

CAROLINA TATAGIBA DA ROCHA

**COMPOSIÇÃO FENÓLICA E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE
JUÇARA (*Euterpe edulis*) CULTIVADA NOS ESTADOS DE MINAS GERAIS
E ESPÍRITO SANTO**

Tese Apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, para obtenção do
título de *Doctor Scientiae*

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

R672c
2017

Rocha, Carolina Tatagiba da, 1988-
Composição fenólica e capacidade antioxidante de juçara (*Euterpe edulis*) cultivada nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo / Carolina Tatagiba da Rocha. – Viçosa, MG, 2017.
xi, 87f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Afonso Mota Ramos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Palmito. 3. *Euterpe edulis*.
4. Compostos fenólicos. 5. Espectrometria de massas.
6. Flavonoides. 7. Ácido clorogênico. 8. Glicosídeos.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. II. Título.

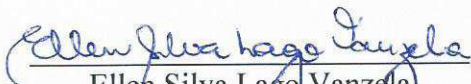
CDD 22. ed. 664.07

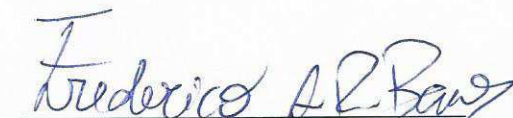
CAROLINA TATAGIBA DA ROCHA

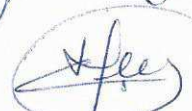
**COMPOSIÇÃO FENÓLICA E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE
JUÇARA (*Euterpe edulis*) CULTIVADA NOS ESTADOS DE MINAS GERAIS
E ESPÍRITO SANTO**

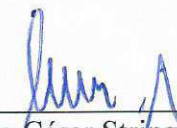
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.


APROVADA: 01 de agosto de 2017.


Ellen Silva Lago Vanzela


Frederico Augusto Ribeiro de Barros


Isidro Hermosín Gutiérrez
(Coorientador)


Paulo César Stringhêta
(Coorientador)


Afonso Mota Ramos
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de realização do Doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG) por financiar o projeto de pesquisa e por me conceder a bolsa de doutorado sanduíche.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Cnpq) pelo apoio financeiro.

Ao meu orientador, professor Dr. Afonso Mota Ramos, por ter me apoiado na escolha do tema, pelos ensinamentos e por ser uma pessoa paciente e compreensiva com seus orientados.

Ao professor e co-orientador Dr. Paulo Cesar Stringheta pelas contribuições para melhoria do trabalho.

Ao co-orientador Dr. Isidro Herмосín Gutiérrez pela oportunidade de trabalhar em seu laboratório em Ciudad Real (Espanha). Seus ensinamentos contribuíram muito para a melhoria do trabalho e para meu crescimento pessoal e como pesquisadora.

Ao professor Sergio Gómez Alonso, da UCLM, por ter me co-orientado durante o período de doutorado sanduíche, por todos os ensinamentos e conselhos.

Aos professores, Ellen e Frederico, por terem aceitado participar da banca examinadora.

Ao professor Sergio Antonio Fernandes por permitir a utilização do equipamento de UPLC-DAD e pelas contribuições para melhoria do trabalho.

Aos amigos do laboratório pelos momentos compartilhados e por toda ajuda: Aline, Ariana, Danile, Patrícia, Marcos, Mônica, Marcela, Evellyn, Paloma e Bruna.

Aos funcionários da fábrica de conservas e secretaria do DTA por estarem sempre dispostos a ajudar no que fosse preciso: Zé Geraldo, Helvecio, Simeão, Lorena e Poliana.

À Universidad de Castilla-La Mancha (UCLM) por permitir a realização do doutorado sanduíche.

À todas as pessoas que trabalham na UCLM. Principalmente ao Isidro, José, Rosa, Carmen, Sergio e Miguel que estavam sempre dispostos a ajudar e pela atenção que dedicaram a mim e a minha família.

Ao Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN) da UFMG por realizar o processo de irradiação.

À todos que me ajudaram na coleta de frutos, principalmente ao Pedro Bortolotti, Martin Meier, Diogo Busnardo, Bela e Leandro.

À minha família e ao meu namorado, Winy, que me apoiaram em todos os momentos.

A Deus por ser me proporcionar todas as oportunidades até hoje e por nunca me abandonar.

