UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO EXPERIMENTAL

Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos

Área: Bromatologia

Caracterização de compostos bioativos de três variedades de Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

Mariana Magalhães Souto

Versão Corrigida

Dissertação para obtenção do grau de Mestre.

Orientação:

Profª. Dra. Neuza Mariko Aymoto Hassimotto

São Paulo
2017

Mariana Magalhães Souto

Caracterização dos principais compostos bioativos das três variedades de Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

.

Tese apresentada ao Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo para obtenção do grau e MESTRE em Ciências dos Alimentos.

Área de Concentração: Bromatologia

Orientadora: Profª. Dra. Neuza Mariko Aymoto Hassimotto

São Paulo
2017

Mariana Magalhães Souto

Caracterização dos principais compostos bioativos das três variedades de Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

Comissão julgadora

da

dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profª Dra. Neuza Mariko Aymoto Hassimotto

Orientadora / Presidente

1o. examinador

2o. examinador

3o. examinador

4o. examinador

São Paulo, de , 2017

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Souto, Mariana Magalhães
S728c Caracterização dos principais compostos bioativos das três variedades de Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) / Mariana Magalhães Souto. -- São Paulo, 2017.
103 p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.
Orientador: Hassimotto, Neuza Mariko Aymoto

1. Bromatologia : ciência dos alimentos 2. Nutrição aplicada : ciência dos alimentos 3. Alimentos : química I. T. II. Hassimotto, Neuza Mariko Aymoto.

641 CDD

Dedico este trabalho

Aos meus amados pais, Antônio e Silvana por acreditar em mim e sempre me apoiar.

Ao meu irmão, Tommy por estar sempre ao meu lado.

Amo vocês até o céu ida e volta.

AGRADECIMENTOS

A realização desta dissertação de mestrado contou com importantes apoios e incentivos sem os quais não se teria tornado uma realidade e aos quais estarei eternamente grata. Inicialmente agradeço meus pais, Antônio e Silvana que sempre primaram minha educação. Obrigada pela oportunidade de estudo e sempre estar ao meu lado, mesmo que distante. Agradeço também ao meu irmão pelo apoio e parceria de sempre. Aos meus tios e tias, primos e primas por todo apoio e gesto de carinho e amor.

Aos meus amigos (os que moram longe e os que estão perto), que tantas vezes fui obrigada a me privar de momentos juntos para me dedicar aos estudos e leituras, mas que hoje após todo este esforço eu pudesse dizer a todos eles que dedico este trabalho também a eles.

A Profª. Dra. Neuza Mariko Aymoto Hassimotto, agradeço pela disponibilidade que sempre teve em me ensinar e dispor do seu tempo para me orientar na trajetória de construção deste trabalho.

Aos professores do departamento, agradeço por poder contar com vocês em momentos de dúvidas e possibilitar a troca de experiências. A Profª Beatriz Cordenusi, meu muito obrigada por me receber na USP e indicar a orientadora. Ao Prof. Eduardo Purgatto pela troca de experiência e exigências, pois ajudaram a me tornar uma profissional melhor. Ao Prof. João Paulo Fabi pela amizade, palavras de carinho e incentivo nessa minha caminhada. Aos queridos técnicos; Lúcia Justino, Elias Araújo e Aline Santos, muito obrigada pela ajuda em todas as situações, agradeço também ao Neto (IAC) e o Pesquisador da Embrapa-RS pelo fornecimento das amostras de Pitanga pois sem elas esse trabalho não seria possível.

Agradeço a oportunidade de ingressar no Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos. A todos que direta ou indiretamente possibilitaram a continuidade de minha formação. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Obrigada aos meus amigos do laboratório, por poder contar sempre com vocês em qualquer situação, pelas gargalhadas mesmo que as vezes atrapalhando, pelos almoços do

bandex e pelos lanches da tarde que quase não tinham fim. Sou grata pelas conversas, desabafos, trocas de confissões, trocas de manias que todo químico tem com a Fernanda Peroni e Renata Shitakubo (Florzinha, obrigada pelo apoio, pela confiança, pela parceria); pelas ajudas e trocas de conhecimento com Gabriela Schmitz, Vanessa Bonato, Mayra Crystiane, Ingryd Campos, Samira Prado, Victor Castro-Alves, Eric Tobaruela, Ana Sansone, Marcelo Sansone, Tamy Lima e Isabel Massaretto; pelas conversas, lanches e encontros no cafézinho regados de risadas com José Augusto, Amanda Romero, Illana Louise, Luciana Tedesco, Ernesto Vargas-Mendez, Marina Nogueira e Eduardo De Carli.

Aos amigos do grupo flavonoides/Sushibar, Mayara Adja, José Thiago, Luciane Teixeira, Elisa Brasili e Manuela Brito (Manuzinha, obrigada por cada palavra, cada momento junto), meu muito obrigada por toda ajuda, por cada contribuição, pelos ensinamentos e trocas. Tudo foi muito importante para meu crescimento.

Meu muito obrigada as meninas que me aguentam todos os dias, que são companhia para tudo e todos os momentos. Que entendem com um simples gesto e olhar. Mari Veloni e Bruna Arssuffi obrigada por tudo. Também não poderia esquecer dos meus irmãos que São Paulo me deu, Bruno Viana e Ana Marla, obrigada pelo carinho, pelas broncas, pelo ombro amigo, pela dedicação. Obrigada por sempre estarem ao meu lado quando precisei. Pelos almoços maravilhosos, pelas risadas constantes, pelas diferenças que nos fazem mais próximos. Simplesmente obrigada.

Acima de tudo sou grata a Deus por me dar a vida e colocar todas essas pessoas em minha no meu caminho.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS 11

LISTA DE FIGURAS 13

LISTA DE TABELAS 15

RESUMO 17

ABSTRACT 18

1- INTRODUÇÃO 19

1.1 Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) 19

1.2 Características do fruto 20

1.3 Flavonoides 22

1.4 Carotenoides 28

1.5 Compostos Bioativos da Pitanga 32

2- OBJETIVO 34

3- MATERIAL E MÉTODOS 35

3.1 Material 35

3.2 Métodos 35

3.2.1 Caracterização química 35

3.2.1.1 Grau Brix 35

3.2.1.2 Açúcares solúveis 36

3.2.1.3 Ácidos orgânicos 36

3.2.1.4 Ácido ascórbico 37

3.2.2 Caracterização dos compostos fenólicos 37

3.2.2.1 Extração 37

3.2.2.2 Fenólicos totais (FT) 38

3.2.3 Antocianinas monoméricas 38

3.2.4 Capacidade antioxidante 38

3.2.4.1 Oxygen radical assay capacity (ORAC) 39

3.2.4.2 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 39

3.2.5 Quantificação de Ácido Elágico total 40

3.2.6 Extração para Quantificação e identificação de flavonoides 40

3.2.6.1 Extração de fase sólida 40

3.2.7 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência –DAD 41
3.2.8 LC-ESI-MS/MS 41
3.2.9 Microextração de carotenoides 42
3.2.10 Análise estatística 42
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO 43
4.1 Teor de sólidos solúveis e Peso dos frutos 43
4.2 Conteúdo de Antocianinas monoméricas, Fenólicos Totais e Capacidade antioxidante. 46
4.3 Concentração de ácidos orgânicos, ácido ascórbico e açúcares solúveis. 50
4.4 Identificação e quantificação de flavonoides 55
4.5 Quantificação de Ácido Elágico total 72
4.6 Identificação e Quantificação de carotenoides 74
5- CONCLUSÃO 79
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 80
7- ANEXOS 85

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	**Ácido Ascórbico**
AG	**Ácido gálico**
ANS	**Antocianina sintase**
ANVISA	**Agência Nacional de Vigilância Sanitária**
AT	**Acil transferase**
CAH	**Clauster Aglomerativo Hierárquica**
CHI	**Chalcona isomerase**
CHS	**Chalcona sintase**
CLAE/DAD	**Cromatografia de alta eficiência acoplado a um detector com arranjo de diodo**
DCNT	**Doenças crônicas não – transmissíveis**
DFR	**Dihidroflavonol 4-redutase**
DMAPP	**Dimetilalil**
DP	**Desvio Padrão**
DPPH	**2,2-diphenyl-1-pycrylhydrazyl**
DTT	**Ditiotreitol**
EMBRAPA	**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**
F3´5´H	**Flavonoide´3´,5´hidroxilase**
F3´H	**Flavonoide 3´hidroxilase**
F3H	**Flavanona hidroxilase**
FLS	**Flavonol sintase**
FT	**Fenólicos totais**
GGPP	**Geranilgeranil pirofosfato**
GT	**Glucosil transferase**
IAC	**Instituto Agronômico de Campinas**

IPP	**Isopentil pirofosfato**
LC-ESI-MS/MS	**Cromatografia liquída acoplada ao Espectrômetro de massas do tipo íon trap e interface de ionização por electrospray.**
MT	**Metil transferase**
ORAC	**Oxygen radical assay capacity**
PAL	**Fenilalanina ammonia-liase**
PIP	**Isopentinil pirofosfato**
SST	**Sólidos solúveis totais**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Variedades de frutos da pitangueira (Eugenia uniflora L.) no estádio maduro. Variedade amarela (A), vermelha (B) e roxa (C). 22

Figura 2. Estrutura química dos flavonoides e suas diferentes classes. 23

Figura 3. Rota biossintética das principais vias dos flavonoides. 25

Figura 4. Estrutura básica das principais antocianidinas encontradas nos alimentos vegetais. 26

Figura 5. Rota biossintética para a síntese de antocianinas em vegetais. 27

Figura 6. Estrutura química de alguns carotenoides..... 29

Figura 7. Composto precursor e principais carotenos e xantofilas na rota biossintética de carotenoides em plantas. 31

Figura 8. Concentração de fenólicos totais de extrato metanólico de frutos de pitanga das variedades vermelha (V1, V2, V3 e V4*), roxa (R1, R2 e R3*) e amarela (A1*) em três estádio de desenvolvimento. 47

Figura 9. Capacidade antioxidante de extrato metanólico de frutos de pitanga das variedades vermelha (V1, V2, V3 e V4*), roxa (R1, R2, R3*) e amarela (A1*), em três estádios de desenvolvimento, avaliada pelos métodos ORAC (A) e DPPH (B). 49

Figura 10. Conteúdo de ácidos orgânicos identificados por CLAE/DAD em frutos de pitanga das variedades vermelha (V1, V2, V3 e V4*), roxa (R1, R2 e R3*) e amarela (A1*), em três estádios de desenvolvimento. 51

Figura 11. Conteúdo de açúcares solúveis glicose (A), frutose (B) e sacarose (C) em frutos de pitanga das variedades vermelha (V1, V2, V3 e V4*), roxa (R1, R2 e R3*) e amarela (A1*), em três estádios de desenvolvimento. 53

Figura 12. Conteúdo de ácido ascórbico total em frutos de pitanga das variedades vermelha (V1, V2, V3 e V4*), roxa (R1, R2 e R3*) e amarela (A1*), em três estádios de desenvolvimento. 54

Figura 13. Cromatograma obtido por CLAE-DAD (A e B λ = 370 nm e C λ = 525 nm), para o fruto de pitanga roxa fornecido pela EMBRAPA-RS, nos estádios verde (A) e maduro (B e C). 55

Figura 14. Cromatograma obtido por CLAE-DAD (A e B λ = 370 nm e C λ = 525 nm), para o fruto de pitanga roxa coletado na região de Campinas-SP, nos estádios verde (A) e maduro (B e C). 56

Figura 15. Espectro de massas MS e MS2 de flavonoides de pitanga roxa, em estádio verde, obtido em modo negativo. 61

Figura 16. Espectro de massas MS e MS2 de flavonoides de pitanga roxa, em estádio maduro. Obtido em modo positivo para antocianinas e negativo para flavonóis.....62

Figura 17. Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD (λ = 370 nm) para variedade vermelha de pitanga proveniente da EMBRAPA-RS, em dois estádios de desenvolvimento, (A) verde e (B) maduro. 63

Figura 18. Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD (λ = 370 nm) para variedade vermelha de pitanga proveniente da região de Campinas-SP, em dois estádios de desenvolvimento, (C) verde e (D) maduro. 64

Figura 19. Espectro de massas MS e MS2 de flavonoides de pitanga vermelha, obtido em modo negativo para flavonóis..... 68

Figura 20. Cromatograma obtido por CLAE-DAD (λ = 370 nm), para o fruto de pitanga amarelo fornecido pela EMBRAPA, nos estádios verde (A) e maduro (B)..... 69

Figura 21. Cromatograma obtido por CLAE-DAD de carotenoides de pitanga (λ = 474, λ = 450 e λ = 328), variedade vermelha (V4), roxa (R3) e amarela (A1), fornecido pela EMBRAPA-RS, nos estádios verde (A) e maduro (B). 76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Frutos de pitanga das variedades vermelha (V), roxa (R) e amarela (A), em três estádios de desenvolvimento, colhidos entre dezembro de 2014 a fevereiro de 2015. .. 44

Tabela 2. Teor de sólidos solúveis (°Brix) de frutos de pitanga das variedades vermelha (V), roxa (R) e amarela (A) em três estádios de desenvolvimento..... 45

Tabela 3. Peso médio dos frutos de pitanga das variedades vermelha (V), roxa (R) e amarela (A) em três estádios de desenvolvimento. Valores expressos em grama (g).... 45

Tabela 4. Concentração de antocianinas monoméricas de frutos de pitanga da variedade roxa em três estádios de desenvolvimento. 46

Tabela 5. Identificação de flavonoides por LC-ESI-MS/MS de frutos da pitanga roxa da EMBRAPA-RS e região de Campinas-SP. 57

Tabela 6. Conteúdo de flavonoides na pitanga variedade roxa (R1, R2 e R3*) em dois estádios de desenvolvimento (verde e maduro)..... 58

Tabela 7. Espectro de massas de flavonoides e ácidos fenólicos obtidos por LC-ESI-MS/MS de frutos da pitanga vermelha fornecidos pela EMBRAPA-RS e coletados na região de Campinas-SP, em dois estádios de desenvolvimento, verde e maduro. 66

Tabela 8. Conteúdo de flavonoides de pitangas da variedade vermelha (V1, V2, V3 e V4*) em dois estádios de desenvolvimento (verde e maduro)..... 67

Tabela 9. Espectro de massas de flavonoides obtidos por LC-ESI-MS/MS de frutos da pitanga amarela fornecidos pela EMBRAPA-RS..... 70

Tabela 10. Conteúdo de flavonoides de pitanga da variedade amarela, em dois estádios de desenvolvimento (verde e maduro). 71

Tabela 11. Quantificação de Ácido Elágito total nas três variedades de pitanga, vermelha (V), roxa (R) e amarela (A) no estádio maduro..... 73

Tabela 12. Composição de carotenoides obtidos por CLAE-DAD nas variedades vermelha (V1, V2, V3 e V4*) e amarela (A1*), em dois estádios de desenvolvimento (verde e maduro) provenientes da EMBRAPA-RS e CAMPINAS-SP..... 77

Tabela 13. Composição de carotenoides obtidos por CLAE-DAD nas variedade roxa (R1, R2 e R3*), em dois estádios de desenvolvimento (verde e maduro) provenientes da EMBRAPA-RS e CAMPINAS-SP. 78

RESUMO

SOUTO, M. M. **Caracterização dos principais compostos bioativos das três variedades de pitanga (*Eugenia uniflora* L.).** 2017. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Os frutos da pitangueira pertencem à família Myrtaceae e podem ser encontrados em três variedades da mesma espécie, reconhecidos de acordo com a cor dos frutos como amarelo, vermelho e roxo. O objetivo deste estudo é caracterizar as três variedades de frutos de pitanga, com relação aos principais carotenoides e compostos fenólicos, e seu comportamento durante o desenvolvimento. Os frutos foram obtidos da região de Campinas (IAC) e fornecidos pela EMBRAPA - (RS). Os extratos metanólico dos frutos foram caracterizados quanto ao conteúdo antocianinas monoméricas, onde somente a variedade roxa, das diferentes plantas e região, apresentou aumento de concentração de antocianinas monoméricas com o desenvolvimento (0,59 a 1,94 mg cy-3-glu eq/g b.s. e 1,43 a 8,47 cy-3-glu eq/g b.s. para o estádio intermediário e maduro, respectivamente. Além disso, a variedade roxa no estádio maduro apresentou maior concentração de fenólicos totais (6,52 a 18,42 mg de AG/g b.s.) quando comparados às outras. O ácido cítrico foi identificado, por CLAE/DAD, como o ácido orgânico majoritário, seguido pelos ácidos succínico e málico, em todas as variedades, com maior concentração no estádio verde. De acordo com a concentração de ácido ascórbico, a pitanga não é uma boa fonte de vitamina C, apresentando valor máximo de 4,0 mg/g b.s no estádio maduro. Os açúcares majoritários encontrados foram a glicose e a frutose. A antocianina majoritária, identificada por LC-ESI-MS/MS, da variedade roxa, no estádio maduro foi a cianidina-3-glicosídeo, com uma variação de 8,05 a 640,53 mg/100g b.s, já o flavonoide majoritário na variedade amarela e vermelha foram miricetina e quercetina em ambas variedades. O carotenoide majoritário identificado por CLAE/DAD, em todas variedades no estádio maduro foi o licopeno, onde a variedade vermelha se destaca pela maior concentração. Dessa forma, o perfil de flavonoides não é alterado com o desenvolvimento, mas é observado uma redução no seu conteúdo nas variedades vermelha e amarela; já a variedade roxa apresenta alteração no perfil de flavonoides, com a expressão de antocianinas no estádio maduro. Por outro lado, o perfil de carotenoides em todas as variedades não sofreu alteração.

Palavras-chave: pitanga, compostos bioativos, desenvolvimento, antocianinas.

ABSTRACT

SOUTO, M. M. **Characterization of the main bioactive compounds of three pitanga varieties (*Eugenia uniflora* L.).** 2017. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

The fruits of the pitangueira belong to the family Myrtaceae and can be found in three varieties of the same species, recognized according to the color of the fruits as yellow, red and purple. The aim of this study was characterize the fruits of three pitanga varieties, according to the carotenoids and phenolic compounds composition, and their behavior during ripening. The fruits were obtained from the Campinas region and also provided by EMBRAPA - (RS). Monomeric anthocyaninswere detected only on purple variety, presenting 0.59 to 1.94 mg cy-3-*O*-glu eq/g d.w. and 1.43 to 8.47 cy-3-*O*-glu eq/g d.w.) for the intermediate and mature stages, respectively. In addition, the purple variety at the mature stage had the highest total phenolics concentration (6.52 to 18.42 mg of AG/g d.b.) as compared to other varieties. The citric acid was identified as the major organic acid, followed by succinic and malic acids, in all varieties, with a higher concentration in the green stage. According to the concentration of ascorbic acid, pitanga could not be considered a good source of vitamin C, presenting the highest amount of the 4.0 mg/g d.w. at the mature stage. The major soluble sugars found were glucose and fructose. The major anthocyanin of the purple variety, identified by LC-ESI-MS/MS in the mature stage, was cyanidin-3-*O*-glucoside, ranging from 8.05 to 640.53 mg /100g d.w., whereas the major flavonoids in the yellow and red varieties were myricetin and quercetin. The flavonoid profile was not altered with ripe developing, but a decrease in its content was observed in the red and yellow varieties; on the other hand, the purple variety presented a change in the flavonoid profile, with the expression of anthocyanins in the mature stage. The carotenoids profile in all varieties was the same. The major carotenoid identified by HPLC/DAD, at the mature stage, was lycopene, where the red variety presented the highest concentration.

Key words: pitanga, bioactive compounds, ripening, anthocyanins

1- INTRODUÇÃO

1.1 Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

A flora brasileira apresenta grande diversidade de frutas nativas que aos poucos vem sendo exploradas economicamente. A maior parte dessas frutas apresenta qualidade sensorial despertando o interesse do mercado pelo apelo nutricional. Conhecer a composição dessas frutas é ponto fundamental para que o seu aproveitamento tecnológico seja realizado de maneira otimizada (MATTIETTO et al., 2003).

Os vegetais sintetizam dois tipos de metabólitos: primários e secundários. Enquanto os metabólitos primários respondem pela sobrevivência do vegetal, exercendo função ativa nos processos de fotossíntese, respiração e assimilação de nutrientes; os metabólitos secundários estão intimamente associados ao processo de defesa das plantas (SIMÕES et al., 2001).

Já foram reportados em torno de 8000 compostos fenólicos, ou polifenóis, e estes representam uma ampla classe de metabólitos secundários de plantas e a maior categoria de agentes fitoquímicos (CROZIER; CLIFFORD; ASHIHARA, 2006). Estes se encontram amplamente distribuídos no reino vegetal e são derivados da via fenilpropanóidica (WINKEL-SHIRLEY, 2001). Os três maiores grupos de fenólicos da dieta são os flavonoides, os ácidos fenólicos e os taninos, e são conhecidos por apresentarem atividades biológicas ditas promotora da saúde, tais como atividade antioxidante, anti-inflamatória, hipocolesterolêmica e/ou anticarcinogênica.

Outra classe de metabólitos secundários de plantas são os carotenoides. Possuem ampla distribuição na natureza, estruturas químicas diversas e funções variadas. Embora sejam micronutrientes, presentes em níveis muito baixos (microgramas por grama), os carotenóides estão entre os constituintes alimentícios mais importantes. São pigmentos naturais responsáveis pelas cores de amarelo a laranja ou vermelho de muitas frutas, hortaliças, gema de ovo, crustáceos cozidos e alguns peixes. São também substâncias bioativas, com efeitos benéficos à saúde como imunomodulação e redução do risco de contrair doenças crônicas degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata e degeneração macular relacionada à idade (Gaziano e Hennekens, 1993; Krinsky, 1993; Astorg, 1997; Olson, 1999), e alguns deles apresentam atividade pró-vitamínica A.

Dentre as muitas espécies nativas existentes no Brasil, destaca-se a família Myrtaceae. As espécies brasileiras desta família compreendem plantas que, em razão da qualidade dos seus frutos, podem ser utilizadas para consumo *in natura*, arborização urbana ou para industrialização (MORO, 2004; BARBEDO et al., 2005). A família das Myrtaceaes é uma das maiores famílias botânicas, agrupando mais de 3000 espécies em aproximadamente 140 gêneros (WILSON et al., 2001), estando distribuída por todo o mundo, principalmente, em países de clima tropical e subtropical, mas algumas espécies também ocorrem em regiões de clima temperado (MANICA, 2002). Existem muitas espécies nativas da flora brasileira que também apresentam frutos comestíveis, porém com pequena produção comercial e limitada a determinada regiões, como é o caso da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.).

No Brasil, a pitangueira ainda não tem um valor econômico grande e é mais encontrado como fruto de quintal, geralmente propagada através da semente, o que dificulta sua classificação em variedades Além de ser desejável para o consumo *in natura*, também é utilizada para a produção de suco, polpa congelada e sorvete.

1.2 Características do fruto

A pitanga, fruto da pitangueira *(E. uniflora* L.), também denominada de *Brazilian cherry* ou *Suriname cherry*, é originária da região que se estende desde o Brasil Central até o Norte da Argentina (FIUZA et al., 2008). Esta árvore é encontrada principalmente nas regiões sul e sudeste do Brasil (LIMA; MELO; LIMA, 2005), mas sua distribuição se fez ao longo de quase todo o território nacional e está presente em muitos centros de diversidade e domesticação brasileira, que englobam diferentes ecossistemas tropicais, subtropicais e temperados (BEZARRA; SILVA; LEDERMAN, 2000). No Brasil, os centros de diversidades que têm a pitangueira como espécie nativa são o Nordeste/Caatinga, Sul/Sudeste, Brasil Central/Cerrado e Mata Atlântica. O nome comum tem origem indígena, do tupi pi´tãg, que significa vermelho, em alusão à cor do fruto (DONADIO et al., 2002).

Estudos realizados demonstraram que a pitangueira pode ser muito útil para a prevenção de algumas doenças, pois esta, foi introduzida na medicina empírica pelos

índios guaranis no século XV (FIUZA et al., 2008). Popularmente, a infusão preparada com as folhas é utilizada como antihipertensivo, diurético (CONSOLINI; SARUBBIO, 2002), adstringente, antipirético e para redução dos níveis de colesterol e ácido úrico (SCHMEDA-HIRSCHMANN et al., 1987). Na Ilha da Madeira, o chá preparado com as folhas é utilizado no tratamento de bronquite, gripe, para alívio da tosse, e o fruto para problemas intestinais (RIVERA; OBÓN, 1995). Há evidências que o extrato etanólico de folhas secas, por ação dos flavonoides, possui atividade inibitória da enzima xantina-oxidase, envolvida na conversão de xantina a ácido úrico (SCHMEDA-HIRSCHMANN et al., 1987), além de promover a diminuição da hiperglicemia e hipertrigliceridemia em animais por inibição da degradação de carboidratos e gorduras e da absorção intestinal de glucose (ARAI et al., 1999). O extrato etanólico das folhas secas apresentou, ainda, atividade antifúngica contra dermatófitos (SOUZA et al., 2002), e antibacteriana moderada contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (HOLETZ et al., 2002).

O fruto é uma baga globosa (**Figura 1**), com sete a dez sulcos longitudinais de 1,5-5,0 cm de diâmetro, coroado com sépalas persistentes que possui aroma característico intenso e sabor doce e ácido (ROMAGNOLO; SOUZA, 2006). No processo de maturação, o epicarpo passa de verde para amarelo, alaranjado, vermelho, vermelho-escuro, podendo chegar até quase negro/roxo (**Figura 1**) (SAMPAIO et al., 2005). No Brasil, não se conhecem variedades perfeitamente definidas de pitangueiras uma vez que sua propagação normalmente é feita pela semente, que origina plantas desuniformes, pois é comum encontrar frutos de coloração que variam desde o alaranjado, vermelho escuro até o roxo (LIMA; MÉLO; LIMA, 2002; ROMAGNOLO; SOUZA, 2006). Em média, as frutas maduras, apresentam um rendimento (porção comestível) de 80 e 65% para os tipos vermelho e roxo, respectivamente (SANTOS et al., 2002) O diâmetro das frutas é, em geral, em torno de 2,0 cm e, o teor de sólidos solúveis totais (SST) é alto, com valores acima de 12 ºBrix, atingindo até 17 ºBrix em algumas seleções (Franzom, 2004).

Figura 1. Variedades de frutos da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) no estádio maduro. Variedade amarela (A), vermelha (B) e roxa (C).

Além de apresentarem em média na sua composição 88,3% de umidade, 10,2% de carboidratos, 3,2% de fibras, 0,9% de proteínas, 0,4% de cinzas, 0,2% de lipídeos e 18 mg de cálcio, estes frutos possuem altas concentrações de compostos bioativos, como compostos fenólicos e carotenoides (TACO, 2006).

Há uma variedade de compostos fitoquímicos já identificados nas folhas da pitangueira, como flavonoides, terpenos, taninos, antraquinonas e óleos essenciais (FIUZA *et al*., 2008). No entanto, sobre a fruta da pitangueira existem poucos estudos. Assim, a pitanga possui duas classes de compostos bioativos bem definidos, os flavonoides e os carotenoides.

1.3 Flavonoides

Os flavonoides são compostos polifenólicos caracterizados por apresentarem 15 átomos de carbonos no seu núcleo fundamental, constituídos por dois anéis aromáticos unidos por uma cadeia de três átomos de carbono que pode ou não formar um terceiro anel (C_6-C_3-C_6) (**Figura 2**) (DEL RIO et al., 2013).

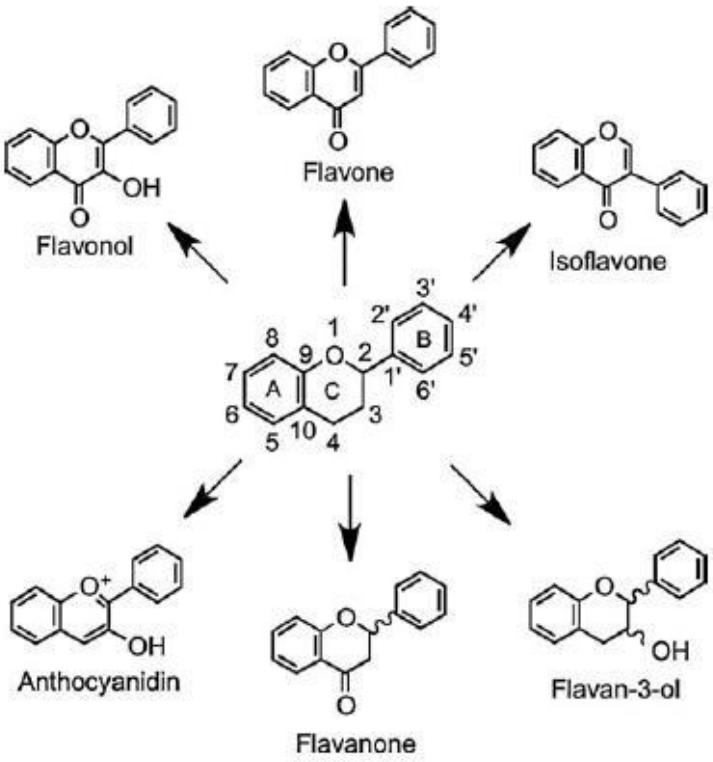


Figura 2. Estrutura química dos flavonoides e suas diferentes classes. Fonte: DEL RIO et al., 2013.

