UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade De Ciências Farmacêuticas
Programa De Pós-Graduação Em Ciência Dos Alimentos
Área De Bromatologia

Caracterização de cereja-do-rio grande (*Eugenia involucrata* DC.) e grumixama (*Eugenia brasiliensis* LAM.), frutos nativos da Mata Atlântica, quanto a compostos voláteis e precursores.

Florença Maria Borges

Dissertação para obtenção do Título de Mestre
Orientador: Professor Doutor Eduardo Purgatto

São Paulo
2021

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos
Área de Bromatologia

Caracterização de cereja-do-rio grande (*Eugenia involucrata* DC.) e grumixama (*Eugenia brasiliensis* LAM.), frutos nativos da Mata Atlântica, quanto a compostos voláteis e precursores.

Florença Maria Borges
Versão Corrigida

Dissertação para obtenção do Título de Mestre
Orientador: Professor Doutor Eduardo Purgatto

São Paulo
2021

Florença Maria Borges

Caracterização de cereja-do-rio grande (*Eugenia involucrata* DC.) e grumixama (*Eugenia brasiliensis* LAM.), frutos nativos da Mata Atlântica, quanto a compostos voláteis e precursores.

Comissão Julgadora da dissertação para obtenção do Título de Mestre

Professor Dr. Eduardo Purgatto

Orientador

_____

1º. Examinador

_____

2º. Examinador

_____

3º. Examinador

_____

4º. Examinador

São Paulo, _____ de _____ de 202__.

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletronico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

B733c

Borges , Florenca Maria
Caracterização de cereja-do-rio grande (Eugenia involucrata DC.) e grumixama (Eugenia brasiliensis LAM.), frutos nativos da Mata Atlântica, quanto a compostos voláteis e precursores. / Florenca Maria Borges . - São Paulo, 2021.
70 p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.
Orientador: Purgatto, Eduardo

1. Aroma. 2. Amadurecimento. 3. Compostos Voláteis . 4. Frutas Nativas. 5. Cromatografia. I. T. II. Purgatto, Eduardo, orientador.

A minha mãe, Mary Helen, por sempre acreditar em mim.

Aos meus avós, Eurípedes e Ila, exemplos de vida, coragem e amor.

DEDICO E OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À minha família que sempre foi meu suporte para tudo.

Minha mãe, que sempre fez mais que seu papel, pelo apoio incondicional prestado a mim.

À minha irmã Maria Carolina Borges, sempre a postos para me ajudar e aconselhar no que fosse preciso.

Ao meu namorado, Alexandre França, por seu amor e companheirismo, nunca me deixando desistir.

Ao meu orientador Eduardo Purgatto, pela oportunidade de fazer parte de sua equipe. Pelo conhecimento, amizade e orientação durante todo o mestrado. Sua dedicação foi fundamental para a conclusão desta etapa.

Aos professores do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Farmácia da Universidade de São Paulo, pelos conselhos e orientações concedidos.

Aos técnicos do laboratório, Tânia pela paciência, por estar sempre disposta a me ajudar e ensinar, Aline e Luciene pela valiosa colaboração e auxílio no laboratório, Lúcia pelos seus conhecimentos, amizade e incentivo, principalmente nos momentos em que nada parecia dar certo.

A secretaria do FBA, pela atenção, disponibilidade e auxílio.

Agradeço a equipe do Laboratório de Pós-colheita de Produtos Hortícolas da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" /USP, pela confiança, auxílio e parceria no desenvolvimento do meu trabalho.

Aos parceiros, produtores e colecionadores de frutas nativas, pela disponibilização dos frutos.

Aos amigos e colegas de laboratório e do departamento. Em especial ao Lucas pela amizade e conhecimentos compartilhados, e ao Eric, pela orientação, incentivo e exemplo; Sem seu apoio eu nunca teria conseguido.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) por

conceder a bolsa inicial para o desenvolvimento do trabalho;

Agradeço à bolsa e apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho, processo nº 2018/21986-5, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

A todos que de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho.

RESUMO

BORGES, Florença Maria. **Caracterização de cereja-do-rio grande (*Eugenia involucrata* DC.) e grumixama (*Eugenia brasiliensis* LAM.), frutos nativos da Mata Atlântica, quanto a compostos voláteis e precursores.** 2021. Dissertação (Mestrado) – Faculdade Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

Mesmo reduzida e fragmentada, o vasto bioma da Mata Atlântica abriga milhares de plantas. Como destaque, tem-se as espécies frutíferas, aos quais podem ser atribuídas um importante valor para a segurança alimentar, nutricional e sociocultural. Entre elas, têm-se a cereja-do-rio grande (*Eugenia involucrata* DC.) e a grumixama (*Eugenia brasiliensis Lam.*), caracterizadas pela polpa de sabor doce-acidulado, sendo muito apreciadas e utilizadas tanto *in natura*, quanto no preparo de doces, xaropes, licores e geleias. Uma das características determinantes para o sucesso e aceitação destes frutos pelo consumidor, são os atributos de qualidade sensorial. As propriedades aromáticas dos frutos dependem da potência individual dos voláteis e a concentração de cada um, bem como a combinação com outros compostos. Todavia, apesar do grande potencial de mercado, devido às características nutricionais, fitoterápicas, potencial funcional e ao sabor exótico, os plantios existentes destas são oriundos de multiplicação por sementes, resultando em plantas desuniformes quanto as características de produção e qualidade. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo identificar metabólitos voláteis que confiram características sensoriais desejáveis aos frutos. Auxiliando na identificação de plantas que produzem frutos com voláteis de interesse para o sabor, o que permitirá a clonagem e propagação de plantas com homogeneidade na produção. Os compostos voláteis foram analisados em triplicata, de acordo com o método de microextração em fase sólida (SPME, do inglês *Solid Phase Microextraction*). Os resultados mostraram que os grupos de frutos das diversas regiões se diferenciaram quanto a composição dos metabolitos voláteis, bem como na abundância destes compostos. Observou-se também uma variação de composição entre as árvores da mesma região demonstrando tal irregularidade ocasionada pela propagação por sementes. A maioria de compostos voláteis produzidos foram identificados como terpenos, sendo estes já conhecidos pela importância no *flavor* em frutos. Desta forma, conhecer o aroma fornecerá um conjunto de dados que são subsídios para outros pesquisadores trabalharem em suas diversas áreas buscando características necessárias para o sucesso da comercialização, ocasionando no incentivo ao cultivo e valorização da riqueza nacional, no âmbito das espécies frutíferas, com vistas à proteção ambiental e em defesa da biodiversidade brasileira.

Palavras-chaves: Amadurecimento; Aroma; Cromatografia a gás- espectrometria de massas; fruto nativo.

ABSTRACT

BORGES, Florença Maria. **Volatile Compounds and Precursors Characterization of the Grumixama (*Eugenia brasiliensis* LAM.) and Cereja-do-Rio-Grande (*Eugenia involucrata* DC.), Atlantic Forest Native Fruits.** 2021. Defense Exam (master's in food sciences - Area: Bromatology) -Department of Food and Experimental Nutrition - FCF, University of São Paulo, SãoPaulo, 2021.

The Atlantic Forest harbors thousands of plants despite of its reduced and fragmented character. It is important to highlight the fruit species which hold attributed and important value for food and socio-cultural security. Among them, there are the big cherry (Eugenia involucrata DC.) And the grumixama (Eugenia brasiliensis Lam.), fruit with sweet-acidulated flavor, which is much appreciated and used in the preparation of sweets, syrups, liqueurs, and jellies. One of the determining characteristics for the success and acceptance of these fruits by the consumer are the attributes of sensorial quality. The aromatic properties of the fruits depend on the individual potency of the volatiles and the concentration in each one of them, as well as the combination with other compounds. Despite of the great market potential due to the nutritional, phytotherapic and exotic flavor characteristics, the existing plantations of these fruits are originated from seed multiplication, resulting on uneven plants in terms of production and quality characteristics. In this sense, the presented work below was aimed to identify volatile metabolites that confer desirable sensorial characteristics to the fruits. The volatile compounds were analyzed in triplicate according to the Solid Phase Microextraction (SPME) method. The results showed that the fruit groups from different regions differed in terms of the composition of volatile metabolites, as well as in the abundance of these compounds. There was also a variation of composition among the trees of the same region which demonstrated such heterogeneity caused by seed propagation. Most volatile compounds produced were identified as terpenes which are known for playing an important role in the flavor of fruits. In this way, by knowing the aroma, a set of data will be provided and used as an allowance for other researchers who are working in the various areas related to the pursue of the necessary characteristics for the commercial success, resulting on the motivation to cultivate and value the forest.

Key words: Volatile compounds; Gas Chromatography–Mass Spectrometry;Brazilian fruit;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fruto de Grumixama roxa (E. brasiliensis Lam.) 12
Figura 2- Fruto Cereja-do-Rio- Grande (Eugenia involucrata DC). 13
Figura 3- Principais precursores e vias de formação de compostos voláteis em plantas. 18
Figura 4- Fluxograma do plano de trabalho do subprojeto 1: Caracterização das plantas e dos frutos das quatro espécies de fruteiras da Mata Atlântica, parte do Projeto Temático FAPESP "Frutas da Mata Atlântica potencialmente funcionais: caracterização, multiplicação de plantas e conservação pós-colheita" (Processo 2014/12606-3). Sublinhados estão o material e as atividades relacionadas ao presente projeto para o mestrado.....24
Figura 5- Mapa do Estado de São Paulo com regiões no qual as amostras adquiridas e respectivas imagens dos frutos. A) Pariquera-Açu. B) Paraibuna. 26
Figura 6- Mapa do Estado de São Paulo com regiões no qual as amostras adquiridas e respectivas imagens dos frutos.....27
Figura 7- Ilustração do processo de extração por microextração em fase sólida (SPME) e dessorção da fibra em cromatógrafo gasoso. 30
Figura 8- Análise multivariada dos compostos voláteis de Grumixama amostradas nas cidades de Paraibuna e Pariquera-Açu. A) Análise de grupamento hierárquico e Heatmap. Em A, as cores vermelho e azul indicam altos e baixos níveis de compostos, respectivamente. B) Score plot discriminativo como componente principal (PCA) a diferença entre os acessos na região de Paraibuna (BE) e Pariquera-Açu (PA). 41
Figura 9- Perfil comparativo da distribuição dos compostos voláteis entre as regiões de Paraibuna (BE) e Pariquera-Açu (PA). 43
Figura 10- Análise multivariada dos compostos voláteis de Grumixama amostradas nas cidades de Paraibuna (BE). A) Análise de grupamento hierárquico e Heatmap. Em A, as cores vermelho e azul indicam altos e baixos níveis de compostos, respectivamente. B) Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) em 2D e seu respectivo gráfico em 3D. 45
Figura 11 - Perfil descritivo da distribuição dos compostos voláteis entre as regiões de Paraibuna (BE) e Pariquera-Açu (PA). 46
Figura 12- Análise multivariada dos compostos voláteis terpenicos de Grumixama amostradas nas cidades de Pariquera-Açu (PA). A) Análise de grupamento hierárquico e Heatmap. Em A, as cores vermelho e azul indicam altos e baixos níveis de compostos, respectivamente. B) Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) em 2D e seu respectivo gráfico em 3D. 48
Figura 13- Análise multivariada dos compostos voláteis de Cereja-do-Rio Grande amostradas nas cidades de Ibitinga, Piracicaba, Rio Claro, Salesópolis e Jundiaí. A) Análise de grupamento hierárquico e Heatmap. Em A, as cores vermelho e azul indicam altos e baixos níveis de compostos, respectivamente. B) Score plot discriminativo como componente principal (PCA) a diferença entre as regiões amostradas. ---------- 56

Figura 14 - Perfil comparativo da distribuição dos compostos voláteis de Cereja-do-Rio Grande amostradas nas cidades de Ibitinga, Piracicaba, Rio Claro, Salesópolis e Jundiaí.----------57

LISTA DE TABELA

Tabela 1- Conteúdo de açúcares em frutos de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.), das cidades de Paraibuna (BE) e Pariquera-açu (PA), expressos em matéria integral. 33
Tabela 2- Conteúdo de ácidos orgânicos em frutos de grumixama (Eugenia brasiliensis Lam.), das cidades de Paraibuna (BE) e Pariquera-açu (PA), expressos em matéria integral. Resultados representados pela média dos valores obtidos em três repetições. 35
Tabela 3- Descrição dos compostos voláteis, com respectivas notas aromáticas, CAS e siglas, identificadas em Grumixama (*Eugenia brasiliensi*s Lam.), nas cidades de Paraibuna (B) e Pariquera-Açu (P)- SP. 38
Tabela 4: - Conteúdo de açúcares em frutos de cereja do Rio Grande (*Eugenia involucrata* DC.), coletados nas cidades de Jundiaí, Rio Claro, Salesópolis, Campestre, Piracicaba e Ibitinga, expressos em matéria integral. 51
Tabela 5: Conteúdo de ácidos orgânicos em frutos de cereja do Rio Grande (*Eugenia Involucrata* DC.), expressos em matéria integral. Resultados representados pela média dos valores obtidos em três repetições.....53
Tabela 6: Descrição dos compostos voláteis, com respectivas notas aromáticas, CAS e classe, identificadas em cereja do Rio Grande (Eugenia Involucrata DC). 54

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 8
2. **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA** 10
2.1. **Mata Atlântica** 10
2.2. **Myrtaceae** 11
2.2.1. Grumixama (*E. brasiliensis* Lam.) 11
2.2.2. Cereja-do-Rio-Grande (*Eugenia involucrata* DC) 13
2.3. **Frutas nativas: Um potencial a ser explorado** 15
2.4. **Compostos voláteis** 17
2.4.1. Biossíntese dos Compostos Voláteis 17
2.5.1. Carboidratos 21
2.5.2. Ácidos Orgânicos 21
3. OBJETIVOS 22
4. JUSTIFICATIVA 23
5. MATERIAIS E MÉTODOS 26
5.1. **Amostragem** 26
5.1.1. Grumixama (*Eugenia brasiliensis* LAM.) 26
5.1.2. Cereja do Rio Grande 27
5.2. **Açucares Solúveis** 28
5.3. **Ácidos Orgânicos** 29
5.4. **Compostos Voláteis** 30
5.5. **Estatística** 32
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO 33
6.1. **Grumixama** 33
6.1.1. Açucares solúveis 33
6.1.2. Ácidos Orgânicos 35
6.1.3. Compostos Voláteis 37
6.2. Cereja do Rio Grande 51
6.2.1. Açucares 51
6.2.2. Ácidos Orgânicos 52
6.2.3. Compostos Voláteis 53
7. CONCLUSÃO 59
8. REFERÊNCIAS 60

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), cerca de trinta mil espécies de plantas terrestres são comestíveis, contudo, apenas 30 culturas são responsáveis por 95% das necessidades de energia da alimentação humana – arroz, trigo e milho representando 40% dessas necessidades nutricionais. Embora o potencial de aproveitamento, promoção e uso de nossos frutos nativos seja de extrema valia e relevância, esse tema ainda não é devidamente considerado. Grande parte desta diversidade genética é pouco conhecida, fazendo se carente de informações científicas, o que coloca em risco sua exploração comercial e seu consumo, mesmo possuindo potencialidades nutricionais, funcionais e agroindustriais para se tornarem competitivas, tal qual as frutíferas tradicionais.

O Brasil possui a maior diversidade de flora do mundo, calculada em 49.989 espécies (Flora do Brasil 2020). O bioma da Mata Atlântica destaca-se neste contexto, pois, mesmo sendo considerado um dos ecossistemas mais alterados do planeta (apenas 11-16% de sua área original) (Ribeiro et al. 2009), possui domínio fitogeográfico abrangendo 47% do número total de espécies vegetais registradas no país e o bioma mais rico em Angiospermas (BFG, 2015).

Através do controle sob os sistemas agroalimentares pelas corporações transnacionais, têm-se uma progressiva padronização das dietas e, consequentemente, o negligenciamento e abandono de uma enorme diversidade de plantas alimentícias não convencionais (Panc's), importantes para a segurança alimentar, nutricional e sociocultural dos povos. Neste sentido, destacam-se os frutos, os quais representam uma fonte importante de nutrientes para o nosso organismo, sendo especialmente ricos em vitaminas e minerais (Rolls et al., 2004).

Hoje existe um grande interesse na exploração de espécies frutíferas nativas, a fim de diversificar e ampliar a oferta daqueles com potencial de novos mercados. Esse interesse não parte apenas dos pesquisadores e agricultores, mas também da população, que busca cada vez mais novas alternativas de alimentação saudável, com enfoque nas propriedades funcionais.

Paralelamente, o potencial de conservação e consumo de um fruto está diretamente relacionado com o manejo adequado, condições climáticas e práticas adotadas. Porém, a falta de conhecimento do crescimento e desenvolvimento das de muitas espécies frutíferas, da bioquímica e da fisiologia dos frutos, e de aspectos relativos à produção (infraestrutura

adequada, logística de distribuição, entre outros) são os principais fatores responsáveis pelas perdas pós colheita. Desta forma sua qualidade é dependente de um conjunto de fatores e medidas a serem tomadas, desde o plantio até o consumidor final (Chitarra & Chitarra, 1990).

Dentre as características importantes e determinantes para o sucesso desses frutos na comercialização estão os atributos de qualidade sensorial, com destaque ao aroma, importante influência para a aceitação final pelo consumidor (Lewinsohn et al., 2001). A composição dos sabores foi definida como um atributo complexo de qualidade, no qual a mistura de açúcares, ácidos e compostos voláteis desempenha um papel primordial (Baldwin, 2002). As propriedades aromáticas dos frutos dependem da nota aromática, potência e concentração final individual dos compostos voláteis produzidos durante o amadurecimento, em combinação entre si e com outros compostos.

Os compostos voláteis das plantas são compostos de baixo peso molecular pertencentes a várias classes orgânicas como álcoois, cetonas, ésteres e aldeídos. Estes foram identificados como sendo derivados de três principais grupos de metabólitos: ácidos graxos, aminoácidos e carboidratos (Kader, 2008). Tais compostos atuam no mecanismo de defesa contra microrganismos e herbívoros, assim como na comunicação entre as plantas e na atração de agentes dispersores de sementes (Marín-Loaiza & Céspedes, 2007). De um ponto de vista relativo ao consumo humano, os compostos voláteis influenciam diretamente no que conceituamos como qualidade dos frutos. Face a sua importância, identificar as diferentes vias de síntese destes compostos e dos mecanismos moleculares que as regulam é de grande importância para o desenvolvimento de novas técnicas em manejo pós-colheita que visem preservar a qualidade sensorial e nutricional dos frutos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Mata Atlântica

Os limites da Mata Atlântica Brasileira abrangem originalmente cerca de 15% do território nacional, o que inclui 17 Estados (Alagoas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Sergipe) (SOS Mata Atlântica 2019). Este bioma é composto por um conjunto de formações florestais (Florestas: Ombrófila Densa, Ombrófila Mista, Estacional Semidecidual, Estacional Decidual e Ombrófila Aberta) e ecossistemas associados como restingas, manguezais e campos de altitudes (IBGE, 2008).

