletrônica de Varredura e EDS</b>	<b>45</b>
4.11 ANÁLISE DE COR	45
4.12 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS POR LC- ESI-MS/MS	46
<b>4.12.1 Preparo da amostra</b>	<b>46</b>
<b>4.12.2 Condições cromatográficas</b>	<b>47</b>
4.13 ESTATÍSTICA	47
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>49</b>
5.1 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FLAVONOIDES TOTAIS	51
5.2 ANÁLISE DE COR	52
5.3 CARACTERIZAÇÃO HISTOQUÍMICA DOS FRUTOS DE ARAÇÁ VERMELHO	53
5.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E EDS	60
5.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	62
5.6 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR HPLC-ESI-MS/MS	64
<b>6. CONCLUSÕES</b>	<b>67</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>69</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Principais compostos fenólicos encontrados nas <i>Myrtaceae</i>	<b>24</b>
<b>Figura 2.</b> <i>Psidium catteyanum</i> Sabine	<b>25</b>
<b>Figura 3.</b> Danos causados às células vegetais no congelamento	<b>27</b>
<b>Figura 4.</b> Estrutura química básica dos flavonoides	<b>30</b>
<b>Figura 5.</b> Principais patógenos causadores de DTHA entre 2007 a 2016	<b>32</b>
<b>Figura 6.</b> Fluxograma simplificado dos experimentos	<b>35</b>
<b>Figura 7.</b> Localização geográfica: Mapa mostrando a local de coleta das amostras dos frutos de araçá vermelho ( <i>Psidium catteyanum</i> Sabine) e localização do local de realização das análises	<b>36</b>
<b>Figura 8.</b> Estrutura primária e secundária dos frutos de araçá vermelho	<b>55</b>
<b>Figura 9.</b> Estrutura as células dos frutos de araçá congelados a -20 e -80°C	<b>56</b>
<b>Figura 10.</b> Carboidratos ácidos e polissacarídeos neutros presentes no araçá	<b>57</b>
<b>Figura 11.</b> Coloração das proteínas presentes nos frutos de araçá	<b>58</b>
<b>Figura 12.</b> Localização dos lipídeos nos frutos de araçá vermelho	<b>59</b>
<b>Figura 13.</b> Autofluorescência dos compostos fenólico dos frutos de araçá	<b>60</b>
<b>Figura 14.</b> MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura) do pó do fruto de araçá liofilizado	<b>61</b>
<b>Figura 15.</b> Perfil de minerais do pó liofilizado dos frutos de araçá	<b>62</b>





## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Procedimentos para inclusão em parafina dos frutos de araçá	<b>42</b>
<b>Tabela 2.</b> Características físico-químicas do araçá vermelho safra 2017 e 2018	<b>49</b>
<b>Tabela 3.</b> Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos frutos de araçá vermelho, safra 2017 e 2018, em diferentes sistemas de solventes.	<b>52</b>
<b>Tabela 4.</b> Composição de flavonoides totais nos extratos de araçá vermelho, das safras de 2017 e 2018, em diferentes extratos.	<b>53</b>
<b>Tabela 5.</b> Avaliação dos parâmetros de cor $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ do araçá vermelho liofilizado, safra 2017 e 2018.	<b>54</b>
<b>Tabela 6.</b> Atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcóolicos acidificados de araçá vermelho	<b>63</b>
<b>Tabela 7.</b> Conteúdo dos compostos fenólicos identificados ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ de matéria seca) das amostras de araçá 2017 e araçá 2018	<b>64</b>



## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, sendo um país rico em frutos silvestres ainda pouco explorados, que podem ser utilizados tanto para a comercialização *in natura* quanto para a aplicação em novos produtos, na indústria de alimentos, farmacêutica, química e cosmética, tendo em vista que a maioria desses são ricos em compostos benéficos a saúde como é o caso dos polifenóis, carotenoides, vitaminas, minerais entre outros (IBGE, 2018; NERI-NUMA et al., 2018).

Dentre os frutos silvestres ainda pouco estudados encontra-se o araçá vermelho (*Psidium catteyanum* Sabine), espécie nativa da mata Atlântica, encontrado desde o Rio Grande do Sul até a Bahia, pertencente à família das Myrtaceae, seus frutos são suculentos e levemente ácidos (BIEGELMEYER et al., 2011; MEDINA et al., 2011; REISSIG et al., 2016). Essa planta se adapta bem a diferentes climas e tipos de solo, favorecendo a introdução da cultura em diferentes regiões do país (ROSEIRA; ROSEIRA, 1996; CORRÊA et al., 2011). A espécie apresenta alta produtividade, tem um baixo custo de manejo, raramente necessita de agrotóxicos, podendo representar uma alternativa viável para a agroindústria, agricultura orgânica e familiar (CORRÊA et al., 2011).

Em comparação a outros frutos, o araçá apresenta teores de compostos fenólicos totais maiores do que o morango e a uva, e na mesma faixa da pitanga e da ameixa. O potencial antioxidante do araçá está relacionado principalmente aos compostos fenólicos e a vitamina C (MEDINA et al., 2011), os teores desses compostos podem variar, sendo dependentes de fatores como clima, incidência de sol, solo e grau de maturação (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Suas características fitoquímicas constituem um importante domínio para a inovação (LOPES; SILVA, 2018).

Os compostos fenólicos e a atividade antioxidante do araçá vermelho já foram investigados anteriormente, mas não existem estudos demonstrando como esses compostos se comportam estruturalmente e onde estão localizados no fruto, fator importante para o processamento dos mesmos.

Segundo Medina e colaboradores (2011), os compostos fenólicos predominantes no araçá vermelho são epicatequina e ácido gálico, seguidos por componentes menos abundantes como, ácido cumárico, ácido ferúlico, miricetina e quercetina.

O araçá também é considerado um importante inibidor de  $\alpha$ -glicosidase, apresentando atividade anti-hiperglicêmica (VINHOLES et

al., 2017), apresenta potencial antimicrobiano (MEDINA et al. 2011), e suas folhas exibem ação analgésica (ALVARENGA et al., 2013).

Com o intuito de contribuir para a socioeconomia dos recursos brasileiros e ilustrar o potencial para a utilização dos frutos nativos regionais, incentivar o consumo, a produção e a comercialização, corroborando para a manutenção da saúde do consumidor e promovendo a sustentabilidade regional onde o araçá vermelho é encontrado, este trabalho teve por objetivo pesquisar as propriedades benéficas à saúde, efeito do congelamento sobre a microestrutura, avaliar suas propriedades antimicrobianas, bem como estudar a sua microestrutura e histoquímica, tendo em vista as poucas publicações com relação a catalogação histológica desses frutos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar as características físico-químicas, as propriedades histológicas e microscópicas dos frutos do araçá vermelho (*Psidium catteyanum* Sabine).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a composição físico-química dos frutos de araçá vermelho safras 2017 e 2018.

Determinar compostos fenólicos presentes no araçá vermelho por LC-ESI-MS/MS.

Determinar os compostos fenólicos totais e flavonoides totais dos extratos hidroalcoólicos do araçá vermelho.

Avaliar a capacidade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos acidificados pelos métodos *in vitro* de DPPH e FRAP e a atividade antimicrobiana dos extratos dos frutos do araçá vermelho.

Caracterizar e comparar o efeito do congelamento a -20 e -80 °C frente a histologia dos frutos de araçá da safra 2018, por microscopia óptica de luz e determinar a presença de compostos fenólicos por microscopia de fluorescência.

Determinar os parâmetros de cor L\*, a\* e b\* dos pós liofilizados de araçá safra 2017 e 2018.

Avaliar a estrutura dos pós liofilizados de araçá vermelho por microscopia eletrônica de varredura e identificar os minerais presentes na amostra por EDS (espectrômetro com dispersão de energia).



### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

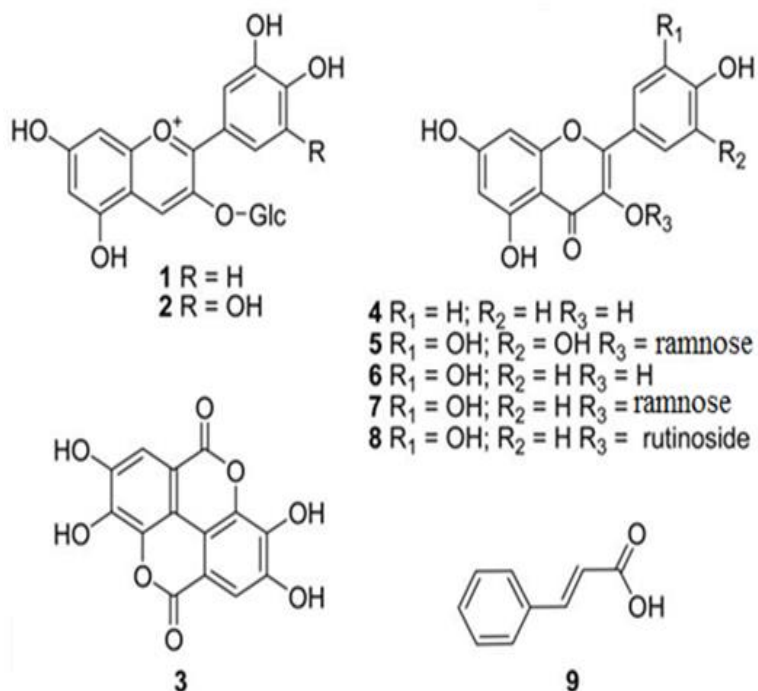
#### 3.1 MYRTACEAE

As espécies frutíferas pertencentes à família das Myrtaceae são amplamente distribuídas na América do Sul, Sudeste Asiático e Austrália. Essas apresentam frutos coloridos, particularmente ricos em compostos bioativos (REYNERTSON et al., 2008; FRANZON et al., 2009). Essa família inclui muitas plantas alimentícias economicamente importantes incluindo o mirtilo da Nova Zelândia (*Syzygium paniculatum*), pimenta da Jamaica (*Pimenta dioica*) e os frutos de gênero *Psidium* como a goiaba e o araçá, uvaia (*Eugenia uvalha* L. e *E. pyriformes* L.), pitanga (*E. uniflora* L.), cereja (*E. bracteata* Vell.), a jabuticaba (*Plinia cauliflora* L.) entre outras (SOUZA; LORENZI, 2005; REYNERTSON et al., 2008).

O Brasil apresenta uma das maiores biodiversidades do planeta, sendo as *Myrtaceae* umas das famílias com maior representatividade na flora nacional. As *Myrtaceae* pertencem ao grupo das angiospermas, contando com aproximadamente 5671 espécies difundidas em 132 gêneros (GOVAERTS et al., 2008; MORAIS et al., 2014). Devido à riqueza dessa família, muitas de suas espécies e gêneros ainda apresentam poucos estudos principalmente no âmbito fitoquímico, dentre eles os carotenoides e flavonoides (MORESCO et al., 2012). Muitas plantas da família das *Myrtaceae* estudadas apresentaram variação na composição dos pigmentos. Essa variação pode estar relacionada a cultivar, ao local de cultivo, condições climáticas, solo e estágio de maturação (MERCADANTE, 2008; CHITARRA; CHITARRA, 2005). Essa família apresenta diversas propriedades químicas que vêm atraindo os pesquisadores; dentre elas, a elevada atividade antioxidante e capacidade antimicrobiana, além dos seus frutos representarem excelentes fontes de vitaminas (FRANZON et al., 2009; SILVA et al., 2014).

Pesquisas têm demonstrado que os compostos associados com os pigmentos dos frutos e das folhas das *Myrtaceae*, como é o caso dos carotenoides e dos compostos fenólicos (Figura 1) dentre eles as antocianinas, estão relacionados às suas propriedades benéficas à saúde (LAKO et al., 2007; MEDINA et al. 2011; MCCOOK-RUSSELL et al., 2012); popularmente, desde a antiguidade, algumas espécies frutíferas dessa família vêm sendo utilizadas graças ao seu potencial terapêutico, como é o caso das plantas do gênero *Psidium* dentre eles o araçá, que é comumente utilizado como anti-inflamatório, anti-hemorrágico e anti-diarréico (MEDINA et al., 2011; MCCOOK-RUSSELL et al., 2012; SOLIMAN et al., 2016).

**Figura 1.** Principais compostos fenólicos encontrados nas *Myrtaceae*



Cianidina 3-glucosídeo (1), delphinidina 3-glucosídeo de (2), ácido eláxico (3), kaempferol (4), miricetina (5), quercetina (6), quercitrina (7), rutina (8), ácido cinâmico.

Fonte: adaptada de Reynertson et al. (2008).

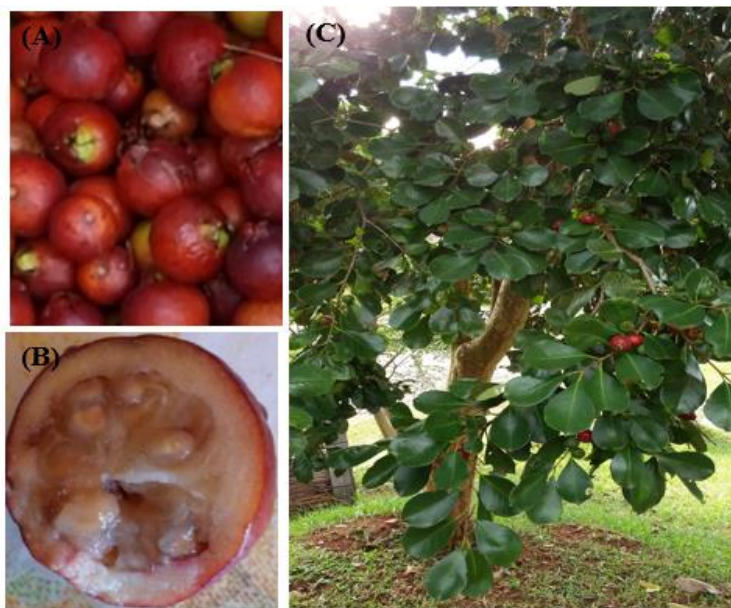
## 3.2 ARAÇÁ

### 3.2. 1 Um breve histórico botânico



O araçá (*Psidium catteyanum* Sabine) é um arbusto tropical exótico (Figura 2 C), natural da mata atlântica brasileira, comumente encontrado em sua forma silvestre, seus frutos apresentam diâmetro aproximado de 2 cm, ricos em sementes podendo apresentar coloração vermelha (Figura 2 A e B) ou amarela, são colhidos nos meses de janeiro a março e apresentam sabor agradável levemente ácido (ROSEIRA; ROSEIRA, 1996; MARIN et al., 2008).

**Figura 2.** *Psidium catteyanum* Sabine



(A) Frutos de araçá vermelho inteiros; (B) corte transversal do fruto; (C) Araçazeiro.

Fonte: Próprio autor (2018).

Os frutos do araçazeiro apresentam capacidade anti-inflamatória, antiproliferativa frente às células cancerígenas e atividade antimicrobiana (MEDINA et al. 2011; MCCOOK-RUSSELL et al., 2012, ALVARENGA et al., 2013). A habilidade anti-inflamatória de seus frutos está relacionada a atividade inibitória da enzima ciclooxigenase II (MCCOOK-RUSSELL et al., 2012).

O araçá é considerado superior a goiaba em relação à atividade antioxidante, antimicrobiana, aos seus compostos fenólicos totais e ao conteúdo de vitamina C (MCCOOK-RUSSELL et al., 2012); suas folhas também são ricas em óleo essencial e compostos fenólicos, sendo uma fonte pouco explorada de fitoquímicos relevantes (PATEL, 2012). Quando maduros os frutos podem ser consumidos *in natura* ou na forma de sucos, geleias, sorvete e licores (PATEL, 2012).

O araçá apresenta taninos e saponinas, os taninos são responsáveis pela adstringência, são excelentes antioxidantes, complexam proteínas, mas seu excesso pode apresentar atividade antinutricional (ROBBERS et al., 1997; ALVARENGA et al., 2016). As saponinas por sua vez, exibem considerável solubilidade em meio aquoso, mas contém sabor amargo, mesmo assim apresentam um grande interesse da indústria para uso em medicamentos e como emulsificante, pois formam espumas estáveis e abundantes, devido à sua estrutura química, com uma porção lipofílica e outra hidrofílica (SCHENKEL et al., 2007).

### 3.3 EFEITO DO CONGELAMENTO SOBRE A ESTRUTURA DOS FRUTOS

O congelamento é um método muito empregado para a preservação dos nutrientes e para garantir a segurança dos alimentos, sendo utilizado na preservação de produtos agrícolas perecíveis e sazonais como é o caso das polpas de frutas tropicais e produtos de algumas hortaliças, aumentando assim sua vida útil. O efeito conservador do congelamento baseia-se basicamente na inibição dos principais agentes causadores da deterioração dos alimentos reduzindo a velocidade das reações químicas e processos bioquímicos envolvidos na deterioração (ORDENEZ, 2005; FELLOWS, 2006; LI; ZHU; SUN, 2018).

O congelamento quando adotado para frutos intatos pode afetar a qualidade dos alimentos, ocasionando choque osmótico e danos a parede celular (Figura 3), à medida que a concentração de solutos extracelulares aumenta, e o volume de água líquida diminui, há a formação dos cristais de gelo. A formação desses cristais e seu tamanho é muito importante para uma maior preservação dos tecidos (FELLOWS, 2006; PROVESI; AMANTE, 2015; NINAGAWA et al., 2016).