De acordo com o estado de oxidação da cadeia heterocíclica do anel pirano (anel C) tem-se as diferentes classes, entre eles: flavonóis, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianidinas, isoflavonas, diidroflavonóis e chalconas (CROZIER *et al*., 2009). O esqueleto de base das diferentes classes pode apresentar inúmeros substituintes, tais como grupamentos hidroxilas, que podem se apresentar metiladas ou com substituintes, tais como acetilações e glicosilações.

A maioria dos flavonoides ocorre naturalmente como glicosídeos ao invés de sua forma aglicona (CROZIER *et al.*, 2009), principalmente como *O*-glicosídeos. A conjugação com os carboidratos ocorre com mais frequência na posição 3 do anel C, mas substituições podem também ocorrer na posição 5 -, 7 -, 3'-, 4'- e 5' (CROZIER *et al.*, 2009).

A via biosintética dos flavonoides derivam da via do chiquimato (**figura 3**), que é partilhada por indóis e por vários alcaloides e betalainas. Os flavonoides são sintetizados como parte da rota metabólica de fenilpropanoides. Eles são formados por compostos

aromáticos derivados do aminoácido fenilalanina e do malonil-CoA que, por ação da chalcona sintase (CHS), formam o precursor comum dos flavonoides, a chalcona. Sua biossíntese é considerada mista devido ao envolvimento das vias do ácido chiquímico e do acetato-malonato (STAFFORD, 1990).

De maneira geral, a chalcona é formada a partir da condensação de 3 unidades de acetato que formam o anel A (via do acetato-malonato), enquanto que o anel B e o três átomos de carbono do anel central são derivados do ácido ρ-cumárico (via do ácido chiquímico) (VICKERY; VICKERY, 1981).

A partir da chalcona formam-se os sete maiores subgrupos de flavonoides encontrados na maioria das plantas superiores: chalconas, flavonas, flavonóis, flavanonas, antocianinas e catequinas. Algumas espécies de plantas também sintetizam as isoflavonas que são encontradas em leguminosas (CROZIER et al., 2009).

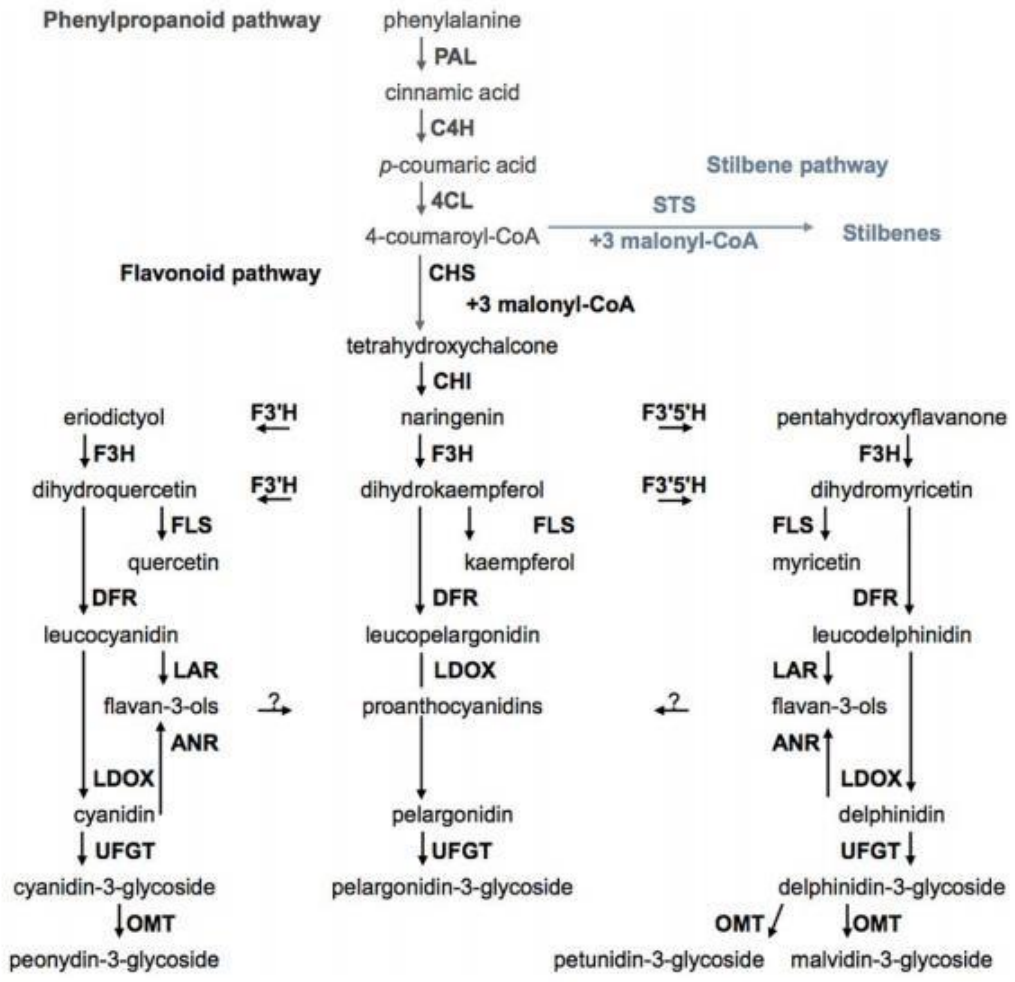
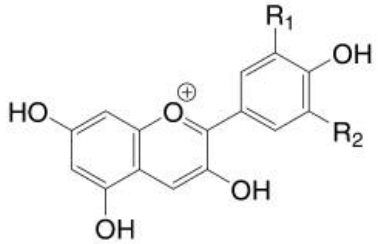


Figura 3. Rota biossintética das principais vias dos flavonoides. Explicação no texto. Fonte: TEIXEIRA et al., 2013.

As antocianinas são pigmentos da classe dos flavonoides, responsáveis pela coloração de grande número de vegetais, desde o vermelho ao azul. Podem ser encontradas na forma aglicona, nomeada antocianidina, ou na forma glicosilada denominada antocianina. Em sua forma aglicona, as antocianidinas apresentam coloração acentuada quando em pH ácido e absorção máxima no espectro visível entre 465 e 550 nm. As antocianidinas mais comumente encontradas em frutas e hortaliças são: cianidina, peonidina, pelargonidina, petunidina, delfinidina e malvidina (**Figura 4**) (JAGNATH & CROZIER, 2010).



Anthocyanidins		
	R_1	R_2
Pelargonidin	H	H
Cyanidin	OH	H
Delphinidin	OH	OH
Paeonidin	OCH_3	H
Petunidin	OCH_3	OH
Malvidin	OCH_3	OCH_3

Figura 4. Estrutura básica das principais antocianidinas encontradas nos alimentos vegetais. Fonte: VAUZOUR, et al., 2008.

A **figura 5** apresenta a rota de biossíntese de antocianinas. O precursor intermediário na síntese de antocianinas é a naringenina, que pela ação da flavanona hidroxilase (F3H) leva a formação do dihidrokaempferol. Este, pela ação da F3'H e F3'5'H é transformado em dihidroquercetina e dihidromiricetina, respectivamente. Os dihidroflavanol, pela ação do flavonol sintase (FLS) forma os respectivos flavonóis. Por outro lado, se pela ação da dihidroflavonol 4-redutase (DFR) e da antocianina sintase (ANS), os dhidroflavonol formam as antocianidinas (BUTELLI et al., 2008 e TANAKA et al., 2009).

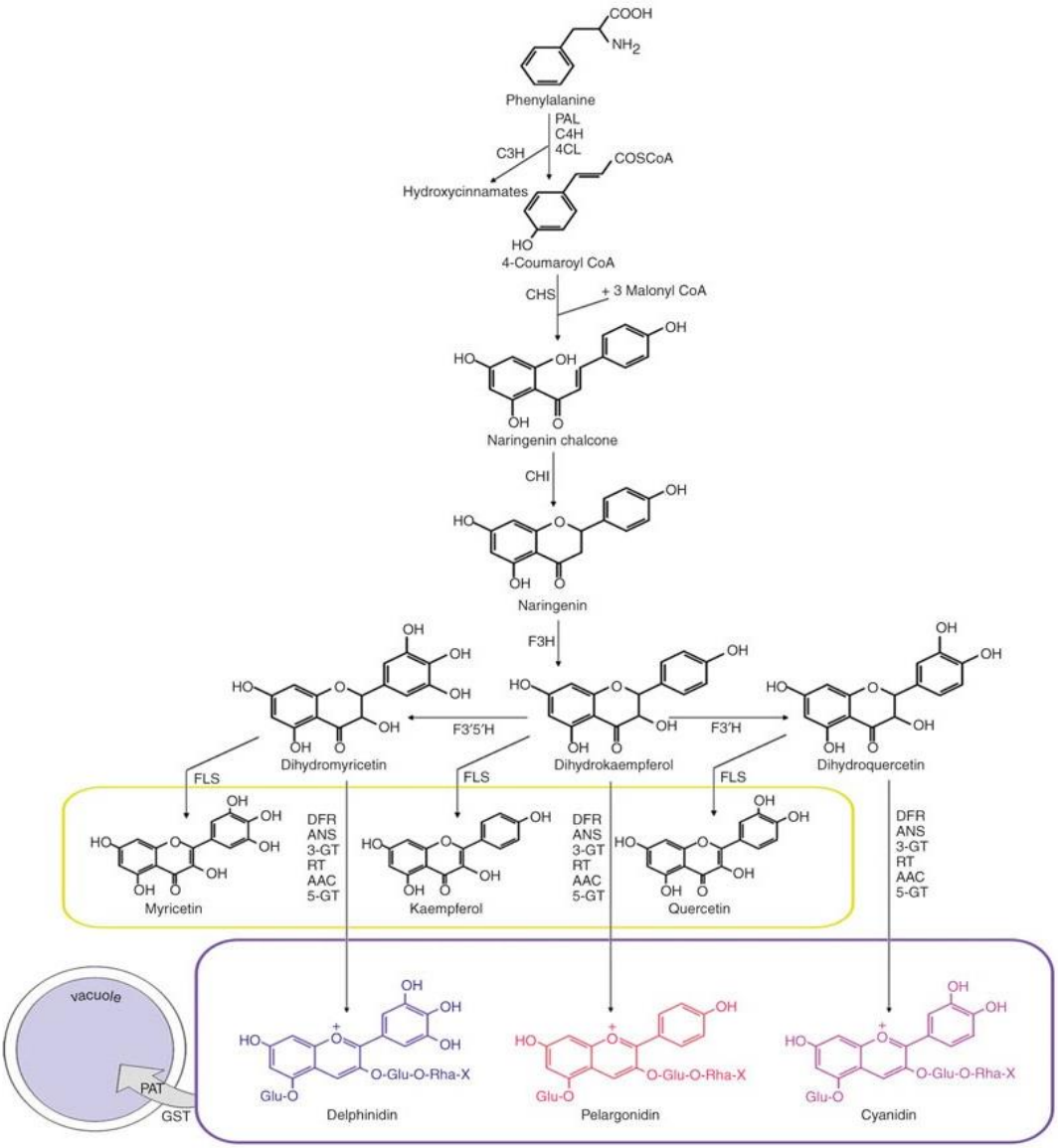


Figura 5. Rota biossintética para a síntese de antocianinas em vegetais. CHS, chalcona sintase; CHI, chalcona isomerase; F3H, flavanona hidroxilase; F3'H, flavonoide 3'hidroxilase; F3'5'H, flavonoide 3',5'hidroxilase; FLS, flavonol sintase; DFR,dihidroflavonol 4-redutase; ANS, antocianina sintase; MT, metil transferase, GT, glucosil transferase, AT, acil transferase. Fonte: Adaptado de TANAKA et al., 2009 e BUTELLI et al, 2008.

Basicamente três são os intermediários precursores das antocianidinas. A dihidroquercetina, dihidrokaepmferol e dihidromiricetina, que pela ação da DFR e ANS formam a cianidina, pelargonidina e delfinidina, respectivamente. De maneira geral, as antocianidinas mais frequentes em vegetais são seis, a cianidina, pelargonidina, delfinidina, malvidina, petunidina, peonidina. Após a síntese de antocianidinas, estas sofrem adições de grupamentos acil, glucosil e metil, pela ação da aciltransferase, glicosiltransferase e metil transferase, respectivamente. Uma vez que a peonidina é derivado metilado da cianidina, e a malvidina e petunidina são derivados metilados da delfindina, pode-se considerar que há somente três antocianidinas primárias, a cianidina, pelargonidina e delfinidina (BUTELLI et al., 2008 e TANAKA et al., 2009).

1.4 Carotenoides

Outra classe de compostos bioativos, presentes em alimentos vegetais, são os carotenoides, que são quimicamente definidos como tetraterpenoides C40, formado por oito unidades isoprenoides (C5), formando uma cadeia carbônica de quarenta átomos de carbono, exceto a crocetina e a bixina, estas apresentam menos de quarenta átomos de carbono na cadeia carbônica (RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

Os carotenoides são uma família de compostos abundantemente encontrados na natureza, sendo os responsáveis pela cor da maioria das frutas e vegetais consumidos diariamente, a qual pode variar desde o alaranjado até o vermelho vivo. Dos mais de 600 carotenoides existentes na natureza, aproximadamente 20 são encontrados no plasma e nos tecidos humano, e não mais que seis em quantidades elevadas, entre eles o α -caroteno, β-caroteno, β-criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina, (**Figura 6)** (COULTATE, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2004). Os carotenoides podem ser acíclicos (p.ex. licopeno) ou pode apresentar anel de 6 carbonos em uma das extremidades da estrutura (p. ex. γ-caroteno) ou nas duas exterminadas (p. ex. α-caroteno).

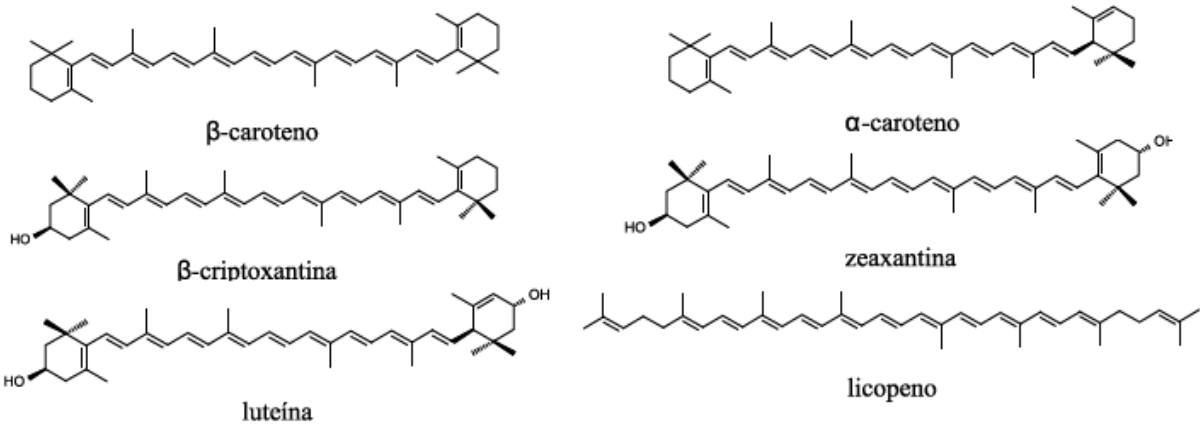


Figura 6. Estrutura química de alguns carotenoides. Fonte: RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008.

Os carotenoides apresentam um sistema de duplas ligações conjugadas, permitindo a deslocalização dos elétrons π ao longo da cadeia. Este sistema de duplas conjugadas constitui a cadeia cromófora que confere aos carotenoides a cor e que caracteriza este grupo de compostos com potencial ação antioxidante, devido à capacidade que suas moléculas apresentam de receber elétrons de espécies reativas, podendo neutralizar os radicais livres (SHAMI & MOREIRA, 2004).

Entretanto, a presença destas duplas ligações conjugadas os torna suscetíveis à isomerização e a oxidação pelo O_2, luz e calor. Esta degradação pode acarretar em perda da cor, da capacidade antioxidante e da atividade pró-vitamina A (GONNET; LETHUAUT; BOURY, 2010). Para que a cor amarela seja evidenciada, são necessárias, no mínimo sete ligações conjugadas. O aumento no número de ligações conjugadas resulta em bandas de absorção em maiores comprimentos de onda, e neste caso, os carotenoides são evidenciados mais vermelhos, como é o caso do licopeno (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004).

O licopeno é um pigmento carotenoide hidrocarbonado, acíclico, lipossolúvel, com molécula simétrica (VILLELA *et. al*., 2003), capaz de conferir a cor vermelha a alguns frutos, tais como o tomate, melancia, mamão, goiaba vermelha e pitanga (MATIOLI & RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

Os carotenoides hidrocarbonetos (p. ex. licopeno e β-caroteno) são conhecidos como carotenos, enquanto os derivados oxigenados são denominados de xantofilas. Dentre os grupos funcionais oxigenados presentes nas xantofilas temos os substituintes

hidroxilas (p. ex. β-criptoxantina), ceto (p. ex. cantaxantina), epóxi (p. ex. violaxantina) e aldeídos (p. ex. β-citraurina) (KOPSEL e KOPSEL, 2006).

Os carotenoides derivados do isopentinil pirofosfato (PIP), precursor comum de muitos dos compostos isoprenoides. Na primeira etapa na biossíntese, o IPP é isomerizado a dimetilalil difosfato (DMAPP) o qual é substrato para o geranilgeranil difosfato (GGPP), catalizado pela GGPP sintase. A condensação de duas moléculas de GGPP forma o primeiro carotenoide C40, o fitoeno ainda incolor, via fitoeno sintase. Através de duas desaturases, que formam o cromóforo caracter´siticos dos pigmentos carotenoides, converte o fitoeno a licopeno colorido (**Figura 7**) (KOPSEL e KOPSEL, 2006).

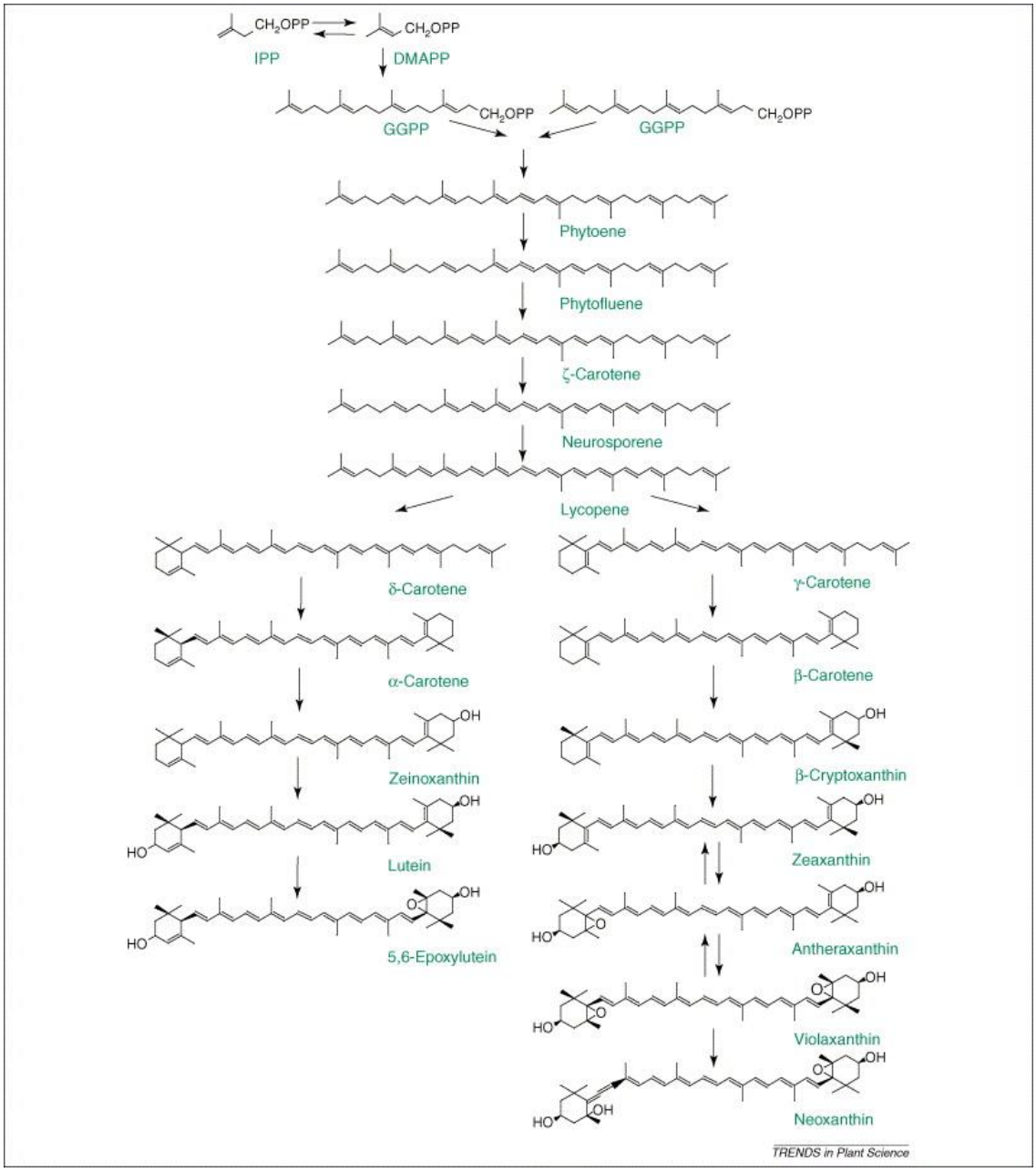


Figura 7. Composto precursor e principais carotenos e xantofilas na rota biossintética de carotenoides em plantas. DMAPP, dimetilalil pirofosfato; GGPP, geranilgeranil pirofosfato; IPP, isopentil pirofosfato. Explicação detalhada no texto. Fonte: KOPSEL E KOPSEL, 2006.

1.5 Compostos Bioativos da Pitanga

A pitanga roxa se destaca pelo alto teor de fenólicos, principalmente antocianinas (JACQUES et al., 2009), mas há relatos da presença de licopeno e pequenas quantidades de rubixantina, luteína, zeaxantina, β-criptoxantina, β-caroteno, γ-caroteno, α-caroteno e violaxantina (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; FILHO *et al*., 2008).

A presença e a quantidades desses pigmentos estão relacionados com o grau de maturação. Na pitanga roxa a tendência das antocianinas é aumentar seu conteúdo durante o processo de amadurecimento, indicando haver uma síntese desses pigmentos (SANTOS et al., 2002), como ocorre em outras frutas (FIGUEIREDO et al., 2002).

Já a pitanga vermelha destaca-se das demais em relação ao alto teor de carotenoides, mas também foram identificados os flavonois miricetina, kampferol e quercetina (HOFFMANN-RIBANI et al., 2009). Já para a pitanga amarela não foi encontrado nenhum estudo sobre sua caracterização.

Foi observado que o conteúdo de carotenoides em frutos de pitanga, colhidos nos estados de São Paulo e Paraná, aumentam com o amadurecimento, principalmente dos carotenoides licopeno, criptoxantina e rubixantina (PORCU e RODRIGUEZ-AMAYA, 2008). Neste estudo foi observado que a concentração diferiu nas duas amostras, fato este atribuído ao efeito geográfico. Entretanto, considerando que não há como afirmar que se tratava da mesma variedade, mesmo porque não foi especificado a cor da pitanga analisada, esta conclusão pode ser precipitada.

O grau de amadurecimento também afeta o conteúdo de flavonoides, que é maior em pitangas maduras do que semi-maduras, pois a presença e quantidade desses pigmentos estão relacionadas com o grau de maturação. Estes compostos de uma maneira geral estão concentrados no tegumento da fruta, sendo encontrados em menores concentrações na polpa. Para a pitanga, isto não chega a ser um problema já que, geralmente, é consumida sem a retirada da fina casca que protege a polpa.

O fruto da pitangueira apresenta níveis significativos de carotenoides e antocianinas, além de outros compostos fenólicos, importantes para a promoção da saúde. Assim, a melhor caracterização desses frutos pode aumentar o interesse da indústria alimentícia em sua utilização, evidenciando o potencial do fruto como fonte de nutrientes e de compostos bioativos.

2- OBJETIVO

Objetivo Geral

Caracterização das três variedades de pitanga quanto aos principais compostos bioativos.

Objetivo Específico

Identificação e quantificação de flavonoides e carotenoides.

Identificar a diferença dos compostos nos estádios de desenvolvimento do fruto.

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

Os frutos de pitanga das variedades amarela, vermelha e roxa (*Eugenia uniflora* L.) foram cedidos pela EMBRAPA-Clima Temperado, RS, onde são cultivados em fazenda experimental, e também coletados em fazendas na localidade de Campinas-SP. Todos os frutos foram procedentes de plantas devidamente identificadas e foi obtido aproximadamente 150g de cada amostra.

As amostras foram assim disponibilizadas: Campinas- amostras de três plantas distintas das variedades vermelha (V1, V2 e V3) e duas da variedade roxa (R1 e R2); EMBRAPA- amostras de uma planta das variedades vermelha (V4), roxa (R3) e amarela (A1). Os frutos foram colhidos em três estádios de desenvolvimento, verde, intermediário e maduro.

Os frutos foram enviados ao laboratório de Química e Bioquímica da FCF-USP, separados nos três estádios de desenvolvimento de acordo com a cor e por grau brix. Posteriormente, foram devidamente higienizados, separado a semente da polpa/casca, pesados, congelados em nitrogênio líquido, liofilizados e embaladas antes do seu armazenamento no dessecador. Após a liofilização, as mesmas foram trituradas em um moedor de facas (A10 S2 Analytical Mill) e passadas em Tamis (Granutest) com abertura de 0,210 mm. As amostras foram armazenadas à temperatura ambiente em dessecador e ao abrigo da luz para posterior análises.

Cinquenta frutos de cada variedade e estádios de maturação foram pesados individualmente para obter o peso médio dos frutos e a relação polpa, casca/semente.

3.2 Métodos

3.2.1 Caracterização química

3.2.1.1 Grau Brix

O grau BRIX dos frutos foi avaliado utilizando refratômetro manual (modelo DR201-95), em triplicata.

3.2.1.2 Açúcares solúveis

Amostras (100mg) foram extraídas com 0,5 mL de etanol 80%, sob agitação, à 450 g em termomixer durante 15 minutos a 80 ^{0}C e posteriormente centrifugados à 10.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para balão volumétrico de 2 mL e o precipitado foi re-extraído mais duas vezes. Em seguida, uma alíquota de 1 mL foi evaporada à vácuo, em *Speedvac* e o volume reconstituído em água deionizada. As extrações foram realizadas em triplicata. Os extratos foram analisados por CLAE acoplado a um detector pulsoamperométrico (Dionex, DX500, Sunnyvale, CA, USA), coluna PA1 column, (250 x 4 mm, Dionex, Sunnyvale, CA, USA) e fase móvel constituído de NaOH 18 mM, em modo isocrático, por 25 min. O fluxo através da coluna foi de 1 mL/min. As amostras foram injetadas em duplicata e os açúcares identificados pelo tempo de retenção em comparação a padrões externos Padrões de sacarose, frutose e glicose (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA) foram utilizados para a construção de uma curva de calibração com cinco pontos de concentração e aplicados em triplicata (GOMEZ; LAJOLO; CORDENUNSI, 2002).