À todos que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

FIGURA 1- PALMEIRA <i>EUTERPE EDULIS</i> E SEUS CACHOS COM FRUTOS (JUÇARA).....	5
Figura 2 – Despolpadeira vertical utilizada no processamento do fruto da juçara.	6
Figura 3– Estrutura química dos Flavonoides.....	13
Figura 4 – Estrutura química dos compostos fenólicos.....	13
Figura 5 – Antocianidinas mais comuns em vegetais.....	20
Figura 6 – Flavonóis mais comuns em vegetais.....	22
Figura 7 – Estrutura química de flavan-3-óis e proantocianinas do tipo B.....	23

CAPÍTULO 2

FIGURE 1. CHROMATOGRAM HPLC-DAD (520 NM) FOR THE ANTHOCYANINS FROM JUSSARA	37
Figura 2 – Cromatograma HPLC – DAD (360 nm) for the anthocyanins from jussara..	39
Figure 3 - HPLC-DAD Chromatograms and mass spectra for hydroxycinnamic acid derivatives.....	41
Figure 4 - Mass spectra of the hydroxycinnamic acids derived from caffeic acid with quinic acid: 3- <i>trans</i> -caffeoyl-quinic acid (A), 4- <i>trans</i> -caffeoyl-quinic acid (B), 5- <i>trans</i> - caffeoyl-quinic acid (C) and 5- <i>cis</i> -caffeoyl-quinic acid (D).....	42

CAPÍTULO 4

Figura 1- Superfície de resposta plotada para demonstrar a combinação do efeito da dose de irradiação e do tempo de armazenamento sobre os compostos fenólicos totais.....	76
Figura 2 - Superfície de resposta plotada para demonstrar a combinação do efeito da dose de irradiação e do tempo de armazenamento sobre a cy-3-rut.....	77
Figura 3 - Superfície de resposta plotada para demonstrar a combinação do efeito da dose de irradiação e do tempo de armazenamento sobre a cy-3-glc.....	77
Figura 4 – Biplot entre tratamentos e variáveis resposta (CFT, cy-3-glc, cy-3-rut, ABTS e DPPH).....	81

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1- Composição química da polpa de juçara de diferentes regiões segundo trabalhos descritos na literatura	7
Tabela 2- Compostos bioativos dos frutos de juçara de diferentes regiões descritos na literatura no período de 1994 à 2016.....	14
Tabela 3- Capacidade antioxidante em <i>Euterpe edulis</i> cultivadas em diferentes regiões entre os anos de 2010 e 2016.....	24
Figura 4 – Estrutura química dos compostos fenólicos.....	13
Figura 5 – Antocianidinas mais comuns em vegetais.....	20
Figura 6 – Flavonóis mais comuns em vegetais.....	22
Figura 7 – Estrutura química de flavan-3-óis e proantocianinas do tipo B.....	23

CAPÍTULO 2

Table 1- Anthocyanins of jussara fruits from Araponga/MG/Brasil jussara.....	36
Table 2- Flavonols of jussara fruits from Araponga/MG/Brasil	39
Table 3- Monomers and dimers of flavan-3-ols and resveratrol of the jussara from Araponga/MG/Brasil	43

CAPÍTULO 3

Tabela 1- Região de origem e dados geográficos das regiões de coleta de juçara	51
Tabela 2 - Dados climáticos das regiões de coleta de Juçara.....	51
Tabela 3 – Composição química do fruto de juçara e rendimento da liofilização para a safra de 2015.....	52
Tabela 4 – Porcentagem molar de cada antocianina e teor de antocianinas totais encontrados nos frutos Minas Gerais e Espírito Santo para a safra de 2015.....	57
Tabela 5 – Porcentagem molar de cada flavonol e teor de flavonóis totais encontrados nos frutos de Minas Gerais e Espírito Santo para a safra de 2015.....	60
Tabela 6 – Flavan-3-óis (%molar) e resveratrol dos frutos de juçara de Minas Gerais e Espírito Santo para a Safra de 2015.....	62
Tabela 7 – Capacidade antioxidante dos frutos de juçara por ORAC e DPPH.....	64

CAPÍTULO 4

Tabela 1- Composição físico-química da polpa de juçara <i>in natura</i>	73
Tabela 2 – Equações ajustadas e parâmetros estatísticos calculados para análises químicas da polpa irradiada e pasteurizada.....	74
Tabela 3 - Médias dos valores obtidos nas análises de compostos fenólicos totais, antocianinas e capacidade antioxidante para a polpa não tratada, irradiada e pasteurizada.....	75
Tabela 4- Efeito da pasteurização no teor de compostos fenólicos, antocianinas capacidade antioxidante.....	79

RESUMO

ROCHA, Carolina Tatagiba da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2017. **Composição fenólica e capacidade antioxidante de juçara (*Euterpe edulis*) cultivada nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo.** Orientador: Afonso Mota Ramos. Coorientadores: Isidro Hermosín Gutiérrez e Paulo Cesar Stringheta.