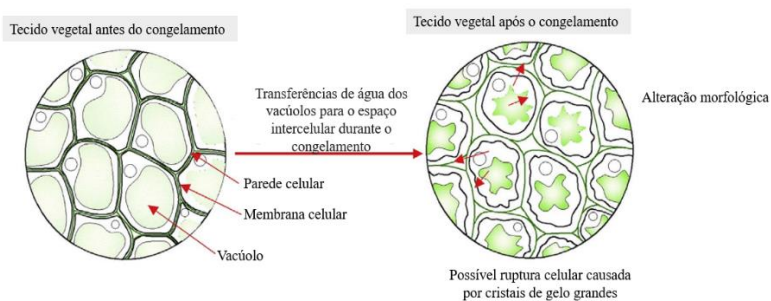
A primeira fase da formação do cristal de gelo consiste na nucleação, onde ocorre a pequena formação de um cristal de gelo inicial, esse servirá de núcleo para a propagação dos demais cristais. Esse processo não é energeticamente favorável, portanto, não é inicialmente espontâneo logo após atingir a faixa de temperatura abaixo de 0 °C, sendo

natural que ocorra durante o processo, de formação dos cristais, uma nucleação heterogênea, essa se inicia com uma molécula externa servindo como núcleo. Já a nucleação homogênea só vai ocorrer de forma espontânea com temperaturas muito baixas. Para que ocorra a formação de núcleos mais estáveis é necessário que o calor seja removido de uma forma mais rápida, por consequência, a velocidade do congelamento é crucial para minimizar o impacto da formação dos cristais de gelo nos alimentos (DUTCHER; MARANGONI, 2005; SUN, 2014).

Outro fenômeno que afeta a qualidade dos alimentos é o de recristalização. Isso ocorre devido às flutuações na temperatura ao longo da cadeia de frio, causando modificações na conformação e no tamanho dos cristais de gelo. A recristalização é a migração da água, permitindo assim, a difusão molecular de um cristal de gelo para outro, sem alteração no conteúdo de gelo (CRUZ et al., 2009; PROVESI; AMANTE, 2015).

Em um contexto geral, quando o congelamento ocorre de forma mais rápida, as formações dos cristais de gelo são menores, do que os cristais formados quando o congelamento ocorre de forma mais lenta. Com a velocidade de formação de cristais de gelo, ocorrem menores danos aos tecidos, sucedendo em uma maior preservação do alimento após o descongelamento (XIN et al., 2015).

**Figura 3.** Danos causados às células vegetais no congelamento



Fonte: adaptada e traduzida de Li, Zhu e Sun (2018).

A restrição do emprego do congelamento para frutos inteiros se deve aos maiores danos às frutas e hortaliças do que em produtos de origem animal, devido a rigidez da sua parede celular e ao seu menor alinhamento. Perdas dos nutrientes, oxidação lipídica e danos nos pigmentos também podem ocorrer durante o congelamento (ORDEÑEZ, 2005). Com o descongelamento ocorre exsudação da água, devido aos

danos causados ao tecido, alterando a qualidade do alimento principalmente relacionadas a textura e sabor (FAO, 2018). Sendo importante a avaliação dos danos causados no congelamento.

### 3.4 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são provenientes prioritariamente do metabolismo secundário das plantas, sintetizados através da via do acetato e chiquimato e pela metabolização dos fenilpropanoides. Sua função está relacionada diretamente à defesa e prevenção da saúde da planta, em condições de estresse como injúria, infecções por agentes patogênicos, radiação ultravioleta dentre outros (LIN et al. 2016; TSIMOGIANNIS; OREOPOULOU, 2019). Os fenólicos também desempenham importante função como agentes atrativos para a polinização e atividade antioxidante, antibacteriana e antifúngica (MICHELIN et al., 2005; MEDINA et al., 2011; LIN et al. 2016).

Os compostos fenólicos que mais se destacam em alimentos são os fenilpropanoides, os flavonoides e os taninos, sendo primordial a quantificação e identificação desses compostos dotados de propriedades biológicas e químicas benéficas à saúde (NUNES; BESTEN, 2016).

Os fenólicos presentes nas frutas, verduras e legumes são uma das principais fontes de antioxidantes da dieta juntamente com os carotenoides; ambos apresentam a capacidade de proteger o organismo contra danos oxidativos (LIN et al., 2016; BARBA et al, 2017)

Dentre as metodologias de extração dos compostos fenólicos mais utilizadas estão as que empregam a água ou solventes orgânicos de baixa massa molar e/ou de baixo ponto de ebulição (NUNES; BESTEN, 2016).

Os compostos fenólicos possuem um anel aromático que apresenta um ou mais grupos hidroxila, sua estrutura pode variar desde uma simples molécula fenólica à um polímero complexo de elevado peso molecular (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). Sendo encontrados na sua forma livre ou ligados a carboidratos, proteínas ou lipídeos podem apresentar uma porção extraível e outra não extraível. A fração extraível, ou seja, solúvel são fenólicos que podem ser extraídos usando diferentes solventes normalmente esses fenólicos estão em sua forma livre ou ligados fracamente a outros compostos. Já a fração não extraível (insolúveis), são fenólicos que estão ligados a polissacarídeos da parede celular ou a proteínas, formando compostos insolúveis e complexos estáveis (ARRUDA et al., 2018), apesar dos compostos fenólicos insolúveis não serem extraídos pelos solventes orgânicos, quando digeridos sofrem ação de enzimas e da microbiota intestinal e

podem ser liberados, metabolizados e absorvidos pelo organismo (WANG et al. 2016; ARRUDA et al., 2018).

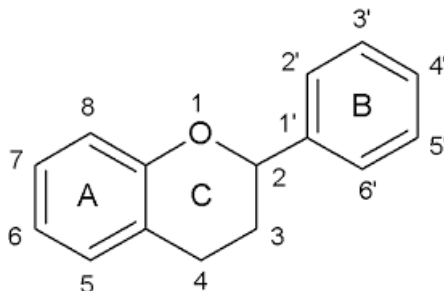
A absorção dos compostos fenólicos é dependente de diversos fatores, dentre eles, fatores exógenos e endógenos, como a predisposição genética individual, idade, tempo de trânsito intestinal, complexidade da matriz alimentícia, estrutura química, dentre outros. O metabolismo dos compostos fenólicos e demais fitoquímicos no organismo é um processo complexo e sua ação benéfica à saúde depende da capacidade do organismo, de absorver, armazenar e utilizar esses compostos (HOLST; WILLIAMSON, 2008; BARBA et al. 2017).

Dentre os compostos fenólicos, os taninos e as saponinas, quando consumidos em excesso apresentam considerável poder inibidor frente às enzimas amilolíticas e proteolíticas, agindo como fatores antinutricionais impedindo a absorção dos nutrientes (ANANY, 2015). O aumento da biodisponibilidade ou a inativação e complexação com compostos de interesse, muitas vezes, podem ser melhorados pela utilização de processos tecnológicos adequados a diferentes matrizes (ANANY, 2015).

### 3.5 FLAVONOIDES

Os flavonoides pertencem a uma classe de compostos fenólicos que apresentam uma estrutura comum, essa consiste em dois anéis aromáticos ligados por um anel pirano (Figura 4), podendo ser divididos em favonas, isoflavonas, flavanóis, antocianidinas e flavonas, essa divisão se dá através do grau de oxidação do anel pirano, já as variações na substituição dos anéis aromáticos resultam em diferentes compostos dentro das classes dos flavonoides (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000; GRANATO, 2016).

**Figura 4.** Estrutura química básica dos flavonoides



Fonte: Granato (2016).

O grupo dos flavonoides exibe uma gama de padrões de substituição como a hidroxilação, metoxilação, metilação e glicosilação que proporcionam diversidade e complexidade aos mesmos. A glicosilação, por exemplo, tem a capacidade de alterar a solubilidade em água e a estabilidade dos flavonoides. Grande parte dos flavonoides apresentam ação antioxidante e antimutagênica, além de serem considerados importantes compostos contra a ação de patógenos (MELO et al., 2010; YANG et al., 2018).

### 3.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os antioxidantes são compostos com a capacidade de retardar ou prevenir o processo de oxidação, inibindo os radicais livres e espécies reativas ao oxigênio, responsáveis pelas reações em cadeia que causam danos às células. (MASISI; BETA; MOGHASIAN, 2016). Dentre os principais radicais livres encontram-se os radicais superóxido, óxido nítrico, hidroxila, além do oxigênio singlete, peróxido de hidrogênio, ácido hipocloroso e peroxinitrila (HSU; COUPAR; NG, 2006). Os radicais livres são gerados naturalmente no organismo como consequência das reações metabólicas das células, e também por fatores externos como: fumo, drogas, exposição à radiação, poluição, entre outras (GÜLCIN et al. 2003; HSU; COUPAR; NG, 2006).

Quando produzidos em excesso os radicais livres causam danos às células e tecidos, ocasionando envelhecimento celular precoce, sendo essa uma das principais causas associadas às doenças degenerativas (HSU; COUPAR; NG, 2006; MASISI; BETA; MOGHASIAN, 2016).

As espécies reativas também são as responsáveis pelo processo oxidativo em alimentos, causando a degradação dos lipídeos, proporcionando alterações na qualidade sensorial e nutricional do

alimento (GÜLCIN et al. 2003; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Os compostos antioxidantes além de proteger o organismo são uma alternativa para minimizar a deterioração oxidativa dos alimentos e dos fármacos, aumentando a vida útil dos produtos e reduzindo a rancificação (GANIARI; CHOULITOU DI; OREOPOULOU, 2017).

Em paralelo, observa-se um grande interesse por parte da indústria para a utilização de antioxidantes naturais, uma vez que esses são potencialmente mais seguros e apresentam melhor aceitação por parte do consumidor (KIRSCHWENG et al., 2017). Devido à maior demanda por antioxidantes naturais pesquisas com novas matérias primas para a identificação de possíveis compostos antioxidantes vêm sendo realizadas (DEL RÉ; JORGE, 2012; KIRSCHWENG et al., 2017).

Dentre os compostos naturais que se destacam com ação antioxidante estão os compostos fenólicos (antocianinas, flavonoides e ácidos orgânicos) e os carotenoides (licopeno,  $\beta$ -caroteno, zeaxantina, entre outros) (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; TOPAL et al. 2006; LIN et al., 2016; GRANATO, 2016).

Para ser considerado um bom agente antioxidante, esse **deve ser capaz de prevenir a oxidação das espécies reativas, estimular o mecanismo de** defesa do organismo e fornecer uma grande quantidade de moléculas com propriedades sequestrantes de radicais livres (NÚÑEZ-SELLÉS, 2005). O licopeno é considerado um excelente antioxidante por possuir a capacidade de desativar o oxigênio singlete (TOPAL et al. 2006).

A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos está associada à presença de seus grupamentos hidroxila, esses são capazes de doar íons  $H^+$  para os radicais livres, impedindo a formação das reações de oxidação em cadeia. Sendo importante determinar o seu teor nos alimentos para avaliar as possíveis contribuições como agentes antioxidantes (SHI et al., 2005; GRANATO, 2016).

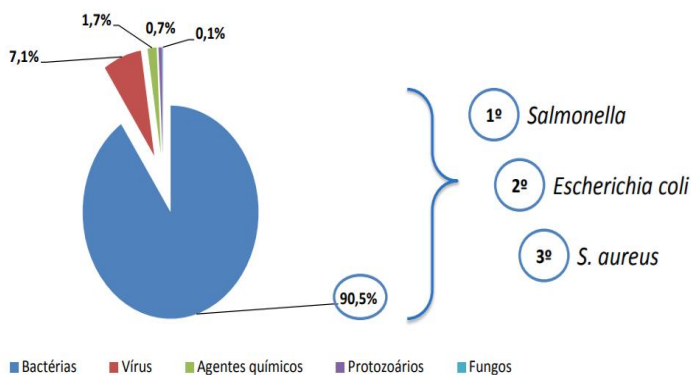
Dentre os alimentos que apresentam importante conteúdo de compostos antioxidantes encontram-se as hortaliças (ANDARWULAN et al., 2010) os chás (GÜLCIN et al. 2003) e as frutas (POMER; OLIVEIRA; SANTOS, 2013) dentre elas o araçá vermelho, estes são excelentes fontes de compostos que sequestram o excesso de espécies altamente reativas.

### 3.7 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS E ÁGUA (DTHA)

As doenças transmitidas por alimentos e água (DTHA), são causadas pela ingestão de alimentos ou água contaminada com produtos químicos ou por micro-organismos patogênicos (infecção) ou com suas toxinas (intoxicação). Os sintomas mais frequentes causados por essas doenças são: náuseas, diarreia, vômito, febre e dores estomacais (FORSYTHE, 2007).

Segundo o Departamento de Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde brasileiro, a contaminação dos alimentos por microrganismos patogênicos pode ocorrer desde a produção primária até o momento do consumo (plantio, manuseio, transporte, cozimento, forma de armazenamento, entre outros). Destacam-se como os maiores responsáveis por surtos os alimentos: ovos, produtos à base de ovos, carnes, leite e derivados. Sendo que os agentes etiológicos que mais estão relacionados aos surtos de doenças transmitidas por alimentos são a *Salmonella*, o *S. aureus* e a *E. coli* (Figura 5), além desses micro-organismos o *B. cereus*, a *Pseudomonas*, dentre outros, também são relevantes causadores de doenças (JAY, 2005; BRASIL, 2016).

**Figura 5.** Principais patógenos causadores de DTHA entre 2007 a 2016.



Fonte: BRASIL – Ministério da Saúde (2016)

O uso de substâncias antimicrobianas naturais, não tóxicas aos seres humanos, capazes de retardar o crescimento microbiano e que impeçam a mutação dos micro-organismos é uma alternativa importante para a indústria, juntamente com as boas práticas de manipulação e fabricação, e com o programa de análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC), para garantir um alimento seguro ao consumidor



(JAY, 2005; BRASIL, 2016; FIGUEIROA-LOPEZ; ANDRADE-MAHECHA; TORRES-VARGAS, 2018).

### 3.8 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Muitos dos compostos fitoquímicos presentes na natureza têm a capacidade de inibir o crescimento de micro-organismos, e apresentam efeito antimutagênico em bactérias patogênicas, sendo uma alternativa para aumentar a vida útil e contribuir para a segurança alimentar (MELO et al., 2010; AZIZ; KARBOUNE, 2018).

Nos dias atuais em que são investigados produtos eficazes contra a resistência microbiana e que, ao mesmo tempo, não agridam o meio ambiente e não representem riscos aos seres humanos, os estudos de novos compostos provenientes de diferentes matrizes naturais tornam-se extremamente importantes (GÜLCIN et al. 2003, RODRIGUEZ-MATURINO et al., 2015).

Dentre os antimicrobianos naturais mais estudados estão os extratos de plantas, os óleos essenciais, os peptídeos, as bacteriocinas e as enzimas. Sendo que muitas vezes os agentes antimicrobianos estão fortemente relacionados à atividade antioxidante e aos compostos presentes na matriz como: ácidos fenólicos, quinonas, flavonóides, taninos, saponinas, cumarinas, alcaloides e terpenoides (GÜLCIN et al. 2003; AZIZ; KARBOUNE, 2018). No entanto, os mecanismos envolvidos na atividade antimicrobiana ainda não são bem conhecidos, já que, na maioria das vezes, os compostos agem em sinergismo potencializando a sua eficiência. Muitos desses compostos como é o caso dos polifenóis, apresentam diversas estruturas e variação na sua composição química, o que pode diferir na eficiência de sua atividade antimicrobiana (MICHELIN et al., 2005; STOIKOVIĆ et al., 2010).

Nas plantas, esses compostos são gerados como metabólitos secundários responsáveis pela defesa contra insetos, fungos e bactérias (MICHELIN et al., 2005), tornando interessante o uso dessas plantas e seus resíduos para aplicação em embalagens e matrizes alimentares.

### 3.9 MICROSCOPIA EM ALIMENTOS VEGETAIS

A microscopia abrange um conjunto de técnicas que possibilita a observação de objetos que se encontram abaixo do poder de resolução do olho humano. Para que essa observação ocorra, faz-se necessário a utilização de equipamentos (microscópios) que possibilitem essa visualização (RIBEIRO; FILHO; GRÖTZNER, 2012).

Através da microscopia é possível identificar os elementos histológicos dos alimentos. A histoquímica é uma técnica histológica que permite verificar a localização dos compostos de interesse (RIBEIRO; FILHO; GRÖTZNER, 2012). A análise histológica do alimento possibilita também a identificação de fraudes e de contaminantes nos alimentos (MATTOS et al., 2016).

A criação de novos produtos e o aperfeiçoamento desses, estão baseados principalmente em intervenções, identificações e melhorias em níveis microscópicos. Os alimentos são sistemas multicomponentes complexos, sendo assim seus elementos são de difícil observação em seu estado natural, uma vez que, a maioria dos elementos que participam da composição física, reológica e sensorial estão em escala microscópica, abaixo da faixa de 100  $\mu\text{m}$ . Dentre os elementos que contribuem para a qualidade e identificação dos alimentos estão as células vegetais, a parede celular, fibras, materiais particulados, bem como as partículas de natureza coloidal, entre outros (AGUILERA, 2005).