3.2.1.3 Ácidos orgânicos

A extração dos ácidos orgânicos foi realizada em triplicata, com água deionizada na proporção amostra: água de 1:4 (m:v). Cada amostra foi processada em homogenizador Potter, mantida em banho de gelo e centrifugada a 8.000 rpm por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi recolhido e filtrado em unidade filtrante de PTFE (Millipore Ltd, Bedford, MA) de 0,45µm. Em seguida, foram injetadas em sistema cromatográfico equipado com detector de arranjo de diodo (CLAE-DAD) (Hewlett-Packard 1100, Agilent), em coluna µBondpack C18 (300mm x 3.6 mm i.d., Waters, Milford, MA), com fase móvel de ácido fosfórico a 0,1%, com fluxo de 0,5 mL/min. O monitoramento foi feito a 210nm. As amostras foram injetadas em duplicatas e os resultados expressos em mg/g de amostra (b.s). Os ácidos orgânicos foram identificados a partir do tempo de retenção e similaridade do espectro de absorção em comparação aos padrões comerciais. Os padrões dos ácidos málico, succínico, cítrico e tartárico foram utilizados para a

construção das curvas de calibração utilizando cinco pontos de concentração e aplicados em triplicata (PASTERNAK, T. et al., 2005).

3.2.1.4 Ácido ascórbico

A amostra (0,2g) foi extraída com 3mL de ácido metafosfórico 3% em homogenizador Potter e centrifugado a 8.000 rpm por 20 minutos a 4 °C. O extrato assim obtido foi filtrado em filtro PTFE, de 0,45 µm, e adicionado de ditiotreitol (DTT) para a redução do ácido dehidroascórbico (PASTERNAK et al. 2005). A quantificação foi realizada por CLAE-DAD (Hewlett-Packard 1100, Agilent), em coluna µBondpack C18 (300mm x 3.6 mm i.d., Waters, Milford, MA). A fase móvel foi constituída de tampão KCl 2 mM, pH 2,5 com fluxo de 0,8 mL/min e a detecção realizada em comprimento de onda de 245 nm. O ácido ascórbico foi identificado a partir do tempo de retenção e identidade de espectro. O ácido dehidroascórbico foi calculado pela diferença entre o conteúdo de ácido ascórbico total (extrato tratado com DTT) e o conteúdo de ácido ascórbico reduzido (sem DTT). A extração foi realizada em triplicata e aplicadas em duplicadas no cromatógrafo (PASTERNAK, T. et al., 2005).

3.2.2 Caracterização dos compostos fenólicos

3.2.2.1 Extração

Quantidades de 0,5 g de amostra liofilizada foram homogeneizadas utilizando Ultra-Turrax (Polytron-Kinematica GmbH, Kriens-Luzern, Suíça) em 25 mL de metanol 70% em água, mantido sob agitação a 200 rpm/2 h/4 °C e filtrado em papel filtro qualitativo de 80g/m², obtendo-se assim o extrato fenólico.

Os extratos assim obtidos foram utilizados para as análises de fenólicos totais, capacidade antioxidante e antocianinas monoméricas. As extrações foram realizadas em triplicata.

3.2.2.2 Fenólicos totais (FT)

O conteúdo de FT foi analisado pelo método Folin-Ciocaulteau (SWAIN E HILLIS, 1959), com leitura da absorbância do cromóforo a 765 nm, em espectrofotômetro (Hewlett Packard, modelo 8453). O ácido gálico (AG) foi utilizado como padrão. Os resultados foram expressos como mg de AG eq./g. As análises foram realizadas em triplicata.

3.2.3 Antocianinas monoméricas

Os extratos foram diluídos em balões volumétricos de 25 mL com tampão cloreto de potássio (pH 1,0) e acetato de sódio (pH 4,5), na proporção máxima de 1/5 (v/v). As soluções foram mantidas em repouso durante 15 min e as leituras de absorbância foram realizadas a 520 e 700 nm em espectrofotômetro (Hewlett Packard, modelo 8453). As concentrações de antocianinas monoméricas foram expressas como mg de cianidina-3-glicosídeo equivalente/g de acordo com (LEE, J., 2005), calculada de acordo com a equação a baixo:

$$\text{Antocianinas} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\varepsilon \times 1}$$

A: (A520nm – A700nm) em pH 1,0 – (A520nm – A700nm) em pH 4,5;
MW: (molecular weight) = 449,2g/mol para cianidina-3-glicosideo;
DF: fator de diluição estabelecido;
1: caminho ótico percorrido (cubeta do espectrofotômetro);
ε: 26900, coeficiente mola, para cianidina-3-glicosideo;
10^3 : fator de conversão de grama para miligrama.

3.2.4 Capacidade antioxidante

A determinação da capacidade antioxidante foi realizada pelas métodos *Oxygen radical assay capacity* (ORAC), segundo protocolo descrito por DAVALOS et al. (2004), e pelo método do sequestro do radical α,α-difenil-β-picrilhidrazina (DPPH), proposto por BRAND -WILLIAMS et al. (1995).

3.2.4.1 Oxygen radical assay capacity (ORAC)

As soluções de fluoresceína 40 nM e 2,2' -azobis 153 mM (2-amidinopropano) dihidrocloreto (AAPH) foram preparados em tampão fosfato 75 mM, pH 7,1. Aliquotas de 25 µL de tampão (branco) ou 25 µL de solução Trolox (curva de calibração) ou 25 µL de amostra, devidamente diluída, foram distribuídas em microplaca de poliestireno de fundo chato com 96 cavidades seguidas da adição de 150 µL de solução de fluoresceína e incubada a 37 °C por 30 minutos. Posteriormente, a reação foi iniciada pela adição de 25 µL de AAPH. A leitura da intensidade de fluorescência (485 nm_{ex} / 525 nm_{em}) foi realizada a cada 1 minuto durante 60 minutos de reação, utilizando-se leitor de microplaca Synergy H1 (Biotek Instruments, Winooski, VT, USA).

A capacidade antioxidante foi calculada pela área abaixo da curva de uma amostra subtraindo-se a área correspondente à do branco (solução tampão). Foi utilizando curva de calibração tendo o Trolox como padrão, efetuada a cada ensaio, nas concentrações de 12,5 a 100 µM. Os resultados foram expressos em µmol Trolox equivalente/g (base seca).

3.2.4.2 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Para o método DPPH, foi preparada uma solução metanólica de DPPH (0,05 mM) em metanol. A análise foi realizada em microplaca de poliestireno de fundo redondo com 96 cavidades, no qual cada cavidade foi preenchida com 200 µL da solução de DPPH, 40 µL de metanol (branco), ou o mesmo volume para a solução de Trolox (curva de calibração), nas concentrações entre 20-70 µM, ou extratos, devidamente diluídos, quando necessário. A leitura de absorbância a 517 nm foi realizada em espectrofotômetro (Hewlett Packard, modelo 8453) após 20 minutos de incubação ao abrigo da luz, utilizando-se espectrofotômetro Benchmark Plus (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA).

A capacidade antioxidante foi calculada segundo fórmula abaixo e os resultados foram expressos em µmol Trolox equivalente/g amostra (b.s.):

Onde, A (Branco) refere-se à absorbância do branco A (Amostra) refere-se à absorbância da amostra.

$$\% \text{ descoramento do DPPH} = \frac{A(\text{Branco}) - A(\text{Amostra})}{A(\text{Branco})} \times 100$$

3.2.5 Quantificação de Ácido Elágico total

Quantidade de aproximadamente 0,5g de amostra liofilizada foi extraída com 25 mL de acetona 80%, sob agitação em geladeira, por 30 min. A 1 mL do extrato foi adicionado 2 mL de ácido trifluoracético 2 M e autoclavado a 120 ºC por 2 h em frasco de vidro com tampa de rosca. Posteriormente, adicionou-se 2 mL de álcool terc-butírico e seco em fluxo de nitrogênio. O sedimento foi resuspendido com 1mL de metanol e filtrado com filtro de 0,45 µm para análise em CLAE (PINTO, M. S., et al., 2008).

3.2.6 Extração para Quantificação e identificação de flavonoides

Quantidades de aproximadamente 0,5g de amostra liofilizada foram homogeneizadas utilizando Ultra-Turrax (Polytron-Kinematica GmbH, Kriens-Luzern, Suíça) em 100 mL de metanol 70% em água (pitanga amarela e vermelha) ou metanol/água/ácido acético (70:30:5 v/v) (pitanga roxa), filtradas à vácuo em funil de buchner, utilizando papel de filtro de qualitativo de 80g/m². O sedimento foi recuperado e realizado mais duas re-extrações com 50 mL de metanol ou metanol acidificado. Os extratos assim obtidos foram agrupados e concentrados em rotaevaporador (Rotavapor® 120, Büchi, Flawil, Suíca) à temperatura de 40 °C até a remoção do metanol para a etapa de extração em fase sólida. As extrações foram realizadas em duplicata.

3.2.6.1 Extração de fase sólida

A amostra livre de metanol foi aplicada em coluna de 1 g de poliamida (CC 6, Macherey-Nagel, Germany), previamente condicionada com 20 mL de metanol e 60 mL de água destilada. Após aplicação do extrato, a coluna foi lavada com 20 mL de água e a

eluição dos flavonoides realizada com 50 mL de metanol acidificado com 0,1% HCl (PRICE et al., 1999).

Os eluatos assim obtidos foram secos completamente em rotaevaporador a 40 °C sob vácuo e ressuspendidos em 1 mL de metanol (grau CLAE) ou metanol:ácido acético (95:5 v/v) para as amostras contendo antocianina, filtrados com membrana de PTFE 0,45 μm para análise por CLAE-DAD e LC-ESI-MS/MS.

3.2.7 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência –DAD

A quantificação e a identificação parcial dos flavonoides foram realizadas através de cromatografia líquida de alta eficiência. O cromatógrafo utilizado foi o da marca Agilent (modelo Infinity 1120), equipado com injetor automático de amostras, bomba quaternária e detector com arranjo de diodo (DAD), controlado pelo software próprio da Agilent. A coluna utilizada foi a Prodigy 5μ ODS_3 (250 x 4,60 mm) (Phenomenex Ltd., Reino Unido) com fluxo de 1 mL/min, 25 °C, e a eluição sendo realizada com gradiente de solventes constituído por A: ácido fórmico 0,5 % em água e B: 0,5% ácido fórmico em acetonitrila. O gradiente de concentração dos solventes consistiu em 8% de B no início, 10% em 5 min, 17% em 10 min, 25% em 15 min, 50% a 25 min, de 90% em 30 min, 50% em 32 minutos, 8% em 35 minutos (tempo de corrida, 35 min). A corrida foi monitorada nos comprimentos de onda de 270, 370 e 525 nm. A identificação dos picos foi realizada por comparação do tempo de retenção, quando possível, e similaridade com espectro de absorção de padrões comerciais e os espectros contidos na biblioteca do próprio equipamento, previamente inseridos no método. Para quantificação foram utilizados os padrões dos flavonoides cianidina, cianidina-3-glucosídeo, delfinidina, quercetina-3-glucosídeo, miricetina (Extrasynthese, Genay France) e quercetina (Sigma, Chemical Co., St. Louis, EUA Extrasynthese, Genay France) (HASSIMOTTO *et al.* 2008).

3.2.8 LC-ESI-MS/MS

A identificação de flavonoides e demais compostos fenólicos foram conduzidos em aparelho de cromatografia líquida modelo Prominence (Shimadzu, Japão) acoplado ao espectrômetro de massas do tipo *íon trap*, modelo Esquire HCT (Bruker Daltonics,

Alemanha) (LC-MS, do inglês *Liquid Chromatography – Mass Spectrometry*) e interface de ionização por *electrospray* (ESI, do inglês *Electron spray Ionization*). As condições de separação foram as mesmas utilizadas para a CLAE/DAD, descrito no item anterior. O ESI foi mantido em modo positivo para antocianinas e modo negativo para os demais flavonoides. O detector de massas foi programado para realizar *full scan* entre *m/z* 100-1000. A energia de ionização foi de 3000-3500 V. Os compostos foram identificados pela comparação do espectro de massas obtidos e a comparação com o de padrões comerciais e/ou dados de literatura.

3.2.9 Microextração de carotenoides

A amostra foi pesada (100 e 50 mg) em tubo de microcentrífuga de 2 mL âmbar, adicionado de 100 µL de NaCl saturado e mantido sob agitação por 30 segundos em vórtex (velocidade máxima). Em seguida foi adicionado 200 µL de diclorometano e agitação por 30 min; 500 µL de mistura hexano:éter etílico (1:1) e agitação por 30 min. O microtubo foi colocado na centrífuga a 13.000 *g* por 5 min a 4 ºC. Foi coletado a fase orgânica superior e transferido para um novo tudo de microcentrífuga de 2 mL âmbar. A extração foi repetida mais duas vezes a partir da adição da solução de hexano:éter etílico. O extrato foi seco em speed-vac e reconstruído com 200 µL de acetato de etila, filtrado com membrana de 0,45 µm para quantificação por CLAE (coluna C30, tempo de corrida 50 min num fluxo de 1 ml/min) (SÉRINO et al., 2009; FERRUZI et al., 2001).

3.2.10 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão (DP). Para análise dos dados foi realizada Análise de Variância simples (One way ANOVA) e teste de Tukey para comparação de médias. As análises foram realizadas com auxílio do programa GraphPad Prism 5.0 (Graph Pad Software®, La Jolla, CA, EUA) sendo estabelecido $p < 0,05$ para significância estatística.

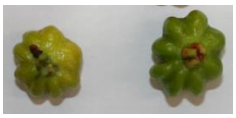
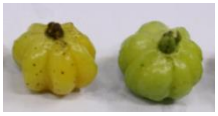
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Teor de sólidos solúveis e Peso dos frutos

Os frutos de pitanga das três variedades, amarela, vermelha e roxa, foram separados em três estádios de desenvolvimento, denominados verde, intermediário e maduro, de acordo com a cor (**Tabela 1**). Além do critério de cor, pode-se observar que todas as amostras no mesmo estádio de desenvolvimento, apresentaram teor de sólidos solúveis semelhantes (**Tabela 2**). Os frutos no estádio verde apresentaram valores de ºBrix entre 6,2 a 6,7 e aumento destes valores para 10 a 14,6 ºBrix no estádio maduro, sendo os maiores valores encontrados para as variedades amarela e roxa. A umidade do fruto foi determinada com relação a diferença do peso do fruto fresco (polpa) e peso do fruto seco, sendo a umidade de 85% para todas as variedades no estádio maduro.

O peso médio dos frutos no estádio maduro foi de 1,6 a 6,6g. Os frutos fornecidos pela EMBRAPA–RS apresentaram os maiores valores quando comparados aos coletados na região de Campinas, para todas as variedades (**Tabela 3**). As proporções da polpa/semente em relação ao peso total do fruto foram de 65% a 70%.

Tabela 1. Frutos de pitanga das variedades vermelha (V), roxa (R) e amarela (A), em três estádios de desenvolvimento, colhidos entre dezembro de 2014 a fevereiro de 2015.

Variedade	Amostra	Verde	Intermediário	Maduro
VERMELHA	V1			
	V2			
	V3			
	V4*			
ROXA	R1			
	R2			
	R3*			
AMARELA	A1*			

* Frutos fornecidos pela EMBRAPA – RS. Os demais frutos foram coletados em fazendas localizados na região de Campinas-SP.

Tabela 2. Teor de sólidos solúveis (°Brix) de frutos de pitanga das variedades vermelha (V), roxa (R) e amarela (A) em três estádios de desenvolvimento.

Variedade	Amostra	Estádio de desenvolvimento		
		Verde	Intermediário	Maduro
Vermelha	V1	6,3 ± 0,4	8,8 ± 0,2	10,7 ± 0,4
	V2	6,7 ± 0,2	8,4 ± 0,5	10,5 ± 0,7
	V3	6,7 ± 0,3	8,8 ± 0,4	10,6 ± 2,2
	V4*	6,7 ± 0,2	7,7 ± 1,6	10,8 ± 0,4
Roxa	R1	6,4 ± 0,5	9,0 ± 0,4	12,5 ± 0,4
	R2	6,8 ± 0,3	9,0 ± 0,5	14,6 ± 0,7
	R3*	6,4 ± 0,4	9,1 ± 0,9	11,8 ± 0,7
Amarela	A1*	6,2 ± 0,2	8,3 ± 0,8	13,3 ± 1,6

* Frutos fornecidos pela EMBRAPA – RS. Os demais frutos foram coletados em fazendas localizados na região de Campinas-SP. Valores expressos como média ± desvio padrão.

Tabela 3. Peso médio dos frutos de pitanga das variedades vermelha (V), roxa (R) e amarela (A) em três estádios de desenvolvimento. Valores expressos em grama (g).

Variedade	Amostra	Estádio de desenvolvimento		
		Verde	Intermediário	Maduro
Vermelha	V1	1,3 ± 0,3	1,6 ± 0,2	2,2 ± 0,4
	V2	1,2 ± 0,2	1,5 ± 0,3	1,6 ± 0,4
	V3	1,9 ± 0,4	2,1 ± 0,5	2,8 ± 0,6
	V4*	3,3 ± 0,9	6,3 ± 1,5	6,6 ± 2,2
Roxa	R1	1,2 ± 0,3	1,4 ± 0,2	1,9 ± 0,3
	R2	1,6 ± 0,4	1,8 ± 0,5	2,0 ± 0,4
	R3*	1,7 ± 0,4	2,6 ± 0,7	3,4 ± 1,0
Amarela	A1*	3,1 ± 0,7	4,8 ± 0,7	5,7 ± 0,9

* Frutos fornecidos pela EMBRAPA – RS. Os demais frutos foram coletados em fazendas localizados na região de Campinas-SP.

4.2 Conteúdo de Antocianinas monoméricas, Fenólicos Totais e Capacidade antioxidante.

A cor característica da pitanga roxa é devido à presença de antocianinas como evidenciado pela quantificação de antocianinas monoméricas. O fruto roxo foi, dentre as variedades, o único que apresentou concentrações de antocianinas monoméricas, dependente do estádio de desenvolvimento. Entre as três amostras, a R3 apresentou, além de maior peso médio de frutos, maior concentração no estádio intermediário e maduro (1,94 e 8,47 mg cianidina-3-*O*-glucosídeo eq/g b.s., respectivamente) (**Tabela 4**).

Comparativamente, a pitanga roxa apresentou concentrações de antocianinas monoméricas similares aos encontrados para algumas variedades de morango (54 a 168 mg/100g b.u.) (CORDENUNSI et al., 2005), pseudofruto considerado como uma fonte de antocianinas na dieta. Entretanto, a grumixama roxa, fruto também característico da Mata Atlântica e pertencente à mesma família da pitanga, apresentou concentrações superiores à pitanga roxa entre 30 e 200 mg/100g b.u (TEIXEIRA et al., 2015).

Tabela 4. Concentração de antocianinas monoméricas de frutos de pitanga da variedade roxa em três estádios de desenvolvimento.

Amostra	Estádios de desenvolvimento		
	Verde	Intermediário	Maduro
R1	N.d.	0,59 ± 0,05	1,16 ± 0,14
R2	N.d.	1,22 ± 0,06	1,43 ± 0,15
R3	N.d.	1,94 ± 0,01	8,47 ± 0,92

Nd, não detectado. *Valores expressos como mg cianidina-3-glicosídeo eq/g b.s.

Para o conteúdo de fenólicos totais (FT), observou-se um decréscimo na concentração com o desenvolvimento do fruto, onde os frutos no estádio verde das três variedades apresentaram conteúdo de FT aproximadamente duas vezes superior quando comparado ao estádio mais avançado de desenvolvimento (**Figura 8**). Entre as três

variedades de pitanga, os frutos da variedade roxa, R1 e R3 no estádio maduro apresentaram as maiores concentrações de FT, de aproximadamente 18 mg eq. AG/g b.s. Em contrapartida a amostra R2 também da variedade roxa, apresentou a menor concentração em relação às outras variedades, com aproximadamente 6 mg eq. AG/g b.s.

Reynertson e colaboradores (2008) avaliaram o conteúdo de FT, atividade antioxidante e perfil dos flavonoides de 14 frutos comestíveis da família Myrtaceae. Entre as espécies estudadas, os valores de FT, no estádio maduro, variaram entre 3,57 a 44,1 mg eq. AG/g b.s. Da mesma forma, o decréscimo no conteúdo de FT observado nos frutos de pitanga, durante o desenvolvimento, também foram reportados em frutos de outras espécies, como a framboesa vermelha (*Rubus ideaus* L.) (WANG; CHEN; WANG, 2009), amora-preta (*Rubus* sp. L.) e morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) (WANG; LIN, 2010) e acerola (*Malpighia emarginata* D. C.) (LIMA et al., 2005).

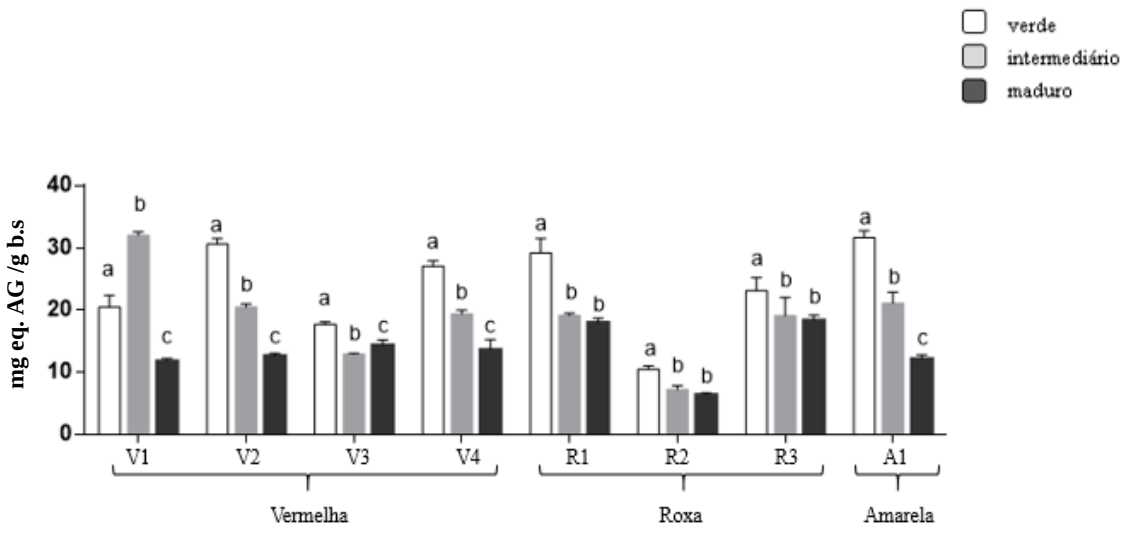


Figura 8. Concentração de fenólicos totais de extrato metanólico de frutos de pitanga das variedades vermelha (V1, V2, V3 e V4*), roxa (R1, R2 e R3*) e amarela (A1*) em três estádio de desenvolvimento. As amostras V4, R3 e A1 são provenientes da EMBRAPA-RS. Resultados expressos como mg eq. AG /g b.s. (Média ± DP). Médias seguidas por letras minúsculas são significativamente diferentes entre os estádios de desenvolvimento de uma mesma amostra, de acordo com o teste de Tukey ($p<0,05$).

O mesmo pode ser observado para capacidade antioxidante avaliado pelos métodos DPPH e ORAC, onde os frutos da variedade roxa apresentaram maior valor em ambos os métodos. Para esta variedade, no estádio maduro a capacidade antioxidante variou de 116 ± 14 a 280 ± 20 em µmol Trolox eq./g b.s e 200 ± 11 a 260 ± 8 em µmol Trolox eq./g b.s, para os métodos DPPH e ORAC, respectivamente. A variedade vermelha também apresentou uma alta capacidade antioxidante, porém somente no método de ORAC, variando no estádio maduro de 320 ± 6 a 220 ± 8 µmol Trolox eq./g b.s (**figura 9**). Devido à sua estrutura, os compostos fenólicos possuem elevada capacidade antioxidante, e estes compostos representam uma das principais classes de substâncias fitoquímicas responsáveis pela ação antioxidante de alimentos de origem vegetal. Porém, não foi observada uma boa correlação de Pearson entre o teor de fenólicos totais e os valores DPPH (r = 0,66) bem como os valores de ORAC (r = 0,17).

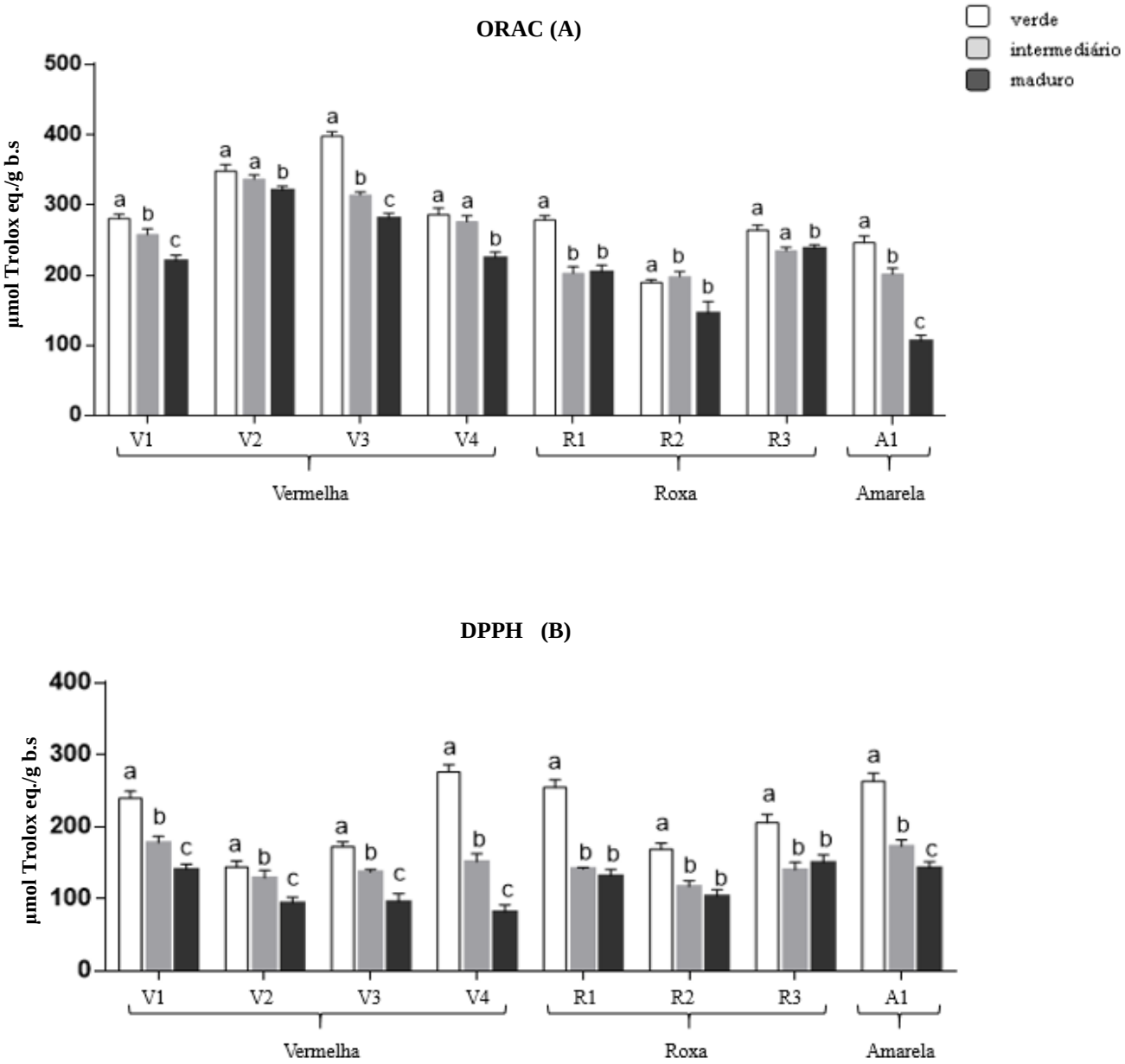


Figura 9. Capacidade antioxidante de extrato metanólico de frutos de pitanga das variedades vermelha (V1, V2, V3 e V4*), roxa (R1, R2, R3*) e amarela (A1*), em três estádios de desenvolvimento, avaliada pelos métodos ORAC (A) e DPPH (B). As amostras V4, R3 e A1 são provenientes da EMBRAPA-RS. Resultados expressos em µmol Trolox eq./g b.s (média ± DP). Médias seguidas por letras minúsculas são significativamente diferentes entre os estádios de desenvolvimento de uma mesma amostra, de acordo com o teste de Tukey ($p<0,05$).

4.3 Concentração de ácidos orgânicos, ácido ascórbico e açúcares solúveis.

Nas três variedades de pitanga, foram identificados por CLAE/DAD três ácidos orgânicos, sendo o ácido cítrico mais predominante, seguido pelo succínico e málico. Pode-se observar na **figura 10** que em todos os frutos os ácidos apresentaram perfis semelhantes, os quais diminuíram sua concentração com o decorrer do desenvolvimento.