Em virtude da sua biodiversidade e dos níveis de ameaça, a Mata Atlântica, ao lado de outras 24 regiões localizadas em diferentes partes do planeta, foi indicada por especialistas, em um estudo Coordenado pela Conservação Internacional, como um dos 25 *hots pots* mundiais, ou seja, áreas que perderam pelo menos 70% de sua cobertura vegetal original, mas que, juntas, abrigam mais de 60% de todas as espécies terrestres do planeta (Galindo-Leal; Câmara, 2005), se tornando uma das prioridades para a conservação da biodiversidade em todo planeta (MMA, 2015).

Hoje, restam apenas 12,4% da floresta que existia originalmente e, desses remanescentes, 90% estão em áreas privadas. Esta situação é preocupante, visto que tal recurso natural se destaca por sua alta diversidade. A floresta atlântica abriga mais de 20 mil espécies de plantas, das quais 50% são endêmicas, ou seja, espécies que não existem em nenhum outro lugar do mundo (Sparovek, et al. 2011). Entre as famílias arbóreas mais expressivas, destaca-se a importância da Myrtaceae na estrutura da floresta, sendo uma das famílias lenhosas dominantes (Siqueira, 1994).

2.2. **Myrtaceae**

Myrtaceae é uma família de plantas compostas por 132 gêneros e mais de 5.950 espécies (Christenhusz & Byng, 2016). Sua ocorrência abrange todos os continentes, à exceção da Antártica, demonstrando nítida predominância no Hemisfério Sul e América Neotropical (Barroso, 1991; Marchiori & Sobral, 1997). Constitui uma das mais importantes famílias de Angiospermas no Brasil, com 23 gêneros e aproximadamente 1.000 espécies (BFG, 2015), representando grande importância na pluralidade das formações vegetais. Em sua maioria, as mirtáceas brasileiras são plantas lenhosas que, em âmbito comercial, não produzem madeiras valiosas (Marchiori & Sobral, 1997). Todavia, esta família abrange numerosas espécies frutíferas, com grande potencial econômico a ser explorado (Lorenzi et.al 2006).

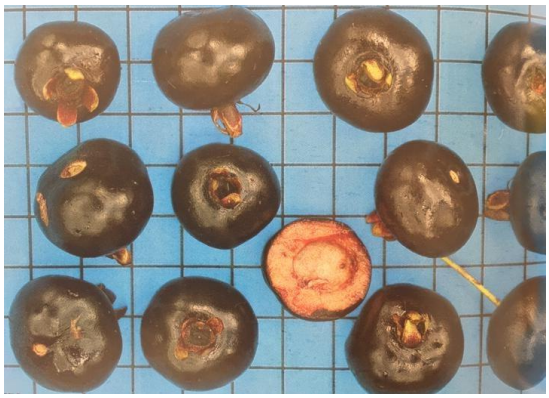
Os principais gêneros de Myrtaceae são: *Myrtus; Psidium; Pimenta; Eugenia; Pseuocaryophyllus; Syzygium; Eucalyptus; Leptospermum; Plinia* e *Malaleuca* (Lorenzi et.al 2006). O gênero *Eugenia* encontra-se nos diversos biomas do Brasil, com cerca de 350 espécies nativas (Govaerts et al., 2019), sendo mais abundantemente encontradas na Mata Atlântica (Oliveira-Filho & Fontes, 2000). Algumas espécies com frutos comestíveis são cultivadas e conhecidos na região, por exemplo, grumixama (*E. brasiliensis* Lam.) e cereja-do-rio-grande (*E. involucrata* DC.).

2.2.1. Grumixama (*E. brasiliensis* Lam.)

O nome grumixama deriva do Tupi-Guarani “grumichã”, que significa “o que pega na língua” (Teixeira et al 2018). Tem como nome mais conhecido, em termos botânicos, *Eugenia brasiliensis* Lam., porém apresenta sinônimos; *Eugenia filipes* Bail, *Myrtus dombeyi* Spreng, *Stenocalix brasiliensis* Lam., O. Berg. e *Eugenia bracteolaris* Lam. (Sartori, 2012). Popularmente, também pode ser conhecida como cereja brasileira, grumixaba, cumbixaba e ibaporoiti (Pietrovski et al., 2008; Sartori, 2012). Sua polpa é doce acidulada, sendo muito apreciada in natura, entretanto, devido a sua alta perecibilidade seu consumo tem sido favorecido pela produção de polpas, sucos, doces em massa e geleias (Lorenzi, 2006).

A grumixameira é uma árvore frutífera perenifólia de copa densa, nativa das regiões sul e sudeste da Mata Atlântica do Brasil, podendo chegar a 15 metros de altura. Produz muitos frutos do tipo drupa globosa (Figura 1), pequenos (aproximadamente 2,0 cm de diâmetro) e cuja casca é lisa brilhante (Lorenzi et al., 2006). São reconhecidas três variedades de acordo com suas cores frutíferas: (1) α-variedade, com frutos roxos, mais comuns (usados neste estudo); (2) β-Variedade, com frutos vermelhos e (3) γ-variedade, com frutos brancos ou amarelos. (Teixeira, 2018).

Figura 1- Fruto de Grumixama roxa *(E. brasiliensis Lam.)*



Fonte: Sartori (2012)

Flores, frutos e casca de madeira da espécie *Eugenia brasiliensis* Lamark têm sido utilizados no tratamento da artrite, diabetes e do reumatismo pela medicina popular (Queiroz et al., 2015). Magina e colaboradores (2009) demonstraram que o óleo essencial extraído das folhas da *E. brasiliensis* Lam. possui forte ação inibitória frente ao *Staphilococcus aureus* e ação moderada contra cepas de *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

A coloração característica da grumixama roxa indica a presença de pigmentos antociânicos, o que ocorre com outros frutos da mesma família (Banerjee & Dasgupta, 2005) os quais são importantes devido às suas propriedades antioxidantes. Teixeira et al. (2015) identificaram elagitaninos e flavonóides em variedades de E. *brasiliensis*. Nos frutos de variedade roxa foram encontradas duas classes de flavonoides, entre elas cinco tipos de antocianinas e dois tipos de flavonóis, bem como outros compostos fenólicos. Nos frutos de coloração amarela foram encontradas duas classes de flavonoides e dois derivados de ácido

elágico foram detectados. As antocianinas, como esperado, foram encontradas apenas no fruto de variedade roxa, demonstrando diferença no perfil das duas variedades.

2.2.2. Cereja-do-Rio-Grande (*Eugenia involucrata* DC)

A espécie *Eugenia involucrata* DC. (Figura 2) é nativa do Sul do Brasil, ocorre desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul (Donadio et al., 2002) e é conhecida popularmente como cerejeira-do-mato, cerejeira-do-rio-grande, cerejeira-da-terra, pitanga-preta ou cerejeira (Carvalho, 2008). A arvore da cereja-do-rio-grande pode atingir entre 5 e 15 metros de altura, e possui frutos doces e delicados, podendo ser aproveitados para produção de doces, geleias, licores ou consumo in natura. Estes são classificados como drupa piriforme, glabra e brilhante, coroada por um cálice persistente. Se apresentam de tamanhos variáveis e amadurecem rapidamente, assumindo coloração que varia de vermelha brilhante à vinácea escura (Lorenzi et al., 2006, Carvalho, 2008).

Figura 2- Fruto Cereja-do-Rio- Grande *(Eugenia involucrata DC).*

Fonte: Sartori (2012)

Os frutos possuem considerável conteúdo de carotenoides e antocianinas, sendo uma fonte promissora de compostos antioxidantes naturais (Pereira et al., 2008). Infante et al (2016), sugerem em estudo com frutos nativos, incluindo *Eugenia involucrata*, que a atividade anti-inflamatória desses frutos está relacionada à modulação da migração de neutrófilos, através da inibição de citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão, bem como à ação antioxidante de seus extratos etanólicos, sequestrando os radicais livres liberados pelos neutrófilos. Foi observado por Marin et al. (2008) a presença de 66 compostos voláteis nos óleos essenciais de

frutos desta espécie, com destaque para o β-cariofileno (10,1%), espatulenol (7,8%) e β-bisaboleno (7,2%), evidenciando sua riqueza em compostos aromáticos e seu potencial comercial.

2.3. **Frutas nativas: Um potencial a ser explorado**

Em 2019 a FAO lançou o primeiro relatório do "Estado da Biodiversidade Mundial para Alimentação e Agricultura" buscando demonstrar evidências acerca do desaparecimento da biodiversidade que sustenta o sistema alimentar no planeta. Uma vez que a heterogeneidade biológica tem papel fundamental na proteção à segurança alimentar global, sustentar dietas saudáveis e nutritivas, melhorar os meios de subsistência rurais e a resiliência das pessoas e comunidades, sua preservação é de suma importância e requer iniciativas em todos os setores socioeconômicos. Informes de 91 países embasaram as análises acerca das informações globais do relatório que aponta para o uso de um número limitado de espécies no cultivo e produção dos alimentos. Estipula-se que existem 50 mil plantas comestíveis disponíveis no mundo, das quais menos de 200 contribuem substancialmente para a produção global de alimentos e apenas nove respondem por 66% da produção agrícola total.

Devido a sua localização, o Brasil abriga uma das maiores biodiversidades do Planeta, com inúmeras espécies nativas. As frutíferas ocupam lugar de destaque, no qual a enorme riqueza destas espécies no território nacional se contrapõe paradoxalmente à baixa utilização delas. Por outro lado, a exploração destes frutos vem despertando interesse devido a sua qualidade sensorial e potencial funcional, com vistas ao desenvolvimento da comercialização em diferentes setores alimentícios, fármacos, cosméticos, entre outros (Coradin et al., 2011).

O uso sustentável da biodiversidade para a alimentação e nutrição é uma solução que permite o aumento da qualidade de vida, sem danificar o meio ambiente. Seu cultivo com base sustentável viabiliza a geração de empregos, renda, serviços e outras facilidades de cunho social, econômico e ambiental (Souza & Silva, 2008). Na tentativa de incentivar o consumo e o conhecimento sobre as frutas nativas do Brasil, em 2016 foi lançada uma portaria do Ministério do Meio Ambiente que insere no cardápio escolar uma lista de espécies nativas denominadas "frutíferas da sociobiodiversidade" (Brasil, 2016).

Hoje existe um grande interesse na exploração de espécies de frutas não tradicionais, a fim de diversificar e ampliar a oferta daqueles com potencial de novos mercados. Esse interesse não parte apenas dos pesquisadores e agricultores, mas também da população, que busca cada vez mais novas alternativas de alimentação saudável com enfoque nas propriedades funcionais (Chitarra & Chitarra, 1990). A maior parte das frutas possuem quantidades significativas de minerais, fibras, vitaminas, carotenoides e compostos fenólicos. Vários estudos vêm sendo

realizados visando demonstrar a importância desses componentes para a saúde humana (Rufino et al., 2010). Vieira et al. (2010) expõem que a mudança nos hábitos alimentares da população atualmente se dá pela busca de uma dieta mais saudável, potencial encontrado nas diferentes espécies de frutas nativas.

O patrimônio genético destas espécies nativas deve ser preservado, a fim de manter a manutenção da atividade agrícola no Brasil, ação que atinge até mesmo a subsistência de pequenas famílias de agricultores, preservando o potencial uso no futuro. Ao passo que a variabilidade genética destas fruteiras nativas é pouco explorada, a promoção de ações de conservação e de pesquisa em domesticação, seleção e melhoramento, implica no aumento de qualidade e de produtividade, favorecendo o uso efetivo e sustentável destas, como evidência Ferreira (2003). O potencial de conservação de um fruto está diretamente relacionado com o manejo adequado pós-colheita, condições climáticas e práticas adotadas. Desta forma, a qualidade de um fruto é dependente de um conjunto de fatores e medidas a serem tomadas, desde o plantio até consumidor final (Chitarra & Chitarra, 1990).

Neste sentido o Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos, no qual esse projeto está sendo desenvolvido, faz parte da equipe de um grande projeto temático coordenado pelo professor Ângelo Jacomino da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ) da Univ. de São Paulo (USP). Esse grande projeto tem como objetivo realizar estudos que abrangem desde o início da produção até a obtenção de produtos derivados de quatro frutos encontrados no bioma da Mata Atlântica: uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess.); cereja-do-rio-grande (*Eugenia involucrata* DC.); grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.) e cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg). Como parte das várias atividades desenvolvidas no projeto temático “Frutas da Mata Atlântica potencialmente funcionais: caracterização, multiplicação de plantas e conservação pós-colheita”, o presente projeto focará na análise de compostos voláteis da grumixama e da cereja do rio grande.

2.4. **Compostos voláteis**

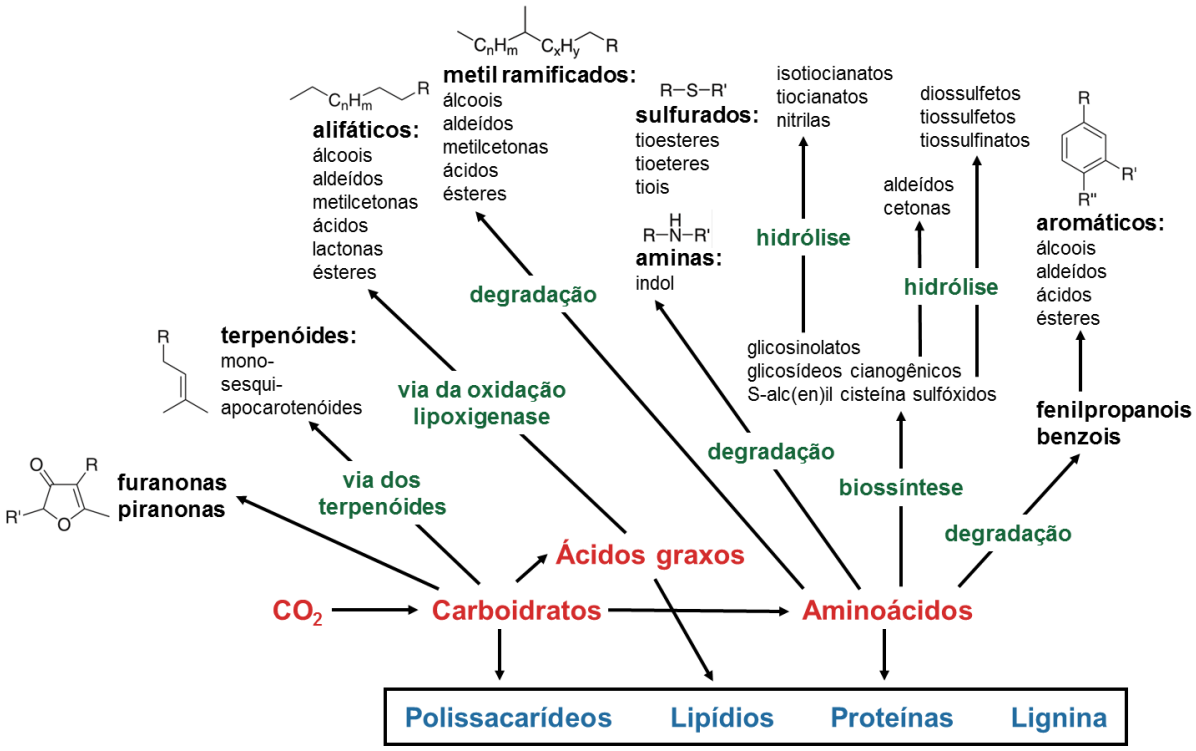
As plantas têm a capacidade de sintetizar, acumular e emitir compostos voláteis que podem atuar como moléculas de "*flavor*". Essas substâncias de baixo peso molecular, derivadas principalmente de ácidos graxos, aminoácidos, carboidratos e carotenoides, constituem um grupo heterogêneo de moléculas com estruturas cíclicas, cadeia ramificada, linear, saturadas ou insaturadas, contendo vários grupos funcionais; Álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres ou éteres (Kader, 2008).

Como o aroma é uma das características das frutas mais apreciadas, os compostos voláteis são susceptíveis de desempenhar um papel fundamental na determinação da percepção e aceitação dos produtos pelos consumidores. Embora muitas características aromáticas sejam compartilhadas, cada fruto apresenta um aroma distinto e de composição específica para a espécie e até para o mesmo fruto, visto a diversidade genotípica, a plasticidade fenotípica, a combinação de compostos voláteis, a concentração e o limiar de percepção dos compostos (Hadi et al., 2013).

2.4.1. Biossíntese dos Compostos Voláteis

Há consenso que três grandes grupos são precursores de aromas no fruto: carboidratos, aminoácidos e ácidos orgânicos (Figura 3). De modo geral, pela via dos carboidratos, são formados principalmente terpenos, pela via de isoprenoides; e furanonas, por vias secundárias, como o ciclo das pentoses-fosfato. A partir do metabolismo de aminoácidos podem originar alcoóis alifáticos, de cadeia ramificada ou aromáticos, carbonilas, ácidos e ésteres. Já o metabolismo de ácidos graxos é considerado o maior gerador de precursores de compostos voláteis, sendo catabolizados por duas grandes vias oxidativas: β-oxidação e a via das lipoxigenases (LOXs) (Pérez e Sanz, 2008).

Figura 3- Principais precursores e vias de formação de compostos voláteis em plantas.



Fonte: Adaptado de Schwab et al., 2008.

Ácidos graxos, principalmente linoleico e linolênico, são precursores de compostos voláteis do aroma na maioria dos frutos. Os mecanismos metabólicos envolvidos na sua degradação incluem a β-oxidação (na fruta intacta) e ação da lipoxigenase (no tecido rompido). Estes ácidos graxos derivam da biomembrana, e se apresentam na forma de fosfolipídios e triglicerídeos. As reações acontecem nos plastídios e podem gerar álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, ésteres, lactonas, entre outros. (Schwab; Schreier, 2002).