Juçara é um fruto da Mata Atlântica com elevado conteúdo fenólico. Fatores pré e pós-colheita podem afetar a composição do fruto. O objetivo deste trabalho foi estudar a composição fenólica dos frutos de juçara de diferentes microrregiões dos estados de Minas Gerais e Espírito Santo e investigar os efeitos da irradiação gama e da pasteurização na estabilidade das principais antocianinas do fruto. Os frutos foram coletados em 7 microrregiões (5 microrregiões do estado de Minas Gerais e 2 do Espírito Santo) e despulpado. A composição fenólica foi identificada e quantificada por HPLC-DAD-MS/MS. Os resultados foram analisados por ANOVA seguida pelo teste de Tukey. Tratamentos de conservação (pasteurização e irradiação) foram aplicados na polpa de uma das regiões para avaliar o efeito do processamento e tempo de armazenamento sobre as principais antocianinas da polpa de juçara (cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo). Para isso, a polpa foi dividida em 6 porções: controle (polpa sem tratamento), polpa irradiada (2, 4, 6, 8 kGy) e, por último, polpa pasteurizada. Os resultados foram analisados por análise de regressão simples e múltipla. As polpas de juçara de todas as regiões revelaram-se ricas em vários tipos de compostos fenólicos, tais como: antocianinas, flavonóis, flavan-3-óis e resveratrol. Foram identificados derivados antocianínicos de cianidina, plargonidina e peonidina. Os flavonóis foram do tipo quercetina, kaempferol e isoramnetina. Os flavan-3-óis catequina, epicatequina e procianidinas do tipo B foram detectados. Os glicosídeos de resveratrol apareceram em pequenas concentrações. A concentração desses compostos variou entre as regiões de cultivo. O elevado teor de antocianinas e flavonóis foi o principal responsável pela elevada capacidade antioxidante determinada pelos métodos DPPH, ABTS e ORAC. O processo de irradiação teve um efeito prejudicial sobre os antocianinas e capacidade antioxidante da polpa de juçara durante todo o período de armazenamento a 4 °C. A pasteurização não alterou o teor de cianidina-3-rutinosídeo, cianidina-3-glicosídeo e capacidade antioxidante da polpa quando comparado com o controle, após os 60 dias de armazenamento refrigerado. Logo, os resultados sugerem que a polpa de juçara é uma boa fonte de compostos fenólicos de várias classes,

principalmente antocianinas. O processo de pasteurização pode ser aplicado quando se deseja aumentar a vida útil do produto, com prejuízos mínimos à composição fenólica.

ABSTRACT

ROCHA, Carolina Tatagiba da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2017. **Phenolic composition and antioxidant capacity of juçara (*Euterpe edulis*) cultivated in the states of Minas Gerais and Espírito Santo.** Adviser: Afonso Mota Ramos. Co-advisers: Isidro Hermosín Gutiérrez and Paulo Cesar Stringheta.

Juçara is a fruit from the Atlantic Forest with a high phenolic content. Pre and post factors can affect the fruit composition. The aim of this paper was to study the phenolic composition of the Juçara fruit from different microregions of Minas Gerais and Espírito Santo and investigate the effects of gamma radiation and pasteurization in the stability of the main anthocyanins of the fruit. The fruits were collected in 7 microregions (5 microregions of Minas Gerais and 2 of Espírito Santo) and pulped. The phenolic composition was identified and quantified by HPLC-DAD-MS/MS. The results were analyzed by ANOVA followed by the Tukey test. Conservation treatments (pasteurization and irradiation) were applied to the pulp of one of the regions to assess the effect of processing and storage time over the main anthocyanins of the juçara pulp (cyanidin-3-glycoside and cyanidin-3-rutinoside). For such, the pulp was divided into 6 portions: control (pulp without treatment), irradiated pulp (2, 4, 6, 8 kGy) and, finally, pasteurized pulp. The results were analyzed by simple and multiple regression analysis. Juçara pulps from all regions have been discovered to be rich in various types of phenolic compounds, such as anthocyanins, flavonols, flavan-3-óis, and resveratrol. It has been identified anthocyanic derivatives of cyanidin, plargonidine and peonidine. Flavonoids were quercetin, kaempferol and isoramnetin type. The flavan-3-óis catechin, epicatechin and procyanidins of B type were detected. Resveratrol glycosides appeared in small concentrations. The concentration of these compounds varied between the cultivation regions. The high level of anthocyanins and flavonols was mainly responsible for the high antioxidant capacity determined by the DPPH, ABTS and ORAC methods. The irradiation process had a negative effect on the anthocyanins and antioxidant activity of the juçara pulp throughout the storage period at 4°C. Pasteurization did not change the level of cyanidin-3-rutinoside, cyanidin-3-glycoside and antioxidant capacity of the pulp when compared to the control after 60 days of refrigerated storage. Thus, the results suggest that juçara pulp is a good source of phenolic compounds of several classes, mainly anthocyanins. The pasteurization