Para o ácido cítrico (**Figura 10 A**), a concentração variou em média de 48 ± 3 a 230 ± 7 mg/g no estádio verde e 53 ± 6 a 160 ± 10 mg/g no maduro. As maiores concentrações do ácido no estádio maduro foram encontradas nos frutos procedentes da EMBRAPA (V4, R3 e A1). Somente a amostra R1, não apresentou diferença significativa na concentração entre os estádios de desenvolvimento.

O ácido succínico (**Figura 10 B**), foi o segundo ácido mais predominante no fruto, com concentração média de 21 ± 1 a 164 ± 3 mg/g no estádio verde e 23 ± 1 a 82 ± 5 mg/g no maduro, com exceção da amostra V2 onde a concentração do ácido foi maior no estádio maduro. A amostra V4 que é proveniente da EMBRAPA, apresentou aproximadamente o dobro da concentração nos três estádios de desenvolvimento em relação as demais amostras.

Já para o ácido málico (**Figura 10 C**), a concentração variou entre 6 ± 0,3 a 36 ± 2 mg/g e 11 ± 2 a 26 ±1 mg/g b.s no estádio verde e maduro, respectivamente. As amostras V2, V4, R3 e A1 tiveram um comportamento diferente das demais, com aumento da concentração conforme desenvolvimento do fruto. Vale ressaltar que estas amostras (V4, R3 e A1), são procedentes da EMBRAPA-RS.

O decréscimo na concentração de ácidos orgânicos é um processo esperado, uma vez que no estádio verde sua concentração é maior para proteção do fruto e conforme o desenvolvimento, a concentração desses ácidos vão reduzindo e o fruto torna-se palatável.

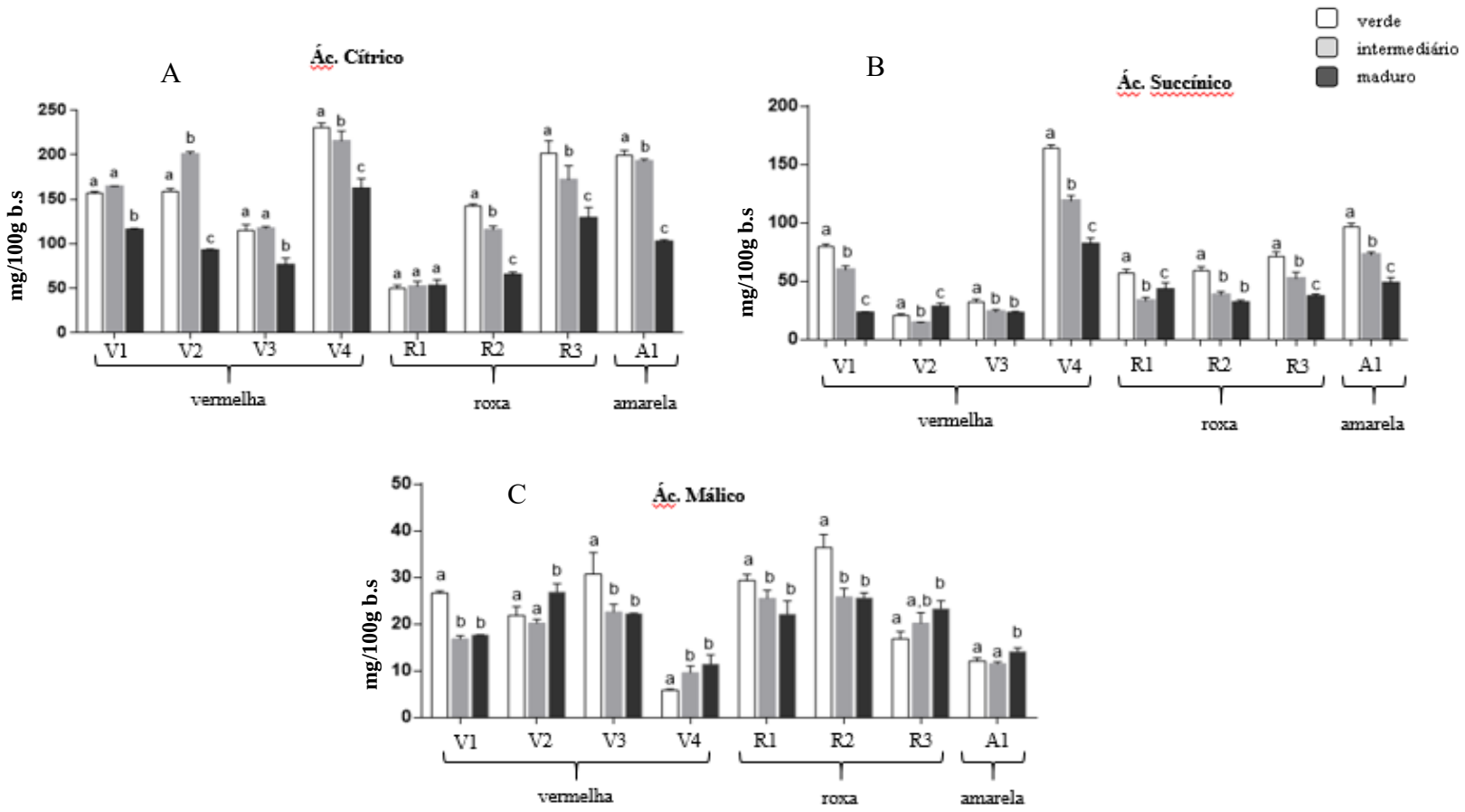


Figura 10. Conteúdo de ácidos orgânicos identificados por CLAE/DAD em frutos de pitanga das variedades vermelha (V1, V2, V3 e V4*), roxa (R1, R2 e R3*) e amarela (A1*), em três estádios de desenvolvimento.Resultados expressos em mg/100g b.s (média ± DP). * amostras provenientes da EMBRAPA-RS. Médias seguidas por letras minúsculas são significativamente diferentes entre os estádios de desenvolvimento de uma mesma amostra, de acordo com o teste de Tukey ($p<0,05$).

Dentre os açúcares solúveis, a sacarose, frutose e glicose foram os principais açúcares (**Figura 11**) detectados em todas as variedades de pitanga.

A concentração de glicose e frutose (**Figura 11 A e B**) foram semelhantes em todas as amostras analisadas. O teor de glicose variou de 10 ± 2 a 69 ± 7 mg/g no estádio verde e 16 ± 10 a 67 ± 5 mg/g no estádio maduro e a frutose no estádio verde de 12 ± 3 a 69 ± 6 mg/g e no estádio maduro de 16 ± 9 a 69 ± 5 mg/g b.s.

Já a concentração da sacarose (**Figura 11 C**) no estádio maduro apresentou aproximadamente metade da concentração dos outros açúcares identificados. No estádio verde sua concentração variou de 3,0 ± 0,2 a 12 ± 4 mg/g e no estádio maduro de 2,0 ± 0,7 a 29 ± 17 mg/g. A amostra V4 foi a única que apresentou diferença significativa entre os estádios de desenvolvimento.

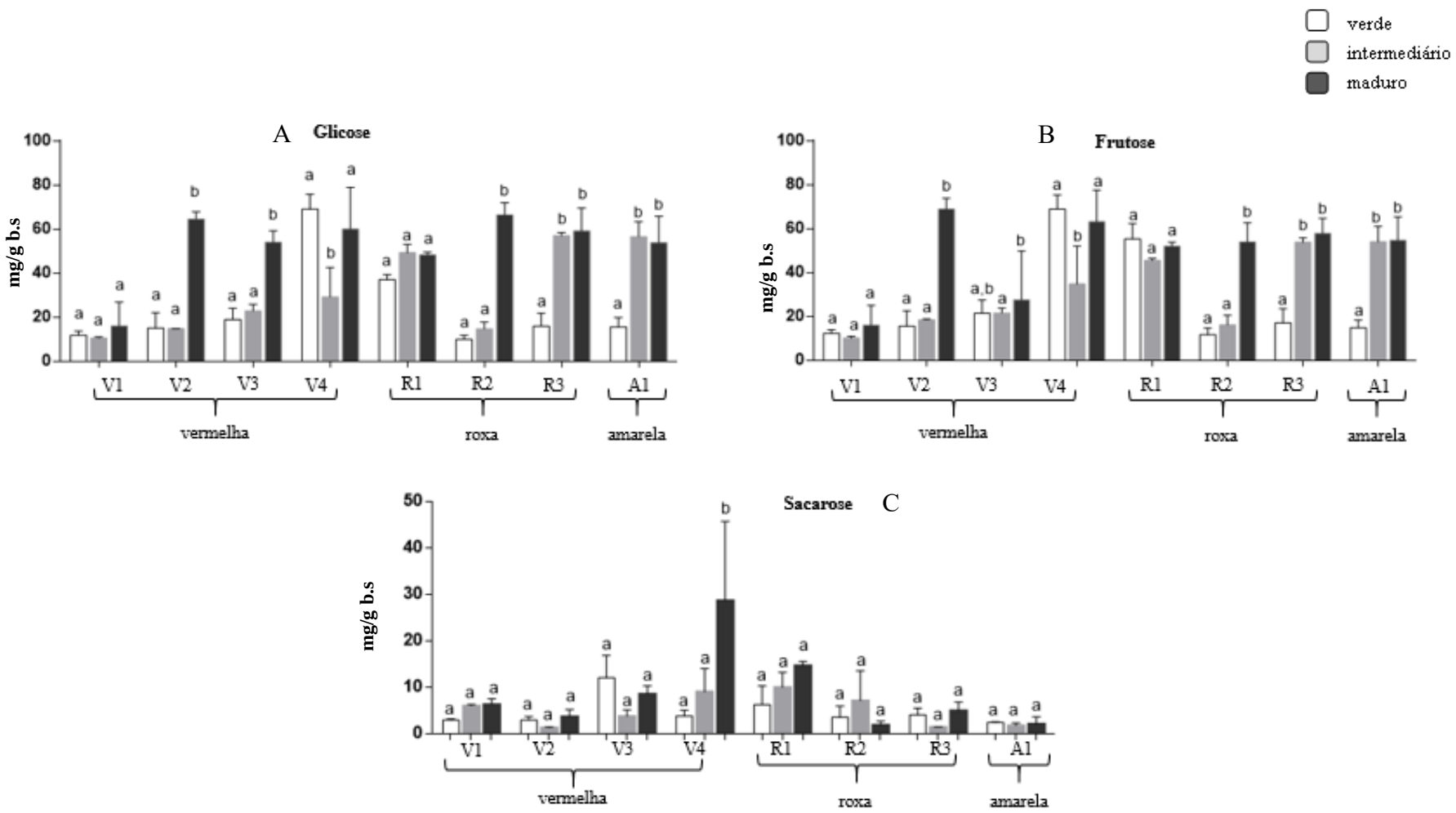


Figura 11. Conteúdo de açúcares solúveis glicose (A), frutose (B) e sacarose (C) em frutos de pitanga das variedades vermelha (V1, V2, V3 e V4*), roxa (R1, R2 e R3*) e amarela (A1*), em três estádios de desenvolvimento. Valores expressos como mg/g b.s. * amostras provenientes da EMBRAPA-RS. Médias seguidas por letras minúsculas são significativamente diferentes entre os estádios de desenvolvimento de uma mesma amostra, de acordo com o teste de Tukey ($p<0,05$).

Uma redução no conteúdo de AA foi observada com o desenvolvimento. A concentração no estádio verde variou de 9,5 ± 0,5 a 19,0 ± 2,0 mg/g b.s, e no estádio maduro uma variação de 4,0 ± 0,3 a 12,0 ± 1,0 mg/g b.s (**Figura 12**). Somente a amostra R3 apresentou concentração de AA maior no estádio maduro comparado ao estádio verde. Em estudos com morango realizados por SHIN et al. (2008) verificaram um aumento de ácido ascórbico do estádio branco ao maduro (vermelho) e também CORDENUNSI et al. (2002) relataram um aumento no nível de ácido ascórbico durante o desenvolvimento dos frutos, em média 60 a 85 mg/100g na b.u. nos frutos maduros e em contraste, FERREYRA et al. (2007), que não conseguiram encontrar diferenças no teor de ácido ascórbico do verde ao maduro. Pode-se dizer que nenhuma variedade de pitanga é fonte de vitamina C.

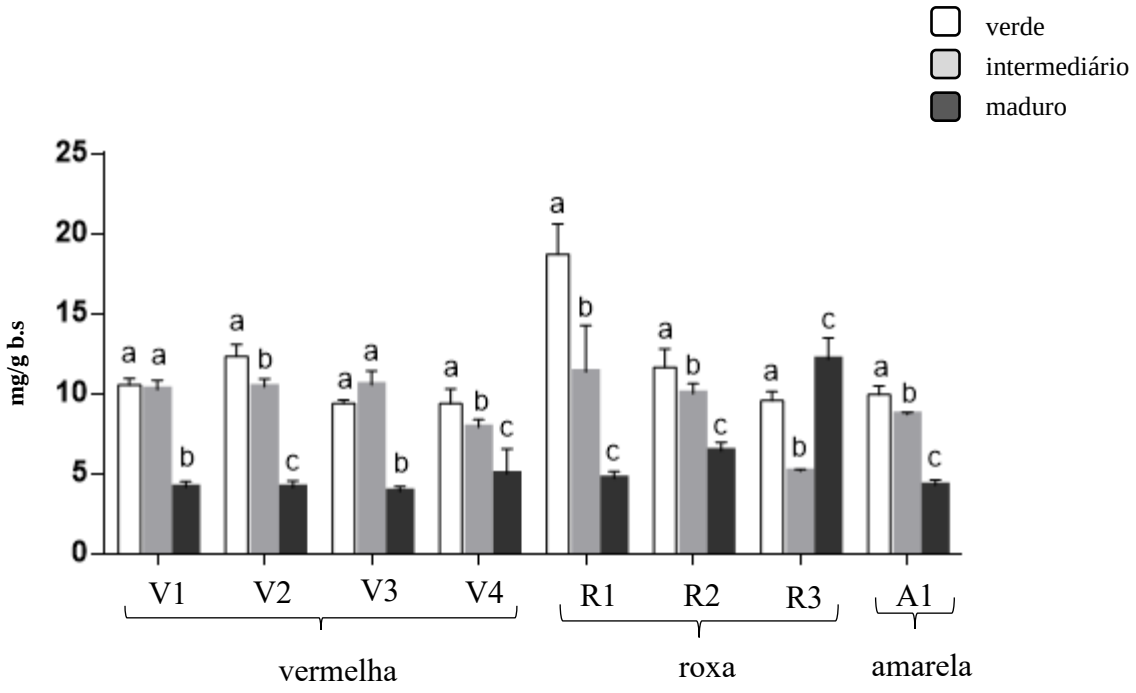


Figura 12. Conteúdo de ácido ascórbico total em frutos de pitanga das variedades vermelha (V1, V2, V3 e V4*), roxa (R1, R2 e R3*) e amarela (A1*), em três estádios de desenvolvimento. Valores expressos como mg/g b.s. *amostras provenientes da EMBRAPA-RS. Médias seguidas por letras minúsculas são significativamente diferentes entre os estádios de desenvolvimento de uma mesma amostra, de acordo com o teste de Tukey ($p<0,05$).

4.4 Identificação e quantificação de flavonoides

As **figuras 13 e 14** apresentam os cromatogramas obtidos por CLAE-DAD do fruto de pitanga da variedade roxa das amostras provenientes da EMBRAPA (**Figura 13A, B e C**) e da região de Campinas-SP (**Figura 14A, B e C**). A identificação dos flavonoides realizada por LC-ESI-MS/MS, nos estádios verde e maduro, estão listados na **Tabela 5.**

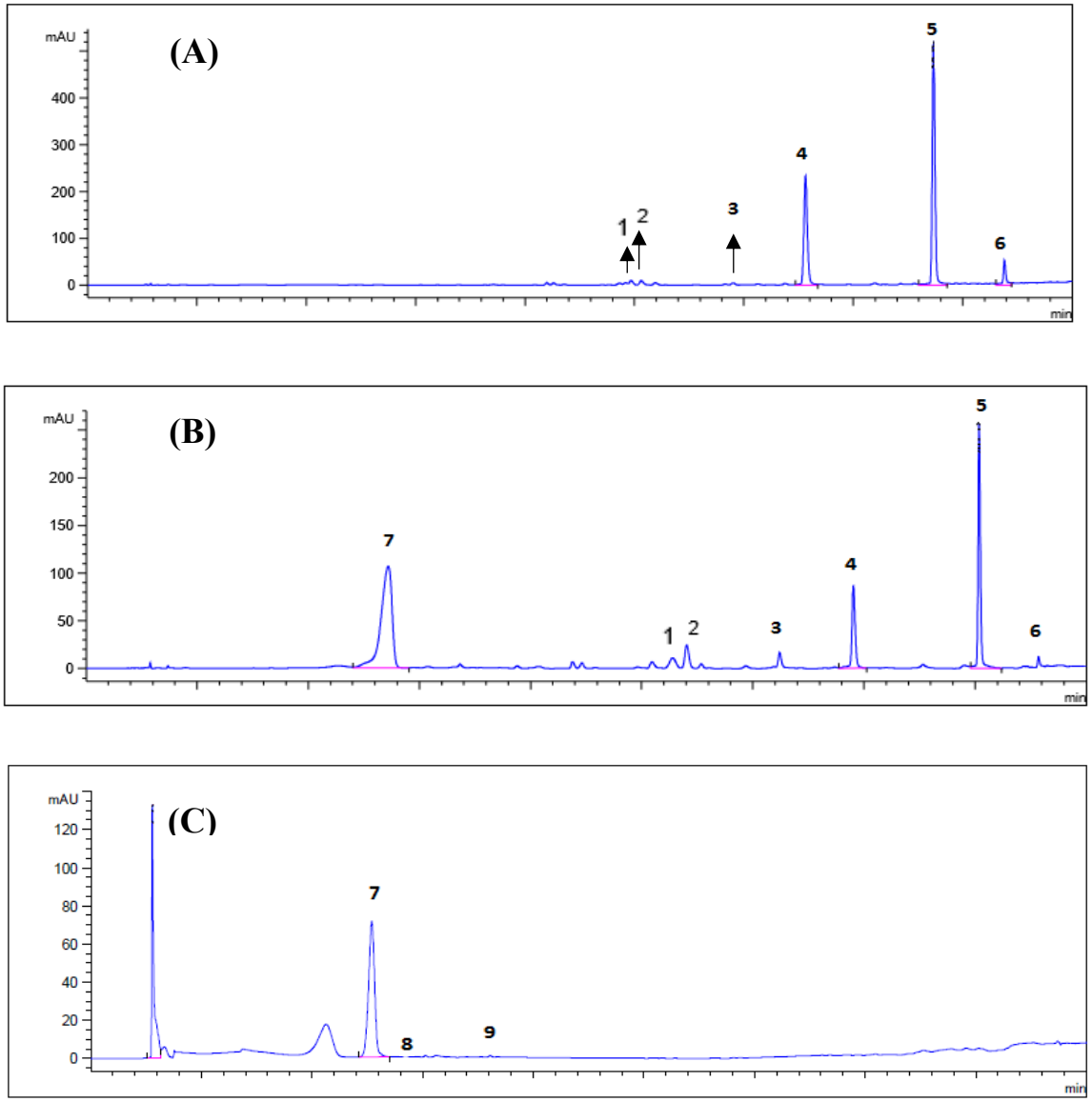


Figura 13. Cromatograma obtido por CLAE-DAD (A e B λ = 370 nm e C λ = 525 nm), para o fruto de pitanga roxa fornecido pela EMBRAPA-RS, nos estádios verde (A) e maduro (B e C).

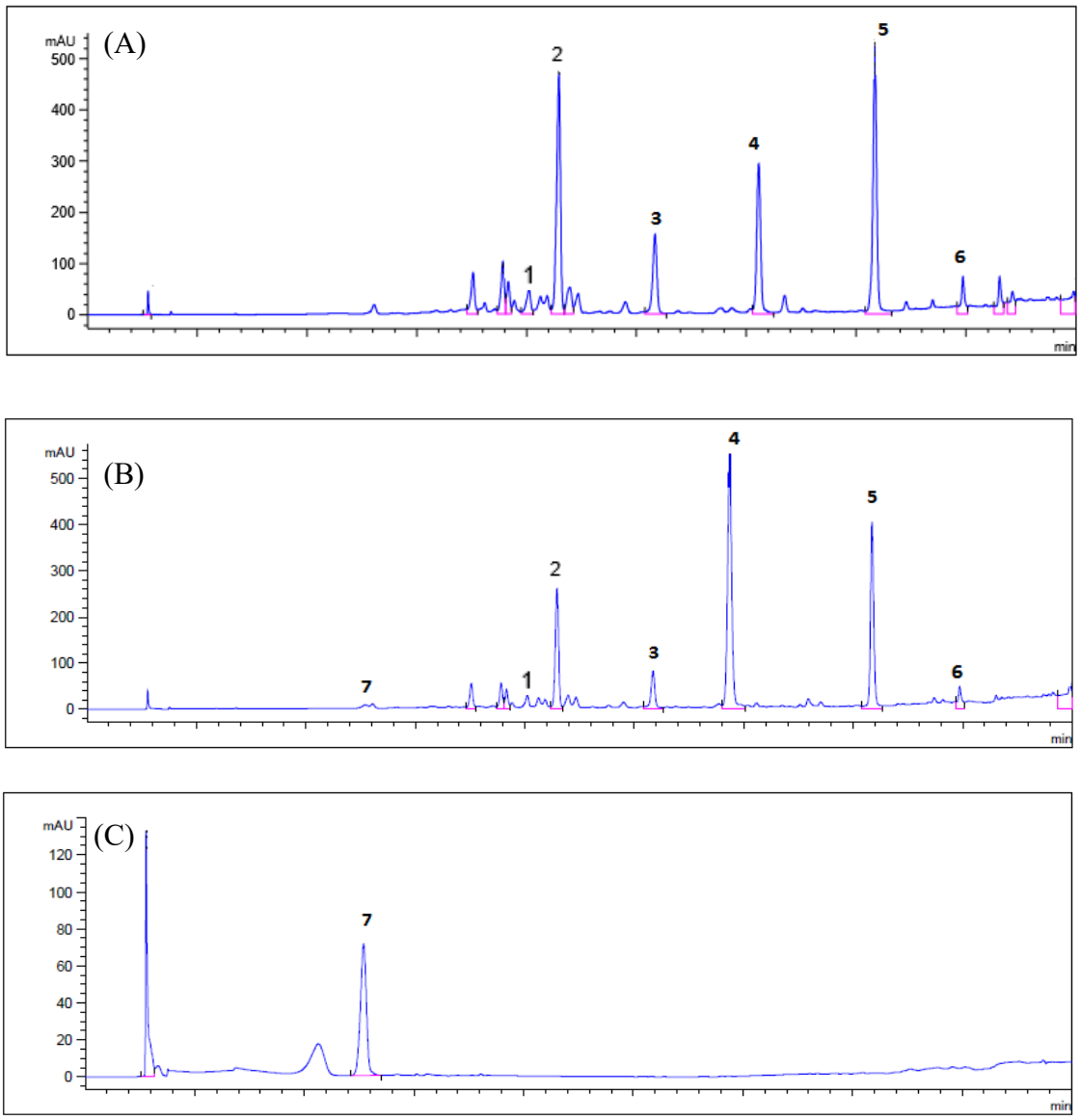


Figura 14. Cromatograma obtido por CLAE-DAD (A e B λ = 370 nm e C λ = 525 nm), para o fruto de pitanga roxa coletado na região de Campinas-SP, nos estádios verde (A) e maduro (B e C).

Tabela 5. Identificação de flavonoides por LC-ESI-MS/MS de frutos da pitanga roxa da EMBRAPA-RS e região de Campinas-SP.

Composto identificado (modo negativo)	**RT**	**Pico**	**$[M - H]^-$ (*m/z*)**	**MS/MS (*m/z*)**	**Composto identificado (modo positivo)**	**RT**	**Pico**	**$[M]^+$ (*m/z*)**	**MS/MS (*m/z*)**
Quercetina hexosídeo	21.9	1	463	301	Cianidina-3-*O*-glucosídeo*	11.6	7	449	287
Quercetina- 3-*O*-glucosideo*	22.3	2	463	301/179	Pelargonidina-3-*O*-glucosideo	13.2	8	443	271
Quercetina raminosídeo	26.0	3	447	301	Derivado de cianidina	17.8	9	491	287/257
Dímero de miricetina*	29.3	4	633	317					
Dímero de quercetina*	35.7	5	603	301					
Kaempferol*	39.4	6	285	-					

*identidade confirmada com padrão comercial.

Tabela 6. Conteúdo de flavonoides na pitanga variedade roxa (R1, R2 e R3*) em dois estádios de desenvolvimento (verde e maduro).

	Pitanga Roxa					
	Estádio verde (mg/100g b.s)			Estádio maduro (mg/100g b.s)		
Composto identificado	**R1**	**R2**	**R3***	**R1**	**R2**	**R3***
Quercetina	23,0 ± 5,1	48,6 ± 4,5	29,0 ± 1,0	21,1 ± 2,4	34,8 ± 4,8	17, 0 ±1,9
Quercetina 3-glucosideo	40,0 ± 2,1	35,3 ± 0,8	Tr	22,4 ± 1,5	18,6 ± 2,1	Tr
Miricetina	10,2 ± 4,3	106,7 ± 2,7	16,3 ± 1,1	20,3 ± 0,5	55,5 ± 3,8	14,1 ± 1,4
Kaempferol	3,3 ± 0,9	Tr	9,5 ± 3,2	1,7 ± 0,3	2,6 ± 1,2	9,8 ± 1,9
Cianidina 3-glucosideo	N.d.	N.d.	N.d.	8,1 ± 1,3	20,6 ± 4,0	640,5 ± 4,3

*Frutos fornecidos pela EMBRAPA-RS. Demais frutos coletados na região de Campinas-SP.

No estádio verde da pitanga roxa, foram identificados sete flavonoides da classe dos flavonóis apresentando íon molecular característico de miricetina (*m/z* 317), quercetina (*m/z* 301) e kaempferol (*m/z* 285). Os compostos majoritários de frutos oriundos da EMBRAPA-RS (**Figura 13**) foram identificados como quercetina (pico 5), apresentando íon molecular $[M-H^+]^-$ a *m/z* 603 e fragmentos MS2 a *m/z* 301, e como miricetina (pico 4), apresentando $[M-H^+]^-$ a *m/z* 633 e fragmentos MS2 a *m/z* 317. Já para as amostras da região de Caminas-SP (**Figura 14**), os compostos majoritários foram identificados como quercetina 3-glucosídeo (pico 2), apresentando $[M-H^+]^-$ a *m/z* 463 e fragmentos MS2 a *m/z* 301 e *m/z* 179, quercetina (pico 5), apresentando íon molecular $[M-H^+]^-$ a *m/z* 603 e fragmentos MS2 a *m/z* 301, e miricetina (pico 4), apresentando $[M-H^+]^-$ a *m/z* 633 e fragmentos MS2 a *m/z* 317. No fruto proveniente da EMBRAPA a quercetina, composto majoritário, representou 53% do total de flavonoides, já para os frutos da região de Campinas-SP, a quercetina 3-glucosideo e a miricetina representaram 52% e 56%, respectivamente (**Tabela 6**). As identidades de ambos os compostos foram confirmadas apresentando o mesmo tempo de retenção de padrões comerciais.

No estádio maduro da pitanga roxa, foram identificadas duas classes de flavonoides, três antocianinas e seis flavonóis, derivados de quercetina (*m/z* 301). A antocianina majoritária (pico 7), foi identificado como cianidina 3-glicosideo (C3G), apresentando íon molecular $[M]^+$ a *m/z* 449 e fragmento MS2 a *m/z* 287, característico da antocianidina cianidina, em decorrência da perda de uma unidade de hexose (-162 Da) (**Figuras 16A1, 16A2**) e representando até 94% dos flavonoides totais (**Tabela 6**.). Outra antocianidina, minoritária, também detectada na pitanga roxa foi a pelargonidina (pico 8) apresentando ion molecular a *m/z* 271. O flavonol majoritário correspondendo até 30% do fruto (**tabela 6**), foi identificado como quercetina (pico 5) para amostras provenientes da região de Campinas-SP e como miricetina (pico 4) para EMBRAPA. Ambos os flavonoides majoritários tiveram identidade confirmada com padrão comercial.