A β-oxidação de ácidos graxos é o principal processo biossintético que fornece álcoois e acil-coenzima A (acil-CoAs) que são utilizadas pelas álcool aciltransferases (AAT) para formação de ésteres. A degradação de triglicerídeos e fosfolipídios pode ocorrer pela ação de triacilglicerol lipases e via fosfolipase D, respectivamente, liberando ácidos graxos que, por sua vez, sofrem a ação da enzima 3-cetoacil-CoA-tiolase, na via de β-oxidação, formando acil-CoA (Paliyath et al.,2008).

Aldeídos voláteis C6 e C9 saturados e insaturados e álcoois são importantes contribuintes para os sabores característicos de frutas, legumes e verduras. Os aldeídos de cadeia curta e álcoois são produzidos pelas plantas em resposta a ferimentos e desempenham um papel importante nas estratégias de defesa das plantas e na resistência a pragas (Matsui, 2006; Stumpe & Feussner, 2006). A via biossintética para a produção desses voláteis se dá pela ação das lipoxigenases (LOX), que catalisam a oxigenação de ácidos graxos polinsaturados, como o ácido linoleico, em hidroperóxidos, os quais são convertidos em aldeídos através das hidroperóxido liase (HPL). O aldeído formado pode ser convertido à álcool através da ação de álcool desidrogenases (ADHs) (Matsui, 2006), que por sua vez, juntamente com o grupo ácido do AcilCoA, pode originar ésteres voláteis. Nesta última etapa da reação o grupo acil é transferido para o álcool através da ação de álcool acil transferases (ATTs).

Os aminoácidos e seus substratos, também estão envolvidos na biossíntese de aromas em frutas e os precursores diretos responsáveis pela geração do aroma são alanina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina e ácido aspártico. Esse metabolismo é responsável pela produção de um grande número de compostos, incluindo álcoois, carbonilas, ácidos e ésteres e ocorre através do processo no qual as aminotransferases catalisam a reação de aminoácidos a 2-cetoacidos, que são convertidos a ácidos carboxílicos, 2-hidroxiácidos e aldeídos, através de reações de descarboxilação oxidativa, redução e descarboxilação, respectivamente (Schwabet al., 2008).

Outros compostos voláteis podem resultar da reação de esterificação dos ácidos e álcoois formados. Pela descarboxilação direta de aminoácidos, pode ocorrer, também, a produção de álcoois e aldeídos. Através dessas vias são sintetizados, entre outros compostos voláteis, os derivados de leucina (3-metilbutanal, 3-metil-butanol e ácido 3-metilbutanóico), os que apresentam fenilalanina como precursor (fenilacetaldeído e 2-feniletanol) e os produzidos a partir de ácidos por esterificação e álcoois (acetato de 3-metil-butilo e 3-metilbutil-butanoato). Esses compostos estão presentes em frutas como o morango, o tomate e a banana (Schwabet al., 2008).

Também há a via de síntese de compostos voláteis que deriva diretamente dos carboidratos, como as furanonas e piranonas, ao passo que um número limitado de compostos voláteis é sintetizado diretamente a partir dessa rota, estes presentes em alguns frutos como o morango e o tomate (Bood & Zabetakis, 2002). Por fim, os terpenoides, também conhecidos como isoprenoides, compõem a maior classe de metabólitos secundários em plantas, possuindo

muitos voláteis como representantes. Sua rota biossintética relaciona-se com a formação de diversas substâncias envolvidas no desenvolvimento vegetal. Além disso, produz, através dos seus precursores, uma variedade significativa de componentes voláteis do aroma dos frutos (Lewinsohn et al., 2005). A formação de voláteis derivados de terpenóides ocorre através de duas vias: a do citosol (via mevalonato), no qual são gerados sesquiterpenos; e a dos plastídeos (via metileritritol-4-fosfato) onde ocorre a síntese de monoterpenos e apocarotenoides (Rohmer, 2003). Ambas as vias citadas, tem como substratos iniciais unidades de isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero, dimetilalil difosfato (DMAPP) (Croteau et al., 2000). Os apocarotenóides voláteis, como os encontrados no tomate (β-ionona, 6-metil-5-hepten-2-ona e geranilacetona), são derivados da clivagem de carotenoides por mecanismos ainda não bem elucidados (Vogel et al., 2010).

2.5. **Composição química dos frutos**

2.5.1. Carboidratos

Os carboidratos são os primeiros compostos orgânicos produzidos nas células das plantas, através do processo de fotossíntese e apresentam tanto função estrutural como metabólica. Nas plantas há uma grande variedade de carboidratos, sendo o amido o principal carboidrato de reserva (Pereda et al., 2005). Diversos autores afirmam que os principais açúcares responsáveis pelo sabor doce das frutas são a frutose, a glicose e a sacarose (Damodaran et al., 2008). Outros açúcares, como xilose, manose, arabinose, galactose, maltose, sorbose, octulose e celobiose, também podem estar presentes e em alguns casos, esses açúcares podem constituir a porção minoritária dos açúcares totais (Damodaran et al., 2010). Ao longo da maturação até o completo amadurecimento, ocorre elevação nas concentrações de açúcares solúveis com declínio posterior em função da sua utilização como fonte de energia (Chitarra & Chitarra, 2005). A identificação e quantificação de diferentes carboidratos é considerada um desafio significativo, uma vez que são analitos de difícil separação e apresentam grande diversidade de estruturas químicas (Meinhart, 2010).

2.5.2. Ácidos Orgânicos

Os ácidos orgânicos são substâncias que contêm um ou mais grupos carboxilas em sua molécula e estão presentes em vários alimentos, principalmente em frutas, influenciando o sabor, odor, cor, estabilidade e a manutenção de qualidade (Chitara & Chitarra, 2005; Silva et al., 2012). Nos frutos, tais ácidos podem estar na forma livre ou esterificada; sendo os ácidos málico, cítrico, tartárico, acético, oxálico e chiquímico os ácidos orgânicos predominantes (Koblitz, 2008). Na maioria das frutas, o teor de ácidos orgânicos tende a diminuir durante o processo de maturação, por utilização desses ácidos no ciclo de Krebs, durante o processo respiratório, e nas reações de síntese de compostos fenólicos, lipídios e compostos voláteis. Assim, a variação na acidez pode ser um indicativo do estádio de maturação e no desenvolvimento do sabor característico das frutas (Chitarra & Chitarra, 2005).

3. OBJETIVOS

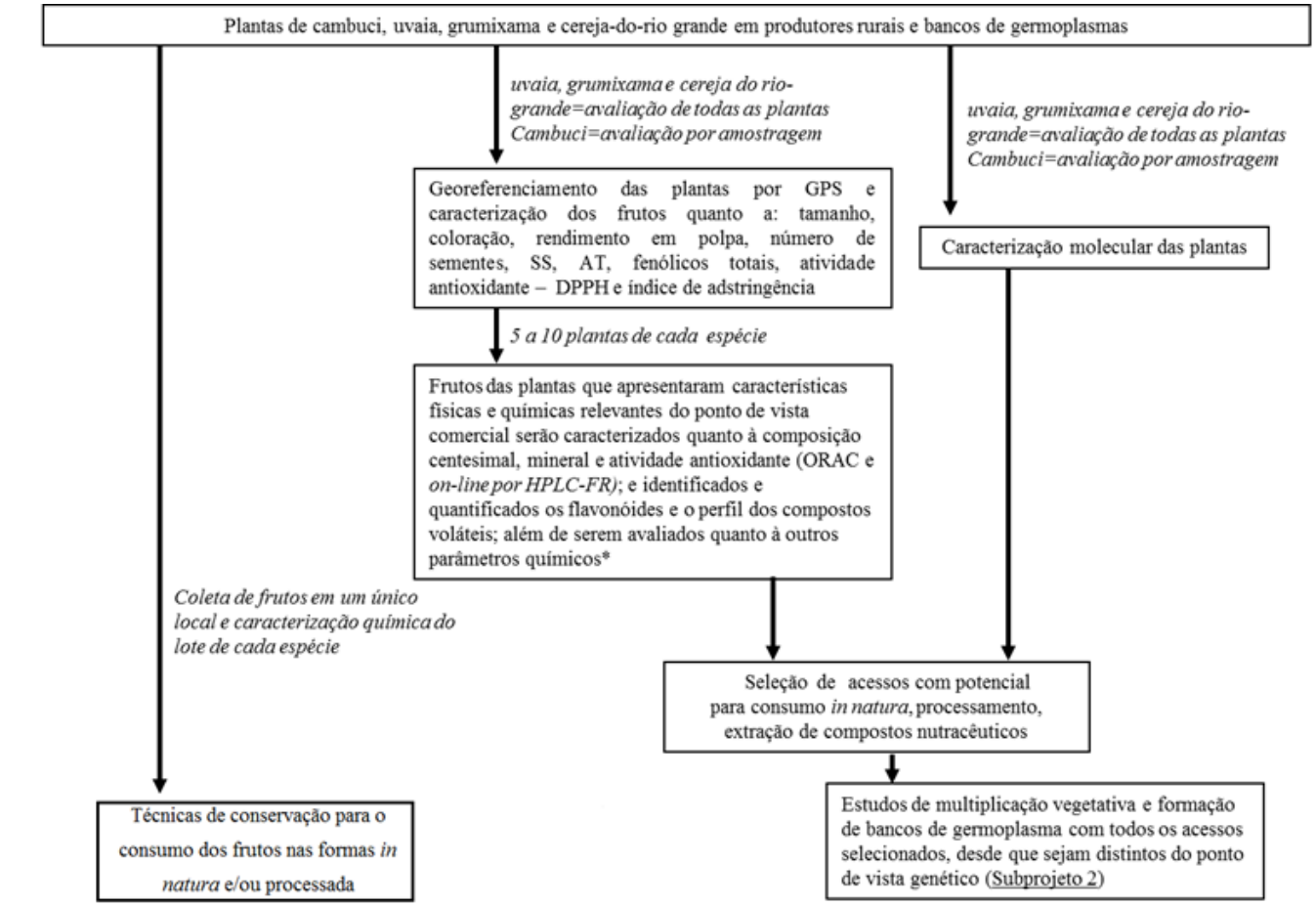
O presente trabalho teve como objetivo caracterizar os compostos voláteis e precursores destes, em diferentes acessos dos frutos nativos, cereja-do-rio grande (*Eugenia involucrata* DC.) e grumixama (*Eugenia brasiliensis* LAM.).

4. JUSTIFICATIVA

Este projeto faz parte do Projeto Temático financiado pela FAPESP (Processo 2014/12606-3) e intitulado "Frutas da Mata Atlântica potencialmente funcionais: caracterização, multiplicação de plantas e conservação pós-colheita", cujo objetivo fundamental é a valorização da riqueza nacional, no âmbito das espécies frutíferas da Mata Atlântica, com vistas à proteção ambiental e em defesa da biodiversidade brasileira. Este projeto, no qual estão envolvidos mais de quarenta (40) colaboradores, entre professores, técnicos e estudantes, tem como meta geral gerar conhecimento acerca de 4 frutíferas nativas da Mata Atlântica, indo desde a caracterização das arvores, seleção de candidatos a clonagem, seleção de métodos de propagação, caracterização físico-química e fisiológica dos frutos, chegando à proposição de produtos processados e ao estudo dos efeitos biológicos de compostos bioativos identificados nestes frutos. (Figura 4). Espera-se também que este Projeto Temático estabeleça um modelo de estudos com estratégias integradas de investigação que permita formar bases de conhecimentos sobre frutos e outros produtos oriundos da biodiversidade brasileira, possibilitando uma exploração racional e sustentável de tais recursos. Neste contexto, o presente projeto tem um caráter aplicado, pois propõe atuar em uma das frentes do Projeto Temático e identificar metabólitos voláteis que confiram características sensoriais desejáveis ao consumidor. Uma vez selecionados os indivíduos que produzem os frutos de maior potencial, análises sensoriais poderão ser propostas com o objetivo de complementar e validar as observações resultantes das análises laboratoriais.

Espera-se também contribuir não só com o conhecimento do ponto de vista botânico no que concerne a essas plantas, mas também aplicar de forma efetiva nas diversas áreas envolvidas na produção destes frutos. O caráter interdisciplinar e multiprofissional deste projeto possibilitará que o conhecimento gerado sirva de subsídio para outros pesquisadores trabalharem em suas respectivas áreas, como aquelas que fazem referência ao manejo, à conservação do fruto, à produção de processados, entre outros, a fim de tentar conservar as características dos frutos, que são fundamentais para o sucesso da comercialização.

Figura 4- Fluxograma do plano de trabalho do subprojeto 1: Caracterização das plantas e dos frutos das quatro espécies de fruteiras da Mata Atlântica, parte do Projeto Temático FAPESP "Frutas da Mata Atlântica potencialmente funcionais: caracterização, multiplicação de plantas e conservação pós-colheita" (Processo 2014/12606-3). Sublinhados estão o material e as atividades relacionadas ao presente projeto para o mestrado.



[1]Ácidos orgânicos, ácido ascórbico, açúcares solúveis totais, pectinas solúvel e total, taninos solúveis e totais – cambuci, carotenóides e antocianinas totais.

Conhecer o aroma dos frutos e sua composição, bem como seu comportamento, é de grande valia para alcançar esse objetivo. Vale assim frisar que este projeto fornecerá um conjunto de dados que permitirá identificar as plantas que produzem frutos com características sensoriais e nutricionais mais interessantes para que, então, sejam aplicados um conjunto de estratégias de clonagem e propagação, cujo fim será o melhoramento e a homogeneização de cada produção. Hoje, quase toda a propagação de frutíferas nativas na Mata Atlântica ocorre por uso de sementes, o que leva a grande heterogeneidade tanto na produtividade quanto na qualidade dos frutos.

A comercialização de frutas nativas nas formas *in natura* e/ou processada pode viabilizar economicamente a pequena propriedade rural e possibilitar a inclusão social. Além do potencial econômico e agronômico das mesmas, é sabido do grande potencial nutricional destas frutas, ricas em compostos funcionais, fontes de vitaminas e conhecidas pelo sabor agradável pela população local, porém, devido à falta de informação e de incentivo ao plantio, estas são subexploradas e perdidas no campo, deixando de enriquecer a dieta humana com um alimento saudável.

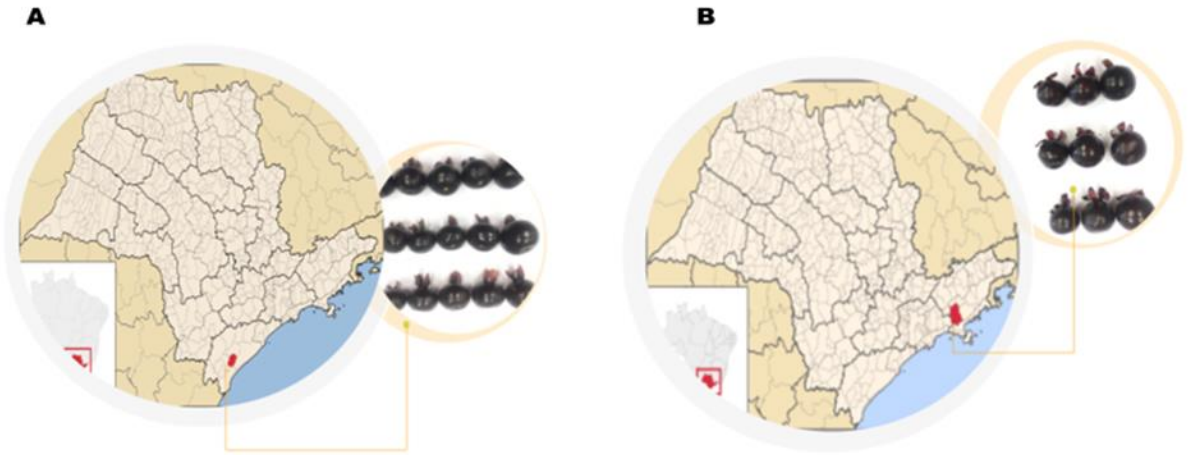
5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Amostragem

5.1.1. Grumixama (*Eugenia brasiliensis* LAM.)

Frutos de grumixameira (*Eugenia brasiliensis* LAM.) provenientes de onze acessos (entende-se acessos por árvores diferentes, apresentando genótipo individualizado) foram amostrados aleatoriamente e coletados na área urbana da cidade Pariquera-Açu (24° 42′ 54″ S, 47° 52′ 52″ O, (Figura 5A) (seis acessos) e na área rural de Paraibuna (23° 23' 09" S 45° 39' 43" O), “Sítio do Bello” (5 acessos) (Figura 5B) - São Paulo no mês de novembro de 2018. Foram colhidos manualmente 40 frutos inteiros, maduros (frutos com mudança de coloração total para o roxo) de cada acesso (Figura 5), acomodados em embalagem plástica, colocados em caixas isotérmicas refrigeradas com placas de gelo e transportadas ao Laboratório de Pós-Colheita de Produtos Hortícolas (LPV-ESALQ/USP). Os frutos foram registrados fotograficamente no dia da colheita. Eles foram higienizados por imersão em solução de hipoclorito a 100 ppm por 15 minutos, lavados em água corrente e secos. Após este processo, frutos inteiros (polpa e casca) foram congelados em nitrogênio líquido e armazenados à -80°C; os frutos provenientes do mesmo acesso foram misturados e triturados para compor uma amostragem composta que representasse o perfil médio das características da planta de origem, não o fruto individualmente.

Figura 5- Mapa do Estado de São Paulo com regiões no qual as amostras adquiridas e respectivas imagens dos frutos. A) Pariquera-Açu. B) Paraibuna.



Fonte: Elaboração própria.

5.1.2. Cereja do Rio Grande

Os frutos de cereja-do-rio-grande vermelha (*Eugenia involucrata* DC.), foram coletados em cinco municípios de São Paulo entre os meses de outubro a dezembro de 2018. Foram coletados frutos de três acessos na cidade de Jundiaí (23° 11' 09" S 46° 53' 02" O), três acessos em Rio Claro (22° 24' 39" S 47° 33' 39" O), três acessos em Salesópolis (23° 31' 55" S 45° 50' 45" O), um acesso em Piracicaba (22° 43' 30" S 47° 38' 56" O) e em Ibitinga (21° 45' 28" S 48° 49' 44" O) foi coletado um acesso referente a cereja-do-rio-grande amarela (*Eugenia involucrata* DC.) (Figura 6). Foram colhidos manualmente frutos inteiros e maduros de cada acesso, acomodados em embalagem plástica separadas para cada árvore, colocados em caixas isotérmicas refrigeradas com placas de gelo e transportadas ao Laboratório de Pós-Colheita de Produtos Hortícolas (LPV-ESALQ/USP). Os frutos foram registrados fotograficamente no dia da colheita, higienizados por imersão em solução de hipoclorito a 100 ppm por 15 minutos, lavados em água corrente e secos. Após este processo, frutos inteiros (polpa e casca) foram congelados em nitrogênio líquido e armazenados à -80°C. Posteriormente, 40 frutos de cada acesso foram selecionados, ao acaso, e triturados para compor um “pool” de amostra composta representativa.