process can be applied when it is desired to increase the life span of the product, with minimal damages to the phenolic composition.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. OBJETIVO GERAL	3
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1. <i>EUTERPE EDULIS</i> MARTIUS: O FRUTO, A COLHEITA E O PROCESAMENTO	4
3.2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA JUÇARA	6
3.3. COMPOSTOS FENÓLICOS DA JUÇARA	12
3.3.1. ÁCIDOS FENÓLICOS	19
3.3.2. ANTOCIANINAS	19
3.3.3. FLAVONÓIS	21
3.3.4. FLAVAN-3-ÓIS E PROANTOCIANINAS	22
3.4. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DA JUÇARA	23
3.5. REFERENCIAS	25
CAPÍTULO 2- IDENTIFICATION OF THE PHENOLIC COMPOUNDS OF JUSSARA (<i>EUTERPE EDULIS MARTIUS</i>) FROM THE ZONA DA MATA OF MINAS GERAIS/BRAZIL BY HPLC-DAD-ESI-MS/MS	30
1. INTRODUCTION	31
2. MATERIAL AND METHODS	32
2.1. CHEMICALS	32
2.2. COLLECTING AND PROCESSING OF FRUITS	32
2.3. PHENOLIC EXTRACT PREPARATION	33
2.4. DETERMINATION OF ANTHOCYANINS BY HPLC-DAD-ESI-MS-MS	33
2.5. DETERMINATION OF FLAVONOLS AND HYDROXYCINNAMIC ACID DERIVATIVES BY HPLC-DAD-ESI-MS-MS	34
2.6. DETERMINATION OF FLAVAN-3-OLS AND RESVERATROL BY HPLC- DAD-ESI-MS/MS	34
2.7. DETERMINATION OF HYDROLYSABLE TANNINS BY HPLC-DAD-ESI- MS/MS	35
3. RESULTS AND DISCUSSION	35
3.1. IDENTIFICATION OF ANTHOCYANINS FROM JUSSARA PULP	35
3.2. IDENTIFICATION OF FLAVONOLS FROM JUSSARA PULP	38
3.3. IDENTIFICATION OF HYDROXYCINNAMIC DERIVATIVES	41
3.4. IDENTIFICATION OF MONOMERS AND DIMERS OF FLAVAN-3-OLS AND RESVERATROL	43
3.5. HYDROLYZABLE TANNINS BY HPLC-DAD-ESI-MS/MS	44
4. CONCLUSION	44
5. REFERENCES	45
CAPÍTULO 3- EFEITO DA REGIÃO DE CULTIVO NA COMPOSIÇÃO FENÓLICA E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS DE JUÇARA (<i>EUTERPE EDULIS</i>) CULTIVADOS NOS ESTADOS DE MINAS GERAIS E ESPÍRITO SANTO	49
1. INTRODUÇÃO	50
2. MATERIAIS E MÉTODOS	51
2.1. COLETA DOS FRUTOS E INFORMAÇÕES GEOCLIMÁTICAS	51
2.2. PROCESSAMENTO DOS FRUTOS	52
2.3. PREPARO DO EXTRATO FENÓLICO PARA ANÁLISE EM HPLC-DAD- MS/MS	52

2.4. ANTOCIANINAS	53
2.5. FLAVONÓIS	53
2.6. FLAVAN-3-ÓIS E RESVERATROL.....	54
2.7. DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	54
2.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	55
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
3.1. ANTOCIANINAS	55
3.2 FLAVONÓIS	59
3.3 FLAVAN-3-ÓIS E RESVERATROL.....	61
3.4. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	64
4. CONCLUSÃO.....	65
5. REFERENCIAS	65
CAPÍTULO 4 – EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA E DA PASTEURIZAÇÃO NA ESTABILIDADE DE ANTOCIANINAS E NA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE POLPA DE JUÇARA (<i>EUTERPE EDULIS</i>) DURANTE ESTOCAGEM	
1. INTRODUÇÃO.....	69
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	70
2.1. AMOSTRAS E OBTENÇÃO DA POLPA.....	70
2.2. APLICAÇÃO DA IRRADIAÇÃO GAMA E PASTEURIZAÇÃO NA POLPA ..	70
2.3. ANÁLISES DA MATÉRIA PRIMA	71
2.4. PREPARO DO EXTRATO FENÓLICO PARA REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES	71
2.5. COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	71
2.6. ANÁLISE DE ANTOCIANINA POR UPLC-DAD.....	71
2.7. ATIVIDADE SEQUESTRASTE DO RADICAL LIVRE DPPH	72
2.8. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO ABTS ⁺	72
2.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	73
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
3.1. CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	73
3.2. AJUSTE DE MODELOS	73
3.3. EFEITO DA IRRADIAÇÃO	75
3.4. EFEITO DA PASTEURIZAÇÃO.....	78
3.5. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	80
3.6. ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS	80
4. CONCLUSÃO.....	82
5. REFERÊNCIAS	83
CONCLUSÃO GERAL	87

1. INTRODUÇÃO GERAL

Euterpe edulis Martius, palmeira encontrada na Mata Atlântica, foi muito explorada durante o século XX para obtenção de palmito. A extração do palmito causa a morte da planta e, por isso, esta palmácea está ameaçada de extinção atualmente. Neste contexto, a colheita do seu fruto tornou-se uma alternativa para utilização da planta sem ameaçar a existência da espécie.