Pode ser observado, em pitanga roxa, que alguns flavonoides que não estavam expressos no estádio verde, como a C3G, são observados no estádio maduro, e compostos com predominância no estádio verde, por exemplo os flavonóis miricetina, kaempferol e quercetina, apresentam decréscimo na concentração no estádio maduro. Desta maneira, pode-se supor que durante o desenvolvimento ocorre uma inibição da FLS com aumento da atividade ou expressão da DFR, privilegiando a síntese de antocianidinas em

detrimento ao de flavonóis, o que é coerente com o decréscimo na concentração dos flavonóis e aumento na concentração de antocianinas, com o desenvolvimento.

Ainda, as duas antocianidinas detectadas na pitanga roxa no estádio maduro, foram a cianidina e a pelargonidina produto da redução da dihidroquercetina e dihidrokaempferol, respectivamente. Entretanto, a delfinidina, antocianina resultante da redução da miricetina encontrada em grande quantidade no estádio verde, não foi detectada no maduro, podendo supor, talvez, uma inibição da F3’5’H durante o amadurecimento.

Um aspecto interessante no estádio verde foi a presença de flavonóis majoritários na forma aglicona, sendo que, geralmente, os flavonoides são encontrados nos vegetais na forma glicosilada (Crozier et al., 2009). Pela sua cor característica vermelho-arroxeado, a C3G, provavelmente é o principal pigmento que contribui para a coloração característica dos frutos maduros desta variedade.

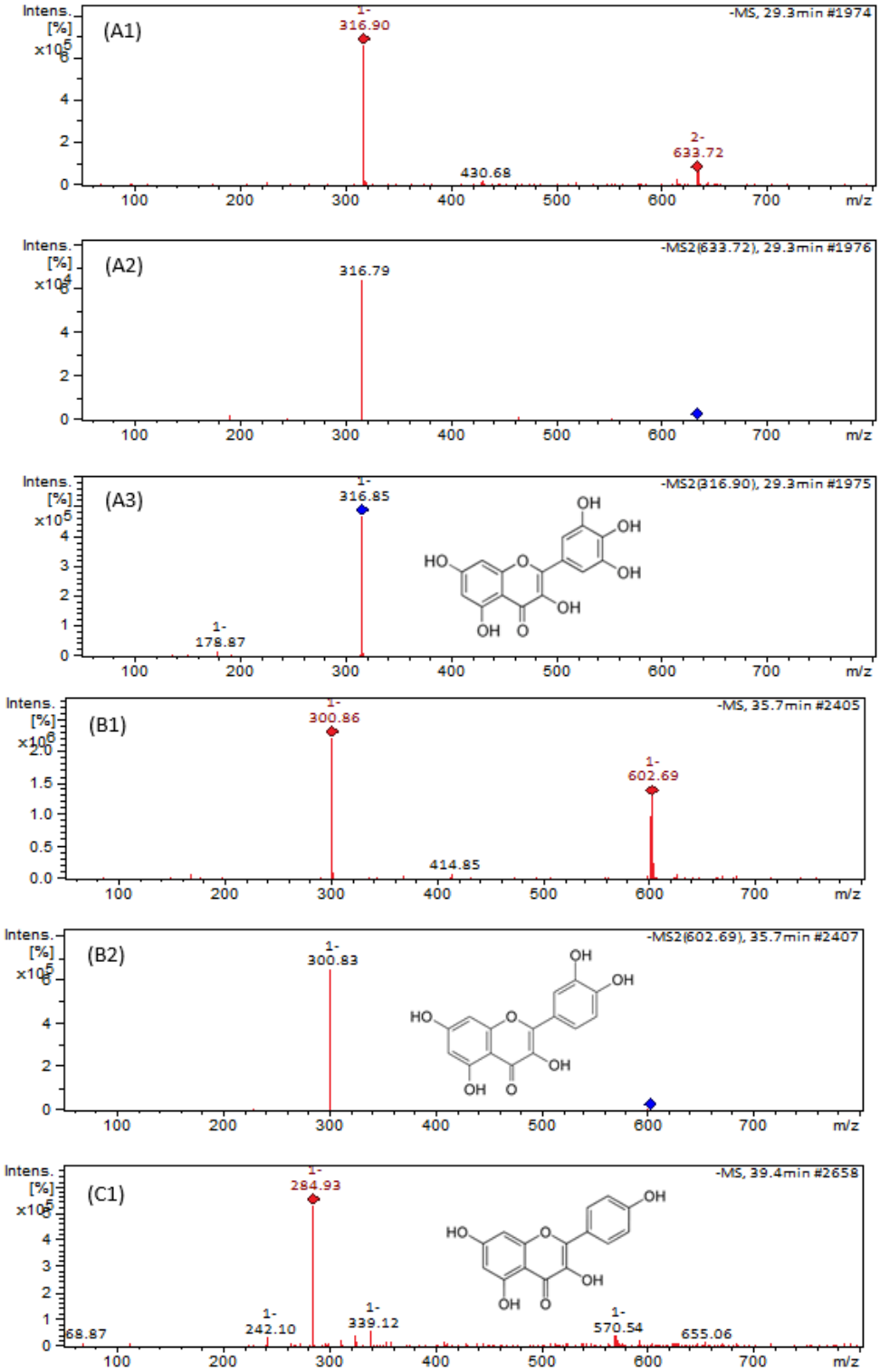


Figura 1516. Espectro de massas MS e MS2 de flavonoides de pitanga roxa, em estádio verde, obtido em modo negativo. A1, B1 e C1 referem-se a espectro de massas da miricetina (pico 4), quercetina (pico 5) e kaempferol (pico 6), respectivamente, identificados no cromatograma (**figura 13 e 14**); A2, A3 e B2, refere-se aos fragmentos MS2.

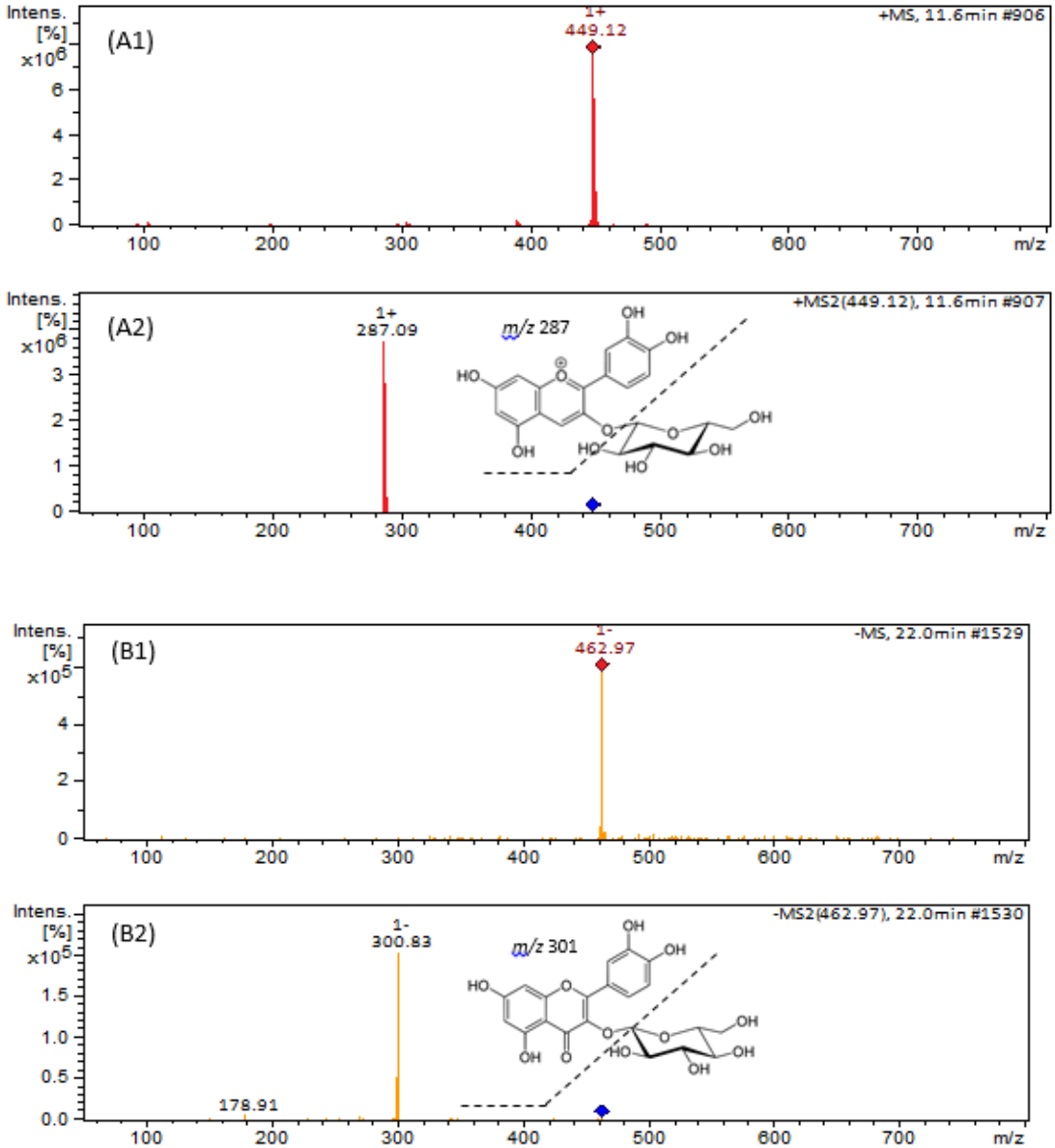


Figura 16. Espectro de massas MS e MS2 de flavonoides de pitanga roxa, em estádio maduro. Obtido em modo positivo para antocianinas e negativo para flavonóis. A1 e B1 referem-se a espectro de massas da cianidina 3-glucosídeo (pico 7) e quercetina 3-glucosídeo (pico 2), respectivamente, identificados no cromatograma (Figura 13 e 14); A2 e B2, refere-se aos fragmentos MS2.

Para a variedade vermelha, as **figuras 17 e 18** apresentam os cromatogramas obtidos por CLAE-DAD das amostras provenientes da EMBRAPA (**Figura 17 A e B**) e da região de Campinas-SP (**Figura 18 C e D**). A identificação dos flavonoides realizada por LC-ESI-MS/MS, nos estádios verde e maduro, estão listados na **Tabela 7.**

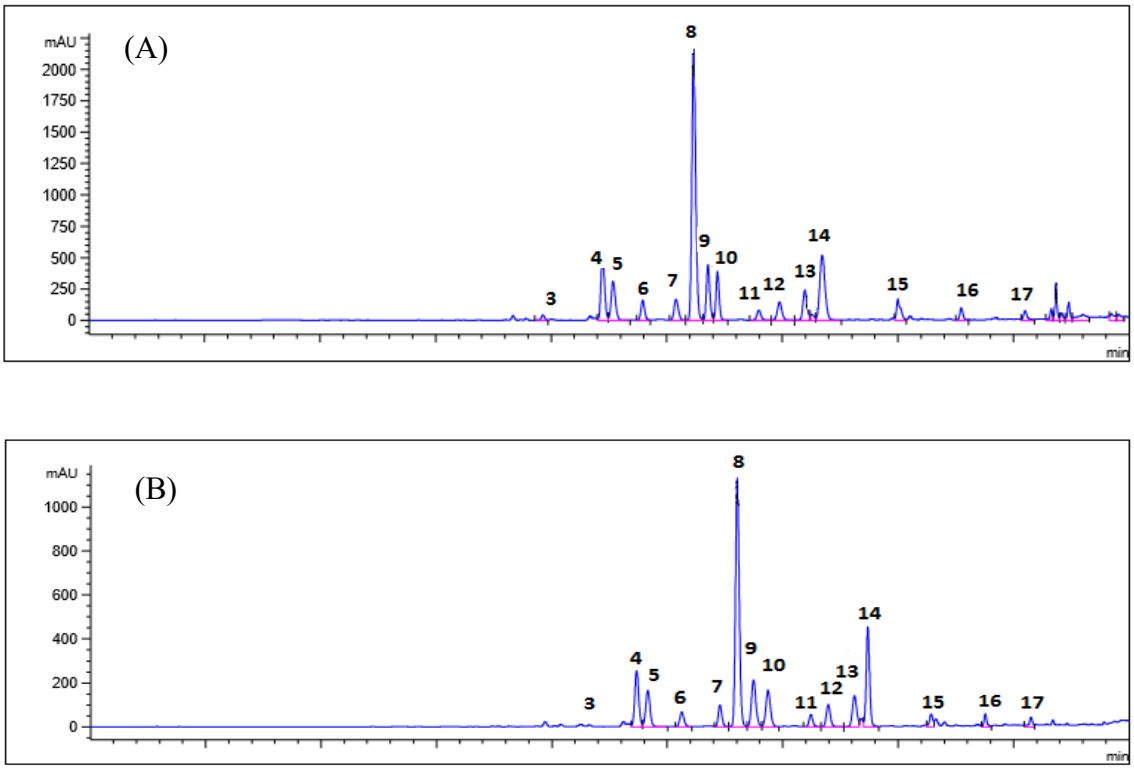


Figura 17. Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD (λ = 370 nm) para variedade vermelha de pitanga proveniente da EMBRAPA-RS, em dois estádios de desenvolvimento, (A) verde e (B) maduro.

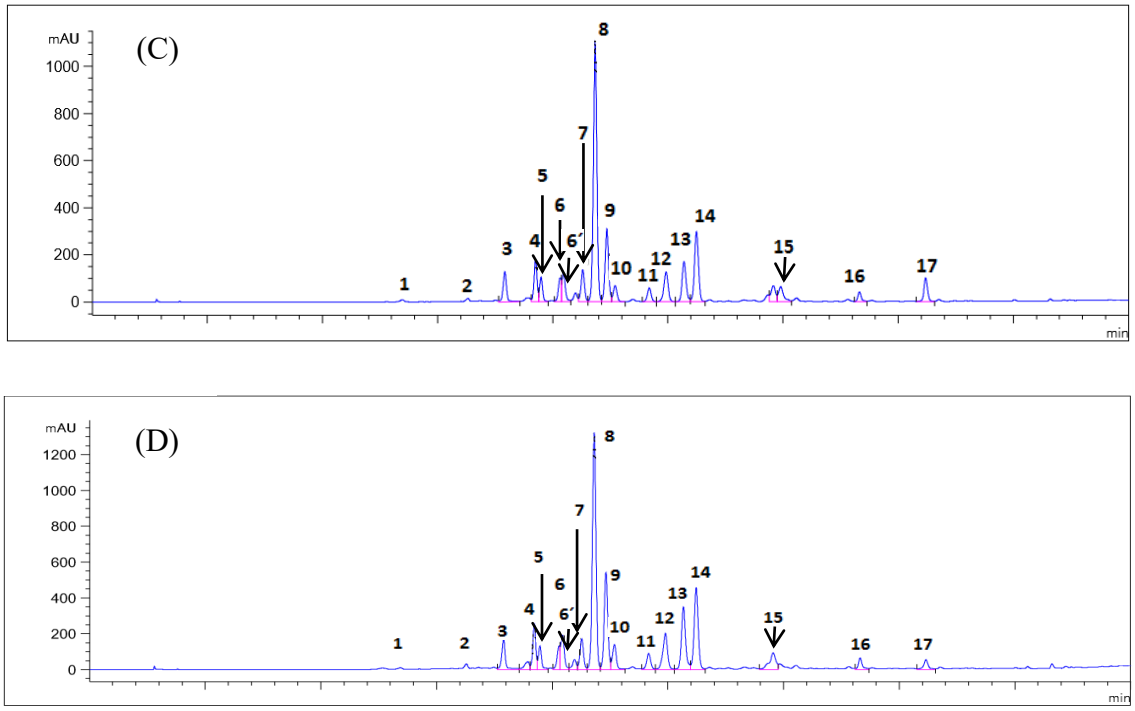


Figura 18. Cromatogramas obtidos por CLAE-DAD (λ = 370 nm) para variedade vermelha de pitanga proveniente da região de Campinas-SP, em dois estádios de desenvolvimento, (C) verde e (D) maduro.

Para a variedade vermelha, observou-se um perfil cromatográfico (**Tabela 7**), obtido por CLAE-DAD (λ370 nm), semelhante nos dois estádios de desenvolvimento (verde e maduro), com decréscimo na concentração, como apresentado na **Tabela 8.** Em ambos os estádios de desenvolvimento, os derivados de miricetina representaram até 60% do total de flavonoides (**Tabela 8**). Os três flavonóis identificados apresentam *m/z* 301, *m/z* 317 e *m/z* 285, correspondendo a quercetina, miricetina e kaempferol, respectivamente. Foram identificados 16 flavonoides, dos quais oito derivados glicosilados de miricetina e sete derivados glicosilados de quercetina.

Os flavonoides majoritários foram identificados pelos picos 8 e 14 apresentando $[M-H^+]^-$ a *m/z* 463 e fragmentos MS2 a *m/z* 316, característico de miricetina com a perda neutra de uma pentose (-146 Da) e a quercetina pentosídeo apresentando $[M-H^+]^-$ a *m/z* 447 e fragmentos MS2 a *m/z* 301, característico de uma quercetina (**Figura 19**).

Considerando a rota de biossíntese dos flavonoides, a pitanga da variedade vermelha não sofreu nenhuma alteração visível no perfil quando comparado os estádios de desenvolvimento, com apenas decréscimo na intensidade dos picos, o que pode ser decorrente na redução da atividade ou expressão da FLS, como observado para a variedade roxa.

Tabela 7. Espectro de massas de flavonoides e ácidos fenólicos obtidos por LC-ESI-MS/MS de frutos da pitanga vermelha fornecidos pela EMBRAPA-RS e coletados na região de Campinas-SP, em dois estádios de desenvolvimento, verde e maduro.

Composto identificado (modo negativo)	TR (min)	Pico	$[M - H]^-$ (*m/z*)	MS/MS (*m/z*)	Composto identificado (modo negativo)	TR (min)	Pico	$[M - H]^-$ (*m/z*)	MS/MS (*m/z*)
Ácido neoclorogênico	12.8	1	353	191	Derivado de quercetina	23.8	11	433	301
Ácido neoclorogênico	15.2	2	337	191	Derivado de quercetina	24.5	12	433	301
Miricetina hexosídeo	17.8	3	631	479/316	Quercetina ramnosídeo[b]	25.6	13	447	301
Miricetina hexosídeo	18.7	4	479	316	Quercetina ramnosideo[b]	26.2	14	447	301
Miricetina hexosídeo	18.9	5	479	316	Miricetina hexosideo	33.3	15	317/615	317
Derivado de miricetina	19.8	6	449	317	Quercetina	36.1	16	599	301
Miricetina hexosídeo	20.4	6´	615	463	Kaempferol[*]	40.0	17	301	-
Miricetina pentosídeo[a]	20.8	7	449	316					
Miricetina pentosideo[a]	21.5	8	463	316					
Quercetina hexosídeo	22.0	9	463	301					
Quercetina- 3-*O*-glucosídeo[*]	22.3	10	463	301					

[*]identidade confirmada com padrão comercial. [a,b] provável isómero.

Tabela 8. Conteúdo de flavonoides de pitangas da variedade vermelha (V1, V2, V3 e V4*) em dois estádios de desenvolvimento (verde e maduro).

	Pitanga vermelha							
	Estádio verde (mg/100g b.s)				Estádio maduro (mg/100g b.s)			
Composto identificado	**V1**	**V2**	**V3**	**V4***	**V1**	**V2**	**V3**	**V4***
Quercetina	78,4 ± 4,0	41,9 ± 4,0	55,1 ± 3,7	21,3 ± 2,9	53,7 ± 6,2	27,4 ± 6,5	48,6 ± 6,3	19,0 ± 1,7
Quercetina 3-glucosideo	12,0 ± 2,0	23,4 ± 1,2	8,8 ± 3,5	4,9 ± 0,6	10,0 ± 3,1	15,1 ± 3,8	11,0 ± 2,5	2,8 ± 0,5
Miricetina	101,0 ± 7,7	59,5 ± 7,6	74,2 ± 7,5	42,2 ± 9,0	61,6 ± 15,1	47,3 ± 16,1	21,3 ± 6,0	36,7 ± 4,7
Kaempferol	2,8 ± 0,3	1,0 ± 0,8	5,2 ± 0,1	1,8 ± 0,1	3,7 ± 1,3	5,1 ± 0,7	2,2 ± 2,0	1,7 ± 0,4

*Frutos fornecidos pela EMBRAPA-RS. Demais frutos coletados na região de Campinas-SP.

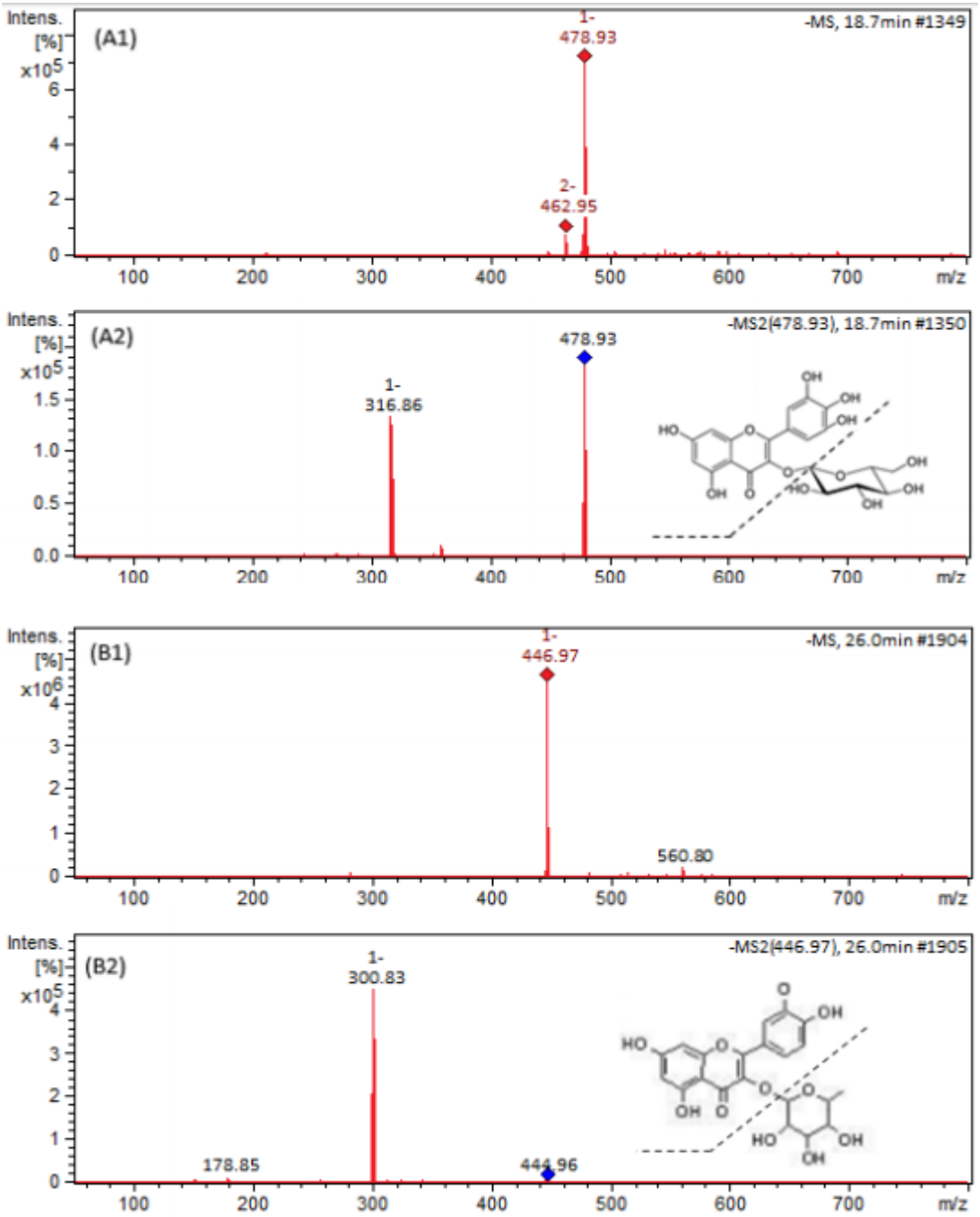


Figura 19. Espectro de massas MS e MS2 de flavonoides de pitanga vermelha, obtido em modo negativo para flavonóis.A1 e B1 referem-se ao espectro de massas da miricetina (pico 8) e quercetina (pico 14), respectivamente, identificados no cromatograma (f**igura 17 e 18**); A2 e B2, referem-se aos fragmentos MS2.

Para a variedade amarela, observou-se um perfil cromatográfico semelhante à observada para a variedade vermelha, com decréscimo da intensidade dos picos com o desenvolvimento (**Figura 20**). Os dois flavonóis identificados apresentam íon molecular a *m/z* 301 e *m/z* 317, correspondendo a quercetina e miricetina, respectivamente. A identificação dos flavonoides realizada por LC-ESI-MS/MS, nos estádios verde e maduro, estão listados na **Tabela 9.**

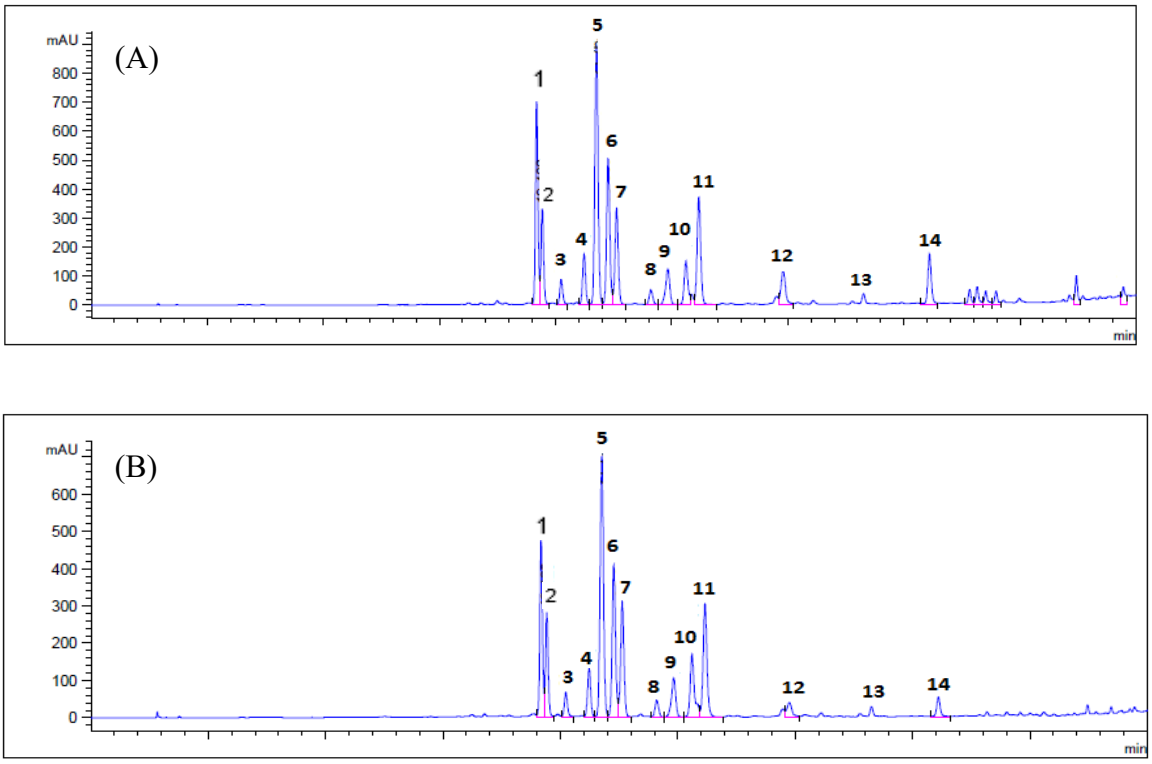


Figura 20. Cromatograma obtido por CLAE-DAD (λ = 370 nm), para o fruto de pitanga amarelo fornecido pela EMBRAPA, nos estádios verde (A) e maduro (B).

Tabela 9. Espectro de massas de flavonoides obtidos por LC-ESI-MS/MS de frutos da pitanga amarela fornecidos pela EMBRAPA-RS.