Figura 6- Mapa do Estado de São Paulo com regiões no qual as amostras adquiridas e respectivas imagens dos frutos.

Fonte: Elaboração própria.

5.2. **Açucares Solúveis**

Os açúcares solúveis presentes em 150mg de amostra foram extraídos com etanol 80 % (v/v) a 80 °C por três vezes, os sobrenadantes obtidos após centrifugação (12000 g; 15 °C; 15 min) foram combinados em balão volumétrico de 25 mL, que teve seu volume completo com etanol 80%. Uma alíquota do extrato etanólico foi evaporada em concentrador a vácuo (CentriVap, Labconco Corporation, Kansas, MO, USA) a 45ºC e o volume (2 mL) reconstituído com água. Os açúcares solúveis foram determinados por cromatografia a líquido com detecção por amperometria de pulso em um sistema Dionex DX-500 (Dionex DX 500, Sunnyvalle, CA, USA), equipado com coluna Carbopac PA1 (4x250mm, 5 μm tamanho de partícula), em corrida isocrática com fluxo de 1 mL/min de NaOH 18mM, durante 25 min (Mainardi et al. 2006). Para as curvas de calibração, foram utilizados padrões de glicose (Sigma, Chemical CO, Saint Louis, MO, USA; G-8270), frutose (Sigma F-0127) e sacarose (Sigma S-9378).

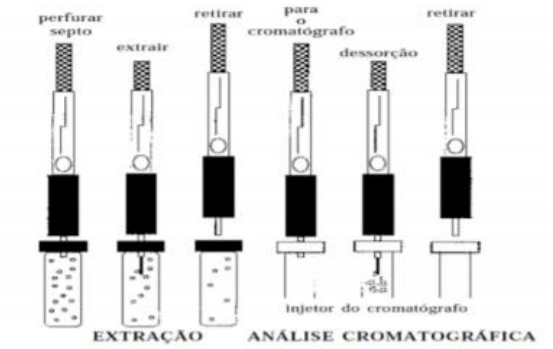
5.3. **Ácidos Orgânicos**

A extração dos ácidos orgânicos das amostras foi realizada na proporção de 1:4 com água deionizada. Cada amostra (200 mg) foi processada em homogeneizador do tipo Potter (MARCA), sendo mantida em banho de gelo e centrifugada. Para a separação dos ácidos orgânicos, a resina de troca aniônica Bio-Rex 5 (Bio Rad Labs) foi utilizada segundo a metodologia de McCord et al. (1984). Em seguida, as amostras foram injetadas em sistema cromatográfico HP 1100 equipado com detector de arranjo diodos. A coluna cromatográfica empregada foi a REZEX ROA-Organic Acid H+ (300, 7.80 mm, 8 µm tamanho de partícula) com fase móvel de ácido fosfórico a 0,5%, com fluxo de 0,5mL/min. O monitoramento foi feito a 210 nm. As amostras foram injetadas em duplicatas e os resultados expressos em g/100g de amostra (b.u). As curvas de calibração serão feitas com padrões dos ácidos málico e tartárico (Supelco).

5.4. **Compostos Voláteis**

Os compostos voláteis foram analisados em triplicata, de acordo com o método de microextração em fase sólida (SPME, *Solid Phase Microextraction*) (Figura 7). Os extratos foram preparados com um "*pool*" de amostra composto pela polpa e casca de 40 frutos, triturados, com moinho contendo lâmina de aço inox (REF do moinho), congeladas em nitrogênio líquido e armazenados a -80 °C. Dessa amostra pesou-se 3 g em vials de 20 mL e completou-se até 10 g com solução de NaCl a 30% (p/v). Os vials foram lacrados com tampa de silicone e congelados a - 20 ºC.

Figura 7- Ilustração do processo de extração por microextração em fase sólida (SPME) e dessorção da fibra em cromatógrafo gasoso.



Fonte: Valente e Augusto (2000)

As fibras de SPME novas foram submetidas a um processo de condicionamento antes do início das análises conforme indicação do fabricante. Permanecendo meia hora na temperatura indicada de acordo com a composição da fibra no injetor de um cromatógrafo Hewlett-Packard modelo 6890. Nos dias de análises as fibras foram submetidas a limpezas térmicas e após a rotina de análises, passou-se novamente por um ciclo de limpeza térmica devido a possibilidade de ocorrência de efeito de memória.

Visando encontrar uma combinação de parâmetros que resultasse na melhor extração de possíveis voláteis presentes nas amostras das diferentes frutas, buscou-se o desenvolvimento de uma técnica de otimização do tempo de formação do *headspace* e de adsorção. Para isso, fixou-se a adsorção em 30 min e o tempo de formação variou em 15, 30, 45 e 60 min. Após observar os cromatogramas com maior número de picos bem resolvidos e com abundâncias adequadas para a identificação pelos softwares empregados na análise, ou seja, com espectros de massas

bem definidos, fixou-se o tempo de formação de *headspace* otimizado e a adsorção foi variada na mesma proporção anterior.

A metodologia consistiu no descongelamento dos vials em banho-maria a 40 ºC com agitação constante com barra magnética, para que os voláteis se acumulassem no headspace. Em seguida, a fibra de SPME revestida de carboxeno, divinilbenzeno e polidimetilsiloxano (CAR/DVB/PDMS) foi introduzida no *headspace* do vial e exposta para adsorção dos compostos voláteis. Uma vez capturados, os compostos foram dessorvidos da fibra pela exposição ao calor do injetor do cromatógrafo acoplado a um detector seletivo de massas da mesma empresa modelo 5973, com coluna cromatográfica Sulpelcowax 10 (30mts x 25 mm d.i., 0,25µm espessura de filme) (200 ºC) durante 10 min.

A programação da rampa de temperatura foi: 40ºC por 0,5 minuto, indo até 250ºC em 5ºC/min, permanecendo por 1 minuto, e subindo a 280ºC, a 20ºC/min permanecendo por 2 minutos. A temperatura da interface entre o cromatógrafo e o detector seletivo de massas foi de 200ºC e a ionização feita por impacto de elétrons (70 eV) com a fonte de íons mantida a 150ºC.

5.5. **Estatística**

Os dados referentes aos espectros de massas, obtidos através dos cromatogramas, foram tratados com o software MassHunter Qualitative Analysis (versão: B.07.00, Agilent Technologies, Inc. 2014) e comparados com os espectros da biblioteca NIST 2014. Considerou-se somente os compostos com um mínimo de similaridade de 70%.

As áreas dos picos foram normalizadas pela mediana, tratados em escala logarítimica e escalonados segundo a escala de Pareto. A partir das matrizes de correlação dos dados normalizados foram feitas análises discriminantes de mínimos quadrados parciais (PLS-DA) e a Análise de Componentes Principais (PCA), além de análises de variância (ANOVA) e agrupamento hierárquicos com visualização por meio de *Heatmaps*, empregando a plataforma Metaboanalyst 4.0 (https://www.metaboanalyst.ca/)) (XIA et al., 2015).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. **Grumixama**

6.1.1. Açucares solúveis

Os açucares, representam grande importância para os frutos, face seu poder de conferir sabor doce e como substrato de reserva energética para o metabolismo. A tabela 1 apresenta a composição de açucares solúveis encontrados nos acessos de grumixama nas cidades de Paraibuna (BE) e Pariquera-açu (PA). Sendo o conteúdo de açúcares totais a soma dos descritos.

Tabela 1- Conteúdo de açúcares em frutos de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.), das cidades de Paraibuna (BE) e Pariquera-açu (PA), expressos em matéria integral.

	Açucares (g $100g^{-1}$)		
Acesso	Glicose	Frutose	Totais
BE04	3,66±0,04	5,06±0,06	8,71
BE39	3,37±0,03	4,06±0,02	7,43
BE43	3,00±0,3	3,78±0,08	6,76
BE71	3,15±0,05	3,98±0,02	7,12
BE82	3,26±0,1	4,16±0,21	7,42
PA05	4,14±0,02	5,58±0,08	9,65
PA06	3,97±0,02	4,72±0,17	8,68
PA07	3,36±0,03	3,83±0,04	7,16
PA08	3,38±0,01	4,13±0,02	7,46
PA09	4,93±0,01	5,49±0,03	10,42
PA11	3,05±0,02	3,56±0,03	6,61

Fonte: Elaboração própria.

Resultados expressos em média ± DP de três repetições.

Todos os frutos apresentavam estágio de maturação similar, tendo por critério a coloração roxa, característica do fruto maduro. Nestes, foram encontradas glicose e frutose, como açúcares solúveis majoritários, a sacarose não foi observada em quantidades significativas para detecção. Uma vez que a hidrolise da sacarose normalmente é fonte primária de glicose e frutose, a presença majoritária destes monossacarídeos está relacionada a diminuição nos níveis de sacarose ao longo do amadurecimento (Wan, C.Y. 2003; Talcott, S.T. 2007). Para uma melhor ideia do padrão de acúmulo e metabolização da sacarose, é necessário quantificar os açucares dos frutos no estádio verde.

Como açúcar predominante, destaca-se a frutose. Sendo sua doçura relativa maior que da glicose e sacarose. Concentrações superiores de frutose podem ser desejadas, uma vez que terá impacto direto nas características sensoriais dos frutos.

Os frutos de grumixama nas duas regiões apresentaram variações quanto ao conteúdo de açucares. As maiores concentrações de açúcares totais foram encontradas em Pariquera-açu foram em PA_09 (10,4252 g $100g^{-1}$) e PA_05 (9,6592 g $100g^{-1}$) e o menor em PA_11 (6,612g $100g^{-1}$). Em Paraibuna, BE_04 (8,7108 g $100g^{-1}$) apresentou o maior valor de açucares totais e BE_43 (6,7136 g $100g^{-1}$) o menor valor.

Em estudo feito por Nehring (2016), com grumixama de duas regiões, foram encontrados valores semelhantes a este trabalho, sendo 3.46 g 100 g^{-1} de glicose e 4.40 g 100 g^{-1} de glicose. Foi observado concentração superiores de açucares totais em alguns acessos de grumixamas comparado à cranberry (4,00 g $100g^{-1}$), morango (6,20 g $100g^{-1}$), uva (5,70 g $100g^{-1}$) (Hui et al., 2006), cereja (3,08 g $100g^{-1}$) (Bastos et al., 2015) e semelhantes em groselhas (7,37 g $100g^{-1}$) (Hui et al., 2006) e framboesa (7,43 g $100g^{-1}$) (Fu et al., 2015).

Os açucares e os ácidos orgânicos contribuem para a palatabilidade dos frutos, e o equilíbrio entre o teor de açúcar e da acidez, está diretamente relacionado ao '*flavor*' do fruto, portanto quanto maior essa relação, mais agradável será ao paladar. O teor de sólidos solúveis pela acidez titulável, é conhecido como "*ratio*", Pazin, Fernanda (dados não publicados) encontrou nos mesmos frutos deste estudo o valor médio de 15,80 para gumixama, sendo este valor superior ao descrito para pitanga e uvaia, frutos considerados ácidos ao paladar, (E. pyriformis Cambess), de 7,23 (Bagetti et al., 2011) e 6,14 (Silva et al., 2018), respectivamente. Para jaboticaba (Myrciaria jabuticaba), fruto considerado doce ao paladar, Guedes et al. (2014) observou o *ratio* de 18,77. Estes resultados estão, desta maneira, em concordância com o paladar doce acidulado descrito para a grumixama.

6.1.2. Ácidos Orgânicos

Nos frutos, geralmente os ácidos orgânicos se acumulam durante as fases iniciais do desenvolvimento, podendo ser utilizados como substratos na respiração, ou como fonte de carbono para a síntese de açucares à medida que chega ao estádio de senescência. (Sinha et al., 2012).

O perfil dos ácidos orgânicos dos frutos de Paraibuna (BE) e Pariquera-açu (PA), indicaram como compostos majoritários o ácido cítrico, málico, oxálico e succínico (Tabela 2). Pelo método empregado neste estudo, não foi detectado ácido ascórbico em nenhuma amostra dos acessos. O ácido succinico foi identificado apenas em BE_71 e PA_11. O ácido oxálico não foi descrito apenas em BE_43 e BE_71.

Tabela 2- Conteúdo de ácidos orgânicos em frutos de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.), das cidades de Paraibuna (BE) e Pariquera-açu (PA), expressos em matéria integral. Resultados representados pela média dos valores obtidos em três repetições.

	Ácidos Orgânicos (g 100g $^{-1}$)			
Amostra	Oxálico	Cítrico	Málico	Succínico
BE_04	0,17±0,02	1,35±0,14	0,34±0,03	nda*
BE_39	0,11±0,02	1,24±0,24	0,33±0,08	nda*
BE_43	nda*	1,54±0,43	0,26±0,04	nda*
BE_71	nda*	1,12±0,15	0,60±0,08	0,000796
BE_82	0,17±0,1	1,14±0,20	0,24±0,1	nda*
PA_011	0,54±0,08	1,86±0,27	0,27±0,01	0,000221
PA_05	0,35±0,05	1,91±0,21	0,12±0,05	nda*
PA_06	0,71±0,02	1,80±0,14	0,93±0,01	nda*
PA_07	0,73±0,05	1,51±0,24	0,13±0,02	nda*
PA_08	0,88±0,04	1,87±0,48	0,14±0,05	nda*
PA_09	0,57±0,06	1,43±0,41	0,18±0,05	nda*

Fonte: Elaboração própria.

*nda-não detectado

Resultados expressos em média ± DP de três repetições.

Verificou- se valores elevados na taxa de respiração dos frutos de grumixama por Pazin, Fernanda (dados ainda não publicados), sendo superiores a frutos climatérico “clássicos” como a banana. Essa observação corrobora com o descrito neste trabalho, uma vez que estes ácidos

são intermediários no Ciclo de Krebs. Foi observado também, redução significativa em relação a acidez titulável nos três estádios de maturação. Consolidando o comportamento fisiológico do amadurecimento.

Observou-se que o ácido majoritário em todas as amostras de grumixama foi o cítrico, do qual pode se inferir o papel de principal componente a conferir acidez no fruto. Tais dados estão de acordo com os encontrados por Pazin, Fernanda (dados não publicados), aonde a acidez titulável máxima foi 1,11% de ácido cítrico nos mesmos acessos do presente estudo. Em seguida tem-se o ácido málico em Paraibuna e oxálico em Pariquera-açu. Resultados semelhantes foram encontrados em grumixama maduras por Nehring (2016), para goji berry (Zhao et al., 2015), morango (Ornelas-Paz et al., 2013) em jabuticaba foram encontrados sobretudo ácido cítrico (Lima et al., 2011).

6.1.3. Compostos Voláteis

Foram identificados 92 compostos orgânicos voláteis (COVs) nas grumixamas, contribuintes do aroma através de notas odoríferas (Tabela 3). Destes compostos, os mais abundantes foram os terpenos (53), que derivam, em sua maior parte, dos carboidratos; Tem-se também: álcoois-terpênicos (17), álcoois (06), aldeídos (05), compostos benzênicos (02), cetonas (03), ésteres (05), éter (01) e furanona (01).

Ambas as regiões tiveram seus frutos colhidos no estágio considerado maduro, durante o ano de 2018. Segundo Mattheis & Fellman (1999) e Vilas Boas (2002), as cultivares, colheita, práticas culturais, estação do ano, manuseio, o armazenamento e a nutrição dessas frutas durante o desenvolvimento também são fatores que influenciam na composição do perfil aromático. A análise multivariada dos compostos, mostra que há diferença entre os perfis de COVs destas regiões (figura 8).

Dentre os fatores que podem ocasionar as diferenças no perfil de COVs, estão os edafoclimáticos, que sujeitam as plantas a diferentes desafios e, por consequência, diferentes respostas metabólicas, sendo a síntese de voláteis uma das mais evidentes. Neste estudo, os fatores climáticos, as caraterísticas agronômicas e a geolocalização de cada acesso estão sendo caracterizados e tabulados em um banco de dados que ficará disponível, em breve, para consulta por todos os envolvidos no projeto (Processo 2014/12606-3). Através da extração do óleo essencial das folhas de grumixama em diferentes épocas do ano, Siebert et. al. 2014 demonstraram diferença do perfil de COVs, evidenciando a influência extrínseca sofrida pela planta.

Tabela 3- Descrição dos compostos voláteis, com respectivas notas aromáticas, CAS e siglas, identificadas em Grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.), nas cidades de Paraibuna (B) e Pariquera-Açu (P)- SP.