O fruto da juçara é fonte de compostos fenólicos. Quando ingeridos, os compostos antioxidantes podem eliminar radicais livres tornando-se importantes na prevenção de doenças crônicas (WOLFE *et al.*, 2008). Além dos efeitos benéficos para a saúde humana, esses compostos também apresentam importância na tecnologia de alimento, por exemplo, inibindo as reações de oxidação nos alimentos durante processamento e estocagem (BREWER, 2011).

Dentre os compostos fenólicos da polpa de juçara, a presença das principais antocianinas (cianidina 3-rutinosídeo e da cianidina 3-glicosídeo) já está bem documentada, sendo esses compostos os majoritários no fruto (BRITO *et al.*, 2007). Entretanto, antocianinas minoritárias e outros compostos fenólicos ainda não estão bem elucidados. Alguns grupos de compostos fenólicos foram identificados e/ou quantificados nos frutos de juçara provenientes dos estados de Santa Catarina (BORGES *et al.*, 2011, 2013), São Paulo (BRITO *et al.*, 2007; RUFINO *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2013), Paraná (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014) e Rio de Janeiro (INADA *et al.*, 2015).

Os trabalhos que envolvem identificação de compostos fenólicos dos frutos de *Euterpe edulis* mostraram diferenças que podem estar relacionadas à região de cultivo da palmeira. Sabe-se que a composição fenólica do fruto é influenciada por características ambientais da região de cultivo da planta, como tipo de solo, condições climáticas (temperatura ambiente, intensidade de luz solar recebida e pluviosidade), características geográficas (latitude, longitude e altitude) e práticas agronômicas (TIWARI; CUMMINS, 2013; ARAUJO, 2011).

A composição e a concentração fenólica da polpa de juçara também podem ser afetadas pelo tipo de processamento e tempo de armazenamento da polpa. A minimização da perda de compostos fenólicos durante o processamento e estocagem do produto é

importante uma vez que os consumidores estão cada vez mais preocupados com a saúde. Por isso, a aplicação de métodos não térmicos para conservação de alimentos tem sido muito estudada. Esses métodos promovem menor alteração na composição dos alimentos quando comparados aos métodos térmicos (ARJEH; BARZEGAR; SAHARI, 2015).

Até o momento não foram encontradas na literatura pesquisas de identificação e quantificação de compostos fenólicos de frutos de juçara produzidos nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo, estados que possuem uma grande densidade de *Euterpe edulis*. Além disso, as pesquisas existentes são focadas na quantificação dos compostos bioativos da polpa, principalmente por HPLC-DAD, e seus benefícios para a saúde. Diante disso, este estudo teve como objetivo estudar a composição fenólica dos frutos de juçara de diferentes microrregiões dos estados de Minas Gerais e Espírito Santo e investigar os efeitos da irradiação gama e da pasteurização na estabilidade das principais antocianinas do fruto.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Estudar a composição fenólica dos frutos de juçara de diferentes microrregiões dos estados de Minas Gerais e Espírito Santo e investigar os efeitos da irradiação gama e da pasteurização na estabilidade das antocianinas do fruto.

2.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar os frutos de Juçara, cultivados em diferentes regiões de Minas Gerais e Espírito Santo, quanto às suas características físico-químicas;
- Identificar e quantificar os compostos fenólicos dos frutos de Juçara de diferentes microrregiões de Minas Gerais e Espírito Santo utilizando HPLC-DAD-MS/MS;
- Avaliar o efeito dos processos de pasteurização e irradiação no teor de compostos fenólicos totais, nas antocianinas e na capacidade antioxidante da polpa de juçara;
- Avaliar o efeito do tempo de armazenamento refrigerado no teor de compostos fenólicos totais, nas antocianinas e na capacidade antioxidante da polpa de juçara.

CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA

3.1. *Euterpe Edulis* Martius: o fruto, a colheita e o processamento

O palmiteiro *Euterpe edulis* Martius, também conhecida como palmeira juçara, pertence à família das Arecaceae e é cultivada na Mata Atlântica. Possui um tronco único, ou seja, sem ramificações, podendo atingir de 5 a 12 metros de altura e 10 a 15 centímetros de diâmetro (LORENZI *et al.*, 2006). Essa palmeira é bem conhecida por produzir um produto de elevada importância econômica, o palmito (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014). O palmito produzido pela *Euterpe edulis* é considerado de melhor qualidade e apresenta maior rendimento do que os coletados em outras espécies do gênero *Euterpe*, como o açazeiro. No entanto, ela não rebrota após o corte do palmito, ou seja, a extração provoca a morte da planta. Esse fato, somado à intensa extração do palmito-juçara desde a década de 50, comprometeu a regeneração natural da palmeira e, atualmente, ela encontra-se na lista da flora brasileira ameaçada de extinção (REIS *et al.*, 2003; MARTINS; SOUZA, 2009; MARTINS; LIMA, 1999; NOGUEIRA, 1982).