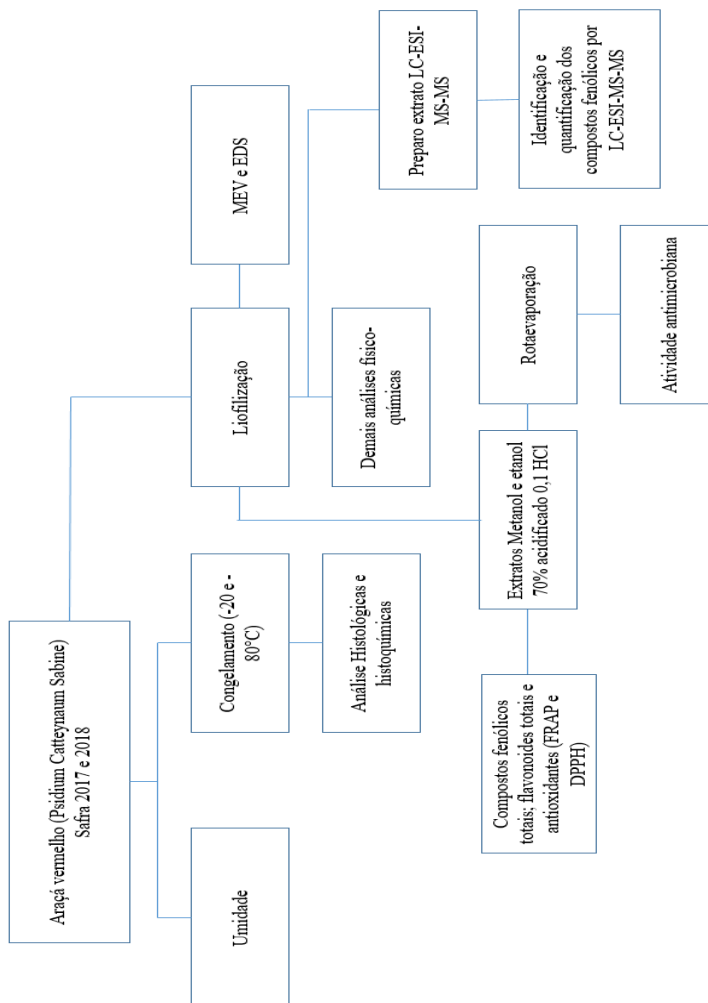
Na maioria das vezes, para a realização das análises histológicas a amostra necessita de um preparo prévio como fixação, coloração, uso de fluorocromos, para melhor observação dos cortes histológicos. A fixação, por exemplo, possibilita uma melhor preservação das estruturas e os fluorocromos e os corantes, por sua vez, são capazes de marcar compostos específicos (RIBEIRO; FILHO; GRÖTZNER, 2012).

Graças aos avanços na ciência, hoje existem poderosos microscópios para investigação de diversos materiais incluindo alimentos, do nível atômico à faixa de micron, em muitos casos, não intrusivamente e em tempo real (microscopia de vídeo) (AGUILERA, 2005). Dentre os microscópios de alto nível estão o microscópio eletrônico de varredura, o microscópio eletrônico de transmissão, seguidos por microscópios mais simples como é o caso do microscópio óptico de luz e o de fluorescência (AGUILERA, 2005; RIBEIRO; FILHO; GRÖTZNER, 2012).

#### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

Visando contribuir para melhor visualização da sequência de atividades desenvolvidas neste trabalho, a Figura 6 ilustra um fluxograma resumido dos experimentos.

**Figura 6.** Fluxograma simplificado dos experimentos



#### 4.1 AMOSTRAGEM

Os frutos de araçá vermelho (*Psidium catteyanum* Sabine) foram provenientes de plantas nativas da cidade de Cruz Alta – RS (latitude: 28° 38' 19" sul, longitude: 53° 36' 23" oeste; altitude média de 452 m do nível do mar) (Figura 7). As amostras foram colhidas maduras (final da maturação) nos meses de janeiro e fevereiro de 2017 e 2018. Transportadas refrigeradas em caixas térmicas até o Laboratório de Tecnologia de Frutas e Hortaliças do Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC.

**Figura 7.** Localização geográfica: Mapa mostrando a local de coleta das amostras dos frutos de araçá vermelho (*Psidium catteyanum* Sabine) e localização do local de realização das análises



Fonte: Adaptado google maps (2018).

## 4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Os frutos de araçá vermelho foram selecionados manualmente avaliando visualmente a cor, a textura e a ausência de injúrias. Em seguida, foram lavados em água corrente e sanitizados com hipoclorito de sódio a 200 mg. L<sup>-1</sup>, durante 15 minutos e secos à temperatura ambiente, misturados aleatoriamente e quarteados. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em sacos de polietileno. Uma alíquota foi retirada para a análise de umidade e o restante foi armazenado em freezer a -20 ± 2 °C e -80 ± 2 °C, até a realização das análises posteriores.

### 4.2.1 Liofilização

As amostras de araquá vermelho foram trituradas inteiras (com semestres) em mixer (Modelo Trikxerinox, Mallory®) e uma camada fina foi transferida para placa de Petri, congelada primeiramente a  $-20 \pm 2$  °C, por 24 horas ou até o completo congelamento, e posteriormente foram transferidas para ultra-freezer (Modelo UFV 37, Terroni®) a  $-80 \pm 2$  °C, onde permaneceram por, no mínimo, 3 horas. Em seguida, as amostras foram processadas em liofilizador de bancada (Modelo LJJ02, JJ científica®) por 24 horas.

As amostras foram acondicionadas em embalagens de polietileno recobertas com papel alumínio e mantidas em dessecador para evitar a absorção de umidade.

### 4.3 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

O teor de umidade (925.10) das amostras foi determinado antes do congelamento, conforme método proposto pela *Association of Official Agricultural Chemists* - AOAC (2005) e após a liofilização, por diferença. Foram determinados também: resíduo mineral fixo (942.05); Lipídeos (945.39), analisado gravimetricamente utilizando éter de petróleo como solvente em aparelho extrator VELD (Soxhlet S148/6); proteínas totais (920.87) determinadas pelo método de Kjeldahl utilizando como fator de conversão (N x 5,75) (AOAC, 2005). O conteúdo de fibras foi calculado por diferença e os carboidratos foram determinados como açúcares redutores totais (MILLER, 1959).

#### 4.3.1 Açúcares redutores e açúcares redutores totais

Para a determinação dos açúcares redutores e redutores totais dos frutos de araquá vermelho foi utilizada a metodologia espectrofotométrica do ácido dinitro 3,5 salicílico ADNS, proposta por Miller (1959). Utilizando uma curva padrão em glicose ( $y = 0,013x - 0,0412$ ;  $R = 0,9994$ , onde  $y$  é a concentração da solução ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e a variável  $x$ , a absorbância (nm) e comprimento de onda de 540 nm.

Quanto a análise de açúcares redutores totais foi realizada uma hidrólise onde utilizou-se 10 mL de amostra com 0,5 mL de HCl (P.A.), posteriormente levado para o banho-maria a 60 °C por 10 minutos e neutralizado com NaOH 0,6 mol L<sup>-1</sup>. E em seguida repetiu-se o mesmo

procedimento descrito anteriormente para açúcares redutores, descrito por Miller (1959).

#### 4.4 ACIDEZ TITULÁVEL EM ÁCIDO CÍTRICO, pH, SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS E ÍNDICE DE REFRAÇÃO DO ÓLEO

A acidez total titulável em ácido cítrico dos frutos de araquá vermelho foi determinado segundo metodologia proposta pela AOAC (2005), onde utilizou-se 10 g de amostra diluída em 100 mL de água destilada e titulou-se com NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> até pH 8,3.

O teor de sólidos solúveis totais (Brix°) dos frutos e o índice de refração do seu óleo extraído utilizando aparelho de soxhlet e éter de petróleo como solvente, foram avaliados utilizando um refratômetro de Abbe.

O pH das amostras foi aferido utilizando um potenciômetro (Quimis® modelo Q400A, São Paulo, Brasil) com controle de temperatura automático, previamente calibrado.

#### 4.5 MÉTODO DE EXTRAÇÃO PARA COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, FLAVONOIDES TOTAIS E ANTIOXIDANTES.

O preparo dos extratos para a realização das análises de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foram adaptados de Nehring (2016) utilizando metanol 70 % acidificado com 0,1 % de HCl e etanol 70 % acidificado com 0,1 % de HCl.

Para a obtenção dos extratos foram utilizados a proporção 1:20 (m/v) de amostras liofilizadas/solvente. Os extratos foram deixados em *Over night* e posteriormente submetidos ao processo de extração em ultrassom (Unique, MaxiClean 1650A, Brasil) por 30 minutos, centrifugados a 5000 rpm por 10 minutos. Os extratos obtidos da centrifugação foram filtrados em papel qualitativo, e para se adequar a curva padrão a amostra foi diluída 50 vezes para os compostos fenólicos totais e antioxidantes e 30 vezes para flavonoides totais.

#### 4.6 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Os compostos fenólicos totais foram determinados em espectrofotômetro (Hitachi U1800, Tóquio – Japão), pelo método de Folin Ciocalteu conforme descrito por Singleton, Joseph e Rossi (1965), utilizando curvas padrão em ácido gálico e solvente metanol 70 % acidificado com HCl 0,1 % ( $y = 13,434x - 0,0438$ ;  $R = 0,9995$ ) e ácido gálico e solvente etanol 70 % acidificado com HCl 0,1% ( $y = 12,977x + 0,0218$ ;  $R = 0,994$ ) em comprimento de onda de 765 nm. Os valores foram expressos em mg equivalente de ácido gálico (EAG) 100 g<sup>-1</sup> de amostra em base úmida.

#### 4.7 FLAVONOIDES TOTAIS

Os flavonoides totais dos extratos de araquá vermelho safra 2017 e 2018, foram determinados pelo método descrito por Zhishen et al. (1999) e modificado por Arriola et al. (2014). A absorbância foi lida a 425 nm, utilizando um espectrofotômetro (U-1800; Hitachi, Tóquio – Japão), empregando-se uma curva de calibração de rutina ( $y = 0,0026x + 0,0072$ ;  $R = 0,9997$ ). Os valores foram expressos em mg equivalente de rutina (ER)100 g<sup>-1</sup> de fruto fresco.

#### 4.8 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO POR DPPH E FRAP

A atividade antioxidante dos extratos de araquá vermelho (2017 e 2018) foram avaliadas através dos métodos *in vitro* de FRAP (poder redutor do ferro) e DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazila).

##### 4.8.1 FRAP

O método de FRAP se baseia na capacidade dos elétrons da amostra em reduzir o complexo Fe<sup>3+</sup>/tripiridiltriazina em meio ácido (pH 3,6). A análise foi realizada conforme método de Benzie e Strain (1996), em espectrofotômetro (Hitachi® U1800, Tóquio - Japão) com comprimento de onda de 593 nm, utilizando uma curva analítica em Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) e solvente metanol 70% acidificado 0,1% HCl ( $y = 0,0003x - 0,0112$ ;  $R = 0,9974$ ) e em etanol 70% acidificado 0,1% HCl ( $y = 0,0003x - 0,0056$ ;  $R = 0,99904$ ). Os resultados foram expressos como µmol de Trolox (TEAC) g<sup>-1</sup> de amostra fresca.

##### 4.8.2 DPPH

A análise da atividade antioxidante frente ao radical DPPH, foi realizada em espectrofotômetro (Hitachi® U1800, Tóquio – Japão), segundo método proposta por Brand-Williams, Covelier e Berset (1995), em comprimento de onda de 515 nm, empregando uma curva analítica em Trolox ( $y = -0,0007x + 0,5599, R = 0,9996$ ). O método baseia-se na capacidade dos compostos presentes na amostra em sequestrar o radical DPPH. Os resultados foram expressos como  $\mu\text{mol}$  de trolox (TEAC)  $\text{g}^{-1}$  de amostra fresca.

## 4.9 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS

### 4.9.1 Preparo dos extratos

O preparo dos extratos para a análise da atividade antimicrobiana foi realizado utilizando metanol 70 % acidificado com HCl 0,1 % e etanol 70 % acidificado com HCl 0,1 %.

Para a obtenção dos extratos foram utilizados a proporção 10:25 (m/v) de amostras liofilizadas/solvente. Os extratos foram macerados e deixados *Over night*, posteriormente foram submetidos ao processo de extração em ultrassom (Unique, MaxiClean 1650A, Brasil) por 30 minutos, centrifugados a 5000 rpm por 10 minutos. Os extratos obtidos da centrifugação foram filtrados em papel qualitativo e transferidos para balões e rotaevaporados a 40 °C sob vácuo até a completa remoção do solvente alcoólico. O extrato rotaevaporado foi filtrado em membrada de seringa de politetrafluoretileno - PTFE (Allcrom) de 0,45  $\mu\text{m}$ , o restante da amostra que ficou na parede do frasco foi ressuspenso com 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO).

A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de difusão em disco, proposta pelo *Clinical and Laboratory Standarts Institute – CLSI* (2012). Utilizando as seguintes cepas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), provenientes da coleção de cultura de bactérias de interesse em saúde, doadas pela Fundação Osvaldo Cruz ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos II do Departamento de Ciência e Tecnologia da UFSC.

### 4.9.2 Difusão em disco



As cepas foram mantidas em TSA (*Ágar Tryptic Soy*) e reativadas em meio BHI (*Brain Heart Infusion*), incubadas em estufa a  $35 \pm 2$  °C por aproximadamente 24 horas, até turbidez correspondente a 0,5 da escala *McFarland*, que está correlacionada a contagem de  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup>. Em seguida, as cepas foram semeadas uniformemente sobre o meio de cultura (ágar Mueller Hinton) utilizando *swabs* estéreis. Após a absorção do inócuo os discos foram adicionados ao meio utilizando pinças estéreis. Sob os discos foram pipetados 7 µL dos extratos de araçá vermelho. Para o controle positivo foi utilizado ciprofloxacino (0,005 mg mL<sup>-1</sup>) e para o controle negativo foi utilizado água ultrapura (MilliQ) esterilizada. As placas foram incubadas a  $35 \pm 2$  °C durante 24 horas. A atividade antimicrobiana foi medida em termos de zona de inibição, com o auxílio de um paquímetro, avaliando a zona total de inibição ao redor do disco, comparadas com o controle.

#### 4.10 MICROSCOPIA DAS AMOSTRAS CONGELADAS A $-20$ °C e a $-80$ °C

As análises histológicas, histoquímicas e de fluorescência dos frutos de araçá vermelho safra 2018 congelados a  $-20$  e  $-80$  °C, foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB) da Universidade Federal de Santa Catarina. A Microscopia Eletrônica de Varredura e a análise por EDS (espectrômetro com dispersão de energia), foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC (LCME).

##### **4.10.1 Processamento do material para microscopia óptica de luz e microscopia de fluorescência dos frutos de araçá**

Para a microscopia de luz da estrutura, dos carboidratos e das proteínas presentes nos frutos, foram confeccionadas lâminas temporárias e permanentes, embocadas em parafina.

Para a determinação de lipídeos e para análise da fluorescência dos compostos fenólicos as lâminas não foram fixadas em parafina. As amostras congeladas a  $-20$  e  $-80$  °C foram cortadas ainda congeladas diretamente em criostato (Leica CM 1850, Alemanha) e afixados em lâminas previamente gelatinizadas. Em relação aos lipídeos, as lâminas foram coradas com Sudan IV. Para a avaliação da autofluorescência de compostos fenólicos apenas foram feitos cortes em criostato, e as amostras foram analisadas sem a adição de corantes nem de fluorocromos.

Para o preparo dos cortes em parafina, os frutos de araçá vermelho Safra 2018 congelados a  $-20^{\circ}\text{C}$  e a  $-80^{\circ}\text{C}$ , foram seccionados à mão livre longitudinalmente em pedaços menores com auxílio de uma navalha de aço. A metodologia utilizada no processamento das amostras foi adaptada de Oliveira e Akisue (2009), onde o material foi transferido para cassetes e processado utilizando fixador glutaraldeído 2,5 % e tampão fosfato de sódio  $0,1 \text{ mol. L}^{-1}$  em pH 7,2, por 48 horas. Após a fixação, as amostras foram lavadas, três vezes, em tampão fosfato de sódio  $0,1 \text{ mol. L}^{-1}$  (30 minutos cada lavagem).

#### 4.10.2 Inclusão para o preparo das amostras em parafina

A primeira etapa da inclusão compreende a desidratação dos frutos. Essa etapa consiste na retirada da água dos tecidos através da substituição dessa por álcool etílico. Iniciou-se o processo com concentração do solvente de 30 %, aumentando gradativamente essa concentração até substituição total da água (30, 50, 70 e 90 %, mais duas vezes 100 %). Posteriormente, as amostras foram levadas para a diafanização, procedimento que consiste na substituição do álcool por xilol, solvente que é ao mesmo tempo miscível em álcool e parafina. Durante a impregnação, o xilol é substituído por parafina fundida a  $60^{\circ}\text{C}$ . Este procedimento foi realizado no Processador de Amostras (Leica® TP1020, Alemanha), conforme ilustrado na (Tabela 1).