Composto identificado (modo negativo)	**TR**	**Pico**	**[M - H]⁻ (*m/z*)**	**MS/MS (*m/z*)**	**Composto identificado (modo negativo)**	**TR**	**Pico**	**[M - H]⁻ (*m/z*)**	**MS/MS (*m/z*)**
Miricetina hexosídeo	18.7	1	479	316	Derivado de quercetina	23.8	8	433	301
Miricetina hexosídeo	18.9	2	479	316	Derivado de quercetina	24.5	9	433	301
Derivado de miricetina	19.8	3	449	317	Quercetina pentosídeo	25.6	10	447	301
Miricetina pentosídeo	20.8	4	463	316	Quercetina pentosídeo	26.2	11	447	301
Miricetina pentosideo	21.5	5	463	316	Miricetina hexosídeo	33.3	12	317/615	317
Quercetina hexosídeo	22.0	6	463	301	Quercetina*	36.1	13	599	301
Quercetina- 3-*O*-glucosídeo*	22.3	7	463	301	Kaempferol*	40.0	14	301	-

*identidade confirmada com padrão comercial. RT, tempo de retenção

No estádio verde, os flavonoides majoritários foram identificados pelos picos 1, 5 e 7, apresentando íon molecular característico de miricetina (*m/z* 316), além do pico 11 apresentando íon molecular característico da quercetina (*m/z* 301). Já no estádio maduro, os flavonoides majoritários foram identificados pelos picos 5 e 7, apresentando $[M-H^+]^-$ a *m/z* 463 e fragmentos MS2 a *m/z* 316, característico de uma miricetina e $[M-H^+]^-$ a *m/z* 463 e fragmentos MS2 a m/z 301 característico de uma quercetina, respectivamente.

A pitanga amarela da mesma forma que a pitanga vermelha, não sofreu nenhuma alteração visível no perfil de flavonoides quando comparado os estádios de desenvolvimento, com apenas decréscimo na intensidade dos picos, sendo o flavonol majoritário miricetina correspondendo a 48% do total de flavonoides, seguido pela quercetina com até 39% do total em comparação aos demais flavonóis (**Tabela 10**).

Tabela 10. Conteúdo de flavonoides de pitanga da variedade amarela, em dois estádios de desenvolvimento (verde e maduro).

	Estádio verde (mg/100g b.s)	**Estádio maduro (mg/100g b.s)**
Composto identificado	**A1***	**A1***
Quercetina	43,3 ± 3,4	20,1 ± 2,1
Quercetina 3-glucosideo	26,4 ± 5,3	6,7 ±1,8
Miricetina	62,4 ± 8,2	25,0 ± 3,6
Kaempferol	1,5 ± 0,4	Tr

*Frutos fornecidos pela EMBRAPA-RS.

4.5 Quantificação de Ácido Elágico total

Ácido elágico (AE) é um composto polifenol sintetizado por múltiplas espécies de plantas, e pode ser encontrado em nossa dieta principalmente em frutas vermelhas. Este pode ocorrer nas formas livre, glicosilada ou como produto de hidrólise ácida dos elagitaninos (TOMÁS-BARBERÁN; CLIFFORD, 2000; PINTO, 2008).

Os elagitaninos (ETs) são compostos fenólicos solúveis em água e de alta peso molecular. São ésteres do ácido hexahidroxidifênico e um poliol, geralmente glicose, e o ácido quínico ou gálico, que por hidrólise ácida libera o AE, princípio de sua quantificação. Os ETs demonstraram atividades antioxidantes e possíveis efeitos antimutagênico e anticarcinogênico (WILLINER; PIROVANI; GUEMES, 2003).

Em nenhuma variedade de pitanga foi identificado o AE livre. Contudo, alto conteúdo de elagitatinos, expresso como AE total, foi encontrado em todos as variedades no estágio maduro (**Tabelas 11)**. A variedade vermelha se destaca em relação às demais pela concentração de AE total, com uma variação de 467,1 ± 0,5 a 843,2 ± 1,5 mg/100g b.s. (**Tabela 11**).

A família das Myrtaceaee é conhecida por possuir espécies ricas em elagitaninos, entre elas a grumixama (82 a 243 mg AE eq./100g b.u) (TEIXEIRA, 2015). E o mesmo pode ser visto na jabuticaba (0.215 to 3.11 g kg^{-1} b.u.), onde o composto apresenta uma maior concentração na semente (ABE, 2011).

Tabela 11. Quantificação de Ácido Elágito total nas três variedades de pitanga, vermelha (V), roxa (R) e amarela (A) no estádio maduro.

Amostra	Estádio verde	Estádio maduro
R1	N.a.	325,6 ± 0,5
R2	N.a.	493,3 ± 1,0
R3*	N.a.	420,0 ± 0,3
V1	N.a.	553,8 ± 0,2
V2	N.a.	843,2 ± 1,5
V3	N.a.	650,0 ± 0,3
V4*	N.a.	467,1 ± 0,5
A1*	N.a.	485,1 ± 0,2

*Frutos fornecidos pela EMBRAPA-RS. N.a., não foi analisado.

4.6 Identificação e Quantificação de carotenoides

Carotenoides compreendem a maior parte dos pigmentos naturais amarelo, alaranjado e vermelho, incluindo várias espécies de plantas (CAZZONELLI e POGSON, 2010). Para a saúde humana, os carotenoides têm sido apontados como compostos bioativos que reduzem o risco de desenvolvimento de enfermidades como o câncer e as doenças cardiovasculares (RAO e RAO, 2007). Os principais carotenoides encontrados nos alimentos vegetais são o licopeno, β-caroteno, β-criptoxantina, α-caroteno, luteina, zeaxantina e fitoeno (KOPSEL e KOPSEL, 2006).

A **figura 21** apresenta o cromatograma do perfil de carotenoides obtido por CLAE-DAD dos frutos de pitanga da variedade vermelha (V4), roxa (R3) e amarela (A1) em dois estádios de desenvolvimento (verde e maduro, **figura 21A e B, respectivamente**).

No estádio verde das três variedades, foi observado somente a presença de um pico (pico 1) em alta concentração, o qual não foi identificado com padrão comercial. Já no estádio maduro foram detectados seis picos correspondentes de carotenoides. Os picos 5, 6 e 7 são isômeros de licopeno, tendo o pico 7 a identidade confirmada como all-*trans* licopeno. O pico 2, foi identificado como beta-caroteno, enquanto que os demais picos 3 e 4 não tiveram sua identidade confirmada, porém foram quantificados em equivalentes de beta-caroteno por estarem no mesmo comprimento de onda ($\lambda = 450$).

O mecanismo pelo qual os carotenoides protegem os sistemas biológicos contra os radicais livres depende da transferência de energia do oxigênio excitado para o carotenoide. Eles reagem principalmente com o radical peróxido e oxigênio molecular. Carotenoides como β-caroteno e licopeno exercem funções antioxidantes em fases lipídicas, bloqueando os radicais livres que danificam as membranas lipoproteicas (PEREIRA et al., 2012; OLSON, 1989).

Dentre os carotenoides identificados, o licopeno foi o único que estava presente nas três variedades, durante o estádio maduro. O licopeno, assim como a zeatina, são os dois carotenoides que não possuem atividade pró vitamina A, embora ambos possuam uma contribuição vital para a saúde humana (INOCENT et al., 2007). Especificamente

para o licopeno, este carotenoide apresenta um papel antioxidante fundamental no organismo, que reflete a ação deste composto ao combate de doenças cardiovasculares e câncer (AGARWAL e RAO, 2000).

O β-caroteno foi identificado nas variedades vermelha e amarela no estádio maduro. Frutas como carambola (3 μg/g), mamão (12 μg/g), nectarina (29 μg/g), cereja (32 μg/g), melancia (38 μg/g), cagaita (46 μg/g), damasco (57 μg/g), a toranja (58 μg/g), a manga (58 μg/g) e o melão (67 μg/g) (Shofian et al., 2011; Müller, 1997) apresentam baixos teores de β-caroteno, comparativamente à espécies da família Myrtaceae como a uvaia (*Eugenia pyriformis*) (191 μg/g) e a guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) (70 μg/g) (PEREIRA et al., 2012). Os valores encontrados para pitanga da variedade vermelha e amarela, espécies também da família myrtaceae possuem maiores valores como pode ser visto na **tabela 12**.

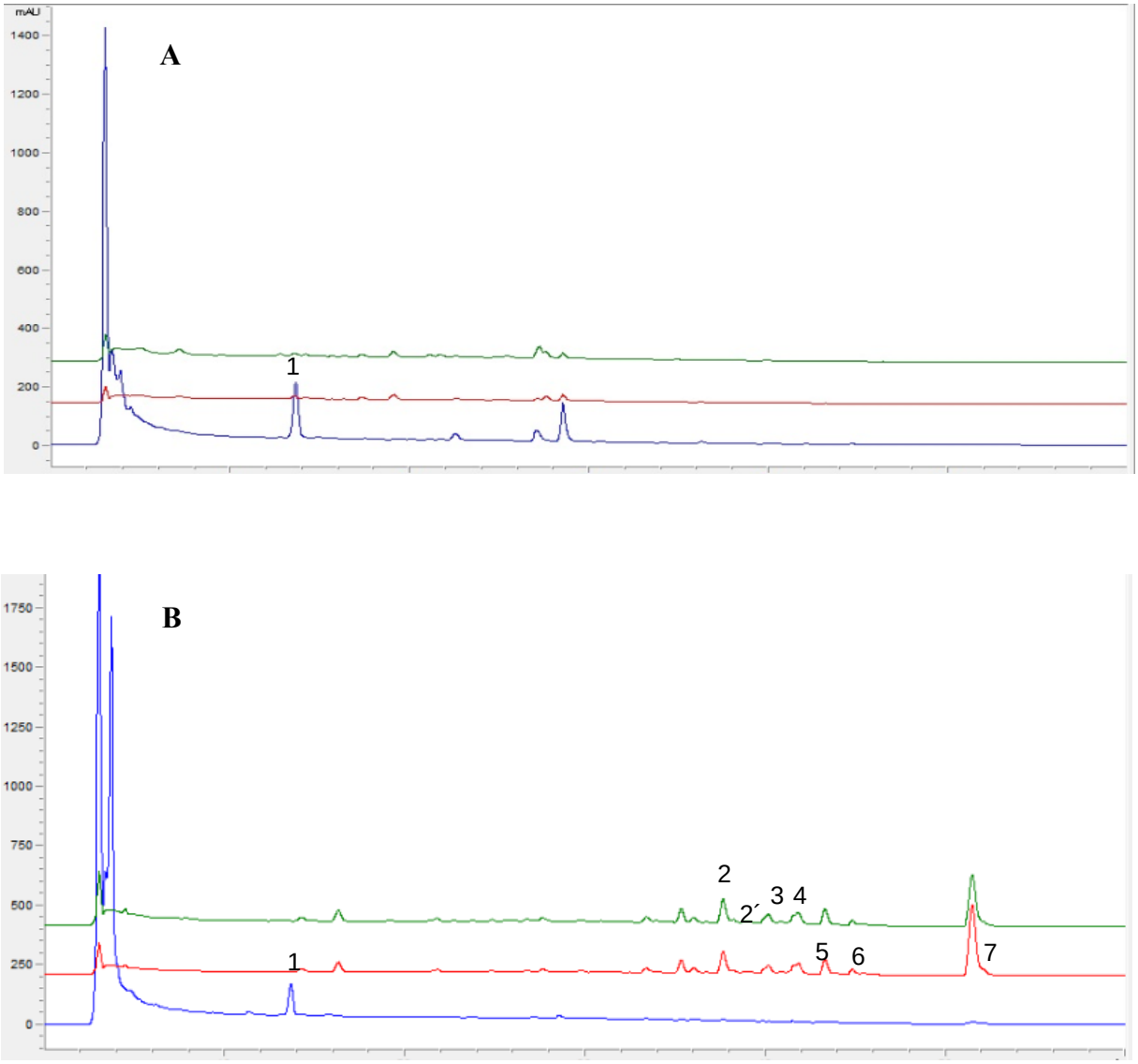


Figura 21. Cromatograma obtido por CLAE-DAD de carotenoides de pitanga (λ = 474, λ = 450 e λ = 328), variedade vermelha (V4), roxa (R3) e amarela (A1), fornecido pela EMBRAPA-RS, nos estádios verde (A) e maduro (B).

Tabela 12. Composição de carotenoides obtidos por CLAE-DAD nas variedades vermelha (V1, V2, V3 e V4*) e amarela (A1*), em dois estádios de desenvolvimento (verde e maduro) provenientes da EMBRAPA-RS e CAMPINAS-SP.

			Estádio verde					Estádio maduro				
Composto identificado	**RT**	**Pico**	**V1**	**V2**	**V3**	**V4***	**A1***	**V1**	**V2**	**V3**	**V4***	**A1***
β-caroteno§**	37.4	2	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	8,8 ± 2,8	33,4 ± 2,8	6,6 ± 1,8	2,78 ± 2,5	7,4 ± 3,1
Não identificado**	36.2	2`	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	8,4 ± 3,8	10,2 ± 2,4	5,6 ± 2,9	N.d.	N.d.
Não identificado**	41.6	3	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	10,3 ± 4,1	16,8 ± 9,3	6,3 ± 2,2	4,5 ± 1,0	1,3 ± 2,8
Não identificado**	43.5	4	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	4,0 ± 1,4	16,8 ± 0,2	3,0 ± 1,3	2,5 ± 1,9	4,0 ± 1,4
Licopeno-isômero*	45.0	5	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	5,5 ± 1,7	14,8 ± 3,7	Tr	1,9 ± 2,1	20,5 ± 5,2
Licopeno-isômero*	45.6	6	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	2,9 ± 1,6	8,5 ± 2,8	Tr	6,5 ± 1,4	4,0 ± 2,1
licopeno§	52.0	7	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	42,4 ± 8,6	18,1 ± 2,3	39,8 ± 8,3	47,5 ± 3,2	8,3 ± 3,8

Concentração expressa como (µg/g b.s). *Quantificados como equivalentes de licopeno. ** Quantificados como equivalentes de β-caroteno. §Identidade confirmada com padrão comercial. N.d. não detectado.

Tabela 13. Composição de carotenoides obtidos por CLAE-DAD na variedade roxa (R1, R2 e R3*), em dois estádios de desenvolvimento (verde e maduro) provenientes da EMBRAPA-RS e CAMPINAS-SP.

			Estádio verde			**Estádio maduro**		
Composto identificado	**RT**	**Pico**	**R1**	**R2**	**R3***	**R1**	**R2**	**R3***
β-caroteno[§]**	37.4	2	N.d.	N.d.	N.d.	6,9 ± 0,3	6,2 ± 3,3	Tr
Não identificado**	36.2	2`	N.d.	N.d.	N.d.	4,2 ± 0,2	2,5 ± 0,2	N.d.
Não identificado**	41.6	3	N.d.	N.d.	N.d.	6,2 ± 0,3	4,4 ± 0,4	N.d.
Não identificado**	43.5	4	N.d.	N.d.	N.d.	4,1 ± 0,2	8,4 ± 3,2	N.d.
Licopeno-isômero*	45.0	5	N.d.	N.d.	N.d.	Tr	21,0 ± 9,5	N.d.
Licopeno-isômero*	45.6	6	N.d.	N.d.	N.d.	Tr	2,6 ± 0,6	N.d.
licopeno[§]	52.0	7	N.d.	N.d.	N.d.	36,6 ± 1,7	55,2 ± 5,9	0,69 ± 1,2

Concentração expressa como (μg/g b.s). *Quantificados como equivalentes de licopeno. ** Quantificados como equivalentes de β-caroteno. [§]Identidade confirmada com padrão comercial. N.d. não detectado.

5- CONCLUSÃO

Em relação aos flavonoides identificados no fruto maduro, há a predominância de cianidina-3-glicosídeo na variedade roxa e miricetina na vermelha. Na variedade roxa, pode-se observar alteração no perfil de flavonoides quando comparados os estádios verde e maduro, com decréscimo dos precursores intermediários da síntese de antocianinas.

Já com relação aos carotenoides identificados no fruto maduro, há predominância de licopeno e seu isômero nas três variedades de pitanga.

Com isso, pode-se concluir que as três variedades de pitanga são uma boa fonte de flavonoides e carotenoides.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, LUCILE T., FRANCO M. LAJOLO, AND MARIA INES GENOVESE. "Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: Jabuticaba (Myrciaria jaboticaba (Vell.) Berg)." Journal of the Science of Food and Agriculture 92.8 (2012): 1679-1687.

ARAI, I., AMAGAYA, S., KOMATSU, Y., OKADA, M., HAYASHI, T., KASAI, M. Improving effects of the extract from Eugenia uniflora on hyperglycemia and hypertriglyceridemia in mice. Journal of Ethnopharmacology, 68, 307–314. 1999.

AZEVEDO-MELEIRO, CRISTIANE H., and DELIA B. RODRIGUEZ-AMAYA. "Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by CLAE-DAD and CLAE-MS." Journal of Food Composition and Analysis 17.3 (2004): 385-396.

BEZERRA, J. E. F., JUNIOR, J. F. S., & LEDERMAN, I. E. (2000). Botanical and ecology (edition 1. In L. C. Donadio (Ed.). Pitanga (Eugenia uniflora L.) (Vol. 1, pp. 30). Jaboticabal, Brazil: Funep.

BOCK, Gee-Woo et al. Behavioral intention formation in knowledge sharing: Examining the roles of extrinsic motivators, social-psychological forces, and organizational climate. MIS quarterly, p. 87-111, 2005.

BRAND-WILLIAMS, Wendy; CUVELIER, Marie-Elisabeth; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BUTELLI, E.; TITTA, L.; GIORGIO, M.; MOCK, M.; MATROS, A.; PATEREK, S.; SCHIJLEN, E.G.; HALL, R.D.; BOVY, A.G.; LUO, J.; MARTIN, C. Enrichment of tomato fruit with health promoting anthocyanins by expression of select transcription factors. Nat. Biotechnol, 26, 1301-1308, 2008.

CAZZONELLI, CHRISTOPHER I., AND BARRY J. POGSON. "Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants." Trends in plant science 15.5 (2010): 266-274.

CONSOLINI, A. E., & SARUBBIO, M. G. Pharmacological effects of Eugenia uniflora (Myrtaceae) aqueous crude extract on rats heart. Journal of Ethnopharmacology, 81, 57–63. 2002.

CORDENUNSI, BEATRIZ ROSANA, et al. "Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil."Journal of Agricultural and Food Chemistry 50.9 (2002): 2581-2586.

COULTATE, TOM P., et al. "Alimentos: a química de seus componentes."Alimentos: a química de seus componentes. Artmed, 2004.

CROZIER, ALAN, INDU B. JAGANATH, AND MICHAEL N. CLIFFORD. "Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health." Natural product reports 26.8 (2009): 1001-1043.

CROZIER, ALAN, DANIELE DEL RIO, AND MICHAEL N. CLIFFORD. “Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds.” Molecular aspects of medicine 31.6 (2010).

DA SILVA PINTO, Marcia; LAJOLO, Franco Maria; GENOVESE, Maria Inés. Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (Fragaria x ananassa Duch.). Food Chemistry, v. 107, n. 4, p. 1629-1635, 2008.

DÁVALOS, Alberto; GÓMEZ-CORDOVÉS, Carmen; BARTOLOMÉ, Begoña. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC− fluorescein) assay. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 52, n. 1, p. 48-54, 2004.

DEL RIO, DANIELE, et al. "Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases."Antioxidants & redox signaling 18.14 (2013): 1818-1892.

DONADIO, VINCENZO, et al. "Interindividual differences in sympathetic and effector responses to arousal in humans." The Journal of physiology 544.1 (2002): 293-302.

FERRUZZI, Mario G. et al. Analysis of lycopene geometrical isomers in biological microsamples by liquid chromatography with coulometric array detection. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, v. 760, n. 2, p. 289-299, 2001.

FIGUEIREDO, R.W.; LAJOLO, F.M.; ALVES, R.E.; et al. Physical-chemical changes in Carly dwarf cashew pseudo-fruits during development and maturation. Food chemistry, v. 77, p. 343-347, 2002

FIUZA, TATIANA S., et al. "Caracterização farmacognóstica das folhas de Eugenia uniflora L. (Myrtaceae)." Revista Eletrônica de Farmácia 5.2 (2008).

FRANZOM, RODRIGO C. Caracterização de mistáceas nativas do sul do Brasil. 2004. 114f. Diss. Dissertação (Mestrado em agronomia) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS. 2004

GOMEZ, M., LAJOLO, F. AND CORDENUNSI, B. (2002), Evolution of Soluble Sugars During Ripening of Papaya Fruit and its Relation to Sweet Taste. Journal of Food Science, 67: 442–447. doi:10.1111/j.1365-2621.2002.tb11426.x

GONNET, M., L. LETHUAUT, AND F. BOURY. "New trends in encapsulation of liposoluble vitamins." Journal of Controlled Release 146.3 (2010): 276-290.

HASSIMOTTO, NEUZA MARIKO AYMOTO, MARIA INÉS GENOVESE, AND FRANCO MARIA LAJOLO. "Absorption and metabolism of cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-rutinoside extracted from wild mulberry (Morus nigra L.) in rats." Nutrition research 28.3 (2008): 198-207.

HOFFMANN-RIBANI, ROSEMARY, LÍSIA S. HUBER, AND DELIA B. RODRIGUEZ-AMAYA. "Flavonols in fresh and processed Brazilian fruits." Journal of food composition and analysis 22.4 (2009): 263-268.

HOLETZ, FABÍOLA BARBIÉRI, et al. "Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases." Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 97.7 (2002): 1027-1031.

INOCENTL, GOUADO, et al. "Carotenoids Content of Some Locally Consumed Fruits and Yarns in Cameroon." Pakistan Journal of Nutrition 6.5 (2007): 497-501.

JACQUES, A.C.; PERTUZATTI, P.B.; BARCIA, M.T.; ZAMBIAZI, R.C. Compostos bioativos em pequenas frutas cultivadas na região sul do estado do Rio Grande do Sul. Brazilian Journal of Food technology, v.12, p. 123-127, 2009. .

KAUME, L.; HOWARD, L.R.; DEVARREDY, L. The blackberry fruits: a review on its composition and chemistry, metabolism and bioavailability, and health benefits. J.Agric. Food Chem. 60, 5716-5727, 2012.

LIMA, V. L. A. G., MELO, E. A., & LIMA, D. E. S. Fenolicos e Carotenoides Totais em Pitanga. Scientia Agrıcola, 59, 447–450. 2002

LIMA, VERA LAG, et al. "Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages." Food Chemistry 90.4 (2005): 565-568.

MATIOLI, GRACIETTE, AND DELIA B. RODRIGUEZ-AMAYA. "Microencapsulation of lycopene with cyclodextrins." Food Science and Technology (Campinas) 23 (2003): 102-105.

MATTIETTO, R. DE A., M. DA S. SOARES, AND C. C. RIBEIRO. "Caracterização física e físico-química do fruto de mangaba (Hancornia speciosa Gomes) provenientes de Belém-PA." Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Mangaba (2003).

NUNES, M. CN. Raspberry; Strawberry in: Color Atlas of Postharvest Quality of fruits and vegetables. Ed, 1ª edition. John wiley and Sons, 2008. 448 pp.

PASTERNAK, Taras et al. Complementary interactions between oxidative stress and auxins control plant growth responses at plant, organ, and cellular level. Journal of Experimental Botany, v. 56, n. 418, p. 1991-2001, 2005.

PEREIRA, MARINA C., et al. "Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family." Journal of agricultural and food chemistry 60.12 (2012): 3061-3067.

PORCU, ORNELLA M., AND DELIA B. RODRIGUEZ-AMAYA. "Variation in the carotenoid composition of the lycopene-rich Brazilian fruit Eugenia uniflora L."Plant foods for human nutrition 63.4 (2008): 195-199.

RIVERA, D., AND C. OBÓN. "The ethnopharmacology of Madeira and Porto Santo Islands, a review." Journal of Ethnopharmacology 46.2 (1995): 73-93.

RODRIGUEZ-AMAYA, DELIA B., et al. "Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition." Journal of Food Composition and Analysis 21.6 (2008): 445-463.

ROMAGNOLO, MARIZA BARION, AND MARIA C. SOUZA. "O gênero Eugenia L. (Myrtaceae) na planície de alagável do Alto Rio Paraná, estados de Mato Grosso do Sul e Paraná, Brasil." Acta Botanica Brasilica 20.3 (2006): 529-548.

SANTOS, G. M. dos; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M. de; COSTA, J. M. C. da C.; FIGUEIREDO, R. W. de; PRADO, G. M. do. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (Euterpe oleraceaMart). ArchivosLatinoamericanos de Nutricion. v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, GUILLERMO, et al. "Preliminary pharmacological studies on Eugenia uniflora leaves: xanthine oxidase inhibitory activity." Journal of ethnopharmacology 21.2 (1987): 183-186.

SÉRINO, Sylvie et al. HPLC assay of tomato carotenoids: validation of a rapid microextraction technique. Journal of agricultural and food chemistry, v. 57, n. 19, p. 8753-8760, 2009.

SHAMI, N. J. I. E., AND EMÍLIA ADDISON MACHADO MOREIRA. "Licopeno como agente antioxidante." Rev Nutr 17.2 (2004): 227-36.

SOUZA, L. K. H., OLIVEIRA, C. M. A., FERRI, P. H., SANTOS, S. C., JU´NIOR, J. G. O., MIRANDA, A. T. B., et al. Antifungical properties of Brazilian cerrado plants. Brazilian Journal of Microbiology, 33, 247–249. 2002.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of Prunus domestica. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

TACO, Tabela Brasileira de Composição de Alimentos- NEPA/UNICAMP – Versão II - 2º Ed. Campinas- SP: NEPA/UNICAMP, p. 113, 2006.

TANAKA, Y.; BRUGLIERA, F.; CHANDLER, S. Recent progress of flower colour modification by biotechnology. Int. J. mol. Sci. 10, 5350-5369, 2009.

TAIZ, L., AND E. ZEIGER. "Metabólitos secundários e defesa vegetal."Fisiologia Vegetal. 3ª. Ed. Porto Alegre, RS. Editora Artimed (2004): 309-332.Teixeira et al., 2015;

VAUZOUR, David, et al. The neuroprotective potential of flavonoids: a multiplicity of effects. Genes & nutrition, 2008, 3.3-4: 115-126.

WANG S. Y. CHEN, C-T, WANG C. Y. The influence of light and maturity on fruit quality and flavonoid content of red raspberries. Food Chemistry 112, 676 – 684p. 2009

WANG, K. L. BOLITHO, L., GRAFTON. K. KORTSTEE, A., KARUNAIRETNAM, S. MCGHIE, T. K. ESPLEY, V. R., HELLENS. R. G., ALLAN, A. C. An R2R3 MYB transcription factor associated with regulation of the anthocyanin pathway in Rosaceae. BMC Plant Biology. 2010.

WINKEL-SHIRLEY, BRENDA. "Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology." Plant physiology126.2 (2001): 485-493.

7- ANEXOS

Anexo I – Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Secretaria de Pós-Graduação

Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado

1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de trinta minutos.

2. Os membros da banca farão a argüição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de trinta minutos para argüir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de trinta minutos para sua resposta.

2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a argüição na forma de diálogo em até sessenta minutos por examinador.

3. A sessão de defesa será aberta ao público.

4. Terminada a argüição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na argüição.

4.1 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.

4.2 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.

5. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: pgfarma@usp.br, (11) 3091 3621.

São Paulo, 23 de maio de 2014.

Prof. Dr. Adalberto Pessoa Junior
Presidente da CPG/FCF/USP

Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 13 A - Cidade Universitária - CEP 05508-900 - São Paulo - SP
Fone: (11) 3091 3621 - Fax (11) 3091 3141 – e-mail: pgfarma@usp.br

Anexo II – Ficha do aluno

20/03/2017

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9131 - 9045685/2 - Mariana Magalhães Souto

Email:	soutomariana@usp.br
Data de Nascimento:	29/12/1988
Cédula de Identidade:	RG - MG-13.485.411 - MG
Local de Nascimento:	Estado de Minas Gerais
Nacionalidade:	Brasileira
Graduação:	Bacharel em Química Industrial - Universidade Severino Sombra - Brasil - 2011

Curso:	Mestrado
Programa:	Ciência dos Alimentos
Área:	Bromatologia
Data de Matrícula:	02/10/2014
Início da Contagem de Prazo:	02/10/2014
Data Limite para o Depósito:	03/04/2017
Orientador:	Prof(a). Dr(a). Neuza Mariko Aymoto Hassimotto - 02/10/2014 até o presente. Email: aymoto@yahoo.com
Proficiência em Línguas:	Inglês, Aprovado em 02/10/2014
Data de Aprovação no Exame de Qualificação:	Aprovado em 01/12/2015
Data do Depósito do Trabalho:	
Título do Trabalho:	
Data Máxima para Aprovação da Banca:	
Data de Aprovação da Banca:	
Data Máxima para Defesa:	
Data da Defesa:	
Resultado da Defesa:	
Histórico de Ocorrências:	Primeira Matrícula em 02/10/2014

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor a partir de 20/04/2013).
Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 30/01/2017
Impresso em: 20/03/2017 00:53:19

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9131 - 9045685/2 - Mariana Magalhães Souto

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBA5741-3/2	Química e Bioquímica de Alimentos I (1)	12/09/2014	16/10/2014	60	4	100	A	N	Concluída
BMF5872-1/1	Compostos Bioativos com Propriedades Antioxidantes e Antiinflamatórias (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	08/10/2014	04/11/2014	60	4	75	B	N	Concluída
FBA5754-1/2	Atualização em Ciências Farmacêuticas	20/10/2014	26/10/2014	30	2	100	A	N	Concluída
FBA5742-2/2	Química e Bioquímica de Alimentos II	31/10/2014	04/12/2014	60	0	-	-	N	Turma cancelada
EDM5791-7/1	Metodologia do Ensino Superior (Faculdade de Educação - Universidade de São Paulo)	10/03/2015	20/04/2015	60	4	83	A	N	Concluída
FBA5896-7/1	Tópicos em Ciência dos Alimentos e Nutrição II	16/03/2015	24/05/2015	30	2	100	A	N	Concluída
FBA5900-2/2	Biomodelos Experimentais Aplicados na Avaliação de Alimentos	28/04/2015	18/05/2015	30	2	100	A	N	Concluída
FBT5700-3/2	Preparo de Artigos Científicos na Área de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica	08/05/2015	09/07/2015	90	0	-	-	N	Pré-matrícula indeferida
TNM5801-3/1	Princípios e Aplicações da Espectrometria de Massas (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo)	25/02/2016	18/05/2016	120	8	80	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	0	25	26
Estágios:			
Total:	0	25	26

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

Observações:
1) Disciplina(s) cursada(s) isoladamente e aceita(s) pelo(a) orientador(a) do(a) candidato(a).