SIGLA GERAL	Sigla terpeno	COMPOSTO	CAS	DESCRIÇÃO AROMÁTICA
ALCOOL				
ALC.01	P	(E)-2-hexen-1-ol	928-95-0	Herbáceo frutado
ALC.02	BP	1-Hexanol	111-27-3	Herbáceo fresco
ALC.03	BP	2-etil-1-hexanol	104-76-7	Cítrico doce
ALC.04	B	1-Octen-3-ol	3391-86-4	Verde, cogumelo, terra
ALC.05	B	Álcool pinacolílico	464-07-3	Pinho
ALC.06	BP	(Z)-3-hexen-1-ol	928-96-1	Herbáceos verde
ALDEIDO				
ALD.01	B	(E)-2-heptenal	18829-55-5	Verde , gorduroso
ALD.02	BP	(E)-2-hexenal	728-26-3	Folha verde
ALD.03	B	Acetaldeído	74-07-0	Etéreo frutado,verde
ALD.04	B	Hexanal	66-25-1	folha verde,doce
BENZENO				
BENZ.01	B	Benzaldeído	100-52-7	amêndoa doce
BENZ.02	B	Tolueno	108-88-3	Doce
CETONA				
CET.01	B	1-Hepten-3-ona	2918-13-0	Verde,terroso
CET.02	B	4'-metilacetofenona	122-00-9	floral
CET.03	B	methyl heptenona	110-93-0	cítrico
ÉSTER				
EST.01	B	Benzoic acid, ethyl ester	93-89-0	menta
EST.02	P	Acetato de etilo	141-78-6	Etéreo,frutado,doce
EST.03	P	Acetato de mirtenilo	35670-93-0	Floral,violeta,frutado
EST.04	B	Metil salicilato	119-36-8	Menta
EST.05	B	Salicilato de etila	118-61-6	Menta, doce
ETER				
ETR.01	BP	Eter Dimetil	115-10-6	
FURANO				
FUR.01	B	2-propilfurano	4229-91-8	

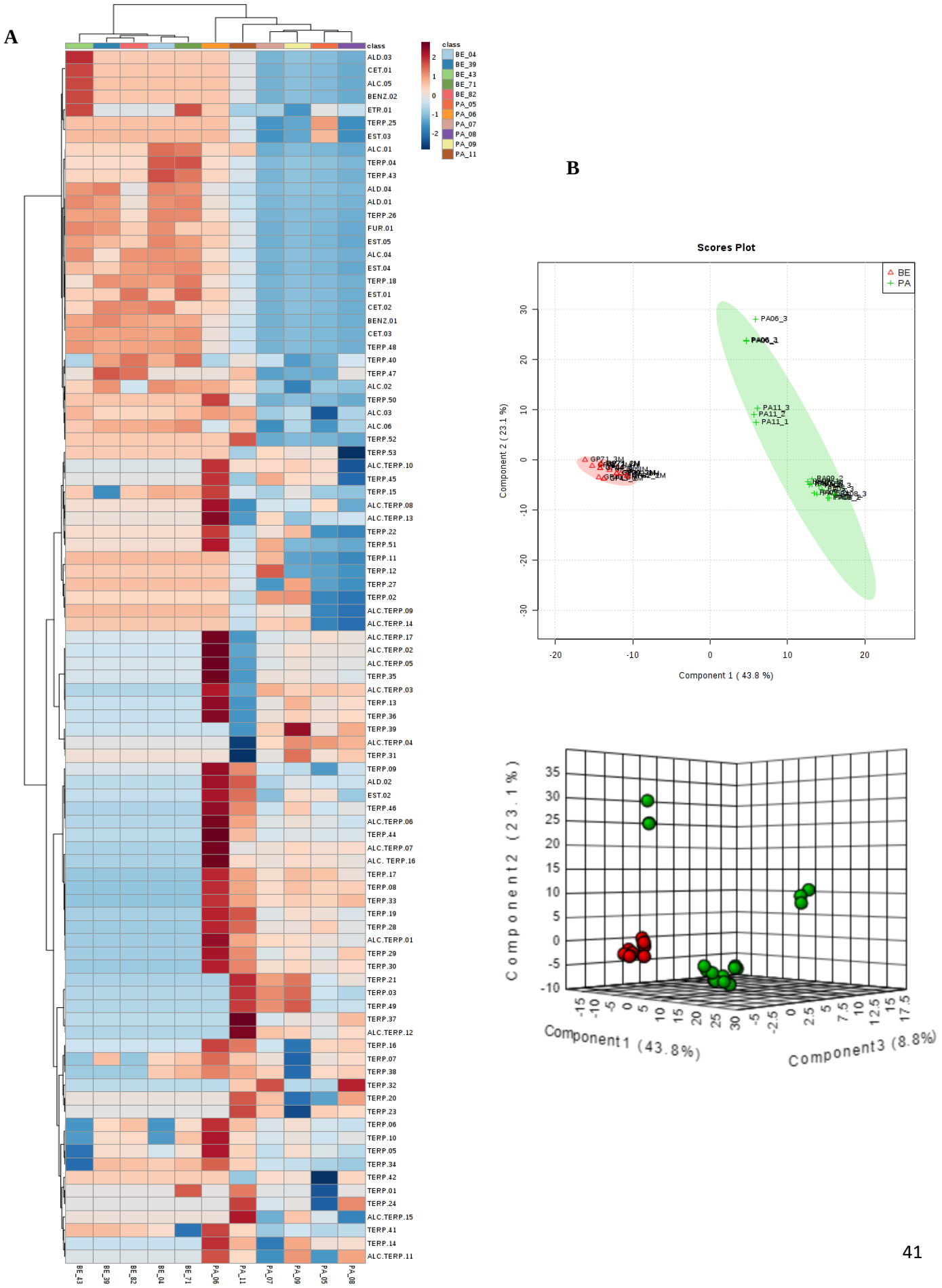
TERPENOS

TERP.01	SESQ.12	BP	(-)-.beta.-Bourboneno	5208-59-3	Ervas, floral balsâmico
TERP.02	MONO.07	P	(+)-3-careno	498-15-7	Doce,pinho,cedro
TERP.03	MONO.08	P	(+)-4-careno	29050-33-7	
TERP.04	MONO.09	B	(-)-beta-Pineno	18172-67-3	Pinho
TERP.05	MONO.10	BP	(+)-delta-Cadineno	483-76-1	Tomilho, ervas, seco
TERP.06	SESQ.13	BP	(+) Epicicloesquipelandreno	54324-03-7	Especiarias
TERP.07	MONO.11	BP	Alfa pineno	80-56-8	Ervas, pinho
TERP.08	SESQ.14	P	Alfa-copaeno	3856-25-5	Amadeirado
TERP.09	SESQ.15	P	Alfa-calacoreno	21391-99-1	Amadeirado
TERP.10	SESQ.16	BP	Alfa.-cubebene	17699-14-8	Ervas
TERP.11	SESQ.17	P	Alfa -guaieno	3691-12-1	Balsámo, Amadeirado
TERP.12	MONO.12	P	Alfa -fandandreno	99-83-2	Apimentado, amadeirado
TERP.13	SESQ.18	P	Beta-copaeno	18252-44-3	
TERP.14	SESQ.19	P	.Beta.-mirceno	123-35-3	Balsamo, picante
TERP.15	MONO.13	BP	.Beta.-ocimeno	13877-91-3	Floral, verde
TERP.16	MONO.14	P	.Beta-fandandreno	555-10-2	Menta
TERP.17	MONO.15	P	.Beta-pineno	127-91-3	Feno de pinho
TERP.18	SESQ.20	B	Cadinadieno	29837-12-5	Picante
TERP.19	SESQ.21	P	Gama-muuroleno	30021-74-0	Amadeirado, picante
TERP.20	SESQ.22	P	. Beta-elemeno	33880-83-0	Erva fresca
TERP.21	MONO.16	P	. Gama-terpineno	99-85-4	Limão tropical,
TERP.22	SESQ.23	P	. Beta-ilangeno	20479-06-5	Floral
TERP.23	SESQ.24	P	Viridifloreno	21747-46-6	Floral
TERP.24	SESQ.25	P	7-epi-alfa-selineno	123123-37-5	
TERP.25	SESQ.26	P	4,11-selinadieno		
TERP.26	MONO.17	B	2-borneno	464-17-5	
TERP.27	SESQ.27	P	Acifileno	87745-31-1	
TERP.28	SESQ.28	P	Alloaromadendreno	25246-27-9	Amadeirado
TERP.29	SESQ.29	P	Alpha-gurjuneno	489-40-7	Amadeirado
TERP.30	SESQ.30	P	Aromadendreno	72747-25-2	Amadeirado
TERP.31	SESQ.31	P	Beta-cubebeno	13744-15-5	Frutado, cítrico
TERP.32	SESQ.32	P	Beta-patchouleno	514-51-2	Erva, amadeirado
TERP.33	SESQ.33	P	Biciclogermacreno	24703-35-3	Erva, verde
TERP.34	SESQ.34	BP	14912	13877-93-5	Especiarias
TERP.35	SESQ.35	P	Oxido de cariofileno	1139-30-6	Amadeirado
TERP.36	SESQ.36	P	Cis-muurola-3,5-dieno	157374-44-2	
TERP.37	SESQ.37	P	Delta-elemeno	20307-84-0	Lavanda,erva
TERP.38	MONO.18	BP	D-limoneno	5989-27-5	Laranja, cítrico
TERP.39	SESQ.38	P	Germacreno D	37839-63-7	Amadeirado, picante

TERP.40	SESQ.39	BP	copaeno	3242-08-8	Floral
TERP.41	SESQ.40	BP	Humulene	6753-98-6	Amadeirado
TERP.42	SESQ.41	P	Isoledeno	95910-36-4	
TERP.43	MONO.19	B	Isoterpinoleno	586-63-0	Cogumelo, terra
TERP.44	SESQ.42	P	(-)-Calameneno	72937-55-4	Especiaria de ervas
TERP.45	SESQ.43	P	Beta-cadineno	523-47-7	Verde amadeirado
TERP.46	SESQ.44	P	Alfa-Cadineno	39029-41-9	Amadeirado
TERP.47	MONO.20	BP	Perilleno	539-52-6	Amadeirado
TERP.48	MONO.21	B	Terpinoleno	586-62-9	Citrico, pinho doce
TERP.49	MONO.22	P	O-Cymeno	527-84-4	Hebal, floral
TERP.50	MONO.23	P	P-Cymeno	99-87-6	Terpénico
TERP.51	MONO.24	P	Tricicleno	508-32-7	Especiarias,verde
TERP.52	SESQ.45	P	Valencene	4630-07-3	Laranja, doce
TERP.53	MONO.25	P	Pinocarvona	30460-92-5	hortelã
ALCOOL					
TERPENICO					
ALC.TERP.01	SESQ.01	P	(-) – Espatulenol	77171-55-2	Mel
ALC.TERP.02	SESQ.02	P	.Alpha.-cadinol	481-34-5	Ervas
ALC.TERP.03	MONO.01	P	.Alpha.-terpineol	98-55-5	Pinho, floral
ALC.TERP.04	SESQ.03	P	.Gama.-eudesmol	1209-71-8	Doce ceroso
ALC.TERP.05	SESQ.04	P	.Tau.-muurolol	36564-42-8	Herbal
ALC.TERP.06	MONO.02	P	Linalool	78-70-6	Floral frutado
ALC.TERP.07	SESQ.05	P	4-epi-cubebol	38230-60-3	Fresco, menta
ALC.TERP.08	SESQ.06	P	Beta-eudesmol	473-15-4	Verde, arborizado
ALC.TERP.09	MONO.03	P	Trans-Sabinol	29606-76-6	
ALC.TERP.10	SESQ.07	P	Alfa-elemol	639-99-6	Rosa, picante, verde
ALC.TERP.11	MONO.04	P	Eucaliptol	470-82-6	Cânfora, eucalipto
ALC.TERP.12	MONO.05	P	4-terpinenol	562-74-3	Picante, amadeirado
ALC.TERP.13	SESQ.08	P	Viridiflorol	552-02-3	Tropical, verde, doce
ALC.TERP.14	MONO.06	P	P-Cymen-8-ol	1197-01-9	Frutado, cereja, doce
ALC.TERP.15	SESQ.09	P	Ledol	577-27-5	Cânfora, fresco
ALC.TERP.16	SESQ.10	P	Cubebol	23445-02-5	Hortelã, picante
ALC.TERP.17	SESQ.11	P	Cubenol	21284-22-0	Solo recém-arado

Fonte: Elaboração própria.

Figura 8- Análise multivariada dos compostos voláteis de Grumixama amostradas nas cidades de Paraibuna e Pariquera-Açu. A) Análise de grupamento hierárquico e *Heatmap*. Em A, as cores vermelho e azul indicam altos e baixos níveis de compostos, respectivamente. B) Score plot discriminativo como componente principal (PCA) a diferença entre os acessos na região de Paraibuna (BE) e Pariquera-Açu (PA).



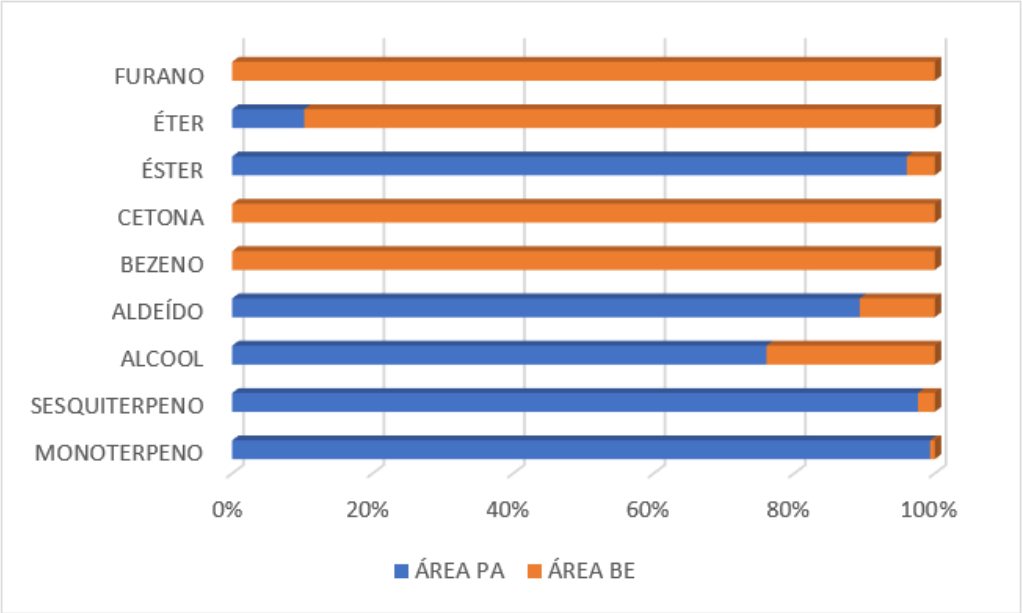
Fonte: Elaboração própria.

a A análise de componentes principais (figura 8B) evidencia a dissimilaridade entre as duas cidades, uma vez que se ordenaram de forma espaçada, por salientar que há presença de compostos específicos de cada região ou acesso. O conjunto de dados para cada espécie foi agrupado em dois eixos, que representam 43,8% e 23,1%, respectivamente, da fração da variância total. Quanto maior for a correlação entre o conjunto de dados, mais elevado será o valor da variância representada nestes eixos, aproximadamente 70,2%, explica a variância total. Enquanto o Componente Principal (CP) 1 discriminou as amostras de Paraibuna (identificadas no gráfico por BE) das amostras de Pariquera-Açu (PA), o CP2 indica heterogeneidade das amostras desta última localidade, em contraponto as amostras da primeira localidade.

Os compostos voláteis estão agrupados hierarquicamente no *heatmap* (figura 8A), obedecendo tendências de mudanças. Pode-se observar que existem dois grandes agrupamentos que separam as regiões, formando um padrão de atuação. No agrupamento BE, percebe-se que não há um elemento que diferencie de forma muito evidente, confirmando maior homogeneidade entre o comportamento demonstrado na análise de componentes principais. Em outra vertente, o grupamento PA apresenta maior heterogeneidade, sendo bem evidenciada pelo deslocamento do componente PA06 e PA11 (Figura 8).

Os resultados da análise por GC-MS apresentaram diferenças entre o perfil aromático dos frutos coletados nas duas localidades (figura 9). Na cidade de Paraibuna foram encontrados 35 compostos voláteis, enquanto em Pariquera-Açu observou-se 73 compostos, a distribuição das classes está demonstrada na tabela 3. Outra característica que deve ser destacada, é a diferença quanto a abundância dos metabólitos (Figura 9).

Figura 9- Perfil comparativo da distribuição dos compostos voláteis entre as regiões de Paraibuna (BE) e Pariquera-Açu (PA).



Fonte: Elaboração própria.

Pariquera-Açu apresenta ordem de grandeza que chega à 10^3 em alguns compostos quando comparados com Paraibuna. Esta variação pode estar associada aos fatores edafoclimáticos, manuseio e nutrição das plantas. Em Paraibuna, o fruto se encontrava em árvores com menos de 3 (três) metros de altura, dispostas em fragmentos florestais de uma propriedade particular e são árvores com menos de dez anos que são podadas e recebem tratamento com herbicidas, ficando menos expostas a pragas e insetos. Já em Pariquera-açu, as amostras foram obtidas em grumixameiras com idades indefinidas, provavelmente nativas, algumas chegando a 15 (quinze) metros de altura que não sofrem nenhuma intervenção com adubos ou herbicidas, sendo assim mais a expostas a estresses bióticos e abióticos. O efeito do manejo sobre a composição de voláteis foi analisado por Van Wassenhove et al. (1990) que observou a diminuição significativa de voláteis do aipo em função da adição de altos níveis de fertilizantes minerais e / ou orgânicos de nitrogênio (Van Wassenhove et al., 1990).