**Tabela 1.** Procedimentos para inclusão em parafina dos frutos de araçá

Etapa	Estágio	Reagente	Tempo
1	Desidratação	Álcool Etílico 30%	2 horas
2	Desidratação	Álcool Etílico 50%	2 horas
3	Desidratação	Álcool Etílico 70%	2 horas
4	Desidratação	Álcool Etílico 90%	2 horas
5	Desidratação	Álcool Etílico 100% I	2 horas
6	Desidratação	Álcool Etílico 100% II	2 horas
7	Diafanização	Xilol I	1 hora
8	Diafanização	Xilol II	1 hora
9	Inclusão	Parafina I	6 horas
10	Inclusão	Parafina II	6 horas
11	Inclusão	Parafina III	6 horas
			32horas

### **4.10.3 Emblocamento das amostras de araçá**

As amostras de araçá foram emblocadas em parafina utilizando cassete. O procedimento foi realizado no emblocador de amostras (Leica® EG1150H, Alemanha). Os cortes no micrótomo (Leica® RM 2255, Alemanha) foram realizados 24 horas após a solidificação da parafina.

### **4.10.4 Microtomia das amostras**

Os cortes dos frutos emblocados em parafina foram realizados em micrótomo rotativo (Leica® RM 2255, Alemanha) utilizando espessura de 8  $\mu$ m. Os cortes foram levados para o banho maria a 50 °C, adicionado de gelatina (4g/ 2000mL), e transferidos para lâminas com ponta fosca devidamente identificadas.

Para o derretimento da parafina e melhor fixação dos cortes nas lâminas antes da coloração, as lâminas com as amostras foram colocadas em estufa a  $50 \pm 2$  °C, por 1 hora.

### **4.10.5 Coloração das lâminas permanentes do araçá**

Antes da coloração as lâminas foram desparafinizadas. Para corar as lâminas foi utilizado o sistema Leica® AutoStainer XL. A citoquímica das lâminas permanentes foi realizada utilizando os corantes: azul de astra e fucsina básica, azul de toluidina, azul brilhante de coomassie.

#### **4.10.5.1 Azul de astra e fucsina básica**

Para a coloração da parede celular primária e secundária, utilizou-se azul de astra (3 %) e fucsina básica (0,06 %). Conforme metodologia adaptada proposta por Kraus et al. (1998). Onde o azul de astra cora a parede celular primária e a fucsina a parede celular secundária.

#### **4.10.5.2 Azul de toluidina (ATO)**

A coloração com azul de toluidina, foi realizada conforme proposto por Gordon e Mccandless (1973). O azul de toluidina é um reagente utilizado para corar os carboidratos ácidos, uma vez que reage

com os grupamentos ácidos dos radicais carboxílicos, sulfatos e fosfato. A cor é diretamente dependente do pH. Em pH neutro até pH 4 os três radicais são corados, em pH 3,5 apenas os grupamentos sulfatos e fosfatos, e em pH próximo de 1, apenas os sulfatos são corados.

#### 4.10.5.3 Azul brilhante de comassie (CBB)

O azul brilhante de comassie (CBB), por sua vez, foi empregado para corar as proteínas de interesse de azul claro, tornando-as visíveis nos tecidos ou células e mantendo o seu contexto anatômico. O procedimento foi realizado de acordo com Gahan (1984).

#### 4.10.5.4 Ácido periódico de Schiff (PAS)

A detecção de polissacarídeos neutros foi realizada através da coloração com ácido periódico de Schiff (PAS) de acordo com o método de Gahan (1984).

Para a melhor conservação, as lâminas foram passadas em banho de xilol puro por no mínimo 10 minutos. Posteriormente, foram realizadas as montagens das lâminas com lamínulas utilizando Entellan.

As fotografias das lâminas de fluorescência (campo escuro), Sudan IV e microscopia de luz branca foram realizadas utilizando microscópio Epifluorescente (Olympus® BX 41, Japão) com sistema de captura Image Q Capture Pro 5.1 Software (Qimaging Corporation, Austin, TX, Estados Unidos da América). O scaneamento das imagens das lâminas coradas com: azul de astra e fucsina básica, azul de toluidina e azul brilhante de coomassie foi realizado pelo microscópio digitalizador de lâminas Axio SCAN, utilizando o programa de captura de imagens Zeiss Blue.

As imagens foram tratadas utilizando o software ImageJ e Corel Draw x6 e ZEN Zeiss Blue edição 2012.

### **4.10.6 Preparo das amostras para análise de fluorescência e para coloração não permanente**

As amostras congeladas a  $-20$  e  $-80 \pm 2$  °C foram cortadas em criostato (Leica CM 1850, Alemanha), fixadas em lâminas gelatinizadas, hidratadas com água destilada, recobertas com lamínulas e visualizadas em microscópio de Fluorescência (OLYMPUS® BX41, Japão)

primeiramente em campo claro e posteriormente empregando autofluorescência para a identificação e localização da presença dos compostos fenólicos totais.

#### **4.10.7 Preparo da amostra para a coloração não permanente**

Para a identificação dos lipídeos foi utilizado como corante Sudan IV, segundo metodologia proposta por O'Brien e Mccully (1981). As lâminas não permanentes dos frutos foram visualizadas e fotografadas logo após a coloração.

#### **4.10.8 Microscopia Eletrônica de Varredura e EDS**

Para a análise de microscopia eletrônica de varredura e perfil de minerais por EDS (espectrômetro com dispersão de energia), foram utilizadas amostras trituradas, liofilizadas e peneiradas (18 Mesh equivalente a 1 mm) do araçá vermelho safra 2017 e 2018.

As micropartículas obtidas foram fixadas com fita carbono dupla face em *stubs*, recobertas com uma camada de ouro de 350 Å de espessura e submetidas a análise de microscopia eletrônica de varredura, microscópio (JEOL JSM-6390LV, *Scanning Electron Microscope*) acoplada com sistema EDS (espectrômetro com dispersão de energia), o Software utilizado foi o Noran System Six.

Através do MEV e EDS foram avaliados o arranjo das micropartículas liofilizadas e o perfil de minerais presente no pó dos frutos de araçá vermelho liofilizados.

O equipamento utilizado pertence ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC.

#### **4.11 ANÁLISE DE COR**

As análises de cor das amostras liofilizadas de araçá safra 2017 e 2018, foram realizadas utilizando um colorímetro (Minolta® Color Reader, modelo CR200) avaliando os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$

$L^*$  = Luminosidade ( $L^*= 0$  preto;  $L^* = 100$  branco).

$a^*$  = coordenada vermelho/verde ( $+a^*$  indica vermelho e  $-a^*$  indica verde)

$b^*$  = coordenada amarelo / azul ( $+b^*$  indica amarelo e  $-b^*$  indica azul)

## 4.12 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS POR LC-ESI-MS/MS

A determinação dos compostos fenólicos dos frutos de araçá vermelho foi realizada em parceria com o Laboratório de Eletroforese Capilar (LABEC) do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Catálise em Sistemas Moleculares e Nanoestruturados (INCT- Catálise) situado no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

### 4.12.1 Preparo da amostra

O preparo da amostra para a análise determinação dos compostos fenólicos por com cromatografia líquida de alta eficiência ionização por eletrospray e espectrometria de massa (LC- ESI-MS/MS), foi realizada conforme metodologia adaptada de Schutz et al. (2017).

Para a determinação dos compostos fenólicos presentes nos frutos de araçá vermelho, 1 g de amostra liofilizada foi transferida para um béquer com 20 mL de hexano (P. A.), extraídos os interferentes por 30 min em ultrassom (Unique, MaxiClean 1650A, Brasil). Foi removido o sobrenadante e repetiu-se o procedimento. A amostra desengordurada foi seca em estufa a 40 °C até a remoção do solvente residual. 10 mL de HCl 6 mol.L<sup>-1</sup> foi adicionado à amostra, e ajustado o pH com NaOH 6 mol.L<sup>-1</sup> para pH 2. Em seguida, a amostra foi submetida a extração por partição com éter etílico e centrifugada a 4000 rpm por 10 minutos, com a remoção do sobrenadante. O procedimento foi repetido por três vezes, os sobrenadantes foram combinados em um balão de fundo redondo e o solvente foi rotaevaporado a 40 °C até completa secagem. O extrato seco foi recolhido em 1 mL de metanol e diluídos 10 vezes, para posterior injeção em HPLC-ESI-MS / MS.

### 4.12.2 Condições cromatográficas

Os compostos fenólicos dos frutos de araçá vermelho foram determinados utilizando para a separação cromatográfica um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (modelo 1200 series, Agilent Technologies, Waldbronn - BW, Alemanha), acoplado a espectrômetro

de massas com analisador triploquadrupolo e *ion trap* linear, modelo Q Trap 3200 (Applied Biosystems/MDS Sciex, Canada). As análises foram realizadas utilizando fonte de ionização por eletrospray Turbo Ion Spray™ (Applied Biosystems/MDS Sciex, Canada) em modo negativo. Coluna Synergi (4,0 µm, 2,0 × 150 mm di; Phenomenex, Torrance-CA, EUA), as fases móveis foram compostas por misturas de metanol a 95 % e água a 5 % (v/v); canal A, água e ácido fórmico a 0,1 % (v/v), canal B. A separação foi realizada a 30 °C sob condição de gradiente de eluição segmentado conforme as seguintes etapas: 0 – 5 min, 10 % A; 5 – 7 min, 90 % A; 7 – 10 min, 90 % A; 10 – 17 min, 10 % A. O volume de injeção foi de 10 µL com fluxo de 250 µL min<sup>-1</sup>. Os compostos foram controlados utilizando monitoramento de reações múltiplas (MRM). O *software Analyst* versão 1.5.1 foi usado para o tratamento dos dados obtidos.

A determinação dos compostos fenólicos presentes nas amostras de araçá vermelho safra 2017 e 2018 por HPLC-ESI/MS-MS, foram realizadas através dos dados de tempo de retenção, íon precursor e seus fragmentos e, posteriormente, pela comparação destes com seus respectivos padrões avaliados (Anexo I) segundo os parâmetros descritos por Schulz et al. (2015).

#### 4.13 ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos através da média ± desvio padrão utilizando o software excel 2016. A significância das diferenças entre as médias das amostras foi determinada por análise de variância (ANOVA) e pelo teste de Tukey, utilizando o software *TIBCO Statistica 13.3* disponibilizado na plataforma remota da UFSC. As diferenças estatísticas significativas foram consideradas quando  $p < 0,05$ .

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O araçá vermelho embora ainda seja um fruto pouco conhecido e inexplorado economicamente apresenta propriedades similares a muitos frutos comercializados e de elevado valor nutricional assim como a goiaba (POMER; OLIVEIRA; SANTOS, 2013). Os resultados referentes



às características físico-químicas dos respectivos frutos estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Características físico-químicas do araçá vermelho safra 2017 e 2018

Características	Safras	
	2017	2018
Umidade (g 100g <sup>-1</sup> )	81,41 ± 0,17 <sup>a</sup>	80,83 ± 0,20 <sup>a</sup>
Resíduo mineral fixo (g 100g <sup>-1</sup> )	0,86 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,82 ± 0,03 <sup>a</sup>
Proteínas (g 100g <sup>-1</sup> )	1,15 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,16 ± 0,02 <sup>a</sup>
Lipídeos (g 100g <sup>-1</sup> )	0,53 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,65 ± 0,08 <sup>a</sup>
Açúcares redutores (g 100g <sup>-1</sup> )	5,08 ± 0,12 <sup>a</sup>	4,66 ± 0,01 <sup>b</sup>
Açúcares redutores totais (g 100g <sup>-1</sup> )	8,95 ± 0,25 <sup>a</sup>	9,04 ± 0,23 <sup>b</sup>
Fibras (g 100g <sup>-1</sup> )	7,10 ± 0,00	7,50 ± 0,00
Sólidos solúveis totais (°Brix)	11,20 ± 0,01 <sup>a</sup>	11,20 ± 0,01 <sup>a</sup>
Acidez titulável (g 100g <sup>-1</sup> de A.C)	1,39 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,31 ± 0,03 <sup>a</sup>
Índice de refração do óleo	1,47 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,48 ± 0,01 <sup>a</sup>
pH	3,37 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,50 ± 0,02 <sup>a</sup>

Os valores expressos através da média ± desvio padrão realizados em triplicata. Com exceção das fibras que foram calculadas por diferença. Acidez titulável em g.100g<sup>-1</sup> de ácido cítrico (A. C.). b.u.: base úmida. Na mesma linha e com letras minúsculas sobrescritas diferentes denotam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as safras.

Os teores de umidade encontrados nos frutos de araçá vermelho, foram de 81,41 ± 0,17 g 100g<sup>-1</sup> para a safra de 2017 e de 80,83 ± 0,20 g 100g<sup>-1</sup> para a safra de 2018. Os valores de umidade dos frutos de araçá estão dentro dos valores médios relatados por outros autores para essa espécie. Pereira e colaboradores (2018) em sua revisão sobre o araçá descreveram valores na faixa de 81, 73 a 84,9 g 100g<sup>-1</sup> em base úmida.

Em relação ao teor de resíduo mineral fixo (cinzas) não houve diferença significativa entre as safras estudadas, obtendo-se valores de 0,86±0,04 g 100g<sup>-1</sup> para a safra de 2017 e 0,82 ± 0,03 g 100g<sup>-1</sup> para a safra de 2018. Esses resultados foram superiores ao encontrado por Andrade et al. (2012) que pesquisaram frutos de araçá vermelho proveniente da cidade de União da Vitória – PR, 0,75 g 100g<sup>-1</sup> do fruto úmida. Pereira et al. (2018) relatam teores de 0,63 a 1,50 g 100g<sup>-1</sup>, ambos os valores expressos em base úmida.

Os valores encontrados para proteínas não apresentaram diferença significativa e foram de 1,15 e 1,16 g 100g<sup>-1</sup> para os anos de 2017 e 2018, respectivamente; exibindo teores maiores do que os descritos por Pomer,

Oliveira e Santos (2013), que relataram valores entre 0,45 a 0,91 g 100g<sup>-1</sup> de fruto fresco provenientes de acessos do Maranhão e Sergipe.

Para os teores de lipídeos encontrados no ano de 2017 e 2018 não houve diferença estatística, apresentando valores de  $0,53 \pm 0,01$  g 100g<sup>-1</sup> e  $0,65 \pm 0,08$  g 100g<sup>-1</sup> no fruto fresco. Teores esses mencionados por Pereira et al (2018), os quais relataram valores entre 0,42 a 0,55 g de lipídeos 100 g<sup>-1</sup> base úmida. Os resultados deste estudo também foram semelhantes ao encontrado por Silva et al. (2008) para o araçá da mesma família (*Psidium araca* Raddi) que foi de 0,49 g 100g<sup>-1</sup> de fruto fresco.

Quanto aos teores de açúcares redutores presentes nas amostras de araçá vermelho, os mesmos apresentaram diferença significativa entre as duas safras, sendo que se obteve 5,08 g 100g<sup>-1</sup> de fruto fresco para a amostra de 2017 e 4,66 g 100g<sup>-1</sup> para a safra de 2018. Já para os açúcares redutores totais foram encontrados 8,95 g 100g<sup>-1</sup> para a safra de 2017 e 9,04 g 100g<sup>-1</sup> para a safra de 2018, não apresentando diferença significativa entre as amostras.

O valor obtido para açúcares redutores no ano de 2017 foi análogo ao encontrado por Santos et al. (2007) que analisaram o suco do araçá vermelho, alcançando 5,18 g 100g<sup>-1</sup>. Já o teor de açúcares redutores totais descobertos pelo mesmo autor, foi menor do que o encontrado no presente estudo 6,79 g 100g<sup>-1</sup>. Pomer e colaboradores (2013) obtiveram resultados entre 7,81 e 12,59 g 100g<sup>-1</sup> para o conteúdo de açúcar totais em frutos frescos.

A acidez total titulável é um parâmetro importante, que indica a quantidade de ácidos orgânicos que se encontram nos vacúolos das células, ligados a sais, ésteres ou na forma livre (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A acidez total titulável em ácido cítrico nas amostras analisadas foram de 1,39g 100g<sup>-1</sup> para o ano de 2017 e de 1,31g 100g<sup>-1</sup> de ácido cítrico para o ano de 2018, não diferindo significativamente entre si. Esses valores foram próximos das concentrações encontradas por Pomer, Oliveira e Santos (2013): 0,81 a 1,51 g 100g<sup>-1</sup> de ácido cítrico, nos frutos provenientes dos estados do Maranhão, Sergipe e Amazonas e inferiores ao encontrado por Haminiuk et al. (2006) que obtiveram 1,88 g 100g<sup>-1</sup>.

A acidez titulável em ácido cítrico encontrada no araçá, pode estar relacionada aos compostos voláteis responsáveis pelo aroma característico do fruto, já que esse apresenta diversos componentes voláteis. Os teores encontrados para os sólidos solúveis totais foram de 11,20 °Brix para ambas as safras, e o pH das amostras foram de 3,37 e 3,50 respectivamente para os anos de 2017 e 2018, os valores de sólidos solúveis totais foram semelhantes ao valor encontrado por Melo et al.