Conceito a partir de 02/01/1997:
A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.
Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Comissão julgadora da dissertação de mestrado:			
NUSP	Nome	Vínculo	Função
3526711	Neuza Mariko Aymoto Hassimotto	FCF - USP	Presidente

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 30/01/2017
Impresso em: 27/03/2017 14:52:31

Anexo III- Currículo Lattes

28/03/2017 Currículo Lattes

Currículo Lattes

Imprimir currículo

Mariana Magalhães Souto

Endereço para acessar este CV:http://lattes.cnpq.br/2210242712014923

Última atualização do currículo em 28/03/2017

Resumo informado pelo autor

Possui graduação em Bacharelado em Quimica Industrial pela Universidade Severino Sombra (2011). Atualmente é pós graduanda da Universidade de São Paulo atuando principalmente nos seguintes temas: ripening, pitanga e phenolic compounds. Tem experiência na área de Química, com ênfase em Análise de Traços e Química Ambiental e experiência em análises em HPLC.
(Texto informado pelo autor)

Dados pessoais

Nome	Mariana Magalhães Souto
Filiação	Antônio Eustáquio Ferreira Souto e Silvana Magalhães Soares Souto
Nascimento	29/12/1988 - Governador Valadares/MG - Brasil
Carteira de Identidade	13485411 SSP - MG - 27/03/2001
CPF	081.179.246-33

Formação acadêmica/titulação

2014 Mestrado em Ciências dos Alimentos.
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, FCF, Brasil
Título: Caracterização de Compostos Bioativos em frutos de Pitanga
Orientador: Neuza Mariko Aymoto Hassimotto
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

2008 - 2011 Graduação em Bacharelado Quimica Industrial.
Universidade Severino Sombra, USS, Vassouras, Brasil
Título: Caracterização Química de solo da fazenda Macuco (Andrade Pinto/RJ): uma visão crítica
Orientador: Carlos Eduardo Cardoso

Formação complementar

2013 - 2014 Curso de curta duração em Cromatografia de alta eficiência. (Carga horária: 24h).
Senai Mario Amato, SENAI, Brasil

2010 - 2010 Extensão universitária em Producao de cerveja. (Carga horária: 12h).
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Seropedica, Brasil

2009 - 2009 Extensão universitária em Gerenciamento de Resíduos e Estações de Tratamento. (Carga horária: 8h).
Universidade Severino Sombra, USS, Vassouras, Brasil

2009 - 2009 Extensão universitária em Uso do Excel para Químicos. (Carga horária: 4h).
Universidade Severino Sombra, USS, Vassouras, Brasil

Atuação profissional

1. Universidade Severino Sombra - USS

Vínculo institucional

2009 - 2009 Vínculo: Iniciação Científica , Enquadramento funcional: Aluno , Carga horária: 20, Regime: Parcial

2009 - 2009 Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitor (voluntário) , Carga horária: 8, Regime: Parcial
Outras informações:
Monitor da disciplina de Química Geral II

2009 - 2009 Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitor (voluntário) , Carga horária: 8, Regime: Parcial
Outras informações:
Monitor da disciplina de Química Orgânica

2009 - 2009 Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitor (voluntário) , Carga horária: 8, Regime: Parcial
Outras informações:
Monitor da disciplina de Química Geral I

2008 - 2008 Vínculo: Aluno , Enquadramento funcional: Monitor Voluntario , Carga horária: 8, Regime: Parcial
Outras informações:
Monitoria voluntaria na materia de quimica geral I

Atividades

04/2010 - 02/2011 Estágio, Colégio Anglo Americano

Estágio:

Técnica do Laboratório de Ciências

02/2010 - 08/2010 Estágio, Novartis

Estágio:
Estágio realizado na área de validação de método e processo;treinamento de outros estagiários e análises nas área de Qualificação

2. Universidade de São Paulo - USP

Vínculo institucional

2014 - Atual Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Pós Graduando , Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva

Atividades

06/2015 - Atual Graduação, Nutrição

Disciplinas ministradas:
Bromatologia Básica

Áreas de atuação

1. Análise de Traços e Química Ambiental

Producão

Produção bibliográfica

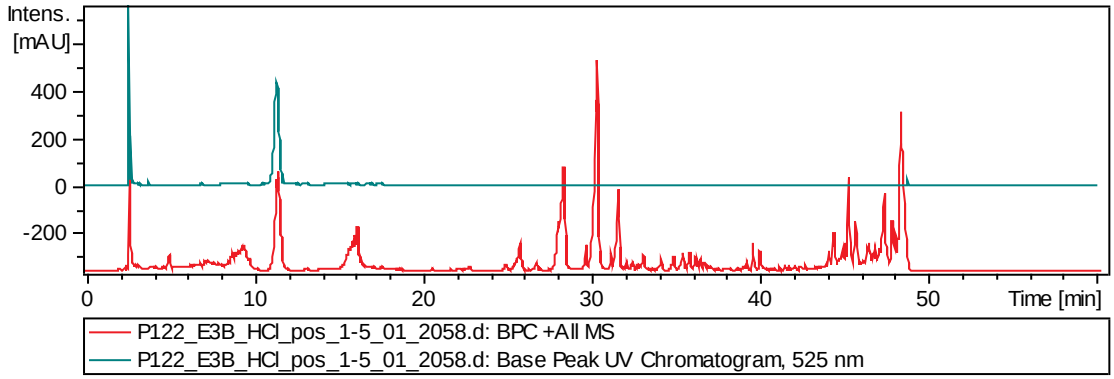
Artigos completos publicados em periódicos

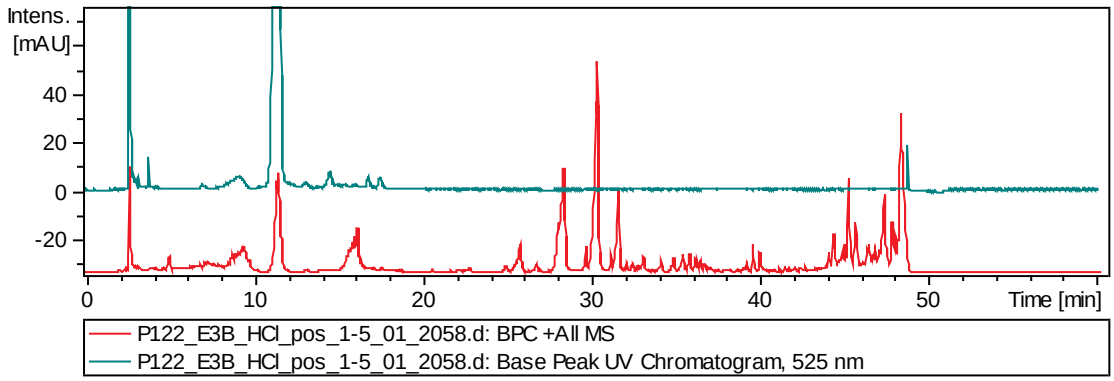
1. **SOUTO, M. M.**; CARDOSO, C. E.
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE SOLO DA FAZENDA MACUCO (ANDRADE PINTO/RJ): UMA VISÃO CRÍTICA. Revista Eletrônica Teccen. , v.4, p.49 - 62, 2011.

Página gerada pelo sistema Currículo Lattes em 28/03/2017 às 08:37:02.

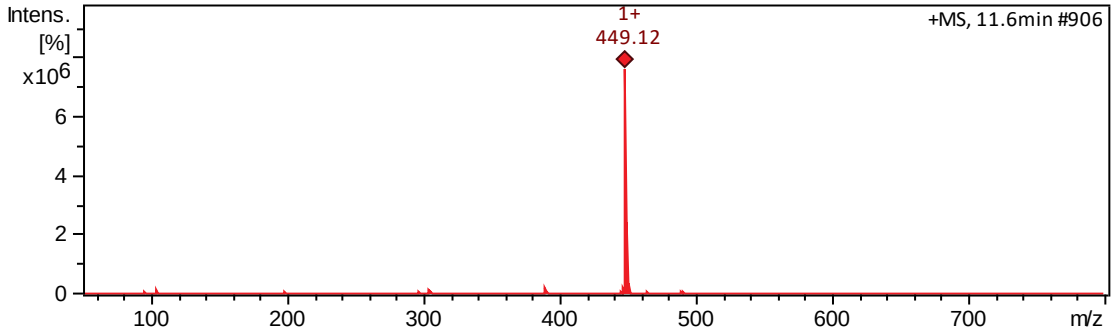
Anexo IV – Espectros de massas da variedade roxa nos estádios verde e maduro

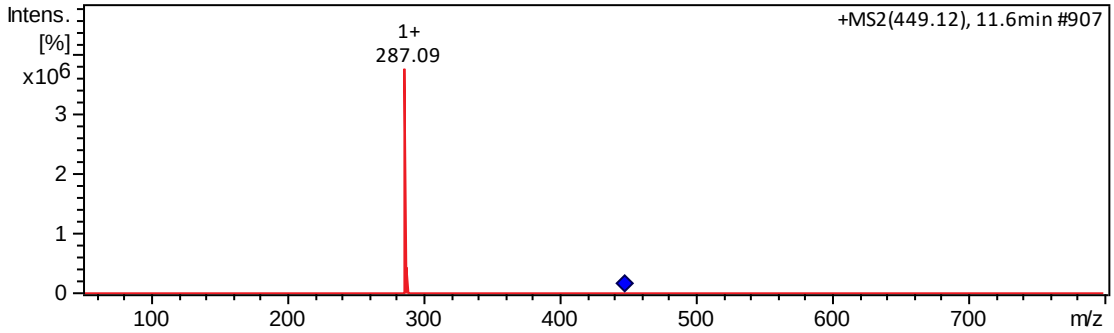
Modo positivo



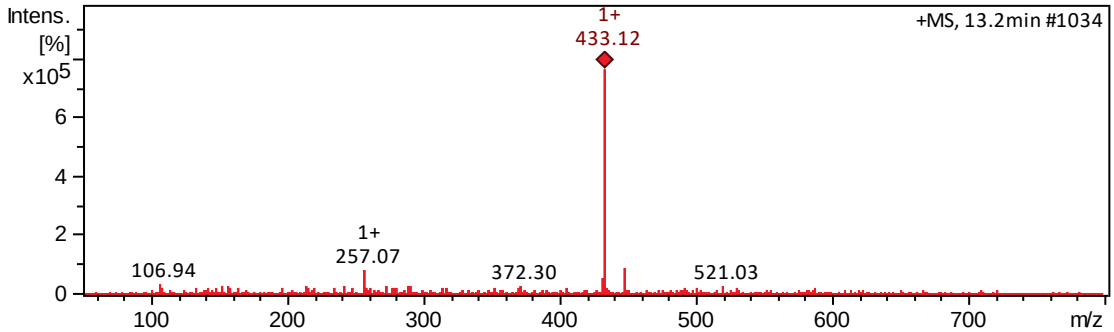


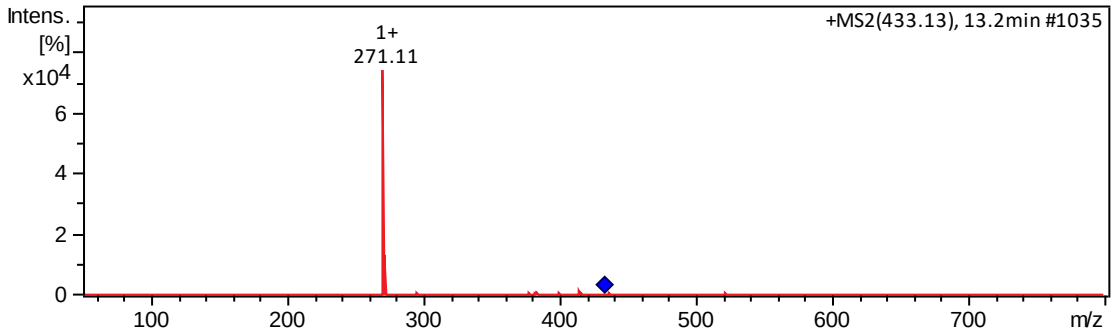
Pico 7


Intens.
[%]
x10^6
1+
449.12
+MS, 11.6min #906
m/z

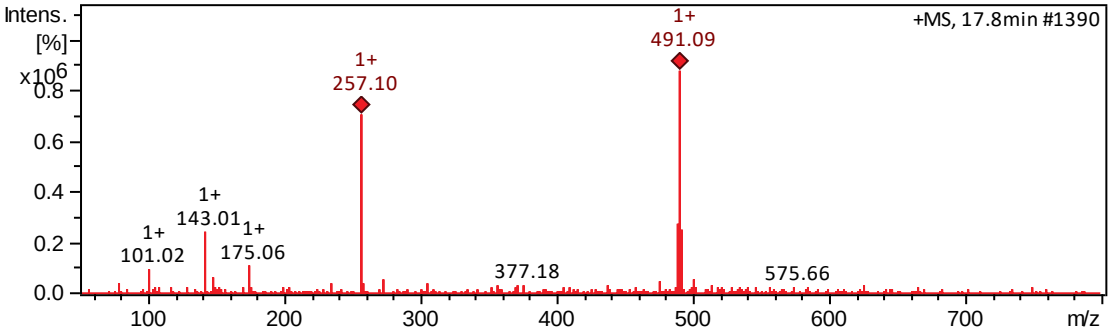

Intens.
[%]
x10^6
1+
287.09
+MS2(449.12), 11.6min #907
m/z

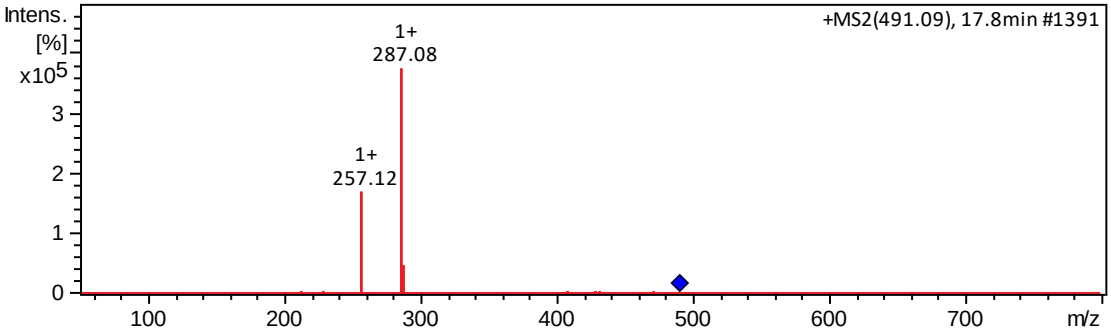
Pico 8


Intens.
[%]
x10^5
1+
433.12
+MS, 13.2min #1034
1+
257.07
106.94
372.30
521.03
m/z

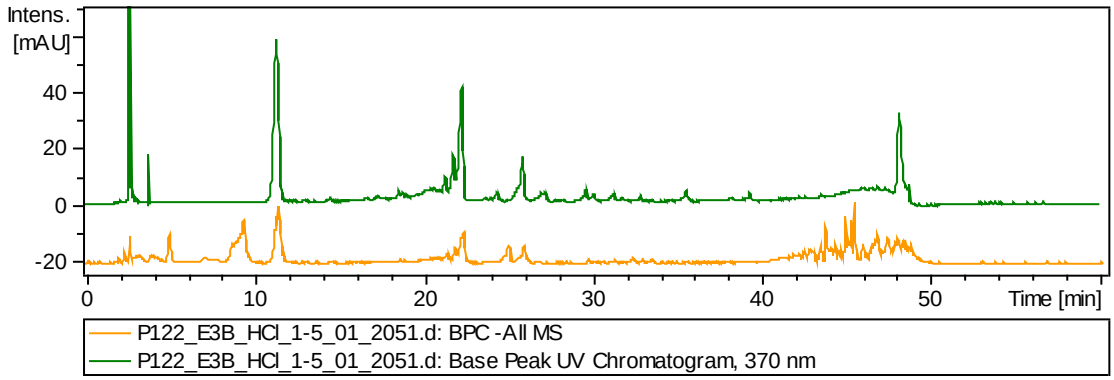

Intens.
[%]
x10^4
1+
271.11
+MS2(433.13), 13.2min #1035
m/z

Pico 9

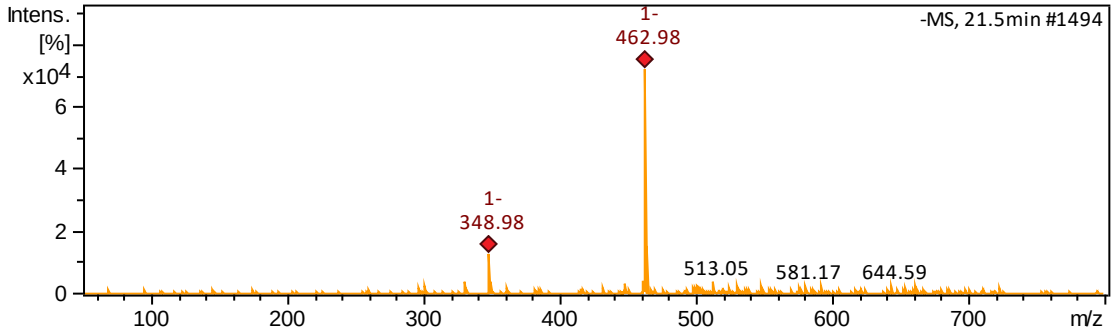

Intens.
[%]
x10^6
+MS, 17.8min #1390
1+
491.09
1+
257.10
1+
143.01
1+
101.02
1+
175.06
377.18
575.66
m/z

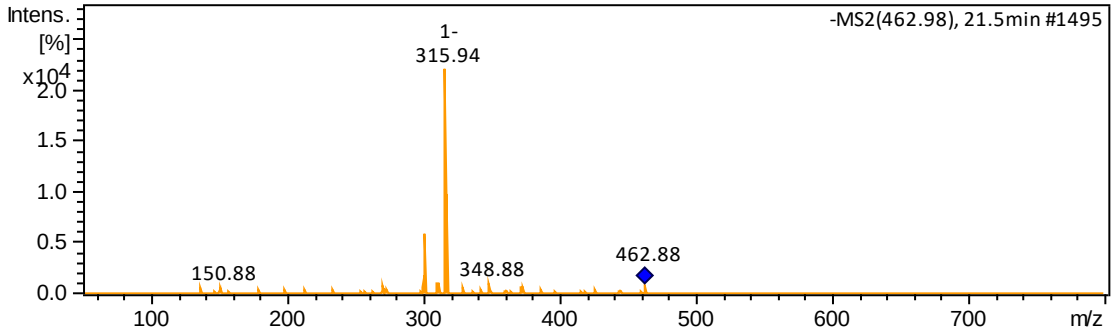

Intens.
[%]
x10^5
+MS2(491.09), 17.8min #1391
1+
287.08
1+
257.12
m/z

Modo negativo

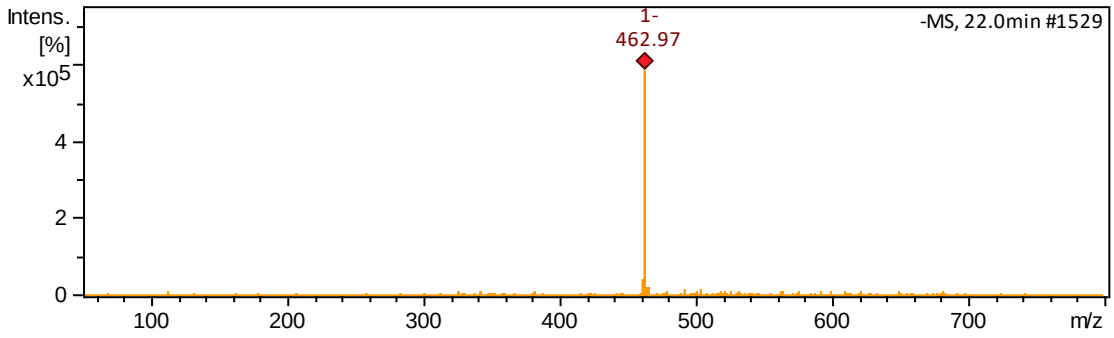


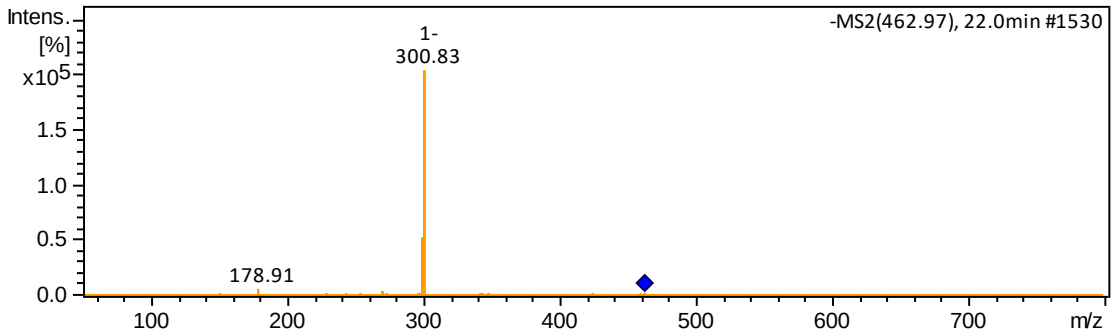
Pico 1



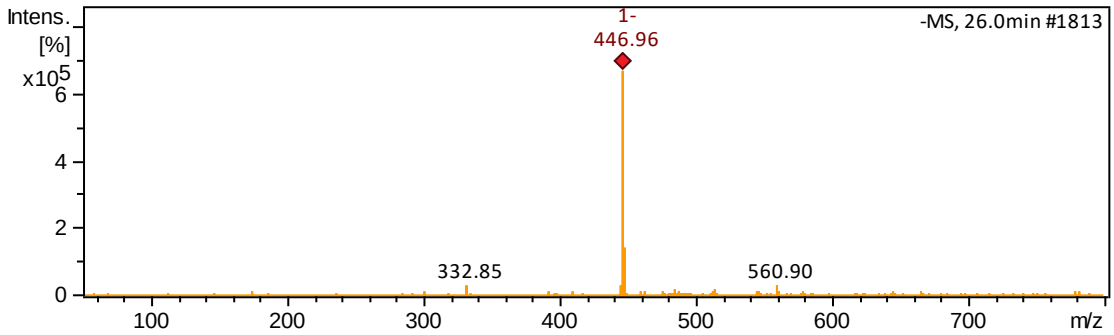


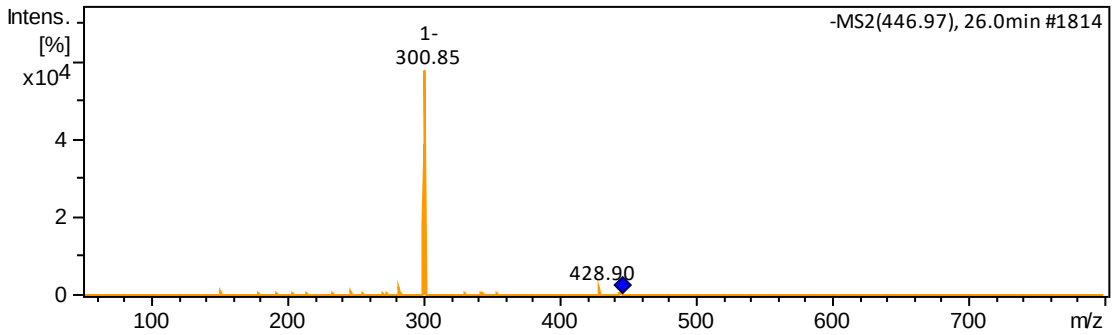
Pico 2


Intens.
[%]
x10^5
1-
462.97
-MS, 22.0min #1529
m/z

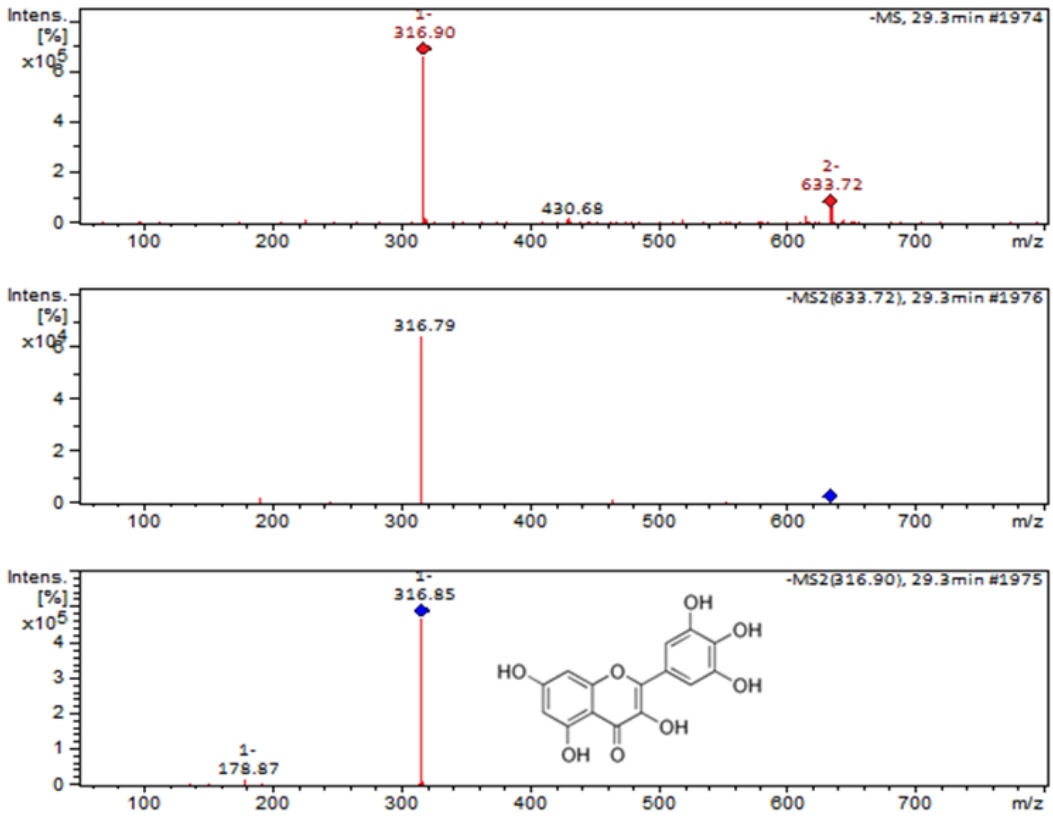

Intens.
[%]
x10^5
1-
300.83
178.91
-MS2(462.97), 22.0min #1530
m/z

Pico 3

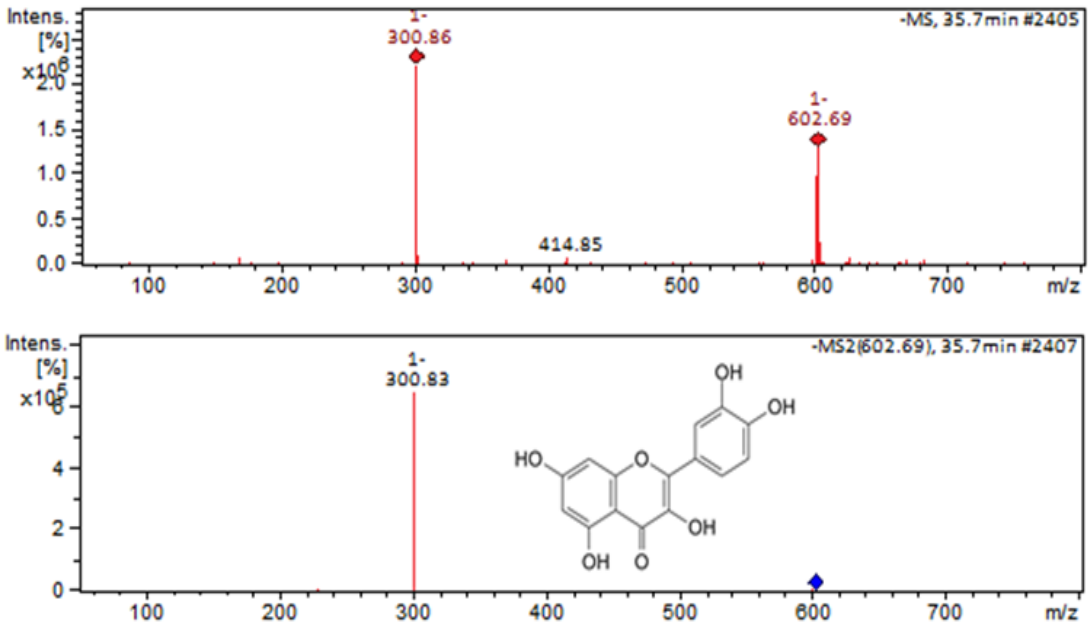

Intens.
[%]
x10^5
1-
446.96
332.85
560.90
-MS, 26.0min #1813
m/z


Intens.
[%]
x10^4
1-
300.85
428.90
-MS2(446.97), 26.0min #1814
m/z

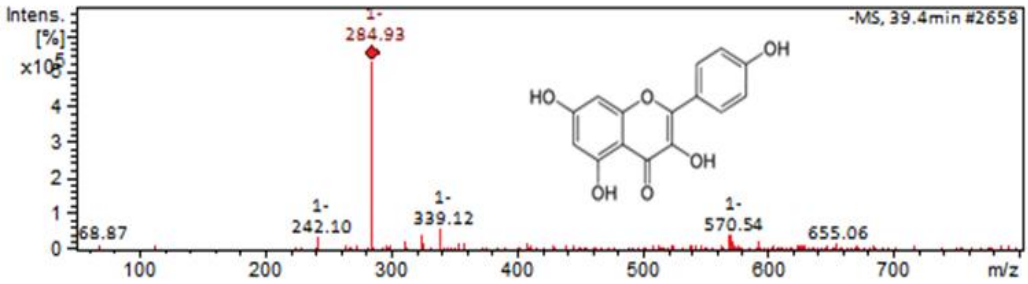
Pico 4


Intens.
[%]
x10^5
-MS, 29.3min #1974
1-
316.90
2-
633.72
430.68
-MS2(633.72), 29.3min #1976
316.79
-MS2(316.90), 29.3min #1975
1-
316.85
1-
178.87
HO
OH
OH
OH
OH
OH
O
O
m/z