Nos últimos anos tem crescido o interesse pelo fruto da *Euterpe edulis*, conhecido como juçara (Figura 1). O fruto é não climatérico, apresenta formato arredondado (aproximadamente 1 a 1,5 cm de diâmetro) e, quando maduro, coloração roxa devido a alta concentração de compostos antociânicos (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; BORGES *et al.*, 2011, 2013; BRITO *et al.*, 2007). A comercialização da polpa de juçara é considerada uma estratégia importante para a conservação da espécie. A colheita do fruto não provoca a morte da palmeira, pode ser feita anualmente na mesma palmeira e rende sementes viáveis para replantio. Além disso, a comercialização da polpa é uma oportunidade de geração de renda para comunidades da Mata Atlântica (SANTOS; CORRÊA-JUNIOR; CARDOSO; LEITE, 2009).



Figura 1- Palmeira *Euterpe edulis* e seus cachos com frutos (juçara).

A colheita do fruto é feita escalando a palmeira ou com auxílio de uma foice presa à uma vara comprida para cortar o cacho. No segundo caso, deve-se utilizar uma rede/lona para capturar o cacho que cair do alto da palmeira, de modo a minimizar os danos aos frutos. A debulha, ou seja, retirada dos frutos do cacho, é feita manualmente, geralmente do próprio lugar da coleta. A juçara é muito perecível, por isso o processamento do fruto deve ser feito o mais rápido possível (GUIMARÃES; SOUZA, 2017).

Na área de beneficiamento, os frutos recém-chegados devem passar por uma seleção para retirada de impurezas, frutos danificados, verdolengos ou imaturos. Em seguida, devem ser lavados e imersos em água potável morna (entre 40 e 60°C) por 15-30 minutos, para amolecimento da polpa (MARTINS; SOUZA, 2009; GUIMARÃES; SOUZA, 2017).

A próxima etapa, o despulpamento, pode ser feito manualmente, para pequenos volumes, ou com auxílio de uma despulpadeira vertical (Figura 2) (MARTINS; SOUZA, 2009). Nesta etapa, deve ser adicionada água filtrada para possibilitar a separação da polpa

da semente. Quantidade de água adicionada dependerá da concentração desejada para a mistura final. Bicudo et al. (2014) recomenda a adição de 0,6 L de água por kg de fruto. Por fim, a polpa deve embalada e congelada. Um tratamento físico de conservação pode ser aplicado, antes do congelamento, quando for necessário (GUIMARÃES; SOUZA, 2017; BRASIL, 2000).



Figura 2 – Despulpadeira vertical utilizada no processamento do fruto da juçara.

A polpa de juçara pode ser consumida fresca ou utilizada como ingrediente pela indústria de alimentos e farmacêutica.

3.2. Composição química da juçara

A composição química da polpa de juçara obtida a partir de frutos colhidos em distintas regiões do Brasil está apresentada na Tabela 1.

Tabela 4- Composição química da polpa de juçara de diferentes regiões segundo trabalhos descritos na literatura

Composição	Média ± DP	Origem do fruto	Fonte
Umidade (%)	88,90 ± 0,26	Mauá/ RJ	Ribeiro; Mendes; Pereira (2011)
	89,43 ± 2,38	Mogi das Cruzes/ SP	Silva et al. (2013)
	86,42 ± 0,02	Ubatuba/SP	Vieira et al. (2013)
	57,53 ± 0,41 a 65,05 ± 1,11	Microrregiões Santa Catarina	Borges, 2013
	8,45*	Minas Gerais	Castro et al. (2014)
	88,7 ± 3,8	São Paulo	Silva et al. (2014)
	83,8 ± 0,5	Rio de Janeiro	Inada et al. (2015)
	64,56 ± 0,23 a 56,36 ± 1,06	Florianópolis/ Santa Catarina	Schulz et al. (2015)
	4,1*	Rolândia/ Paraná	Guergoletto et al. (2016)
	93,80	Espírito Santo	Paim et al. (2016)
pH	4,84	Mauá/ RJ	Ribeiro; Mendes; Pereira (2011)
	4,66 ± 0,09	-	Rufino et al. (2009)
	4,7	Bahia	Silva et al. (2004)
	4,49 ± 0,05	Mogi das Cruzes/ SP	Silva et al. (2013)
	4,47 ± 0,01 a 5,45 ± 0,01	Microrregiões Santa Catarina	Borges et al., 2013
	5,6 ± 0,4	São Paulo	Silva et al. (2014)
	4,8 ± 0,0	Rio de Janeiro	Inada et al. (2015)

Tabela 1 – continuação...