(2013) para araçá- pera (*Psidium acutanguium* D. C) de coloração amarelada, que foi de 11 °Brix. Já Medina et al. (2011) obtiveram um pH em torno de 3,7 para os frutos de araçá vermelho.

O índice de refração é uma característica físico-química que reflete a qualidade e a identidade de cada óleo e está relacionado com o grau de saturação das ligações, mas pode ser afetado por outros fatores como: teor de ácidos graxos livres, oxidação e tratamento térmico (IAL, 2008). O índice de refração encontrado no presente estudo para o óleo das amostras de araçá foi de 1,47 para ambas as safras.

Existem poucos trabalhos nacionais e internacionais sobre a composição físico-química do araçá vermelho, sendo necessário compará-los com outras variedades ou com membros da mesma família. As diferenças encontradas nas safras do araçá vermelho, podem estar relacionadas ao clima, qualidade do solo, quantidade de luz e água recebido pela planta, manejo do pomar, grau de maturação, estado nutricional e patogênese da mesma (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Além dos fatores pertinentes ao cultivo também podem estar relacionados ao processamento da matriz, forma de armazenamento, tempo e temperatura do preparo da amostra, também afetam a quantidade de compostos e a qualidade da análise (GRANATO, 2016).

## 5.1 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FLAVONOIDES TOTAIS

O incentivo para o consumo de frutas está associado ao seu potencial antioxidante, relacionado aos compostos fenólicos, vitaminas entre outros compostos bioativos presentes nestas matérias primas. A Tabela 3 ilustra a composição em fenólicos totais e a atividade antioxidante *in vitro* DPPH e FRAP do extrato hidroalcoólicos (etanol e metanol 70 %) acidificados HC 0,1% dos frutos de araçá vermelho e a Tabela 4 ilustra os valores de flavonoides totais.

**Tabela 3.** Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos frutos de araçá vermelho, safra 2017 e 2018, em diferentes sistemas de solventes.

Ano	Extratos	Fenólicos Totais (mg EAG 100g <sup>-1</sup> )	FRAP	DPPH (µmol TEAC g <sup>-1</sup> )
-----	----------	---	------	--------------------------------------

		(μmol TEAC g <sup>-1</sup> )		
<b>2017</b>	<b>A1</b>	370,90 ± 5,06 <sup>c</sup>	26,64 ± 0,69 <sup>c</sup>	51,18 ± 0,11 <sup>b</sup>
<b>2018</b>	<b>A2</b>	400,17 ± 4,17 <sup>b</sup>	32,42 ± 0,25 <sup>a</sup>	51,33 ± 0,35 <sup>ab</sup>
<b>2017</b>	<b>A3</b>	444,60 ± 3,20 <sup>ab</sup>	23,60 ± 0,19 <sup>d</sup>	51,71 ± 0,33 <sup>ab</sup>
<b>2018</b>	<b>A4</b>	457,93 ± 4,89 <sup>a</sup>	30,54 ± 0,35 <sup>b</sup>	51,78 ± 0,26 <sup>a</sup>

Os valores de fenólicos totais foram expressos em mg de EAG (equivalente em ácido gálico) 100g<sup>-1</sup> em base úmida, para DPPH os valores foram expressos em μmol TEAC (equivalente de trolox) g<sup>-1</sup> de amostra e para o FRAP os valores foram expressos em μmol de TEAC (equivalente de trolox) g<sup>-1</sup> do fruto ambos em base úmida. Todas as análises foram realizadas em triplicata expressos através das médias ± desvio padrão. Na mesma coluna e com letras minúsculas sobrescritas diferentes denotam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os extratos. Extratos: A1 e A2: etanol 70% acidificados HCl 0,1%, A3 e A4: Metanol 70% acidificados HCl 0,1%.

Os teores de compostos fenólicos totais diferiram significativamente entre as amostras A1, A2 e A4, enquanto a amostra A3 não diferiu da amostra A2, sendo que os valores obtidos foram de 370,90 e 400,17 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> de fruto fresco para o solvente etanol 70 % acidificado HCl 0,1 % safra 2017 e 2018 respectivamente, e para o solvente metanol 70 % acidificado HCl 0,1 % foi de 444,60 e 457,93 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> de fruto fresco para os anos de 2017 e 2018. Os resultados obtidos foram menores do que o encontrado por Biegelmeyer et al. (2011) que relataram o valor de 501,33 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> em araçá vermelho fresco. Pomer, Oliveira e Santos (2013), descrevem valores entre 231 a 338 mg EAG 100g<sup>-1</sup>, resultados menores do que os encontrados no presente estudo.

A avaliação da atividade antioxidante frente ao poder redutor de ferro (FRAP) apresentou diferença significativa em relação a ambos os solventes (etanol 70% acidificado com HCl 0,1% e metanol 70% acidificado com HCl 0,1% ) e as safras analisadas, os teores ficaram entre 23,60 a 32,42 μmol de TEAC g<sup>-1</sup> de amostra fresca, resultados na faixa do valor encontrado por Luximon-Ramma, Bahorun e Cruzies (2003) que encontraram 34 μmol de TEAC g<sup>-1</sup> em base úmida para o mesmo fruto. Já para DPPH os valores obtidos no presente estudo foram entre 51,18 e 51,78 μmol de TEAC g<sup>-1</sup> em base úmida.

A capacidade dos compostos fenólicos de sequestrar o oxigênio reativo depende do tipo de antioxidante presente. As frutas contêm muitos componentes antioxidantes distintos e sua concentração pode ser diferente de safra para safra, esses fatores podem afetar a capacidade

antioxidante total dos frutos. A atividade antioxidante dos polifenóis ocorre por diferentes mecanismos, o mais importante é o sequestro de radicais livres que depende da estrutura do composto envolvido podendo variar de matéria prima para matéria prima, justificando assim, uma menor atividade antioxidante comparada ao teor de compostos fenólicos totais (DENARDIN et al., 2015).

Dentre os compostos fenólicos de maior interesse estão os flavonoides devido a sua ação antioxidante (GRANATO, 2016). Os extratos hidroalcóolicos acidificados com (HCl 0,1 %) dos frutos de araçá não apresentaram diferença estatística dentre as amostras; os teores encontrados foram de 44 mg (ER) 100 g<sup>-1</sup> a 49 mg (ER) 100 g<sup>-1</sup> de fruto fresco (Tabela 4), valores superiores aos obtidos por Pomer, Oliveira e Santos (2013) que encontraram entre 16,86 a 36,33mg (ER) 100 g<sup>-1</sup> de fruto fresco dos acessos de Pernambuco, Piauí e Maranhão.

**Tabela 4.** Composição de flavonoides totais nos extratos de araçá vermelho, das safras de 2017 e 2018, em diferentes extratos.

Ano	Extratos	Flavonoides totais (mg ER 100g <sup>-1</sup> )
2017	A1	45,54 ± 1,76 <sup>a</sup>
2018	A2	45,92 ± 2,31 <sup>a</sup>
2017	A3	44,00 ± 3,33 <sup>a</sup>
2018	A4	49,00 ± 2,40 <sup>a</sup>

Flavonoides totais expressos em mg equivalente de rutina (ER) 100g<sup>-1</sup> em base úmida. Todas as análises foram realizadas em triplicata expressos através das médias ± desvio padrão. Na mesma coluna e com letras minúsculas sobrescritas diferentes denotam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os extratos. Extratos: A1 e A2: etanol 70% acidificados com HCl 0,1%, A3 e A4: Metanol 70% acidificados com HCl 0,1%.

## 5.2 ANÁLISE DE COR

Com o intuito de aferir a estabilidade da cor dos pós liofilizados dos frutos de araçá vermelho safra 2017 e 2018 (Tabela 5) avaliou-se colorimetricamente que a amostra da safra 2017 tende a ser mais escura do que a amostra do ano de 2018 apresentando diferença estatística entre elas, uma vez que, o parâmetro L\* mede a luminosidade onde, quanto mais clara a amostra, mais próxima de 0 será os valores; já quanto mais próximo de 100, mais escura. Os pós da safra 2018, obtidos na liofilização dos frutos de araçá, apresentam maior tendência para a cor vermelha e

azul do que a amostra de 2017. A cor pode variar devido a forma e ao tempo de armazenamento, a higroscopicidade da amostra e grau de maturação dos frutos, mas também pode estar relacionada a perda de nutrientes como vitaminas, oxidação lipídica, dentre outros fatores (FELLOWS, 2016; GRANATO, 2016).

**Tabela 5.** Avaliação dos parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  do araçá vermelho liofilizado, safra 2017 e 2018.

Safra	Parâmetros		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$
2017	67,38 ± 0,83 <sup>a</sup>	15,29 ± 0,19 <sup>b</sup>	21,80 ± 0,18 <sup>b</sup>
2018	60,76 ± 0,59 <sup>b</sup>	19,30 ± 0,22 <sup>a</sup>	25,46 ± 0,07 <sup>a</sup>

$L^*$ : Luminosidade,  $a^*$ : vermelho-verde,  $b^*$ : amarelo-azul. Os valores estão expressos através das médias ± desvio padrão, realizados em triplicata. Na mesma coluna e com letras minúsculas sobrescritas diferentes denotam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os anos.

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO HISTOQUÍMICA DOS FRUTOS DE ARAÇÁ VERMELHO

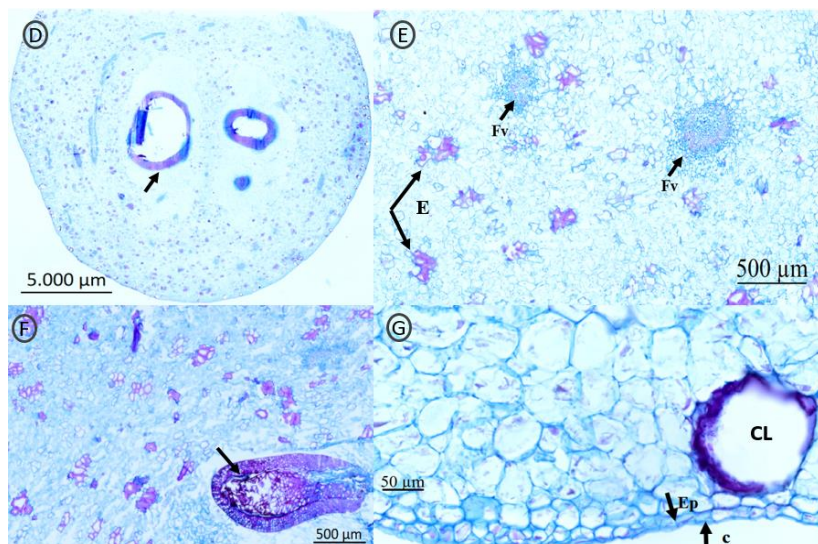
Pouco se sabe sobre a estrutura anatômica e histoquímica dos frutos de araçá, sendo esse um fator importante para o processo de produção, armazenamento e manejo da cultura. Normalmente, para a análise da parede celular primária e secundária utiliza-se a dupla coloração como é o caso dos corantes azul de Astra e fucsina (Figuras 8 e 9). O azul de Astra, por apresentar característica ácida, tem afinidade por estruturas básicas como a celulose e hemicelulose, dando a estas a coloração azul. Já a fucsina tem caráter básico apresentando afinidade pelas estruturas ácidas, corando de rosa as ligninas (RODRIGUES; AMANO; ALMEIDA, 2010).

A Figura 8 (D) ilustra a visão geral do corte histológico longitudinal do fruto de araçá vermelho. A seta indica a porção do endocarpo (polpa) onde estão localizadas as sementes. Na Figura 8 (G) é observado, logo abaixo da epiderme, uma camada de células compactas poligonais pertencentes a subepiderme, que segundo Môro et al. (2003), são células responsáveis pelo armazenamento de água. Môro e colaboradores (2013) que estudaram a morfologia da goiaba também descrevem que esta apresenta uma cutícula grossa. O mesmo não ocorre para os frutos de araçá, tendo em vista que a cutícula deste é mais fina,

fator que pode contribuir para que o fruto apresente maiores danos durante o congelamento.

Assim como a goiaba o araçá vermelho apresenta um grande número de estruturas chamadas de cavidade lisígena. Essas são cavidades secretoras internas, cujo lume é revestido pelo epitélio celular, responsáveis por secretar substâncias como óleos essenciais; podem apresentar proteínas e outros compostos (CALLADO et al., 2010; MÔRO et al., 2013). A Figura 8 (E) ilustra a região do mesocarpo onde se encontram os feixes vasculares e um conjunto de escleroides dispersos. Conforme relatado por Callado et al. (2010), os escleroides tendem a aumentar com o amadurecimento dos frutos.

**Figura 8.** Estrutura primária e secundária dos frutos de araçá vermelho.



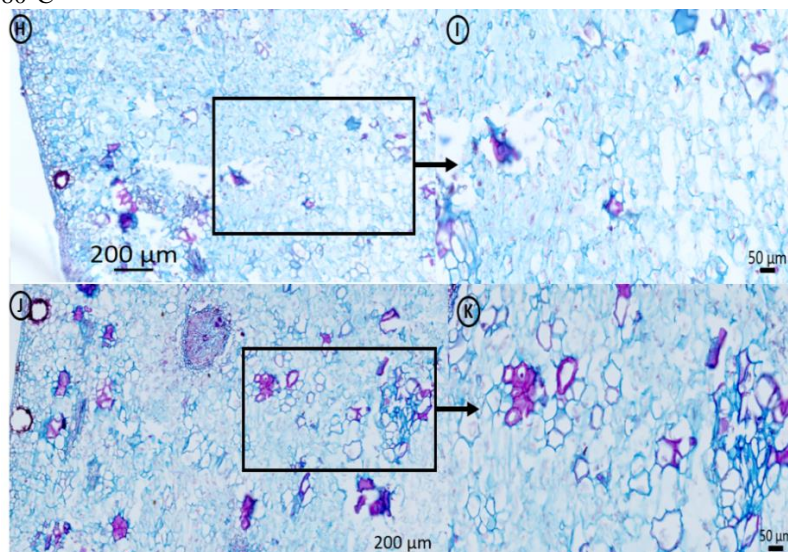
(D) Visão geral do corte histológico longitudinal (amostra de araçá -80°C, escala em 5000µm) seta indicando a localização das sementes no endocarpo; (E) porção do mesocarpo: parênquima (-80 °C, escala em 500µm), Fv: feixe vascular; E: escleroides; (F) (corte -80 °C, escala em 500µm) feixe colateral fechado; (G) (corte -80 °C, escala em 50 µm) c: cutícula, Ep: epiderme, CL: cavidade secretora lisígena.

Através da microscopia óptica de luz foi possível observar que ambas as formas de congelamento dos frutos a -20 °C (Figura 9 (H e I)) e a -80 °C (Figura 9 (J e K)) causaram danos às células, mas que o tratamento a -80 °C manteve um maior número de células preservadas,

sendo possível analisar a presença da lamela média entre duas células vizinhas. Isso se deve ao processo de formação dos cristais de gelo, uma vez que, quanto mais rápido esses são formados e quanto mais homogêneos, menos danos são causados às células (FELLOWS, 2006).

Os danos causados pelo congelamento fazem com que após descongelado os frutos percam a qualidade em relação às suas propriedades de textura e sabor (ORDÓÑEZ, 2005), tendo que ser empregados para a comercialização na forma processada como: geleias, sorvetes, sucos dentre outros. A aplicação de tecnologias que utilizam agentes crioprotetores, pode ser uma alternativa para a melhor preservação desses frutos.

**Figura 9.** Estrutura as células dos frutos de arará vermelho congelados a -20 e -80°C



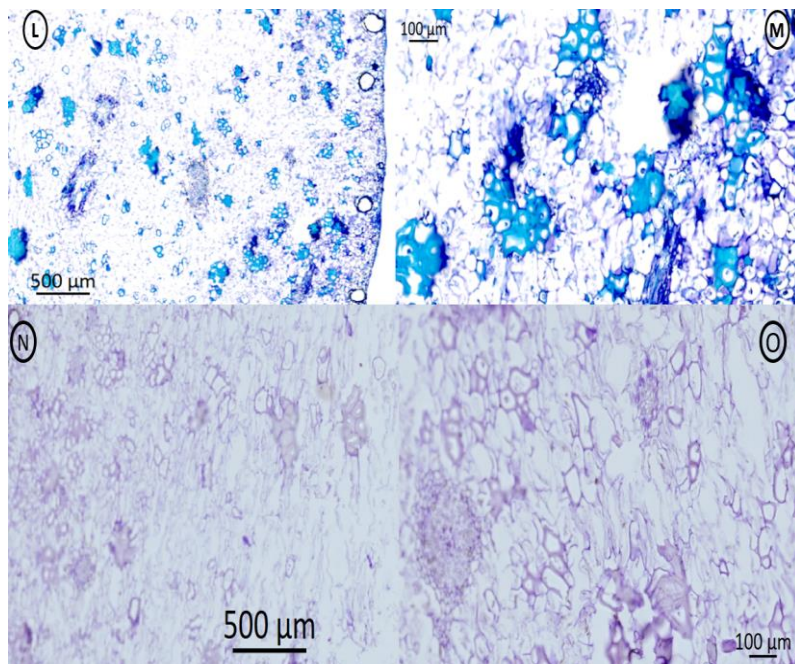
(H) coloração com azul de astra e fucsina (amostra -20 °C, escala 200 µm); (I) parte da célula ampliada (amostra -20 °C, escala 50 µm); (J) coloração com azul de astra e fucsina (amostra -80 °C, escala 200 µm); (K) parte da célula ampliada (amostra -80 °C, escala 50 µm).