Pico 5

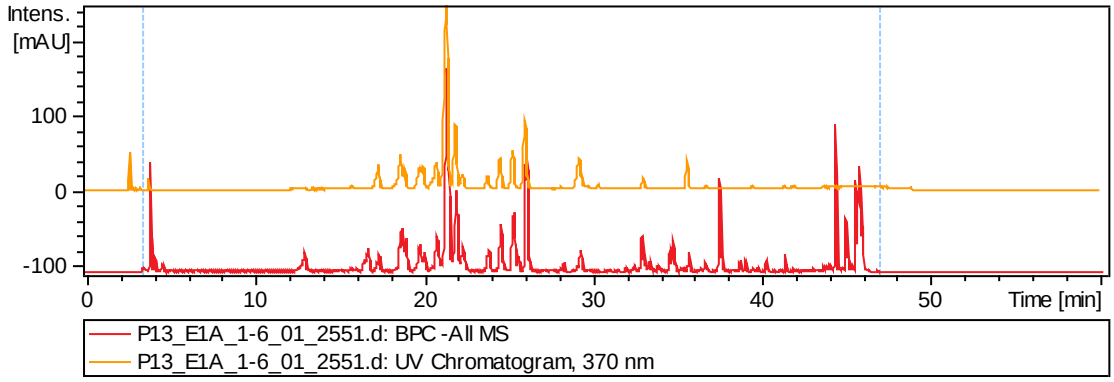

Intens.
[%]
x10^6
-MS, 35.7min #2405
1-
300.86
1-
602.69
414.85
-MS2(602.69), 35.7min #2407
1-
300.83
HO
OH
OH
OH
OH
O
O
m/z

Pico 6

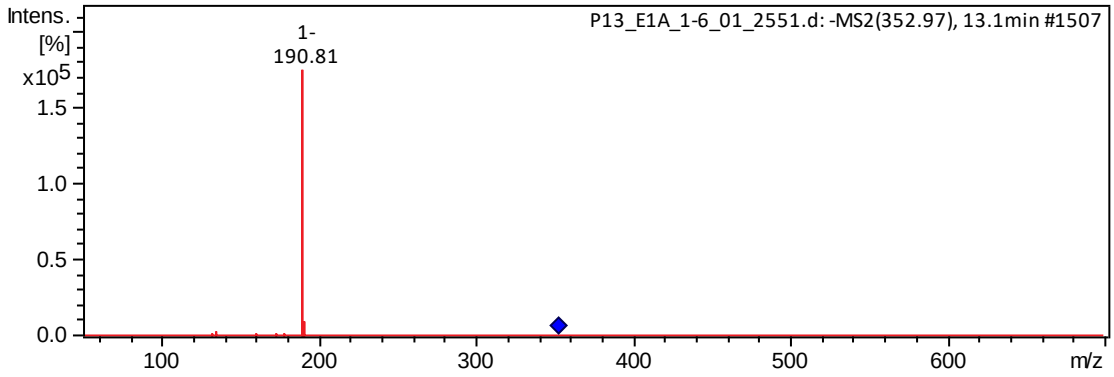

Intens.
[%]
x10^5
-MS, 39.4min #2658
1-
284.93
1-
242.10
1-
339.12
1-
570.54
68.87
655.06
HO
OH
OH
OH
O
O
m/z

Anexo V – Espectros de massas da variedade vermelha nos estádios verde e maduro

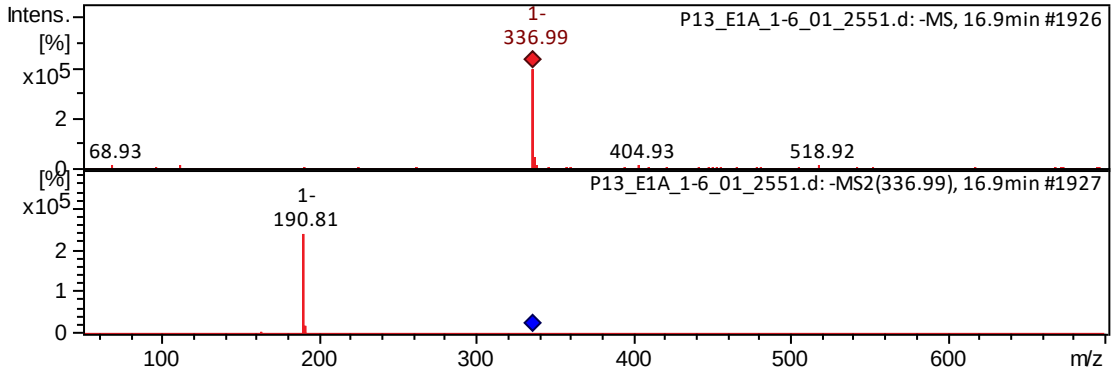
Modo negativo



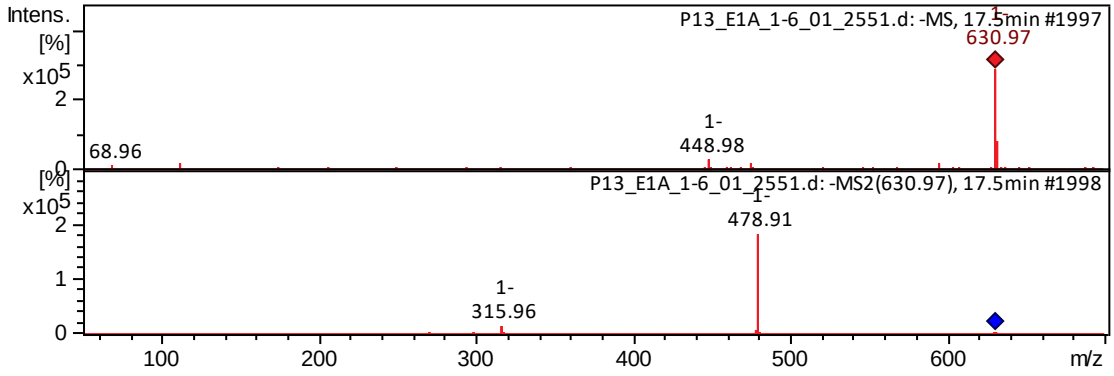
Pico 1



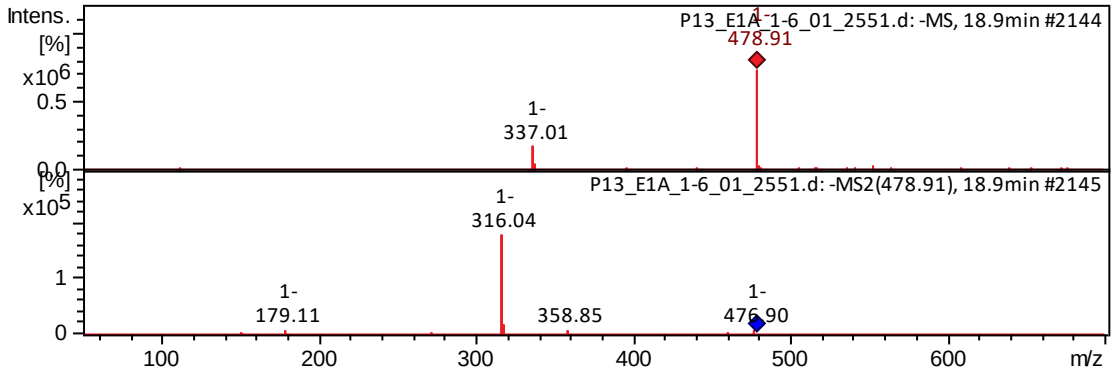
Pico 2



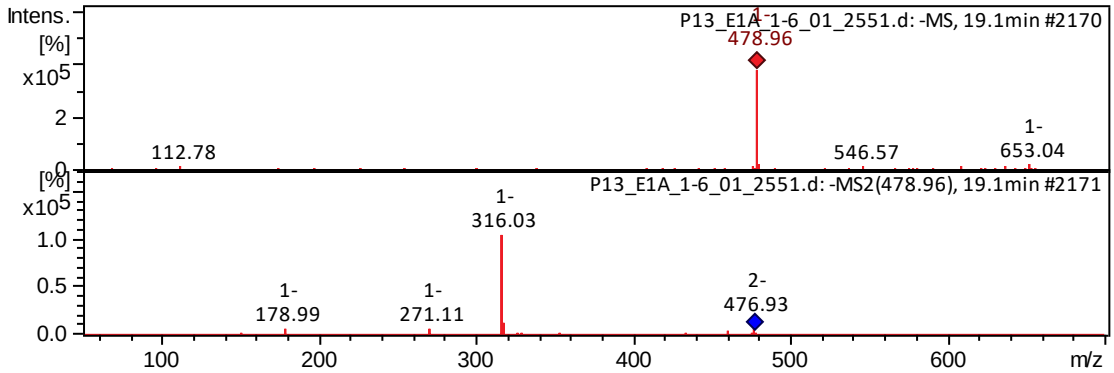
Pico 3



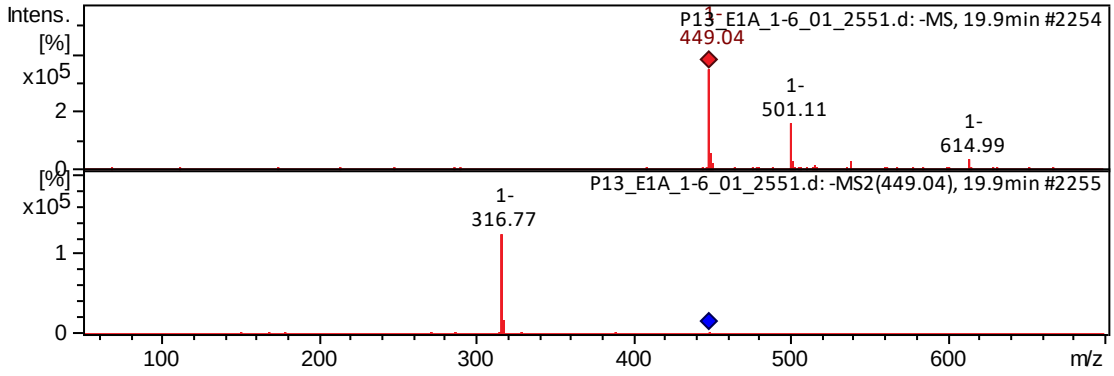
Pico 4



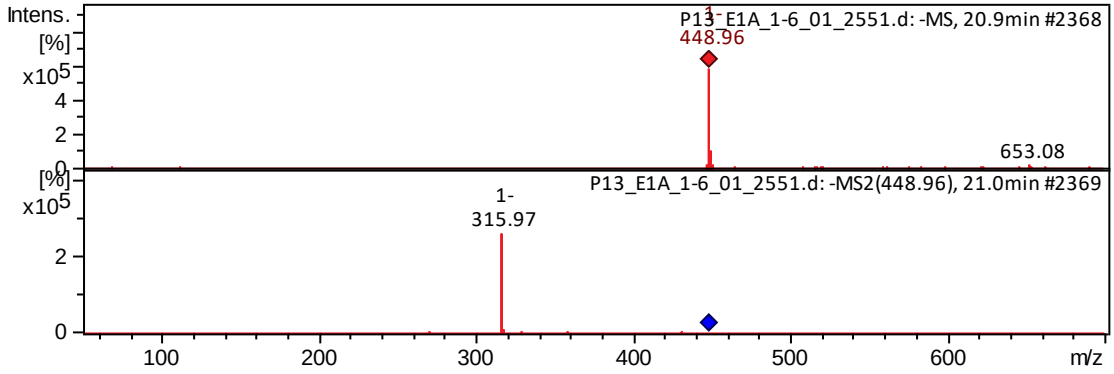
Pico 5



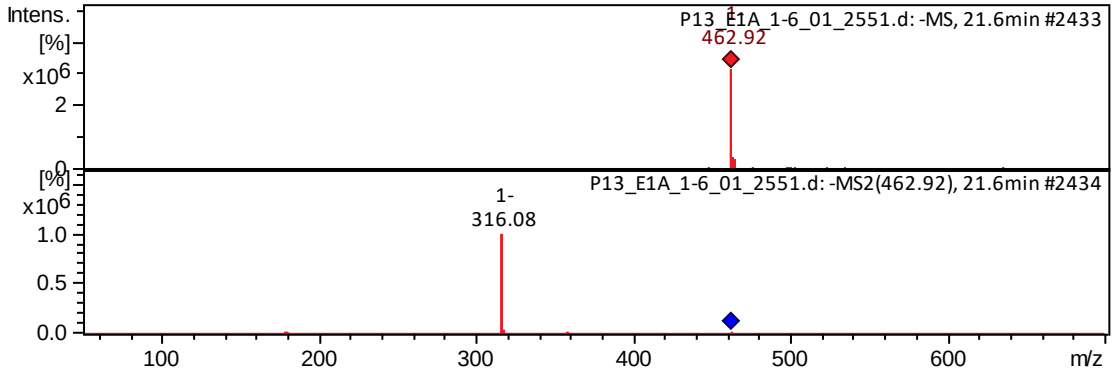
Pico 6



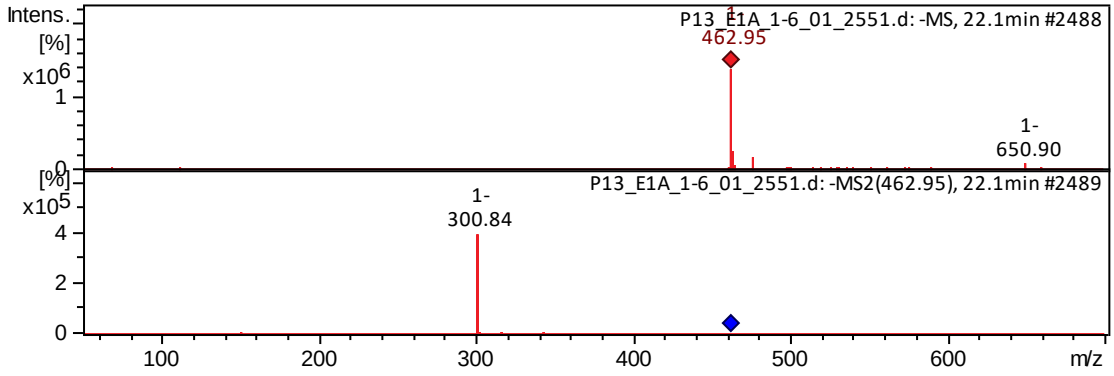
Pico 7



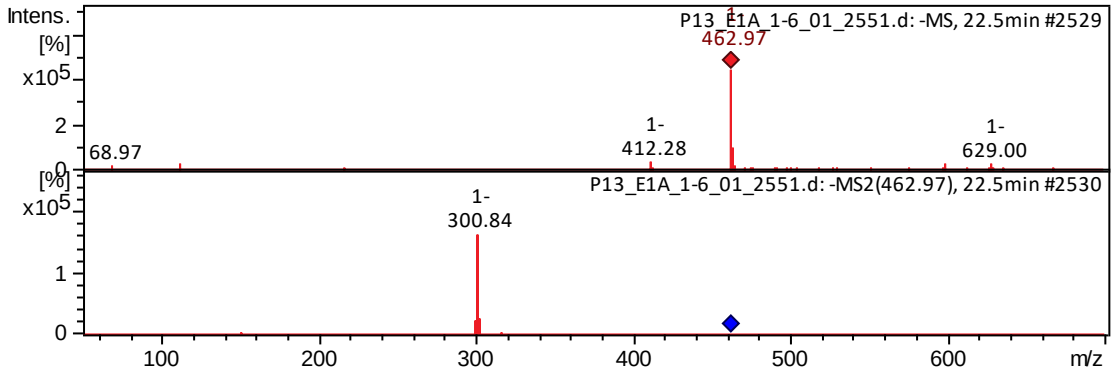
Pico 8



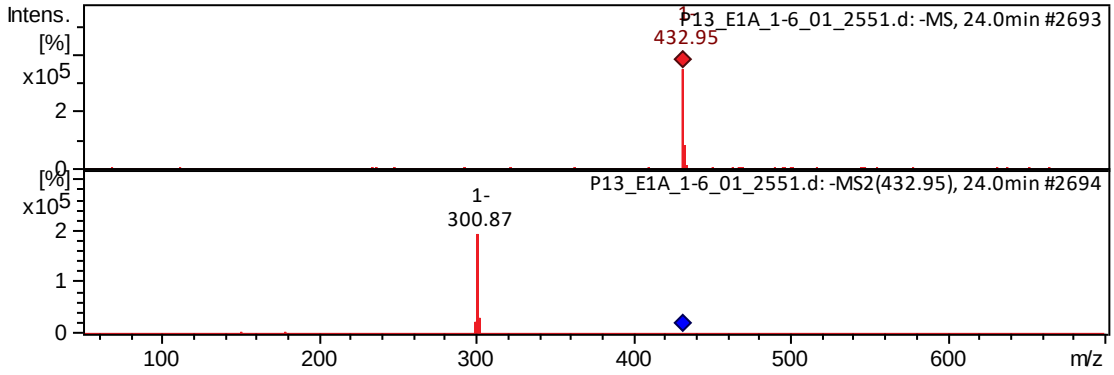
Pico 9



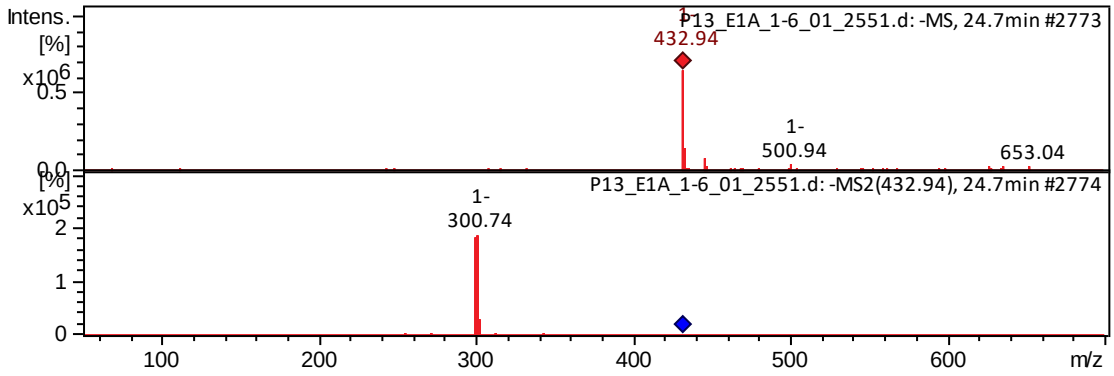
Pico 10



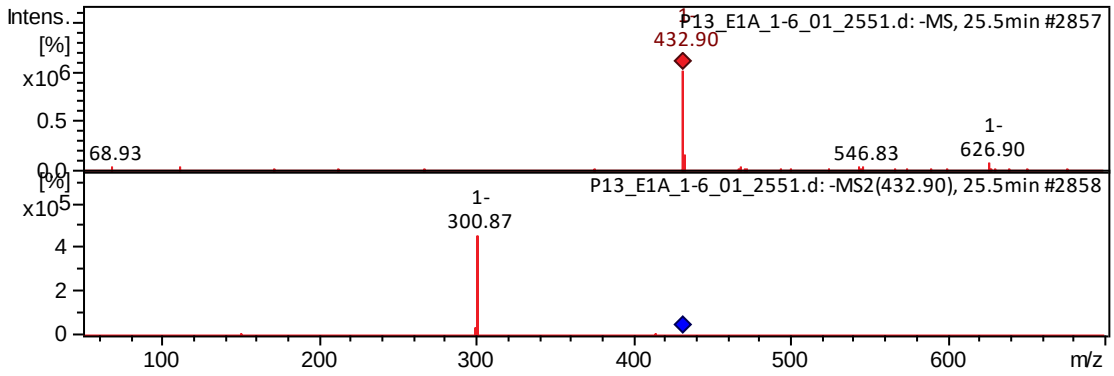
Pico 11



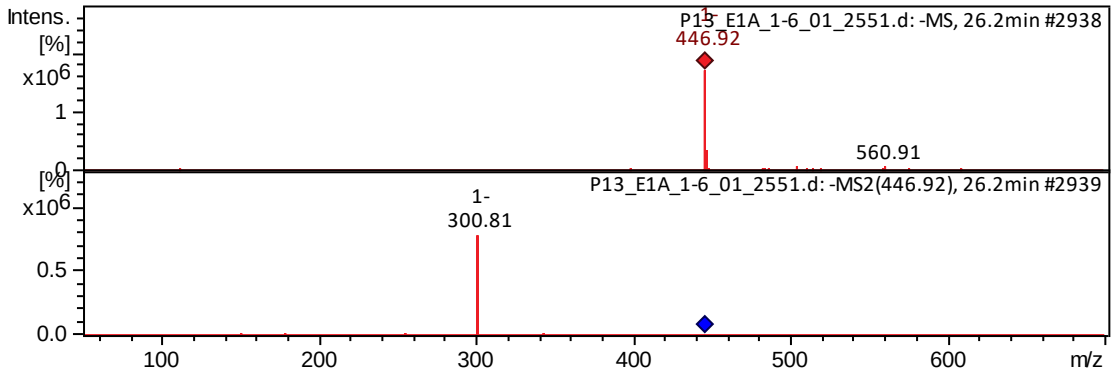
Pico 12



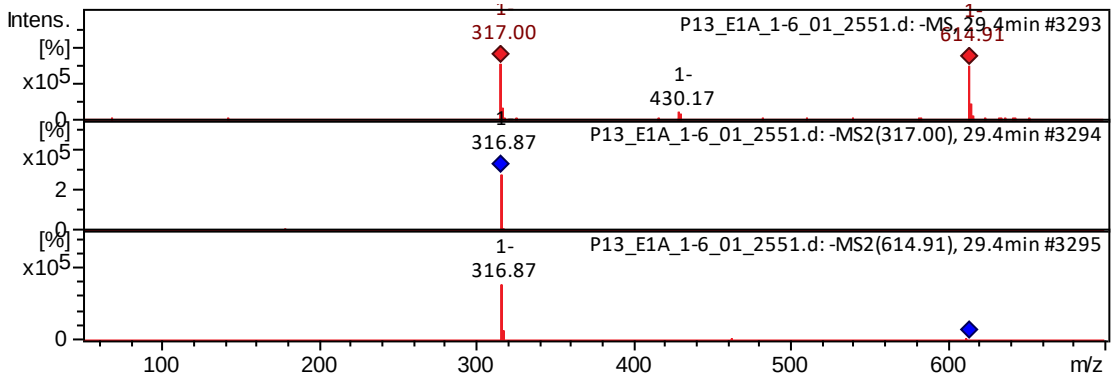
Pico 13



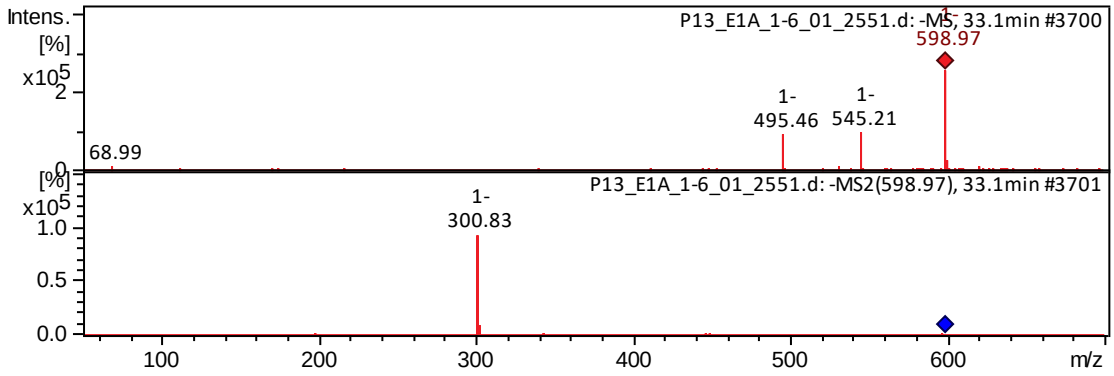
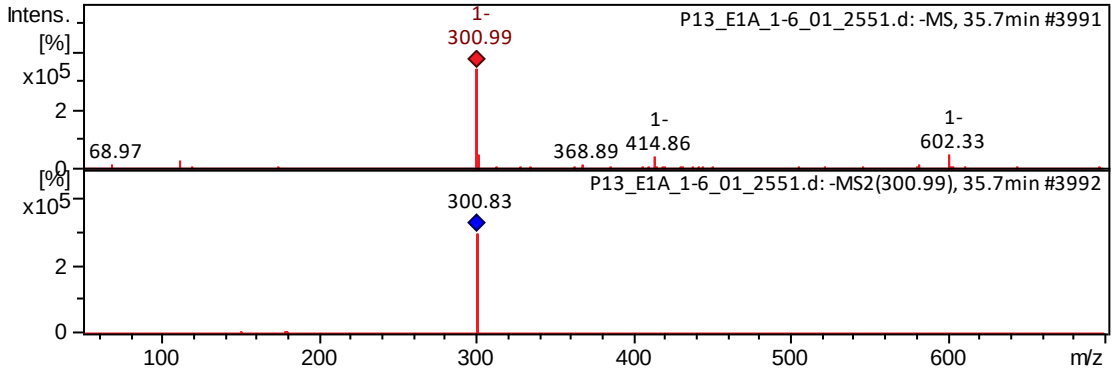
Pico 14



Pico 15



Pico 16



Pico 17