	0,19 ± 0,00	Mauá/ RJ	Ribeiro; Mendes; Pereira (2011)
Acidez (% ácido cítrico)	0,37 ± 0,02	-	Rufino et al. (2009)
	0,27 ± 0,03	Ubatuba/SP	Vieira et al. (2013)
	0,21 ± 0,07 a 0,48 ± 0,04	Santa Catarina	Borges et al., 2013
	1,67	Espírito Santo	Paim et al. (2016)
Sólidos solúveis totais (°Brix)	3,03	Mauá/ RJ	Ribeiro; Mendes; Pereira (2011)
	4,75 ± 1,32	-	Rufino et al. (2009)
		Mogi das Cruzes/ SP	Silva et al. (2013)
	2,01 ± 0,27		
	11,6 ± 0,1	São Paulo	Silva et al. (2014)
	4,36 ± 0,55	Mauá/ RJ	Ribeiro; Mendes; Pereira (2011)
Lipídeos (%)	13,78	Bahia	Silva et al. (2004)
	3,17 ± 0,70	Mogi das Cruzes/ SP	Silva et al. (2013)
	5,86 ± 0,35	Ubatuba/SP	Vieira et al. (2013)
	18,45 ± 1,15 a 44,08 ± 1,87	Microrregiões Santa Catarina	Borges et al. (2013)
	49,35*	Minas Gerais	Castro et al. (2014)
	29,2 ± 0,9 ^a	São Paulo	Silva et al. (2014)
	46,6 ± 0,0	Rio de Janeiro	Inada et al. (2015)
	7,06 ± 0,73 a 22,07 ± 3,99	Florianópolis/ Santa Catarina	Schulz et al. (2015)
	21,0*	Rolândia/ Paraná	Guergoletto et al. (2016)
	2,20	Espírito Santo	Paim et al. (2016)

Tabela 1 – continuação...

	6,72	Bahia	Silva et al. (2004)
	0,09 ± 0,00	Mauá/ RJ	Ribeiro; Mendes; Pereira (2011)
	1,15 ± 0,03	Ubatuba/SP	Vieira et al. (2013)
	0,25 ± 0,05	Mogi das Cruzes/ SP	Silva et al. (2013)
	5,13 ± 0,15 a 8,21 ± 0,09	Microrregiões Santa Catarina	Borges et al., 2013
Proteína (%)	5,28*	Minas Gerais	Castro et al. (2014)
	6,0 ± 0,3 ^a	São Paulo	Silva et al. (2014)
	7,5 ± 0,1	Rio de Janeiro	Inada et al. (2015)
	2,48 ± 0,31 a 3,02 ± 0,13	Florianópolis/ Santa Catarina	Schulz et al. (2015)
	7,6*	Rolândia/ Paraná	Guergoletto et al. (2016)
	0,09	Espírito Santo	Paim et al. (2016)
	1,20	Bahia/BA	Silva et al. (2004)
Açúcar total (%)	2,46 ± 0,05	Ubatuba/SP	Vieira et al. (2013)
	3,8*	Rolândia/ Paraná	Guergoletto et al. (2016)
	42,86*	Minas Gerais	Castro et al. (2014)
	28,3 ± 3,5 ^a	São Paulo	Silva et al. (2014)
Carboidrato (%)	42,5 ± 0,1	Rio de Janeiro	Inada et al. (2015)
	28,8*	Rolândia/ Paraná	Guergoletto et al. (2016)
	2,03	Espírito Santo	Paim et al. (2016)

Tabela 1 – continuação...

	3,41 ± 0,31	Ubatuba/SP	Vieira et al. (2013)
Fibras (%)	28,3 ± 0,3 ^a	São Paulo	Silva et al. (2014)
	27,1 ± 0,0	Rio de Janeiro	Inada et al. (2015)
	34,2*	Rolândia/ Paraná	Guergoletto et al. (2016)
Vitamina C	186,00 ^c	São Paulo	Rufino et al. (2010)
	146,8 ± 7,5 ^b	Guaruva/Paraná	Cardoso et al. (2015)
Cinzas (%)	8,8 ± 0,8 ^a	São Paulo	Silva et al. (2014)
	1,01,5 ± 0,001	Guaruva/Paraná	Cardoso et al. (2015)
	3,4 ± 0,0	Rio de Janeiro	Inada et al. (2015)
	4,31*	Rolândia/ Paraná	Guergoletto et al. (2016)
	0,21	Espírito Santo	Paim et al. (2016)
Valor energético (Kcal/100 gramas)	400,0 ± 23,9 ^a	São Paulo	Silva et al. (2014)
	83	Rio de Janeiro	Inada et al. (2015)
	403*	Rolândia/ Paraná	Guergoletto et al. (2016)
Minerais (mg/100 gramas bs)	Ca (76,4); Fe (4,3); P (41,2); K (419,1) Na (17,3); Mn (3,0); Mg (47,4); S (35,4) Zn (0,9); Cu (0,5); Ni (1,0); Co (7,1); Se (0,5); Cd (1,2);	Rio de Janeiro	Inada et al. (2015)
	K (1051,67 ± 62,96 a 1291,54 ± 53,80); Na (25,35 ± 0,42 a 14,24 ± 0,86); Ca (349,39 ± 18,12 a 596,69 ± 15,62); Mg (166,39 ± 8,74 a 183,00 ± 11,76); Fe (4,61 ± 0,20 a 7,26 ± 0,55); Zn (2,96 ± 0,04 a 2,85 ± 0,13); Mn (4,84 ± 0,27 a 8,46 ± 0,72)	Florianópolis/ Santa Catarina	Schulz et al. (2015)
	Na (28)*	Rolândia/ Paraná	Guergoletto et al. (2016)