O azul de toluidina (ATO) reage com os polissacarídeos ácidos através de uma reação de metacromasia, já o ácido periódico de Schiff é responsável pela coloração (rosa) dos polissacarídeos neutros como amido e celulose. Conforme é observado na Figura 10 (L e M), há uma maior tonalidade azul clara nos escleroides, e os feixes vasculares que



apresenta como constituinte as ligninas e glicoproteínas. Na Figura 10 (N e O) é possível observar que o ácido Periódico de Schiff corou a lamela média das células de rosa, essas porções do fruto apresentam amilose e amilopectina.

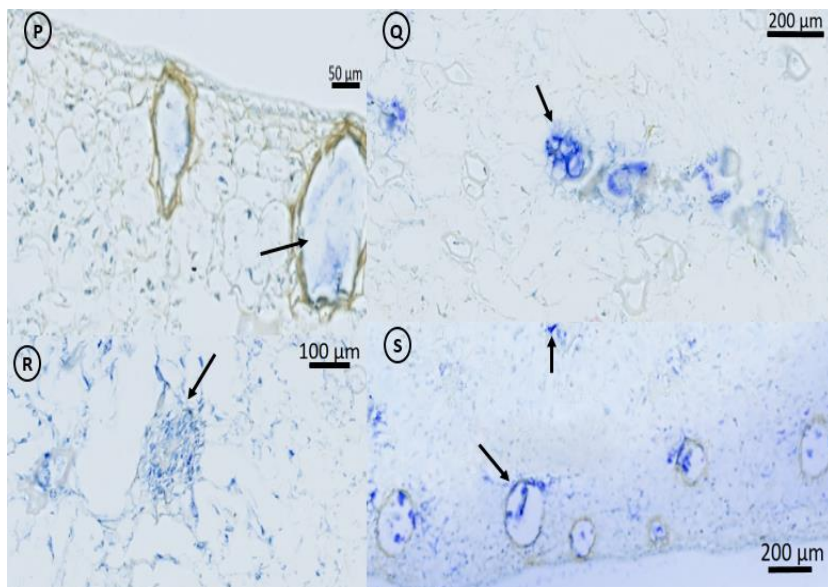
**Figura 10.** Carboidratos ácidos e polissacarídeos neutros presentes no araçá vermelho.



(L) (-20°C, escala 500 μm); (M) (-20 °C, escala 100 μm) coloração com ácido periódico de schiff; (N) (-80 °C, escala 500 μm); (O) (-80 °C, escala 100 μm).

A presença de proteínas nos frutos de araçá é pequena, assim como comprovado na composição centesimal. Na microscopia óptica de luz utilizando corante CBB é possível observar (Figura 11) a presença das proteínas em pequena quantidade no interior da célula, nos feixes vasculares e dentro da cavidade lisígena.

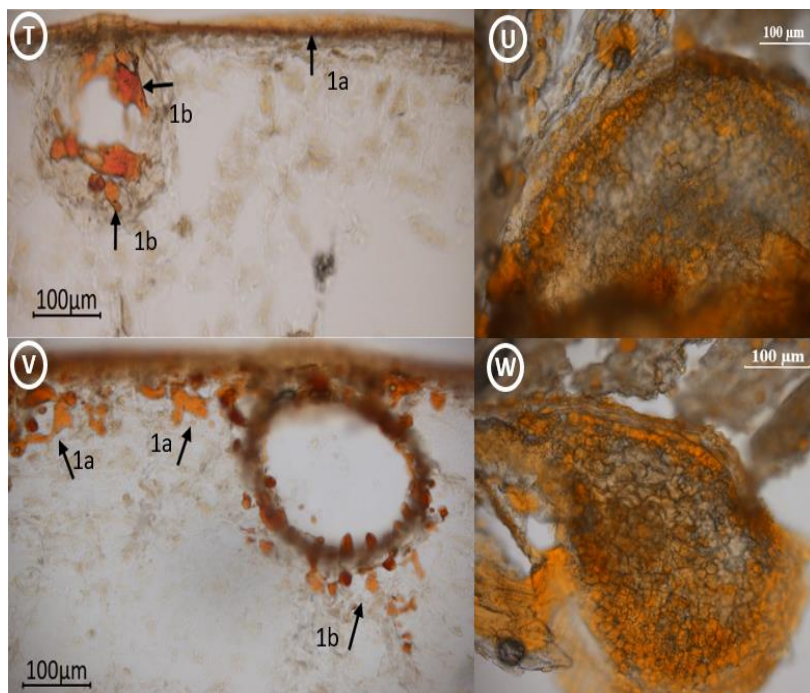
**Figura 11.** Coloração das proteínas presentes nos frutos de araçá vermelho.



(P) (-80°C, escala 50 µm) seta: proteínas na cavidade lisígena; (Q) (-20 °C, escala 200 µm) proteínas no interior da célula; (R) (-80 °C, escala 100 µm) Seta: proteínas no feixe vascular; (S) setas indicando proteína no interior da célula e na cavidade lisígena.

A coloração com sudan IV é capaz de indicar a presença de lipídeos nos frutos de araquá vermelho, predominantemente encontrado entre a cutícula, na epiderme e na cavidade secretora lisígena ((Figura 12 (T e V)). As sementes também são bons reservatórios de lipídeos nesse fruto (Figura 12 (U e X)). Em ambos os tratamentos os frutos não apresentaram lipídeos na sua porção mais interna com exceção das sementes.

**Figura 12.** Localização dos lipídeos nos frutos de araquá vermelho.

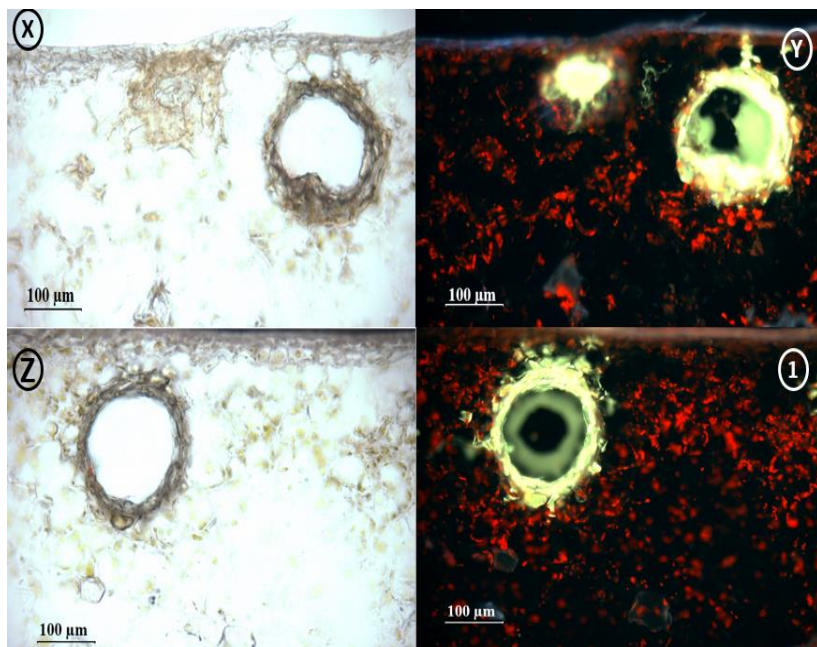


(T) cortes em criostato do fruto (-20 °C, escala 100μm); seta 1a: presença de lipídeos na cutícula e 1b: lipídeos na cavidade secretora lisígena. (V) (-80 °C, escala 100 μm) 1a: presença de lipídeos na cutícula e na epiderme; 1b: lipídeos na cavidade secretora lisígena. (U) (-20 °C, escala 100μm) e (W) (-80 °C, escala 100μm) semente.

As células epidérmicas funcionam como barreiras físicas. Essas normalmente apresentam compostos fenólicos, além dos carotenoides. Ambos são compostos que apresentam ação protetora contra patógenos. Essas substâncias também funcionam como filtros para a proteção dos raios solares, construindo uma barreira contra a fotorradiação excessiva (CALLADO et al., 2010).

Como esperado devido ao efeito protetor dos compostos fenólicos esses encontram-se na sua porção mais externa (epicarpo) dos frutos de arachá vermelho: na cutícula, na epiderme e no parênquima (Figura 13 (Y e 1)). Os fenólicos são autofluorescentes, não necessitando de fluorocromos para sua detecção. A autofluorescência dos fenólicos não estruturais apresentam coloração vermelha, já os fenólicos estruturais como as ligninas apresentam autofluorescência azul (RIBEIRO; FILHO; GRÖTZNER, 2012).

**Figura 13.** Autofluorescência dos compostos fenólicos dos frutos de araçá vermelho.

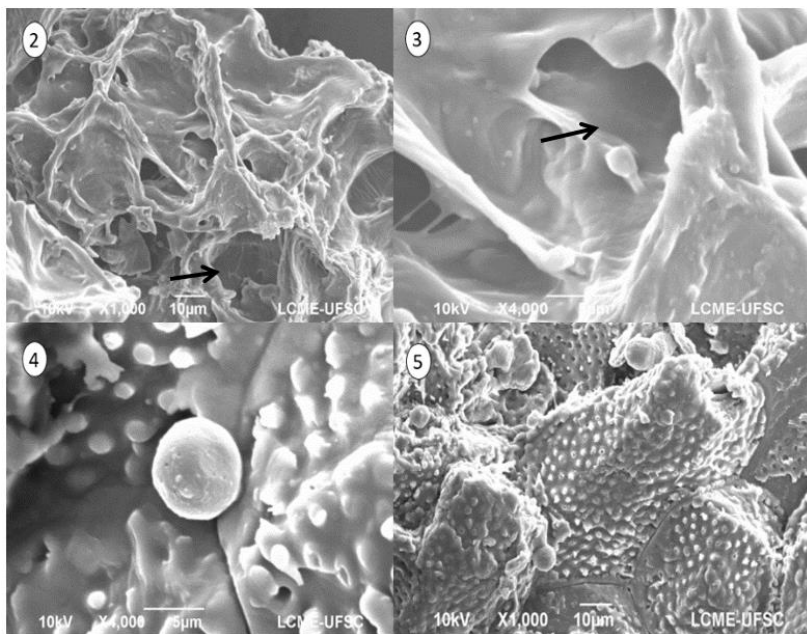


(X) (-20°C, escala 100μm) e (Z) (-80 °C, escala 100 μm) campo claro controle da autofluorescência; (Y) (-20 °C, escala 100μm) e (1) ((-80 °C, escala 100 μm) campo escuro; autofluorescência em vermelho compostos fenólicos em amarelo cavidade secretora lisígena.

#### 5.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E EDS

A avaliação da microestrutura foi realizada no pó triturado e submetido ao processo de liofilização, no qual pode-se verificar o efeito da secagem sobre a microestrutura do pó de araçá, os resultados gerados pelo MEV são ilustrados nas Figura 14.

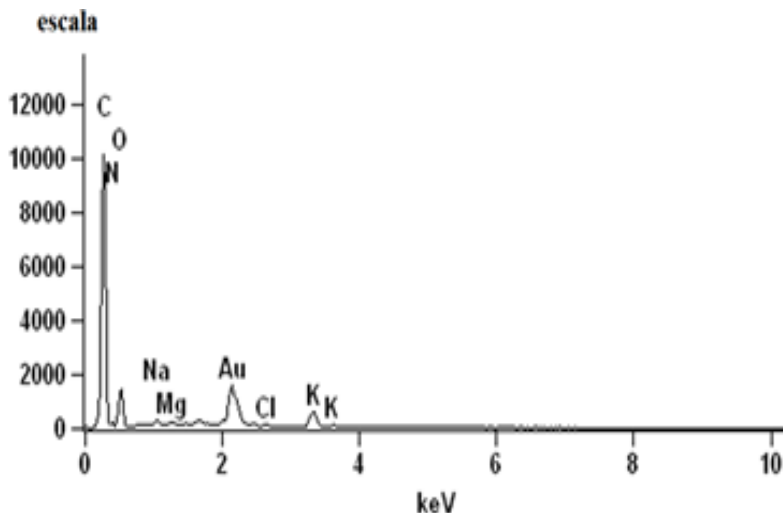
**Figura 14.** MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura) do pó do fruto de araçá liofilizado



((2) escala 10 µm e (3) escala 5 µm) setas: reentrâncias com depressões; ((4) escala 5 µm e (5) escala 10 µm) grânulo arredondado.

De maneira geral, o pó dos frutos de araçá vermelho apresentou grânulos com forma arredondada Figura 14 (4 e 5). A superfície do pó apresentou reentrâncias com depressões provocadas pela retirada de água durante o processo de liofilização, conforme mostra a Figura 14 (2 e 3). Os resultados foram semelhantes ao encontrado por Ribeiro (2018) que avaliou o pó liofilizado de polpa de acerola. Os pós liofilizados dos frutos de araçá apresentaram alguns minerais na sua composição: potássio, magnésio, sódio e cloro (Figura 15). Pomer e colaboradores (2013) também relataram a presença de magnésio e potássio nas amostras de araçá.

**Figura 15.** Perfil de minerais do pó liofilizado dos frutos de araçá vermelho, determinado por MEV/EDS



O ouro e o carbono presentes no espectro são referentes ao preparo da amostra para a análise.

## 5.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os extratos hidroalcoólicos acidificados de araquá vermelho, testados frente à cinco linhagens bacterianas (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *b. cereus* e *Salmonella*) apresentaram atividade antimicrobiana inibitória frente a todos os micro-organismos testados com exceção do extrato metanólico 70 % acidificado, safra 2017, que não apresentou inibição para *Salmonella* tanto para o extrato rotaevaporado (10:25 m/v) quanto para o extrato rotaevaporado adicionado de DMSO (Tabela 6). Assim, foi possível observar que os extratos adicionados de 1 mL de DMSO apresentaram inibição menor do que os dos extratos rotaevaporados (10:25 m/v). Medina e colaboradores (2011), avaliaram a atividade antimicrobiana do araquá com a utilização de diferentes solventes e detectaram que, tanto o extrato aquoso quanto o extrato em acetona apresentaram inibição frente a *Salmonella enteritidis*. Mccook-Russell et al. (2012) avaliaram extratos metanólicos de araquá e constaram a inibição das cepas de *S. aureus* e *B. subtilis*.

Devido ao araquá vermelho ser uma matriz complexa assim como a maioria dos frutos, a identificação dos compostos que apresentam o potencial antimicrobiano requer maiores estudos, acredita-se que a atividade inibitória dos micro-organismos esteja ligada aos seus

compostos fitoquímicos atuando em sinergismo, contribuindo para a inibição. Os compostos fenólicos, por sua vez, podem reagir com a membrana celular e inativar enzimas essenciais e/ou enzimas que formam complexos com íons metálicos, limitando a sua disponibilidade e interferindo no metabolismo microbiano (ESTEVINHO et al., 2008; MEDINA et al., 2011). Os resultados obtidos neste estudo apontam um potencial para o uso dos extratos de araquá vermelho no controle do desenvolvimento microbiano, havendo necessidade de estudos sobre os mecanismos de inibição envolvidos no processo.

**Tabela 6.** Atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcóolicos acidificados de araquá vermelho.

Extrato* (Etanol 70% acidificado com HCl 0,1%)	Microrganismo	Halo Controle (+) (mm)	Halo (Extrato rotaevaporado) (mm)	Halo DMSO + Extrato) (mm)
A5	<i>S. aureus</i>	32	22	18
A6	<i>S. aureus</i>	32	24	20
A5	<i>E. coli</i>	35	18	12
A6	<i>E. coli</i>	40	24	14
A5	<i>B. cereus</i>	40	30	20
A6	<i>B. cereus</i>	48	32	20
A5	<i>Pseudomonas</i>	35	23	16
A6	<i>Pseudomonas</i>	46	30	20
A5	<i>Salmonella</i>	43	17	Nd
A6	<i>Salmonella</i>	42	17	10
Extrato* (metanol 70% acidificado com HCl 0,1%)	Microrganismo	Halo Controle (+) (mm)	Halo (Extrato rotaevaporado) (mm)	Halo DMSO + Extrato) (mm)
A7	<i>S. aureus</i>	36	22	19
A8	<i>S. aureus</i>	30	23	18
A7	<i>E. coli</i>	40	17	12
A8	<i>E. coli</i>	40	16	12
A7	<i>B. cereus</i>	47	32	20
A8	<i>B. cereus</i>	48	38	26
A7	<i>Pseudomonas</i>	34	22	20
A8	<i>Pseudomonas</i>	38	22	20
A7	<i>Salmonella</i>	46	18	12
A8	<i>Salmonella</i>	36	Nd	Nd

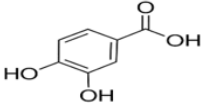
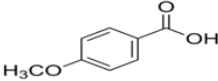
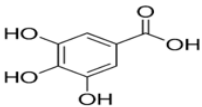
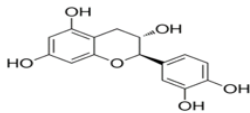
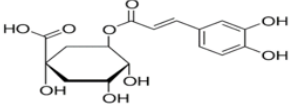
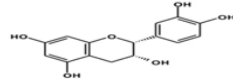
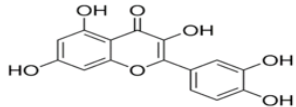
Nd: Não detectado; DMSO: Dimetilsulfóxido.