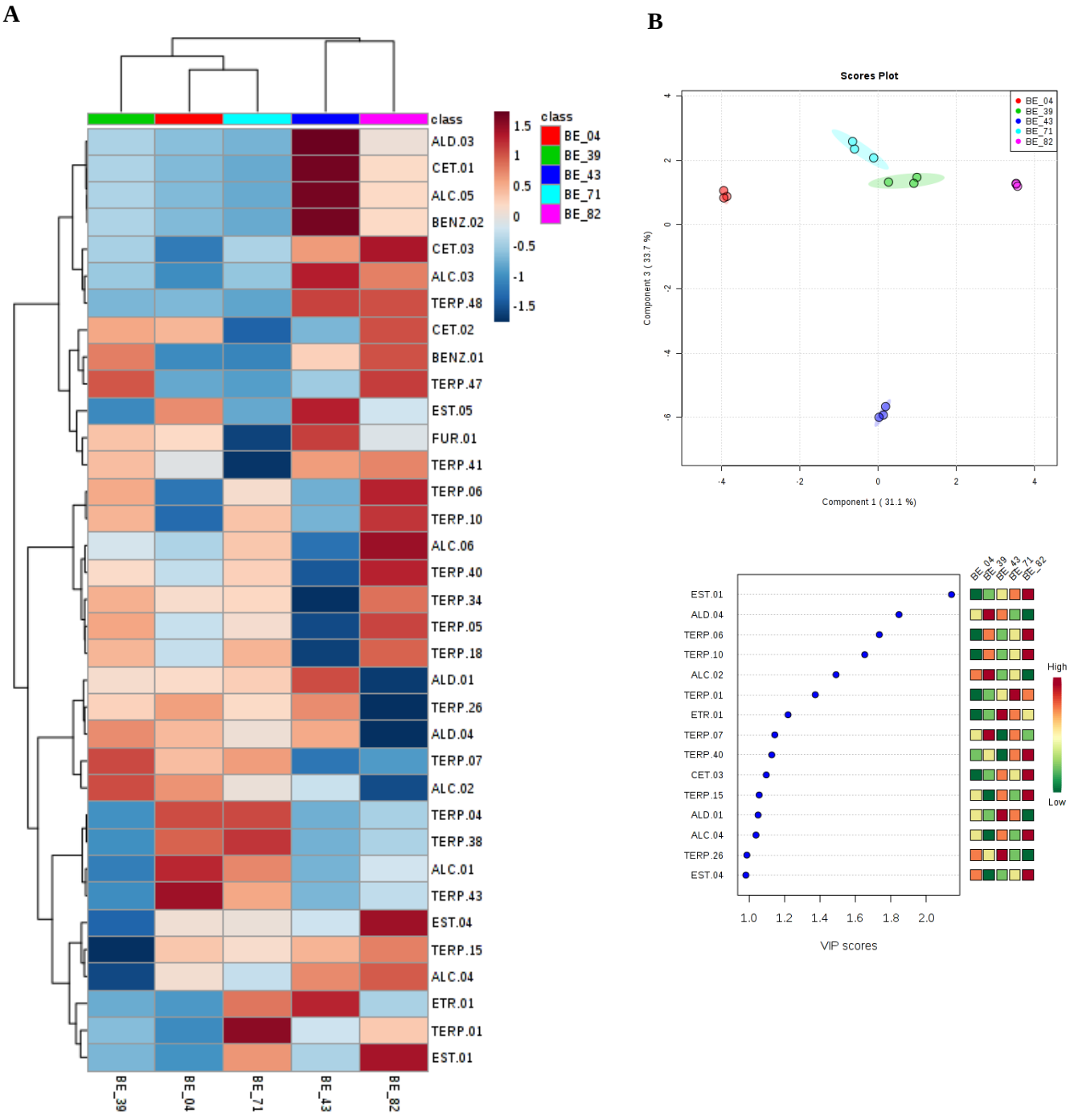
Apesar de BE apresentar menor abundância de COVs, sua distribuição entre as classes é maior, tendo exclusividade em compostos benzênicos, cetonas ±e furano. Entre os compostos que se destacam, observa-se o Benzaldeído, que mesmo em quantidades baixas, pode representar

impacto significativo no aroma, visto que possui baixo limiar de detecção (0,093 mg Kg^{-1}) e o Tolueno, que tem como precursores os Aminoácidos, contribuindo com o aroma doce amendoado.

Outro importante composto encontrado apenas em BE, é o Hexanal, composto formado a partir de ácidos graxo. A enzima lipoxigenase (LOX), juntamente com a hidroperóxido liase (HPL), convertem o ácido linoleico (18:2) e linolênico (18:3) em hexanal, e outros aldeídos de seis carbonos que são responsáveis pelo aroma com notas descritas como "verde" e "herbácea" e possuem propriedades antimicrobianas, desempenhando um papel importante no mecanismo de defesa das plantas (Dudareva et al., 2013; HadiI et al., 2013; Hassan et al, 2015; Wang et al, 2016). Paraibuna apresenta apenas um aldeído, o (E)-2-hexenal, com 90% do valor total da abundância desta classe nas duas regiões. Neste sentido, o grupo de voláteis que caracteriza a regial de Paraibuna, sugere notas aromáticas descritas como herbácea e fresca, tendendo ser menos floral que Pariquera-Açu.

Com o intuito de apresentar maiores detalhes da segregação dos acessos em Paraibuna, foi gerado o *Heatmap* (figura 10 A) com os dados normalizados dos 35 COVs presentes nesta região. Pela análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA) (figura 10B) é possível verificar a diferença entre os acessos, com destaque a BE_43. Os componentes que apresentam as informações mais relevantes são o 1 que explica 31,1% e o 3, apresentando 33% da variabilidade total e é responsável pela separação da amostra BE_43, sendo o grupo de voláteis que caracteriza esta amostra o 1-hepten-3-ona (verde, terroso), álcool pinacólico (Pinho), Tolueno (Doce) e Acetaldeído (etéreo, frutado, verde).

Figura 10- Análise multivariada dos compostos voláteis de Grumixama amostradas nas cidades de Paraibuna (BE). A) Análise de grupamento hierárquico e Heatmap. Em A, as cores vermelho e azul indicam altos e baixos níveis de compostos, respectivamente. B) Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) em 2D e seu respectivo gráfico em 3D.



Fonte: Elaboração própria.

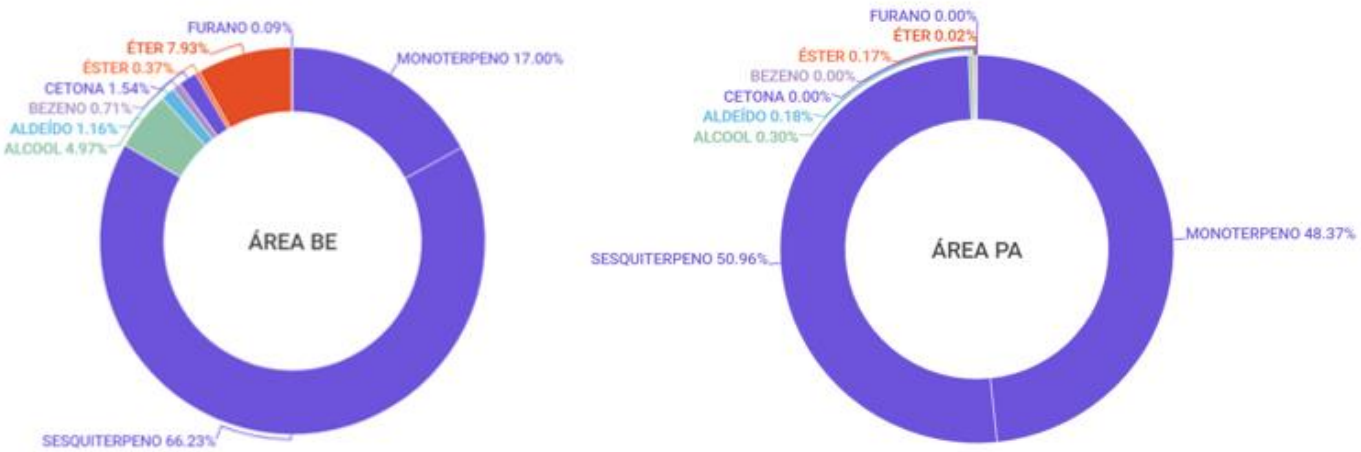
Os ésteres voláteis são uma classe importante de compostos que contribuem para o aroma característico de muitos frutos e flores. Os ésteres de acetato são, por exemplo, essenciais para o aroma de banana (acetato de 3-metilbutil), jasmim (acetato de benzila) e cultivares de maçã (ésteres múltiplos) e geralmente apresentam aromas frutados ou florais, sendo avaliados positivamente por consumidores quanto a aceitação em análises sensorias (Charles Goulet et al

2012). Apenas em Pariquera Açu foram encontrados acetato de mirtenilo e acetato de etila, este último apenas em PA_06. Os ésteres Benzoato de etila e Metil salicilato foram encontrados apenas em Paraibuna, no acesso BE_82, Tais compostos são descritos com aroma característico mentolado.

Conforme demonstrado, os compostos que mais contribuíram como marcadores para a grumixama, sendo coincidente nas duas regiões, foram os álcoois, provindos da via da lipoxigenase, 1-Hexanol, 2-etil-1-hexanol, (Z)-3-hexen-1-ol, com descritores como “herbáceo; o aldeído (E)-2-hexenal o éter dimetil e onze terpenos: (-)-.beta.-Bourboneno,(+)-delta-Cadineno, (+)-epi-Biciclosesquifelandreno, (+)-alpha pineno, alfa.-Cubebeno, beta.-Ocimeno, Cariofileno, D-Limoneno, gama-elemeno, Humuleno e Perileno.

Nas amostras estudadas, 47,22% são sesquiterpenos e 27,78% monoterpenos, com destaque, nas duas regiões, para o D-Limoneno, Cariofileno, (+)-a-pineno, (+)-d-Cadineno, (+)-epi-biciclosesquifelandreno e Humuleno. Moreno et al. identificaram em óleo essencial feito a partir de grumixama roxa, quase exclusivamente sesquiterpenos (57,3% oxigenados e 34,1% hidrocarbonetos), sendo os principais componentes óxido de cariofileno (22,2%), alfa-pineno (15,4%), mirceno (10,7%), alfa- cadadol (10,4%), alfa-terpineol (10,2%) e beta-cariofileno (5,4%).

Figura 11 - Perfil descritivo da distribuição dos compostos voláteis entre as regiões de Paraibuna (BE) e Pariquera-Açu (PA).

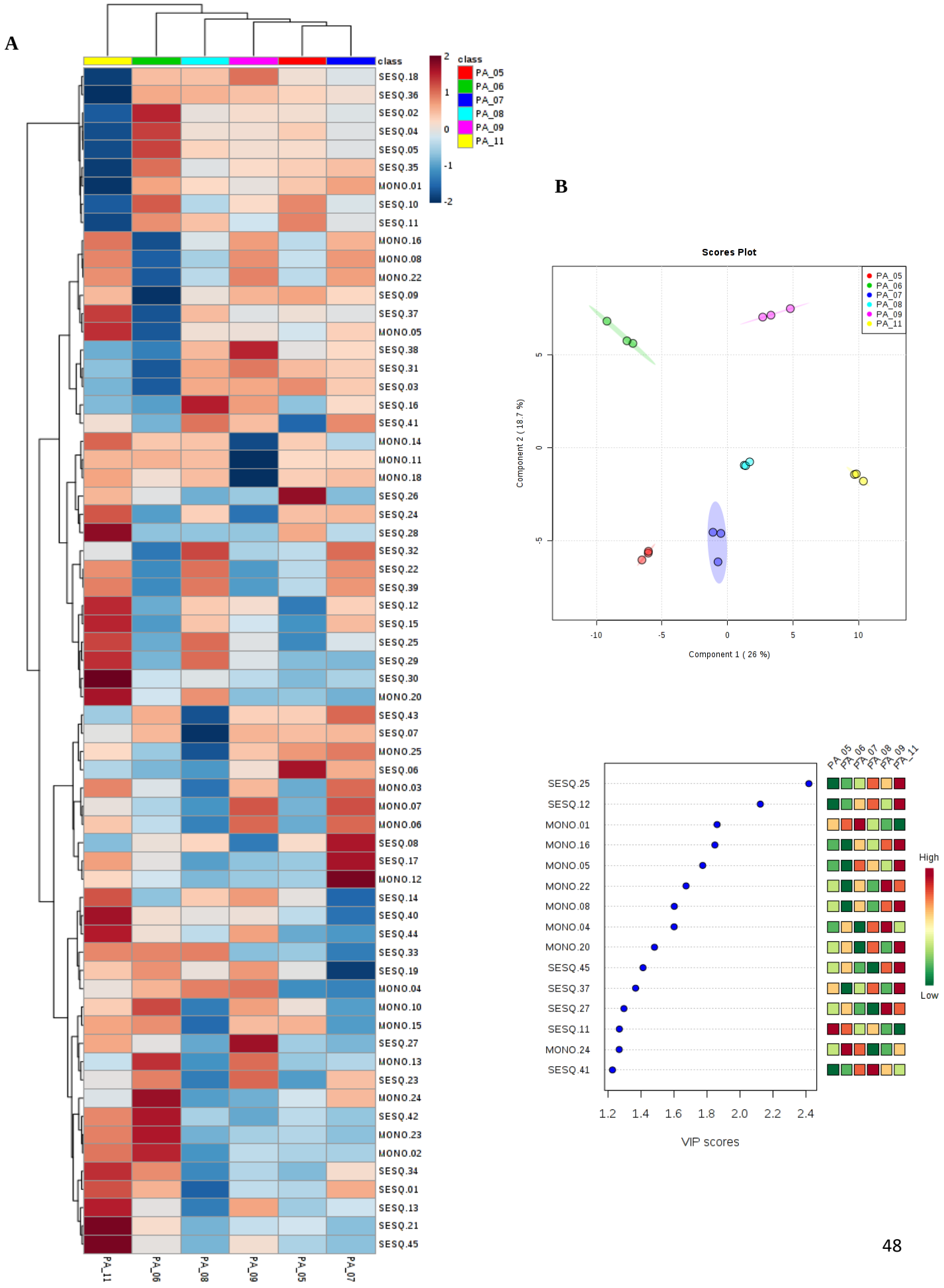


Fonte: Elaboração própria.

Com base nas 73 substâncias odoríferas identificadas na análise de compostos voláteis de grumixama em Pariquera-açu sugere-se que os frutos apresentem notas aromáticas delicados, floral e frutadas devido aos sesquiterpenos e monoterpernos e estéres serem mais abundantes nestas amostras. No intuito de agrupar os compostos voláteis individuais de cada acesso, foi aplicada a análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA) (Figura 11).

Os resultados obtidos quanto ao perfil de voláteis nos frutos de grumixama da cidade de Pariquera-açu apresentam diferenças entres os acessos, evidenciado na análise da PLS-DA. O componente 1 explicou 26% da variabilidade total dos dados, e separou principalmente a amostra PA11, sendo neste, os metabólitos envolvidos com maior concentração relativa o (Z)-3-hexen-1-ol, 2-etil-1-hexanol, (-)-.beta.-Bourboneno, gama.-Terpineno, Perileno, Valenceno e Terpinen-4-ol e com menor o alfa.-Terpineol. O componente 2 explicou 18,7% do total da variabilidade do grupo com maior destaque para PA09 e PA06, ao qual apresenta maior *VIP Score*, O-Cymeno, Eucaliptol e menor Eter Dimetil, respectivamente.

Figura 12- Análise multivariada dos compostos voláteis terpenicos de Grumixama amostradas nas cidades de Pariquera-Açu (PA). A) Análise de grupamento hierárquico e Heatmap. Em A, as cores vermelho e azul indicam altos e baixos níveis de compostos, respectivamente. B) Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) em 2D e seu respectivo gráfico em 3D.



Fonte: Elaboração própria.

Em uma análise mais detalhada, pode-se observar que os principais compostos que se diferenciam em Pariquera-açu são os Terpenos (Figura 12). Os terpenóides compõem a maior classe de metabólitos secundários de plantas e estão envolvidos em diferentes processos, incluindo respiração, fotossíntese, crescimento, desenvolvimento, reprodução, defesa - atuando como fitoalexinas e adaptação às condições ambientais, como moléculas de sinalização e aleloquimicas. São gerados por duas vias independentes, no citosol e fornece unidades C5 para biossíntese de sesquiterpenos, pela via do ácido mevalônico (MVA), e nos plastídios pela via do metileritritol-fosfato (MEP) onde são gerados precursores para a biossíntese de monoterpenos (Dudareva et al 2005).

Foram observados 21 monoterpenos e 44 sesquiterpenos nas amostras da região de Pariquera-Açu (tabela 3). Terpenóides compõem um grupo abundante de compostos aromáticos em frutas, sendo importantes na determinação do aroma (Defilippi et al., 2009), e incluem substâncias com aromas amadeirados, de especiarias, florais, frutados e frescos. Os monoterpenóides (C10) são compostos por duas unidades de isopreno e podem estar estocados em flores, folhas, nas cascas dos caules, na madeira e em frutos (Peres, 2004). Os sesquiterpenóides (C15) são encontrados nos óleos essenciais e em hormônios vegetais, constituindo a maior classe de terpenóides, (Oliveira et al., 2003). Terpenos apresentam diversas funções nos vegetais como proteção contra herbívoros, agentes microbianos e atração de polinizadores, podem atuar na termo-proteção, proteção a danos oxidativos, foto-respiração à altas temperaturas e baixas concentrações de O2, alelopatia e foto-proteção (Owen, 2005)

Pelo *Heatmap* fica evidente a discriminação de padrões nas amostras, principalmente PA_11, que se separa no primeiro *cluster*, e PA_06. O sesquiterpeno Valenceno, composto de aroma descrito como frutado, encontrado principalmente em laranja, foi detectado somente na amostra PA_11. Este sesquiterpeno apresentou atividade repelente e tóxica deste composto contra Ixodes scapularis Say nymphs, Xenopsylla cheopis (Rothchild) e Aedes adultos aegypti (L.), como demonstrado por Panella et.al 2005. Apenas em PA_11 o sesquiterpeno Óxido de cariofileno não foi encontrado, porém o precursor deste metabólito, o cariofileno, foi detectado em todas as amostras.

O monoterpeno p-Cimeno, exibido apenas em PA_06, demonstra ter efeito antibacteriano, antifúngico e herbicida, além de apresentar ação hipotensora (Kodali et al., 2008). Os sesquiterpeno lpha-guaieno, beta-Bourboneno, beta-ilangeno, 7-epi-.alfa.-selineno, beta-patchouleno, delta-elemeno, mono (+)-4-Careno, (-)-beta-pineno, terpinen-4-ol, gama.-terpineno não foram encontrados apenas neste acesso.

No acesso PA_08 tem se destaque para o alfa- cubebeno, em PA_09 ressalta-se o acifileno e germacerno D, este último apresenta papel como intermediário biossintético de vários sesquiterpenos (Adewale M. Adio, 2009). O acesso PA_05 foi marcado principalmente pelo álcool-sesquiterpeno beta-eudesmol um composto ativo responsivo ao ataque de formigas e que também apresenta atividade antifúngica (Yu et al. 2008). O sesquiterpeno alfa-guaieno e o monoterpeno alfa- felandreno, que apresenta forte efeito repelente contra *Bemisia tabaci* (Bleeker et al., 2009), foram restritos a PA_07. Estas variações estão provavelmente relacionadas à fatores extrínsecos às plantas.

As grumixameiras de Pariquera-Açu estão no entorno da cidade, em praças, quintais e em um hospital, ficando expostas a agentes e fatores edafoclimáticos diferentes umas das outras. Já Paraibuna, se encontram em um sítio, algumas estão em uma agroflorestal próxima a margem de um rio, outras estão localizadas juntamente com a plantação de outras frutíferas.

Ademais a propagação das mudas é feita por sementes, plantas obtidas desta forma apresentam grandes variações entre si, mesmo quando vindas da mesma planta matriz (Fanchinello et al., 2005). Apresentam variabilidade devido a constituição genética, a segregação e a recombinação genica no processo sexual. Mesmo em plantas homozigotas, onde predomina a autofecundação, dificilmente as características são mantidas, devido a polinização cruzada ser muito comum na natureza.