(\*) A5- Extrato de araquá safra 2017 com etanol 70% acidificado com HCl 0,1%; A6- Extrato de araquá safra 2018 com etanol 70% acidificado com HCl 0,1%; A7- Extrato de araquá safra 2017 com metanol 70% acidificado com HCl 0,1%; A8 - Extrato de araquá safra 2018 com metanol 70% acidificado com HCl 0,1%.

## 5.6 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS POR HPLC-ESI-MS/MS

A Tabela 7 ilustra os compostos fenólicos encontrados nas amostras liofilizadas de araçá 2017 e araçá 2018 e seus respectivos limites de quantificação (LOQ). Os valores do íon precursor, íon quantitativo, tempo de retenção, regressão linear, coeficiente de determinação ( $R^2$ ), limites de detecção (LOD) encontram-se no apêndice I, os parâmetros do espectrômetro de massas obtidos pela infusão dos padrões identificados, íon precursor, íon quantitativo e tempo de retenção dos compostos fenólicos encontram-se no anexo I.

**Tabela 7.** Compostos fenólicos identificados ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$  de matéria seca) das amostras de araçá vermelho safra 2017 e 2018.

Compostos Fenólicos ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ )	Estrutura química	Araçá 2017 (LOQ)	Araçá 2018 (LOQ)
Ácido protocateuico		$0,51 \pm 0,01$	$0,66 \pm 0,04$
Ácido Cinâmico		<LOQ	$0,20 \pm 0,27$
Ácido gálico		$0,165 \pm 0,003$	$2,34 \pm 0,59$
Catequina		$0,10 \pm 0,04$	$0,32 \pm 0,04$
Quercetina		<LOQ	<LOQ
Epicatequina		$0,09 \pm 0,07$	$0,41 \pm 0,05$
Ácido Clorogênico		$0,129 \pm 0,001$	$0,126 \pm 0,001$

LOQ: Limite de quantificação.

Foi possível identificar 7 compostos fenólicos presentes na amostra de araçá vermelho, sendo 4 da classe dos ácidos fenólicos: ácido gálico, ácido protocateuico, ácido cinâmico e ácido clorogênico e 3 da classe dos flavonoides: catequina, epicatequina, quercetina.



Os flavonoides são encontrados nos frutos normalmente como agliconas e quando ligados a moléculas de açúcar são conhecidos como glicosídeos, já os ácidos fenólicos normalmente se encontram conjugados podendo ser convertidos durante o processo de maturação e armazenamento (HAMINIUK et al., 2012; NEHRING, 2016)

O ácido gálico foi o composto majoritário no ano de 2018 (2,34 mg 100g<sup>-1</sup> de matéria seca), já no ano de 2017 encontrou-se uma maior quantidade de ácido protocatecuico (0,66 mg 100g<sup>-1</sup> de matéria seca). Os teores de polifenóis identificados variou com a safra essas diferenças podem ser devido à complexidade os grupos de compostos, sua degradação durante a maturação e durante o armazenamento, podem também estar relacionados aos fatores climáticos, qualidade do solo dentre outros ((BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Medina et al. (2011) também encontraram em sua amostra de arará vermelho ácido gálico, epicatequina e quercetina.

Pesquisas científicas com frutos da família das Myrtaceae também evidenciaram a presença de quercetina, catequina, epicatequina, ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido cinâmico e ácido clorogênico. Lima et al. (2019) que avaliou os compostos fenólicos em goiaba também encontraram esses compostos em seus estudos. Nehring (2016) que pesquisou os compostos fenólicos dos frutos de grumixama encontrou ácido protocatecuico, ácido gálico, catequina, epicatequina e quercetina em suas amostras, ambas as pesquisas evidenciam a importância desses compostos para a prevenção de doenças crônicas não transmissíveis devido a sua ação antioxidante.

Rosso et al. (2006) em seus estudos avaliou a atividade protetora do ácido gálico e de seus derivados, constatando que esses atuam na inibição de enzimas como a mieloperoxidase, enzima responsável por processos inflamatórios, e sobre os radicais livres.

A presença desses compostos no arará vermelho justifica as propriedades protetoras e antioxidantes atribuídas a esses frutos.

## **6. CONCLUSÕES**

O araçá vermelho demonstrou ser fonte de compostos fenólicos do grupo dos ácidos fenólicos e dos flavonoides, compostos esses relacionados a sua atividade antioxidante.

Através da microscopia óptica de luz foi possível avaliar a estrutura dos frutos congelados a -20 e -80 °C constatando que o congelamento a -80 °C causou menor dano ao tecido do fruto. Por microscopia de fluorescência foi possível verificar que os compostos fenólicos presentes nos frutos estão localizados na sua camada mais externa (epicarpo).

Considerando todas as características físico-químicas do araçá vermelho estudadas recomenda-se o consumo desses frutos tanto em sua forma *in natura* quanto processada, pois esses contribuem de forma positiva para uma dieta equilibrada colaborando assim para prevenção de doenças crônicas degenerativas.

Os frutos de araçá vermelho apresentaram teor de umidade na faixa de (80,83 a 81,41g 100g<sup>-1</sup>) o que favorece a instabilidade e a rápida deterioração, sendo assim, o processamento pode ampliar o consumo e comercialização, mantendo as suas propriedades bioativas, otimizando e preservando as características sensoriais, nutricionais e microbiológicas pela diminuição da atividade de água.

Em relação à atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos acidificados dos frutos de araçá vermelho todos apresentaram potencial inibitório frente às cepas testadas, exceto para o extrato metanólicos 70 % acidificado com HCl 0,1 % de araçá (safra 2018) que não apresentou inibição para *Salmonella*.

Por meio da análise de HPLC-ESI-MS /MS foi possível identificar sete compostos fenólicos de interesse sendo eles: ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido cinâmico, catequina, epicatequina, quercetina e ácido clorogênico.

Visando uma maior preservação da qualidade sensorial e nutricional dos frutos de araçá vermelho são necessárias pesquisas posteriores que determinem o melhor estágio de maturação, a biodisponibilidade e bioacessibilidade dos compostos de interesse desses frutos, uma vez que, não existe um critério para a coleta do araçá, e estes apresentam alta perecibilidade requerendo um manuseio adequado para que sejam conservadas a maioria dos seus compostos por um período prolongado. Para uma melhor preservação dos frutos sugere-se estudos com substâncias crioprotetoras capazes de diminuir os danos celulares ocasionados no congelamento.

## REFERÊNCIAS

AOAC – **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18th edition, Gaithersburg, M.D., USA, 2005.

AGUILERA, J. M. Why food microstructure? **Journal of food Engineering**. v.67, p.3-11, 2005.6

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

ALVARENGA, F. Q.; MOTA, B. C. F.; ROYO, V. A.; LAURENTIZ, R. S.; MENEZES, E. V. Atividade antimicrobiana *in vitro* das folhas de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) contra micro-organismos da mucosa oral. **Revista odontologica UNESP**, v. 45, n. 3, p.149-153, 2016.

ANANY, A. M. E. Nutritional composition, antinutritional factors, bioactive compounds and antioxidant activity of guava seeds (*Psidium Myrtaceae*) as affected by roasting processes. **Journal Food Science and Technology**, v. 52, n.4, p.2175-2183, 2015.

ANDARWULAN, N.; BATARI, R.; SANDRASARI, A.; BOLLING, B.; WIJAVA, H. Flavonoid contente and antioxidante activity of vegetables from Indonesia. **Food Chemistry**, v.121, n.4, p.1231-1235, 2010.

ANDRADE, D. R. M.; HELM, C. V.; MAZZA, C. A.; MAZZA, M. C. M. Avaliação da composição química do araçá em duas localidades do sul do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22., 2012, Bento Gonçalves. Anais... Bento Gonçalves: SBF, 2012.

ARRIOLA, N. A.; DOS SANTOS, G. D.; PRUDÊNCIO, E. S.; VITALI, L.; PETRUS, J. C. C.; CASTANHO, R. D. M. A. Potential of nanofiltration for the concentration of bioactive compounds from watermelon juice. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49, n. 9, p. 2052–2060, 2014.

ARRUDA, H. S.; PEREIRA, G. A.; MORAIS, D. R. de; EBERLIN, M. N.; PASTORE, G. M. Determination of free, esterified, glycosylated and insoluble-bound phenolics composition in the edible part of araticum fruit (*Annona crassiflora* Mart.) and its by-products by HPLC-ESI-MS/MS. **Food Chemistry**, v.245, p.738-749,2018.

AZIZ, M.; KARBOUNE, S. Natural antimicrobial/antioxidant agents in meat and poultry products as well as fruits and vegetables: a review. **Food Science and Nutrition**, v.58, n.3, p.486-511, 2018.

BARBA, F. J.; MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N.; MERCADANTE, A. Z.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; ORLIEN, V. Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. **Trends in Food Science & Technology**, v.67, p.195-206, 2017.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAM. 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.

BENZIE I. F.; STRAIN J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v.239, p. 70-76, 1996.

BIEGELMEYER, R.; ANDRADE, J. M. M.; ABOY, A. L.; APEL, M. A.; DRESCH, R. R.; MARIN, R.; RASEIRA, M. do C. B.; HENRIQUES, A. T. Comparative Analysis of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Red (*Psidium cattleianum*) and Yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) Strawberry Guava Fruit. **Journal of Food Science**, v. 76, n.7, p. 991– 996, 2011.

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

BRASIL- Ministério da Saúde. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Disponível em: <  
<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresentacao-Surtos-DTA-2016.pdf>>. 2016.

CALLADO, C. H.; RIZZINI, M.; CUNHA, M.; VALENTIN, Y. Y. **Botânica II**. 2ed. Rio de Janeiro: Fundação CECIERJ, 2010. 145p.  
CDC- Centers for Disease Control and Prevention. Disponível em: <  
<https://www.cdc.gov/foodsafety/cdc-and-food-safety.html>>. Acesso:  
em: 28 de dezembro de 2018.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de Frutos e Hortaliças: Fisiologia e Manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 783p.

**CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE**.  
Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-  
second informational supplement. v. 32, n. 3, 2012.

CORRÊA, L.C.; SANTOS, C. A. F.; LIMA, G. P. P.; RODRIGUES, M. A.; COSTA, T. P. P. Similaridade genética em acessos de goiabeiras e araçazeiros: análise química e bioquímica dos frutos. **Revista Brasileira de Frutas**, v. 33, n. 3, p. 859-867, 2011.

CRUZ, R. M. S.; VIEIRA, M. C.; SILVA, C. L. M. The response of watercress (*Nasturtium officinale*) to vacuum impregnation: Effect of an antifreeze protein type I. **Journal of Food Engineering**, v. 95, p. 339-345, 2009.

DEL RÉ, P.V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v.14, n. 2, p.389-399, 2012.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4.ed. Porto Alegre: Artimed, 2010. Cap.12, p.585-608.

DENARDIN, C. C.; HIRSCH, G. E.; ROCHA, R. F.; VIZZOTTO, M.; HENRIQUES, A. T.; MOREIRA, J. C. F.; GUMA, F. T. C. R.; EMANUELLI, T. Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. **Journal of Food and Drug Analysis**, v.23, n. 3, p. 387-398, 2015.

DUTCHER, J. R.; MARANGONI, A. G. **Soft Materials Structure and Dynamics**. New York: Marcel Dekker Inc., 2005. 424p.

ESTEVINHO, L.; PEREIRA, A; P.; MOREIRA, L.; DIAS, L. G.; PEREIRA, E. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of North-East Portugal honey. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 12, p. 3774- 3779, 2008.

FAO – Chapter 1 – Introduction to freezing. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/008/y5979e/y5979e03.htm#TopOfPage>. Acesso em: 18 de novembro de 2018.

FELLOWS, P. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: princípios e prática**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602p.

FIGUEIROA-LOPEZ, K. J.; ANDRADE-MAHECHA, M. M.; TORRES-VARGAS, O. L. Development of Antimicrobial Biocomposite Films to Preserve the Quality of Bread. **Molecules**, v.23, n.1, p. 1-18, 2018.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2007. 424p.

FRANZON, R. C.; CAMPOS, L. Z. O.; PROENÇA, C. E. B.; SOUSA-SILVA, J. C. **Araçá do gênero Psidium: principais espécies ocorrência, descrição e uso**. Embrapa Cerrado, planaltina, DF, 2009. 48p.

GAHAN, P. B. **Plant Histochemistry and Cytochemistry: an Introduction**. London: Academic Press. 1984. 301p.

GANIARI, S.; CHOULLITOU, E.; OREOPOULOU, V. Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. **Trends in Food Science e technology**, v. 68, p.70-82, 2017.

GOOGLE MAPS- localização. Disponível em: < <https://www.google.com.br/maps/dir/-27.5819452,-48.5056276/Cruz+Alta,+RS/@-28.7676881,-52.178563,8z/data=!3m1!4b1!4m1!0!4m9!1m1!4e1!1m5!1m1!1s0x94fd962af931d469:0xfca029b2de6a7c51!2m2!1d-53.605355!2d-28.6454883!3e0>> . Acesso em: 05 de dezembro de 2018.



GORDON, E. M.; MCCANDLESS, E. L. Ultrastructure and histochemistry of *Chondrus crispus* Stack. **Proceedings of Nova Scotia Institute of Science**, v. 27, p. 111-133, 1973.

GOVAERTS, R.; SOBRAL, M.; ASHTON, P.; BARRIE, F.; HOLST, B. K.; LANDRUM, L. L.; MATSUMOTO, K.; MAZINE, F. F.; LUGHADHA, E. N.; PRONEÇA, C.; SOARES-SILVA, L. H.; WILSON, P. G.; LUCAS, E. **World Checklist of Myrtaceae**. Royal Botanic Gardens, 2008. 455p.

GRANATO, D. Determinação de compostos fenólicos maioritários em alimentos e extratos vegetais: Orto-difenólicos, flavonoides totais, antocianinas, proantocianidinas e flavonóis totais. In: GRANATO, D.; NUNES, D. S. **Análise Química, Propriedades Funcionais e Controle de Qualidade de Alimentos e Bebidas**: uma abordagem teórico-prática. 1.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. Cap.8, p.193-221.

GÜLÇİN, J.; OKTAY, M.; KIREÇCI, E. KÜFREVIÖGLU, Ö. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. **Food Chemistry**. v.83, p.371-382, 2003.

HOLST, B.; WILLIAMSON, G. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. **Current Opinion in Biotechnology**. v.19, n.2, p.73-82, 2008.

HAMINIUK, C.W.I.; SIERAKOWSKI, M.R.; VIDAL, J.R.M.B. MASSON, M.L. Influence of temperature on the rheological behavior of whole aracá pulp (*Psidium cattleianum* Sabine). **LWT- Food Science and Technology**, v. 39, p. 426-430, 2006.

HSU, B.; COUPAR, I.M.; NG, K. Antioxidante activity of hot water extract from the fruit of the Doum palm, *Hyphaene thebaica*. **Food Chemistry**, v. 98, p. 317- 328, 2016.

KRAUS, J.E.; SOUSA, H.C.; REZENDE, M.H.; CASTRO, N.M.; VECCHI, C. & LUQUE. Astra Blue and Basic Fuchsin Double Staining of Plant Materials. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 73, n. 5, p. 235-243, 1998.

KIRSCHWENG, B.; TATRAALJAI; FÖLDES, F; PUKÁNSZKY, B. Natural antioxidants as stabilizers for polymers. **Polymer Degradation and Stability**, v.145, p. 25-40, 2017.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, 2008.

IBGE - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola Estatística da Produção Agrícola 2018. Disponível em: [ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Agricola/Levantamento\\_Sistematico\\_da\\_Producao\\_Agricola\\_\[mensal\]/Fasciculo\\_Indicadores\\_IBGE/estProdAgr\\_201803.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgr_201803.pdf) acesso em: 11 de dezembro de 2018.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

LAKO, J.; TRENERRY, C.V.; WAHLQVIST, M.; WATTANAPENPAIBOON, N.; SOTHEESWARAN, S.; PREMIER, R. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. **Food Chemistry**, v. 101, p.1727–1741, 2007.

LOPES, M. M. A.; SILVA, E. O. Araçá- *Psidium cattleianum* Sabine. In: RODRIGUES, S.; SILVA, E. O.; BRITO, E. S. **Exotic Fruits**. Amsterdam: Elsevier, 2018. 31-36p.

LI, D.; ZHU, Z.; SUN, D. Effect of freezing on cell structure of fresh cellular food materials: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v.75; p.46-55,2018.

LIMA, R. S.; FERREIRA, R. S.; VITALI, L.; BLOCK, J. M. May the superfruit red guava and its processing waste be a potential ingredient in functional foods? **Food Reseach international**. v.115, p.451-459, 2019.

LIN, D.; XIAO, M.; ZHAO, J.; LI, Z.; XING, B.; LI, X.; KONG, M.; LI, L.; ZHANG, Q.; LIU, Y.; CHEN, H.; QIN, W.; WU, H.; CHEN, S. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. **Molecules**, v.21, n.10, p. 2-19, 2016.

LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, T.; CROZIER, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p.496-502, 2003.

MASISI, K.; BETA, T.; MOGHADASIAN, M. H. Antioxidant properties of diverse cereal grains: A review on in vitro and in vivo studies. **Food Chemistry**, v. 196, p. 90–97, 2016.

MATTOS, E. C.; MARCIANO, M. A. M.; NOGUEIRA, M. D.; SOARES, J. S.; SILVA, A. M. Avaliação microscópica de alimentos: fundamentos e aplicação no controle de qualidade. In: GRANATO, D.; NUNES, D. S. **Análise Química, Propriedades Funcionais e Controle de Qualidade de Alimentos e Bebidas: uma Abordagem Teórico-Prática**. 1.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. Cap.1, p.1-26.

MCCOOK-RUSSELL, K. P.; NAIR, M. G.; FACEY, P. C. BOWEN-FORBES, C. S. Nutritional and nutraceutical comparison of Jamaican *Psidium cattleianum* (strawberry guava) and *Psidium guajava* (common guava) fruits. **Food Chemistry**, v.132, n, 2, p.1069-1073, 2012.

MEDINA, L. A.; HAAS, L. I. R.; CHAVES, F. C.; SALVADOR, M.; ZAMBIAZI, R. C.; SILVA, W. P.; NARA, L.; ROMBALDI, C. V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v.128, n.4, p.916-922, 2011.

MELO, E. B.; MARTINS, J. P. A.; JORGE, T. C. M.; FRIOZI, M. C.; FERREIRA, M. M. C. Estudo multivariado de QSAR sobre a atividade antimutagênica de flavonóides contra 3-NFA sobre *Salmonella typhimurium* TA98. **Revista Européia de Química Medicinal**, v. 45, p.4562-4569, 2010.

MELO, A. P. C.; SELEGUINI, A.; VELOSO, V. R. S. Caracterização física e química de frutos de araçá (*Psidium guineense* Swartz) **Comunicata Scientiae**, v. 4, n. 1, p. 91-95, 2013.

MERCADANTE, A.Z. Carotenoids in foods: sources and stability during processing and storage. In: **Food colorants – Chemical and**

Functional Properties. SOCACIU, C. (Ed.). CRC, New York, p. 213-240, 2008.

MICHELIN, D. C.; MORESCHI, P.E.; LIMA, A.C.; NASCIMENTO, G.G.F.; PAGANELLI, M.O.; CHAUD, M.V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 316-320, 2005.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MORESCO, K. S.; CARVALHO, A. V.; RIOS, A. O.; FLÔRES, S. H. Atividade antioxidante e compostos fenólicos de cinco acessos de pimentas *Capsicum chinense*. In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 4., 2012, Gramado. Retorno às origens: anais. Gramado: SBCTA-RS, 2012.

MORAIS, L. M. F.; CONCEIÇÃO, G. M.; NASCIMENTO, J. M. Família *Myrtaceae*: Análise morfológica e distribuição geográfica de uma coleção botânica. **Academy, Agrarian**. v.1, n. 01; p. 2014 – 2031, 2014.

MÔRO, F. V.; NATALE, W.; FILHO, C. F. D.; PRADO, R. M. Morfologia de frutos de goiabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n.1, p.32-34, 2003.

NAN, X.; VERRILL, L.; KIM, J. Mapping sources of food safety information for U.S. consumers: findings from a national survey. **Journal Health Communication**, v. 32, n. 3, p. 356-365, 2017.

NEHRING, P. **Avaliação da capacidade antioxidante e compostos fenólicos em diferentes estádios de maturação da grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamareck)**. Florianópolis: SC, 2016. Apresentado como dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, 2016.

NERI-NUMA, I. A.; SANCHO, R. A. S.; PEREIRA, A. P. A.; PARTORE, G. M. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health- promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, v.103, p.345-360, 2018.

NINAGAWA, T.; EGUCHI, A.; KAWAMURA, Y.; KONISHI, T.; NARUMI, A. A study on ice crystal formation behavior at intracellular freezing of plant cells using a high-speed camera. **Cryobiology**, v. 73, n.1, p.20-29, 2016.

NÚÑEZ-SELLÉS, A. J. Antioxidant therapy: myth or reality? **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.16, n.4, p. 699-710, 2005.

NUNES, D. S.; BESTEN, M. A. Análise qualitativa de metabólitos secundários de vegetais. In: GRANATO, D.; NUNES, D. S. **Análise Química, Propriedades Funcionais e Controle de Qualidade de Alimentos e Bebidas: uma Abordagem Teórico-Prática**. 1.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. Cap.1, p.1-26.

O'BRIEN, T. P.; MCCULLY, M. E. **The Study of Plant Structure: Principles and Selected Methods**. Melbourne: Termarcarphy Pty, 1981, 357p.

OLIVEIRA, R.; AKISUE, F. **Fundamentos de Farmacobotânica e de Morfologia Vegetal**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2009, p. 224.

ORDÓÑEZ, J. A. P. **Tecnologia de Alimentos: Componentes dos Alimentos e Processos**. Vol. 1. Porto Alegre: Artmed, 2007. 294p.

PATEL, S. Exotic tropical plant *Psidium cattleianum*: a review on prospects and threats. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v.11, p. 243–248, 2012.

PEREIRA, E. S.; VINHOLES, J.; FRANZON, R. C.; DALMAZO, G.; VIZZOTTO, M.; NORA, L. *Psidium cattleianum* fruits: a review on its composition and bioactivity. **Food Chemistry**, v. 258, p.95-103, 2018.

POMER, C. V.; OLIVEIRA, O. F.; SANTOS, C. A. F. **Goiaba Recursos Genéticos Melhoramento**. Mossoró: EDUFERSA. 2013. 126p.

PROVESI, J. G.; AMANTE, E. R. Revisão: Proteínas anticongelantes – uma tecnologia emergente para o congelamento de alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.18, m.1, p.2-13, 2015.

REISSIG, G. N.; VERGARA, L. P.; FRANZON, R. C.; RODRIGUES, R. S.; CHIM, J. F. Bioactive compounds in conventional and no added sugars red strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) jellies. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.38, n. 3, p.1-7, 2016.

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, p.883–890, 2008.

RIBEIRO, C. A. O.; FILHO, H. S. R.; GRÖTZNER, G. S. R. **Técnicas e Métodos para Utilização Prática em Microscopia**. Santos: editora santos, 2012. 440p.

RIBEIRO, L. C. **Produção de acerola em pó: métodos de secagem e avaliação da estabilidade**. Fortaleza, CE, 2014. Apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal do Ceará, 2014.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. São Paulo: Ed. Premier, 1997. 372p.

RODRIGUEZ-MATURINO, A.; TRONCOSO-ROJAS, R.; SÁNCHEZ-ESTRADA, A.; GONZÁLEZ-MENDOZA, D. Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annumannum* var. *glabriusculum*) em *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 47, p. 72-77, 2015.

ROSEIRA, M. B.; ROSEIRA, A. **Contribuição ao estudo do araçazeiro: *Psidium catteyanum***. Pelotas: Embrapa-CPACT, 1996. 97p.

RODRIGUES, A. C.; AMANO, É.; ALMEIDA, S. L. **Anatomia Vegetal**. Florianópolis: Editora UFSC, 2010. 154p.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. **The Journal of Nutrition**. v. 130, n.8, p. 2073-2085, 2000.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 6.ed., Florianópolis: Editora UFSC. Ed. da UFRGS, 2007. 1102p.

SHI, J.; NAWAZ, H.; POHORLY, J.; MITTAL, G.; KAKUDA, I.; JIANG, Y. Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods-engineering and technology. **Food Reviews International**, v. 21, p. 139-166, 2005.

SCHULZ, M.; BORGES, G. S. C.; GONZAGA, L. V.; TISCHER, S. K.; OLIVO, S. I. S. AZEVEDO, M. S.; NEHRING, P.; GOIS, J. S.; ALMEIDA, T. S.; VITALI, L.; SPUDEIT, D. A.; MICKE, G. A.; BORGES, L. G.; FETT, R. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. **Food Research International**, v. 77, p. 125–131, 2015.

SHULZ, M.; BILUCA, F. C.; GONZAGA, L. V.; BORGES, G. S. C.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; GOIS, J. S.; ALMEIDA, T. S.; BORGES, D. L. G.; MILLER, R. P. M.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v.228, p.447-452, 2017.

SILVA, M. R.; DIRACY LACERDA, B. C. L.; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, v.38, n.6, 2008.

SILVA, N. A.; RODRIGUES, E. MERCADANTE, A. Z.; ROSSO, V. V. Phenolic Compounds and Carotenoids from Four Fruits Native from the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.62, p. 5072–5084, 2014.

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

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia Ilustrado para Identificação das Famílias de Angiospermas da Flora Brasileira, Baseado no APG II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de estudos da flora, 2005. 640 p.

SUN, D. **Emerging Technologies for Food Processing**. 2 ed. London: Elsevier Academic Press, 2014. 666p.

TOPAL, U.; SASAKI, M.; GOTO, M.; HAYAKAWA, KIRO.  
Extraction of Lycopene from Tomato Skin with Supercritical Carbon Dioxide: Effect of Operating Conditions and Solubility Analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n.15, p. 5604-5610, 2006.

TSIMOGIANNIS, D.; OREOPOULOU, V. Classification of Phenolic Compounds in Plants. In: WATSON, R. R. **Polyphenols in Plants. Isolation, Purification and Extract Preparation**. 2 ed. Cambridge: Academic press, 2019. Cap. 16.p, 263-284.

WANG, B.; HUANG, Q.; VENKITASAMY, C.; CHAI, H.; GAO, H.; CHENG, N.; CAO, W.; LV, X.; PAN, Z. Changes in phenolic compounds and their antioxidant capacities in jujube (*Ziziphus jujuba* Miller) during three edible maturity stages. **LWT- Food Science and Technology**, v.66, p.56-62, 2016.

VINHOLES, J.; ROSA, G. L.; BARBIERI, L.; FRANZON, R. C.; VIZZOTTO, M. *In vitro* assessment of the antihyperglycemic and antioxidant properties of araçá, butiá and pitanga. **Food Bioscience**, v.19, p.92-100, 2017.

YANG, B.; LIU, H.; YANG, J.; GUPTA, V. K.; JIANG, Y. New insights on bioactivities and biosynthesis of flavonoid glycosides. **Trends in Food Science & Technology**, v. 76, p.116-124, 2018.

XIN, Y.; ZHANG, M.; XU, B.; ADHIKARI, B.; SUN, J. Research trends in selected blanching pretreatments and quick freezing technologies as applied in fruits and vegetables: A review. **International Journal of Refrigeration**, v. 57, p. 11-25, 2015.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999.



## ANEXO I

**Quadro I.** Parâmetros do espectrômetro de massas obtidos para os compostos fenólicos avaliados nas amostras de araçá vermelho safra 2017 e 2018.

Compostos fenólicos	DP	EP	CEP	CE	CXP
Ácido 4-aminobenzóico	- 20,0	- 9,5	- 10,0	- 16,0	- 2,0
Ácido salicílico	- 25,0	- 2,5	- 10,0	- 24,0	- 2,0
Ácido cinâmico	- 25,0	- 9,0	- 10,0	- 16,0	- 2,0
Ácido mandélico	- 20,0	- 7,5	- 10,0	- 12,0	- 2,0
Vanilina	- 25,0	- 3,0	- 14,0	- 14,0	- 2,0
Ácido 4-hidroximetilbenzóico	- 30,0	- 6,5	- 10,0	- 18,0	- 2,0
Ácido protocatecuico	- 26,0	- 9,0	- 17,3	- 17,0	- 4,0
Ácido p-cumárico	- 21,0	- 4,0	- 17,7	- 13,0	- 6,0
Ácido vanílico	- 30,0	- 7,0	- 10,0	- 18,0	- 2,0
Ácido gálico	- 25,0	- 11,0	- 12,0	- 20,0	- 4,0
Ácido caféico	- 30,0	- 11,0	- 10,0	- 22,0	- 2,0
Ácido ferúlico	- 40,0	- 7,0	- 10,0	- 24,0	- 2,0
Ácido siríngico	- 30,0	- 10,5	- 12,0	- 28,0	- 2,0
Apigenina	- 75,0	- 9,0	- 14,0	- 46,0	- 2,0
Galangenina	- 75,0	- 8,5	- 16,0	- 64,0	- 10,0
Aromadendrin	- 45,0	- 4,0	- 16,0	- 32,0	- 2,0
Catequina	- 55,0	- 4,5	- 14,0	- 34,0	- 4,0
Quercetina	- 80,0	- 6,0	- 14,2	- 32,0	0,0
Taxifolina	- 95,0	- 10,5	- 16,0	- 30,0	- 2,0
Ácido clorogénico	- 25,0	- 5,0	- 24,0	- 28,0	- 2,0
Epicatequina	- 290,0	- 4,0	- 16,0	- 40,0	- 2,0

DP: Potencial de desagregação; EP: Potencial de entrada; CEP: Potencial de entrada da célula de colisão; CE: Energia de colisão; CXP: Potencial de saída da célula de colisão.

Fonte: Adaptado de Schulz et al. (2015).

**Quadro II.** Íon precursor, íon quantitativo e tempo de retenção dos compostos fenólicos identificados nas amostras de araçá vermelho.

Compostos fenólicos	Ion precursor (m/z) Q1	Ion quantitativo (m/z) Q3	Tempo de retenção (minutos)
Ácido 4-aminobenzoico	135,85	91,900	10,47
Ácido salicílico	136,90	93,000	10,99
Ácido cinâmico	146,889	102,900	11,80
Ácido mandélico	150,875	107,000	7,86
Vanilina	150,892	136,000	10,42
Ácido 4-hidroxiacetilbenzoico	150,899	107,000	8,84
Ácido protocatecuico	153,019	109,000	6,95
Ácido p-cumárico	163,040	119,100	10,46
Ácido vanílico	166,831	152,00	9,65
Ácido gálico	168,836	125,000	3,98
Ácido caféico	178,834	135,000	9,45
Ácido ferúlico	192,856	134,000	10,73
Ácido siringico	196,862	153,000	10,01
Apigenina	268,794	117,100	12,62
Galangina	268,811	117,000	13,44
Aromadendrin	286,824	125,000	11,29
Catequina	288,853	123,000	8,82
Quercetina	301,010	151,000	10,84
Taxifolina	302,815	125,100	10,70
Ácido clorogênico	352,863	191,000	9,19
Epicatequina	288,948	122,30	9,41

Fonte: Adaptado de Schulz et al. (2015).

## APÊNDICE I

**Quadro III:** Regressão linear, coeficiente de determinação ( $R^2$ ), limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ) utilizados para os compostos fenólicos identificados nas amostras de araquá vermelho.

Compostos fenólicos	Regressão Linear	$R^2$	LOD (mg/L)	LOQ mg/L
Ácido 4-aminobenzóico	$y = 3304,5x + 384,62$	0,9962	0,430	1,140
Ácido salicílico	$y = 134308x + 38511$	0,9926	0,001	0,002
Ácido cinâmico	$y = 8521,1x + 2487,3$	0,9974	0,053	1,170
Ácido mandélico	$y = 32169x + 4894,6$	0,9915	0,010	0,070
Vanilina	$y = 42866x + 5162,4$	0,9930	0,0100	0,0400
Ácido 4-hidroximetilbenzóico	$y = 40819x + 3205,2$	0,9983	0,0100	0,0700
Ácido protocatecuico	$y = 54350x + 372$	0,9929	0,0047	0,0700
Ácido p-cumárico	$y = 3E+06x + 167750$	0,9977	0,00	0,0109
Ácido vanílico	$y = 151001x - 54,525$	0,9932	0,0100	0,0400
Ácido gálico	$y = 45060x + 301,12$	0,9918	0,0110	0,049
Ácido caféico	$y = 178715x + 6506,3$	0,9956	0,0077	0,0130
Ácido ferúlico	$y = 10179x + 1972,9$	0,9945	0,0150	0,0621
Ácido siríngico	$y = 133111x - 1580,8$	0,9972	0,0182	0,0633
Apigenina	$y = 3E+06x - 37433$	0,9965	0,0038	0,0060
Galangenina	$y = 2E+06x - 6543,7$	0,9981	0,0023	0,0079
Aromadendrin	$y = 226993x - 356,29$	0,9955	0,0046	0,0235
Catequina	$y = 15711x + 2398,6$	0,9947	0,0100	0,0190
Quercetina	$y = 56197x + 1575$	0,9924	0,0042	0,0055
Taxifolina	$y = 295963x + 6465,6$	0,9960	0,0075	0,0151
Ácido clorogênico	$y = 96472x - 12064$	0,9943	0,0032	0,0870
Epicatequina	$y = 9606x + 2068,3$	0,9947	0,0678	0,0689