6.2. Cereja do Rio Grande

6.2.1. Açucares

A tabela 4 apresenta a composição de açucares solúveis encontrados nos acessos de cereja do Rio Grande *(Eugenia involucrata* DC.), coletados nas cidades de Jundiaí (JU), Rio Claro (RC), Salesópolis (SA), Campestre (YEL), Piracicaba (PI) e Ibitinga (IBI). Sendo o conteúdo de açúcares totais a soma dos três açúcares descritos.

Tabela 4: - Conteúdo de açúcares em frutos de cereja do Rio Grande (*Eugenia involucrata* DC.), coletados nas cidades de Jundiaí, Rio Claro, Salesópolis, Campestre, Piracicaba e Ibitinga, expressos em matéria integral.

	Açucares (g $100g^{-1}$)			
Acesso	Glicose	Frutose	Sacarose	Totais
PI001	2,24±0,05	2,27±0,04	*	4,51
RC023	2,03±0,02	2,01±0,02	0,27±0,02	4,31
RC022	2,00±0,3	2,51±0,05	*	4,51
RC025	2,54±0,3	2,80±0,02	0,07±0,01	5,41
JU026	2,01±0,02	2,51±0,04	*	4,52
JU028	1,34±0,05	1,42±0,02	*	2,76
JU030	1,86±0,4	2,21±0,01	*	4,07
SA031	2,42±0,3	2,51±0,02	*	4,93
SA033	2,34±0,06	2,62±0,02	0,06±0,01	5,02
SA035	1,63±0,02	1,72±0,03	0,16±0,04	3,51
IBI057	2,71±0,03	2,65±0,07	*	5,31
YEL058	3,01±0,03	2,91±0,02	0,56±0,02	6,48

Fonte: Elaboração própria.
Resultados expressos em média ± DP de três repetições.
* Não foi detectado

Todos os frutos foram coletados no estágio considerado maduro pela avaliação visual da coloração da casca. Os açucares mais encontrados em frutos maduros são frutose, glicose e sacarose, sendo que o poder edulcorante da frutose é mais alto (174), seguido pela referência, a sacarose (100) e posteriormente a glicose, menos doce (74). Foi encontrada glicose e frutose em todos os acessos, sendo os valores na mesma proporção

A sacarose foi observada em quantidades quantificáveis pelo método empregado apenas nas amostras RC023, RC025, SA033, SA035 E YEL058. Para um número significativo de frutos, no início da maturação, a sacarose geralmente predomina como carboidrato primário sendo convertida em glicose e frutose no amadurecimento, continuando após a colheita e durante o

armazenamento (Talcott, 2007; Wang, 2003). Para melhor caracterizar a ocorrência da hidrolise da sacarose, é necessário quantificar os açucares nos frutos no estádio verde.

A determinação de teor de sólidos solúveis totais (SST), usualmente, é feita para se estimar a quantidade de açúcares presentes nos frutos, sendo medidos através de refratômetro e expressos ºBrix. Incluem além dos açúcares, pectinas, sais e ácidos (LIMA, 1997). Antonia, et al., 2020 observou para os frutos presentes neste trabalho o teor de SST variando de 6,86 ºBrix (JU028) à 13,73 ºBrix (IBI057), e valor médio do *ratio* de 11,43, sendo pouco inferior ao descrito para a Grumixama, validando também o paladar doce acidulado descrito para o fruto.

Observa-se que não há predominância entre glicose e frutose. Os frutos de cereja do Rio Grande dos diferentes acessos apresentaram variações quanto ao conteúdo de açucares. O acesso JU028 apresentou o menor valor de açucares totais (2,76 g 100g-1), representados por 1,34 g 100g-1 de glicose e 1,42 g 100g-1 de frutose. Em Campestre, a cereja do Rio Grande amarela (YEL058) apresentou o mais valor de açucares totais (6,48 g 100g-1), sendo composto por 3,01 g 100g-1 de glicose e 2,91 g 100g-1 de frutose.

6.2.2. Ácidos Orgânicos

Os ácidos orgânicos ocorrem naturalmente nos alimentos como resultado de processos metabólicos, bioquímicos, hidrólises e crescimento bacteriano e contrabalanceiam os açucares conferindo grandes contribuições ao *flavor* e exercendo impacto na qualidade sensorial de frutos. No decorrer do amadurecimento as concentrações diminuem, sendo utilizados como fonte de energia na respiração, ou como fonte de carbono na síntese de açucares. Concentrações elevadas de ácidos orgânicos e um baixo pH contribuem para a preservação dos frutos, além de regular o pH celular e influenciar na cor dos pigmentos no interior dos tecidos, incluindo as antocianinas (Wanga et al., 2009; Souza et al., 2007; Talcott 2007; Wang 2003).

O perfil dos ácidos orgânicos dos frutos de Cereja do Rio Grande foi avaliados quanto ao perfil de ácido oxálico, cítrico, málico, ascórbico e succínico, os resultados estão representados na Tabela 5.

Tabela 5: Conteúdo de ácidos orgânicos em frutos de cereja do Rio Grande (Eugenia Involucrata DC.), expressos em matéria integral. Resultados representados pela média dos valores obtidos em três repetições.

ÁCIDOS ORGÂNICOS (g.100g $^{-1}$)

AMOSTRA	OXÁLICO	CÍTRICO	MÁLICO
PI001	0,016±0,006	2,55±0,25	0,14±0,04
RC023	nda*	3,73±0,19	0,03±0,001
RC022	nda*	1,32±0,09	0,09±0,004
RC025	0,003±0,0002	2,64±0,05	0,12±0,006
JU026	nda*	1,30±0,05	0,08±0,01
JU028	0,0039±0,0005	3,09±0,01	nda*
JU030	nda*	1,38±0,03	0,08±0,004
SA031	nda*	2,15±0,03	0,13±0,004
SA033	nda*	2,03±0,03	0,17±0,02
SA035	nda*	2,38±0,02	0,06±0,002
IBI057	nda*	2,78±0,05	0,24±0,005
YEL058	nda*	3,39±0,05	0,16±0,004

Fonte: Elaboração própria.
*nda-não detectado

O ácido oxálico foi detectado apenas em PI001, RC025 e JU028, o ácido succínico não foi detectado em valores suficientes em nenhuma amostra e o ácido málico não foi descrito apenas na amostra JU028. O ácido cítrico foi o ácido predominante nas cerejas, do qual pode-se inferir que é o principal componente a conferir acidez no fruto.

Condizente à grumixama, foi observado aumento na atividade respiratória dos frutos de cereja (Antonia, et al., 2020), sendo os valores também superiores a frutos climatéricos "clássicos". Ratificando o descrito no presente trabalho, uma vez que os ácidos orgânicos tendem a diminuir com senescência.

6.2.3. Compostos Voláteis

Os compostos orgânicos voláteis identificados nos acessos de Cereja do Rio Grande (*Eugenia Involucrata* DC), contribuintes do aroma através de notas odoríferas estão representados

na Tabela 6. Através da análise do perfil de COVs foi possível identificas 41 compostos. Dentre eles, os terpenos, compostos derivados diretamente dos carboidratos, são os mais abundantes; Tem-se também: álcool-terpenos, álcoois, aldeídos, compostos benzênicos, cetonas, ésteres e éteres.

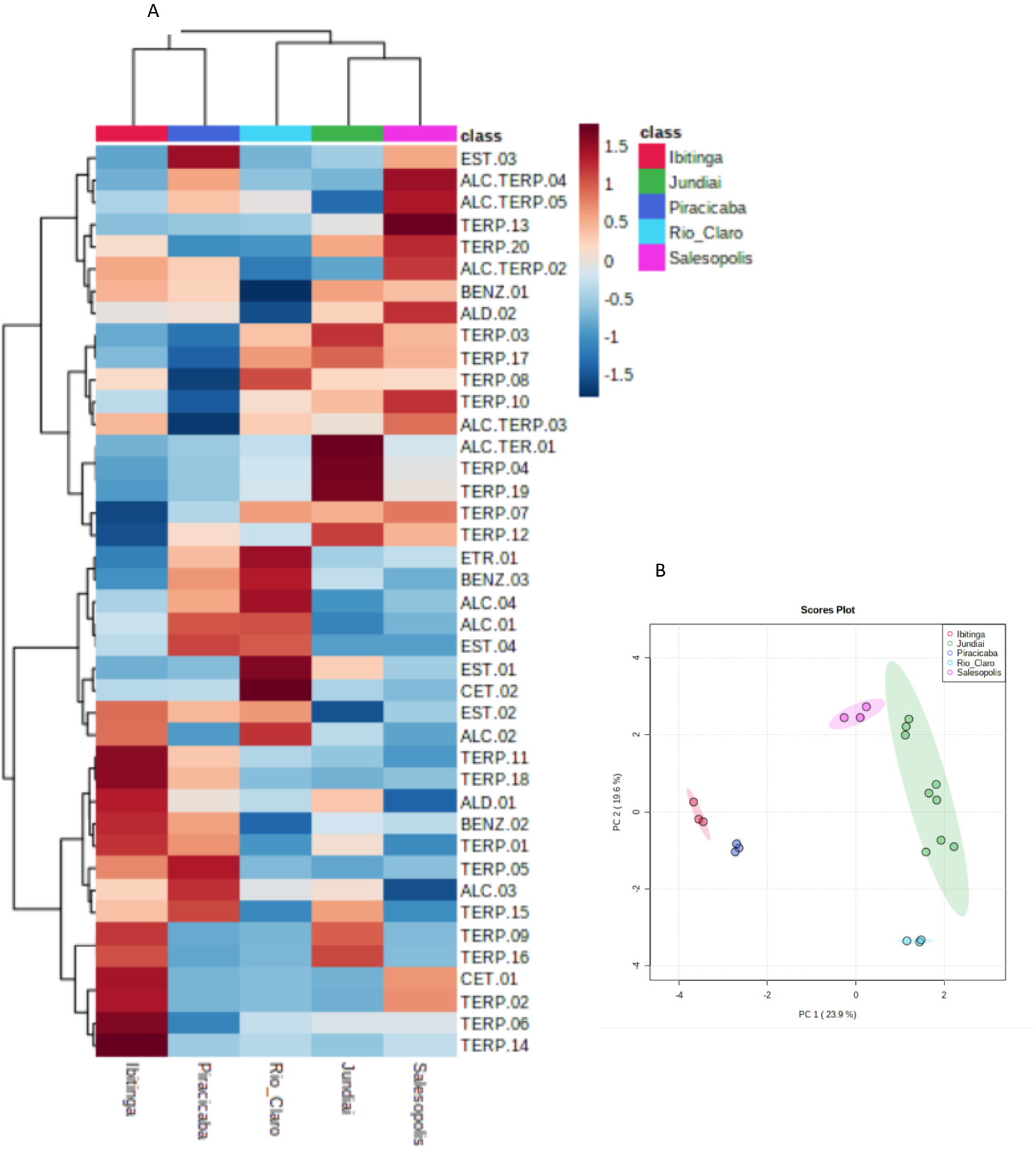
Tabela 6: Descrição dos compostos voláteis, com respectivas notas aromáticas, CAS e classe, identificadas em cereja do Rio Grande (Eugenia Involucrata DC).

CÓDIGO	COMPOSTO	CAS	DESCRIÇÃO AROMÁTICA
ALCOOL			
ALC.01	1-Hexanol	111-27-3	Herbáceo fresco
ALC.02	(E)-2-hexen-1-ol	928-95-0	Herbáceo frutado
ALC.03	1-Octen-3-ol	3391-86-4	Verde, cogumelo, terra
ALC.04	1-Hexanol, 2-ethyl-	104-76-7	Cítrico, fresco, floral, doce
ALDEIDO			
ALD.01	(E)-2-hexenal	728-26-3	Folha verde
ALD.02	Hexanal	66-25-1	folha verde,doce
BENZENO			
BENZ.01	Tolueno	108-88-3	Doce
BENZ.02	Benzaldeído	100-52-7	Amêndoa doce
BENZ.03	Etilbenzeno	100-41-4	Doce
CETONA			
CET.01	1-Hepten-3-ona	2918-13-0	Verde,terroso
CET.02	Fenilacetona	110-93-0	Amêndoa
ÉSTER			
EST.01	(Z) -3-hexen-1-il acetato	3681-71-8	Frutado, maçã
EST.02	Formato de 3-hexenil	2315-09-5	Fresco, frutado, melão
EST.03	Trans-2-hexenil propionato	53398-80-4	Verde, frutado, pêra
EST.04	Salicilato de metila	119-36-8	Menta
ETER			
ETR.01	Eter Dimetil	115-10-6	
TERPENOS			
TERP.01	Estireno	100-42-5	Bálsamo doce, floral.
TERP.02	óxido de cis-Linalool	1365-19-1	Ervas florais, amadeirado

TERP.03	.alpha.-Cubebeno	17699-14-8	Ervas
TERP.04	Acifileno	87745-31-1	
TERP.05	Delta-elemeno	20307-84-0	Lavanda,erva
TERP.06	Gama-elemeno	3242-08-8	Floral
TERP.07	alfa-copaeno	3856-25-5	Amadeirado
TERP.08	(-)-.beta.-Bourboneno	5208-59-3	Ervas, floral balsâmico
TERP.09	Alpha-gurjuneno	489-40-7	Amadeirado
TERP.10	(+) Epicicloesquipelandreno	54324-03-7	Especiarias
TERP.11	Linalool	78-70-6	Floral frutado
TERP.12	Cariofileno	13877-93-5	Especiarias
TERP.13	Beta-ilangeno	20479-06-5	Floral
TERP.14	Delta-selineno	28624-23-9	Herbal
TERP.15	Humuleno	6753-98-6	Amadeirado
TERP.16	Elixeno	3242-08-8	Floral
TERP.17	Beta-cadineno	523-47-7	Verde amadeirado
TERP.18	Gama-elemeno	204.3511	Floral
TERP.19	Delta-elemeno	20307-84-0	Lavanda,erva
TERP.20	Oxido de cariofileno	1139-30-6	Amadeirado
ALCOOL TERPENICO			
ALC.TERP.01	Eucaliptol	470-82-6	Cânfora, eucalipto
ALC.TERP.02	Viridiflorol	552-02-3	Tropical, verde, doce
ALC.TERP.03	(-) – Espatulenol	77171-55-2	Mel
ALC.TERP.04	Tau.-muurolol	36564-42-8	Herbal
ALC.TERP.05	Alpha.-cadinol	481-34-5	Ervas

Tomando as áreas normalizadas dos compostos identificados, processou-se a análise de componentes principais (PCA). Os resultados obtidos quanto ao perfil de voláteis em Cereja-do-Rio Grande, apresentam diferenças entre as regiões amostradas, evidenciado na Figura 13B. Os grupos se ordenam de forma espaçada, o que pode ser relacionado a presença de compostos específicos de cada região ou acesso. A variância total (43,5%) é representada por dois eixos, no qual o componente 1 explicou 23,9% da variabilidade total dos dados, e separou principalmente Ibitinga. O componente 2 explicou 19,6% do total da variabilidade, demonstrando Jundiaí e Salesópolis mais próximos que as demais regiões

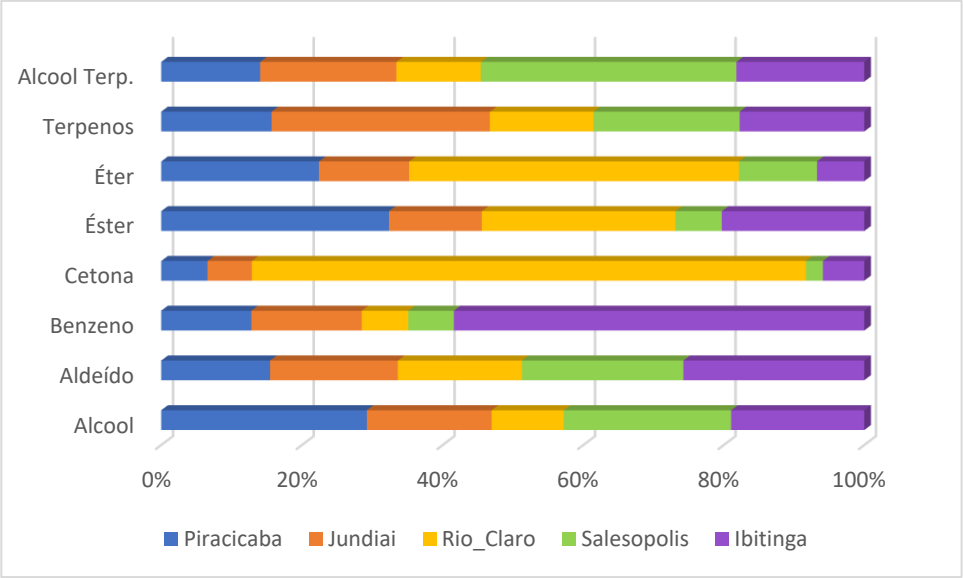
Figura 13- Análise multivariada dos compostos voláteis de Cereja-do-Rio Grande amostradas nas cidades de Ibitinga, Piracicaba, Rio Claro, Salesópolis e Jundiaí. A) Análise de grupamento hierárquico e *Heatmap*. Em A, as cores vermelho e azul indicam altos e baixos níveis de compostos, respectivamente. B) Score plot discriminativo como componente principal (PCA) a diferença entre as regiões amostradas.



Através do grupamento hierárquico no *heatmap* (fig. 13A), observa-se que Piracicaba e Ibitinga se separam, sendo o último *cluster* horizontal o maior responsável pela diferenciação de Rio Claro. Pode-se constatar também que o grupamento Jundiaí e Salesópolis se originam do mesmo *cluster*, confirmando sua proximidade constatada na análise de componentes principais.

Observou-se através das análises que o perfil aromático de cada região se difere tanto na distribuição de classes como na abundância dos metabólitos (figura 13). Rio Claro apresentou o menor número de compostos, totalizando 21 elementos, sendo as cetonas o composto volátil encontrado com maior abundância, em seguida teve-se Piracicaba (26), Salesópolis (28), Ibitinga (32) e Jundiaí (34).

Figura 14 - Perfil comparativo da distribuição dos compostos voláteis de Cereja-do-Rio Grande amostradas nas cidades de Ibitinga, Piracicaba, Rio Claro, Salesópolis e Jundiaí.



Fonte: Elaboração própria

Os principais metabólitos envolvidos na diferenciação foram: a presença de delta-selineno, e benzaldeido, responsável pela região apresentar a maior abundância de benzenos dentre as outras, em Ibitinga. Em Jundiaí, os metabólitos predominantes foram os terpenos e álcool terpenicos, observando exclusivamente nesta região o eucaliptol, acifileno e delta-elemeno, sugerindo aroma fresco e mentolado. Salesópolis também se sobressai em terpenos e álcool terpenos, dado que Beta-ilangeno é o principal responsável da separação de Salesópolis, dentre outros metabólitos que também possuem aroma floral e oxido de cariofileno cuja descrição aromática é amadeirada.

Rio Claro detém o grupo Cetona quase em sua totalidade, dado que o metabolito fenilacetona apresenta o maior volume nos dados, contribuindo para o aroma doce amendoado destes frutos. Na região de Piracicaba, destacam-se notas verde e frutados, com destaque para maior representação dos ésteres nestas amostras, essencialmente ao Trans-2-hexenil propionato.

Assim como na Grumixama, os resultados podem ter sido ocasionados pelos fatores edafoclimáticos, uma vez que os acessos de Cereja -do-Rio-Grande encontram diferentes pressões em cada local coletado. No entanto, como demostrado no presente trabalho, alguns poucos voláteis podem ser importantes para o aroma particular de um determinado fruto.

7. CONCLUSÃO

Para estas duas espécies analisadas são possíveis observar perfis de compostos voláteis muito diversos, dado que é particularmente difícil de ser categoricamente associada mais fortemente com um ou outro fator. Genética e ambiente têm influência muito variada sobre o metabolismo de voláteis, por englobar diversas vias metabólicas, com regulação muito variada. Isso pode ser percebido quando se analisam os dados de açúcares e ácidos orgânicos, cuja variabilidade entre os acessos não é tão grande em comparação com a composição de voláteis.

A grande variedade fenotípica observada nos acessos pode também ser em virtude da propagação por sementes. A caracterização de genótipos vem sendo realizados pelo outro grupo do projeto e os dados obtidos aqui poderão direcionar a seleção de indivíduos com potencial a candidatos a clonagem, visando características sensoriais. Posto isso, trazer estes conhecimentos são substanciais para continuação do presente estudo e para diversas áreas, como aquelas que fazem referência ao manejo, conservação do fruto, produção de processados, entre outros, a fim de tentar padronizar a qualidade e conservar as características dos frutos, que são fundamentais para o sucesso da comercialização.

.

8. REFERÊNCIAS

ANTONIA, Barbara Della; JACOMINO, Angelo Pedro. **Qualidade pós-colheita de cereja-do-rio-grande (Eugenia involucrata DC.): caracterização de acessos e estádios de maturação**. 2020.Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2020. Disponível em: < https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11136/tde-14082020-121147/ >

BAGETTI, M. et al. Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (Eugenia uniflora L.). Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 31, n. 1, p. 147–154, 2011

BALDWIN, E. A. **Fruit flavor, volatile metabolism and consumer perceptions**. Fruit Quality and Its Biological Basis. CRC Press, Boca Raton, FL, 89–106, 2002.

BANERJEE, A.; DASGUPTA, N.; DE, B. **In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit**. Food Chemistry, v. 90, n. 4, p. 727-733, 2005. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.033

BARROSO, G.M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Universidade Federal de Viçosa, v. 2,1991.

BASTOS, C. et al. **Chemical characterisation and bioactive properties of Prunus avium L**.: the widely studied fruits and the unexplored stems. Food Chemistry, [S. l.], v. 173, p. 1045-1053, 2015.

BRASIL. Portaria Interministerial nº 163, de 11 de maio de 2016. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 maio 2016. Seção 1, n.94, p. 58-60.

CHITARRA, M.I.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**: fisiologia e manuseio. Lavras: ESAL, FAEPE, p,320, 1990.

CHITARRA, M.I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p

CHRISTENHUSZ, MAARTEN J.M.; BYNG, JAMES W.The number of known plants species in the world and its annual increase. **Phytotaxa**, [S.l.], v. 261, n. 3, p. 201–217, may 2016. ISSN 1179-3163. Available at: <https://biotaxa.org/Phytotaxa/article/view/phytotaxa.261.3.1>. Date accessed: 18 jun. 2019. doi:http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.261.3.1.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**: recomendações silviculturais, potencialidade e uso da madeira. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas; Colombo, PR: Embrapa Florestas, p, 593, 2008.

CORADIN, L. SIMINSKI, A. REIS, A. **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial**. Brasília. 2011. Disponível em: https://www.mma.gov.br/estruturas/sbf2008_dcbio/_ebooks/regiao_sul/Regiao_Sul.pdf. Acesso em: 02 dez. 2016.

CROTEAU, R., KUTCHAN, T.M. AND LEWIS, N.G. Natural products (secondary metabolites). In **Biochemistry and Molecular Biology of Plants** (Buchanan, B., Gruissem, W. and Jones, R., eds). Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists, pp. 1250–1318, 2000.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 900 p, 2010.

DONADIO, L.C.; MÔRO, F.V.; SERVIDONE, A.A. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: Ed. Novos Talentos, 288 p, 2002.

DRUMMOND, G.M.; PAGLIA, A.P. (eds.), Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Brasília: **Ministério do Meio Ambiente**, pp. 63-70, 2008.

DUDAREVA,N.; KLEMPIEN,A.; MUHLEMANN, J.K.; KAPLAN, I. **Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds**. New Physiologist, v. 198,16-32,2013.

FAO. 2019. The State of the World's Biodiversity for Food and Agriculture, J. Bélanger & D. Pilling (eds.). **FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments**. Rome. 572 pp. (http://www.fao.org/3/CA3129EN/CA3129EN.pdf) Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

FERREIRA, F. R. Germoplasma de espécies frutíferas nativas. In: 2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2003, Porto Seguro. **Anais do 2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**. Porto Seguro: Embrapa Mandioca e Fruticultura tropical, 2003. p. 1-8.

Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < http://floradobrasil.jbrj.gov.br/ >. Acesso em: 24 mar. 2021.

FU, Y. et al. **Chemical composition and antioxidant capacity of Chinese wild raspberry (*Rubus hirsutus* Thunb.)**. LWT – Food Science and Technology, [S. l.], v. 60, p. 1262-1268, 2015.

GALINDO-LEAL, C. & CÂMARA, I.G. 2005. *Status* do *hotspot* Mata Atlântica: uma síntese. Pp. 3-12. In*:* C. Galindo-Leal & I.G. Câmara (eds.). **Mata Atlântica: biodiversidade, ameaças e perspectivas**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica - Belo Horizonte: Conservação Internacional.

GALINDO-LEAL, C.; CÂMARA, I. G. Mata Atlântica: **Biodiversidade, Ameaças e Perspectivas**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, 2005.

GUEDES, M. N. S. et al. Fruit quality of jabuticaba progenies cultivated in a tropical climate of altitude. Fruits, v. 69, n. 6, p. 449–458, 2014.

GOVAERTS, R., DRANSFIELD, J., ZONA, S.F, HODEL, D.R., HENDERSON, A. **World Checklist of Myrtaceae**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew, 2019. Published on the Internet; http://wcsp.science.kew.org/ Retrieved 17 September 2019

HADI, M.A.M.; ZHANG, F.J.; WU, F.F.; ZHOU, C.H.; TAO, J. Advances in Fruit Aroma Volatile Research. Molecules, v. 18, p. 8200-8229, 2013.

HASSAN, M.; ZAINAL, Z.; ISMAIL,I. **Green leaf volatiles**: biosynthesis, biological functions and their applications in biothechnology. Plant Biotechnology Journal, v. 13, p. 727-739, 2015.

HUI, Y. H. et al. **Handbook of fruits and fruit processing**. 1 ed. Iowa:Blackwell Publishing, 688 p, 2006.

INFANTE J.; ROSALEN PL.; LAZARINI J.G.; FRANCHIN M.; ALENCAR S.M. **Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Unexplored Brazilian Native Fruits**. 2016. PLoS ONE 11(4): e0152974. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152974

ICMBio-Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. **Diagnóstico da Fauna** – avaliação do estado de conservação de espécies da fauna brasileira. Brasília: ICMBio, 2015.

KADER, A. **Perspective Flavor quality of fruits and vegetables**. J. Sci. Food and Agric. 88:1863–1868, 2008.

KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de Alimentos**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 242 p.

LEWINSOHN, E.; SCHALECHET, F.; WILKINSON, J.; MATSUI, K.; TADMOR, Y.; NAM, K.H.; AMAR, O.; LASTOCHKIN, E.; LARKOV, O.; RAVID, U.; HIATT, W.; GEPSTEIN, S.; PICHERSKY, E. **Enhanced levels of the aroma and flavor compound S-linalool by metabolic engineering of the terpenoid pathway in tomato fruits**. Plant Physiology, v.127, p.1256-1265, 2001.

LEWINSOHN, E; SITRIT, Y; BAR, E; AZULAY, Y; MEIR, A; ZAMIR, D; TADMOR, Y. **Carotenoid pigmentation affects the volatile composition of tomato and watermelon fruits, as revealed by comparative genetic analyses**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 53, p. 3142-3148, 2005.

LIMA, A. J. B. et al. **Sugars, organic acids, minerals and lipids in jabuticaba**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 33, p. 540-550, 2011.

LIMA, L. C. O. **Tecido esponjoso em manga "Tommy Atkins". Transformações químicas e bioquímicas no mesocarpo durante o armazenamento.** Lavras; UFLA. 148 p. 1997.

LORENZI, H. et al. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas**: de consumo in natura. Nova Odessa: Plantarum, 2006.

LORENZI, H., BACHER, L., LACERDA, M., QUEIRORI, S. Arvores Brasileiras, Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil. **Instituto Plantarum de Estudos da Flora**, Nova Odessa - SP, 2000.

MARÍN-LOAIZA J. C.; CÉSPEDES C. L. **Compuestos volátiles de plantas**. Origen, emisión,efectos, análisis y aplicaciones al agro. Rev. Fitotéc. Mex., 30, p.327–351, 2007.

MATSUI, K. **Green leaf volatiles**: hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism. Curr. Opin. Plant Biol. 9, 274–280, 2006.

MARIN, R.; APEL, M.A.; LIMBERGER, R.P.; RASEIRA, M.C.B.; PEREIRA, J.F.M.; ZUANAZZI, J.A.S.; HENRIQUES, A.T. **Volatile Components and Antioxidant Activity from some Myrtaceous Fruits cultivated in Southern Brasil**. Latin American Journal of Pharmacy, v. 27, n. 2, p. 172-177, 2008.

MAGINA, M. D. A., DALMARCO, E. M. D., DALMARCO, J. B., COLLA, G., PIZZOLATTI, M. G., & BRIGHENTE, I. M. C. **Bioactive triterpenes and phenolics of leaves of *Eugenia brasiliensis***. Quimica Nova, 35(6), 1184-1188, 2012.http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422012000600022

MARCHIORI, J.N.C. & SOBRAL, M. **Dendrologia das angiospermas - Myrtales**. Editora da UFSM, Santa Maria, 1997.

MATTHEIS, J.P.; FELLMAN J.K. **Preharvest factors influencing flavor of fresh fruit and vegetables**. Postharvest Biology and Technology, v.15, p.227-232, 1999.

MEINHART, A. D. **Desenvolvimento de metodologia para separação de carboidratos predominantes em alimentos por eletroforese capilar**. 2010. 179 p. Tese em Ciência dos Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP, 2010.

NEHRING, P. (2016). **Avaliação da capacidade antioxidante e compostos fenólicos em diferentes níveis de maturação do grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck)**. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; FONTES, M. A. **Patterns of Floristic Differentiation among Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the Influence of Climate**. Biotropica, 32: 793-810, 2000.doi:10.1111/j.1744-7429.2000.tb00619.x

ORNELAS-PAZ, J. J. et al. **Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (Fragaria x ananassa Duch, Cv. Albion) at six stages of ripening**. Food Chemistry, [S. l.], v. 138, p. 372-381, 2013.

PALIYATH, G.; MURR, D. **Biochemistry of Fruits**. Postharvest Biology and Technology of Fruits, Vegetables, and Flowers, v. 03, p. 19-50, 2008.

PEREDA, J. A. O., et al. **Tecnologia de Alimentos - Componentes dos Alimentos e Processos**, v. 1. Rio Grande do Sul: Artmed, 2005.

PEREIRA, M.C., CASTILHO, P.M., VIZZOTTO, M. Propriedades funcionais da cereja-do-rio grande (*Eugenia involucrata*). *In:* **IV Simpósio Nacional do Morango III Encontro sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul**, Pelotas, 2008.

PÉREZ, A.G.; SANZ, C. Formation of fruit flavor. In: Bruckner, B.; Wyllie, S. G. **Fruit and Vegetable Flavour**- Recent Advances ans Future Prospects. Woodhead Publishing. Cap. 4, pag. 41-70, 2008.

PIETROVSKI, E. F.et. al. **Topical anti-inflammatory capacity of *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) leaves**. Journal of Pharmacy and Pharmacology, [S. l.], v. 60, p.479-787, 2008.

QUEIROZ, J. M. G., SUZUKI, M. C. M., MOTTA, A. P. R., NOGUEIRA, J. M. R., & CARVALHO, E. M. Popular and scientific aspects of *Eugenia* species use as herbal. Revista Fitos, 9(2), 73-159. 2015. http://dx.doi. org/10.5935/2446-4775.20150008

ROLLS BJ, ELLO-MATIN JA, TOHILL BC. **What can intervention studies tell us about the relationship between fruit and vegetable consumption and weight management?** Nutrition Reviews, 62(1):1-17. 2004

RIBEIRO, M.C., J.P. METZGER, A.C. MARTENSEN, F.J. PONZONI & M.M. HIROTA. **The Brazilian Atlantic Forest**: How much is left, and how much is the remaining forest distributed? Implications for conservation. Biological Conservation, 142: 1141-1153. 2009.

ROHMER, M. **Mevalonate-independent methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis:** elucidation and distribution. Pure Appl. Chem. 75, 375–388. 2003.

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

SAFFORD, H. D. **Brazilian Páramos IV**. Phytogeography of the campos de altitude. Journal of Biogeography 34: 1701-1722. 2007.

SARTORI, S. F. **Grumixama**. 1 ed. Jaboticabal: Funep, 2012, 28 p.

SIEBERT, D. A. et al**. Evaluation of seasonal chemical composition, antibacterial, antioxidant and anticholinesterase capacity of essential oil from *Eugenia brasiliensis* Lam**. Natural Product Research, [S. l.], v. 29, p. 289-292, 2015.

SILVA, A. P. G. DA et al. Characteristics of the fruits of two uvaia populations grown inSalesópolis, SP, Brazil. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 40, n. 2, 2018.

SIQUEIRA, M.F. (1994) **Análise florística e ordenação de espécies arbóreas da mata atlântica através de dados binários**. Campinas, Dissertação de mestrado, UNICAMP, 142p. 1994.

SINHA, N. K. et al. Handbook of fruits and fruit processing. 2 ed. Iowa: **Wiley-Blackwell**, 2012. 694 p.

SOS Mata Atlântica-Fundação SOS Mata Atlântica; INPE- Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. *Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica – Período 2017-2018*. **São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, 2019.** Disponível em https://www.sosma.org.br/wp-content/uploads/2019/05/Atlas-mata-atlantica_17-18.pdf. Acesso: 17/04/2019.

SPAROVEK, Gerd. et al. A revisão do código florestal brasileiro. Novos Estudos-**CEBRAP**, vol.89, 2011, p. 111-135

STUMPE, M. AND FEUSSNER, I. **Formation of oxylipins by CYP74 enzymes**. Phytochem. Rev. 5, 347–357. 2006.

SOUZA, A. G. C.; SILVA, S. E. L. da. Frutas Nativas da Amazônia In: **XX Congresso Brasileiro de Fruticultura**, 54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture. Vitória/ES. 2008. p. 1-2

SCHWAB, W.; DAVIDOVICH-RIKANATI, R.; LEWINSOHN, E. **Biosynthesis of plant-derived flavor compounds**. The Plant Journal, v. 54, p. 713-732, 2008.

SCHWAB, W. AND SCHREIER, P. **Enzymic formation of flavor volatiles from lipids**. In Lipid Biotechnology (Kuo, T.M. and Gardner, H.W., eds). New York: Marcel Dekker, pp. 293–318. 2002.

TALCOTT, S. T. **Chemical components of berry fruits**. In Berry Fruit: Value-Added Products for Health Promotion; Zhao, Y., Ed.; Taylor and Francis Group: Boca Raton, FL, USA, 2007; Vol. 1, pp 51– 68.

TEIXEIRA, L. L., HASSIMOTTO, N. M. A., & LAJOLO, F. M. (2018). Grumixama - *Eugenia brasiliensis* Lam. In S. Rodrigues, E. O. Silva, & E. S. Brito (Eds.), **Exotic fruits reference guide** (pp. 219-224). Massachusetts: Academic Press. http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803138- 4.00028-9.

TEIXEIRA, L. L., BERTOLDI, F. C., LAJOLO, F. M., & HASSIMOTTO, N. M. A. (2015). **Identification of ellagitannins and flavonoids from *Eugenia brasilienses* Lam. (Grumixama) by HPLC-ESI-MS/MS**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63(22), 5417-5427. http://dx.doi. org/10.1021/acs.jafc.5b01195. PMid:25990484.

THE BRAZIL FLORA GROUP. **Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil**. Rodriguésia. v. 66, n. 4, p. 1085-113. 2015.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. **Microextraçao por fase sólida**. Química Nova, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 523-530, jul./ago. 2000.

VIEIRA, R. F.; COSTA, T. da S. A.; SILVA, D. B. da; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R. (Ed.). **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2010.

VOGEL, J.T., TIEMAN, D.M., SIMS, C.A., ODABASI, A.Z., CLARK, D.G., KLEE, H.J. *Carotenoid content impacts flavor acceptability in tomato (Solanum lycopersicum).* J. Sci. Food Agric. 90:2233–40,2010.

VILAS BOAS, E.V.B. **Qualidade de alimentos vegetais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. p.44-59.

ZHAO, J. et al. **Changes in sugars and organic acids in wolfberry (Lycium barbarum L.) fruit during development and maturation**. Food Chemistry, [S. l.], v. 173, p. 718-724, 2015.

WANG, C. Y. **Maintaining postharvest quality of raspberries with natural volatile compounds Int**. J. Food Sci. Technol. 2003, 38, 869– 875 DOI: 10.1046/j.0950-5423.2003.