*polpa liofilizada; ^abase seca; ^bmg/450 mL de suco; ^c mg/100g bu

Observa-se que a composição físico-química varia entre os trabalhos descritos (Tabela 1). Essa diferença pode ser atribuída às diferentes regiões onde os frutos foram colhidos. Dentre os fatores que influenciam na composição química dos frutos estão o estágio de maturação, temperatura e índice de pluviosidade da região de cultivo.

As diferenças entre as umidades encontradas por diferentes autores (Tabela 1) também podem estar relacionadas, além da região de cultivo, à quantidade de água adicionada para elaboração da polpa, uma vez que alguns trabalhos descrevem a umidade na polpa processada e não no fruto *in natura*. Não existe uma legislação específica para frutos de *Euterpe edulis*, porém, segundo a legislação para frutos de *Euterpe oleracea*, a polpa de açaí é “a polpa extraída do açaí, sem adição de água, por meios mecânicos e sem filtração, podendo ser submetido a processo físico de conservação” (BRASIL, 2000). Quando ocorre extração com adição de água e filtração, o produto é classificado, segundo Brasil (2000), como:

- Açaí grosso ou tipo A: quando a porcentagem de sólidos totais é superior a 14% e apresenta uma aparência muito densa;
- Açaí médio ou tipo B: quando a porcentagem de sólidos totais está entre 11-14% e apresenta aparência densa;
- Açaí fino ou tipo C: quando a porcentagem de sólidos totais está entre 8 e 11% e apresenta aparência pouco densa.

Os valores de umidade e pH observados para a polpa de juçara demonstram sua alta perecibilidade, sendo necessário aplicar técnicas de conservação para aumentar sua vida de prateleira e possibilitar sua distribuição para o mercado consumidor.

Os lipídeos são um dos componentes que aparecem em maior proporção na polpa de juçara. No geral, os ácidos graxos insaturados são os dominantes na fração lipídica (BORGES *et al.*, 2013). Os ácidos graxos insaturados podem diminuir os níveis de colesterol LDL no sangue, sendo associados à redução do risco de doenças cardiovasculares (DAMODARAN *et al.*, 2010). A polpa também apresenta elevado valor energético (SILVA *et al.*, 2014) e conteúdo de fibras (GUERGOLETTTO *et al.*, 2016) e baixo teor de açúcar (VIEIRA *et al.*, 2013). A vitamina C pode estar presente em alta concentração (CARDOSO *et al.*, 2015a). Dentre os minerais, destaca-se a presença de

potássio, sódio, cálcio, sódio e magnésio em maiores concentrações (SCHULZ *et al.*, 2015b).

3.3. Compostos fenólicos da juçara

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas, ou seja, não têm ação direta no seu desenvolvimento, porém, desempenham um papel importante no mecanismo de defesa contra condições adversas e são restritos ao reino vegetal (PICHERSKY; GANG, 2000; MANACH *et al.*, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2006). Os compostos fenólicos podem ser divididos em dois grupos baseando-se na estrutura da molécula e sua rota de síntese: flavonóides e não flavonóides.

No grupo dos flavonóides estão os flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas e flavan-3-óis (catequinas e proantocianidinas). Estes compostos possuem uma estrutura comum $C_6C_3C_6$ constituído por um anel A (proveniente de resíduos de malonil) e um anel B (derivado da via do ácido chiquimico) ligados entre si, formando anel pirano (anel C) (ARAUJO, 2011; CUYKENS; CLAEYS, 2004). O grau de oxidação do anel pirano irá definir o tipo de flavonóide (Figura 3).

Os não flavonóides incluem grupos de compostos mais heterogêneos, incluindo ácidos fenólicos (ácidos hidróxibenzóico e hidróxicinâmico), estilbenos, cumarinas e lignanas (ARAUJO, 2011; MANACH *et al.*, 2004). A estrutura desses compostos está representada na Figura 4.

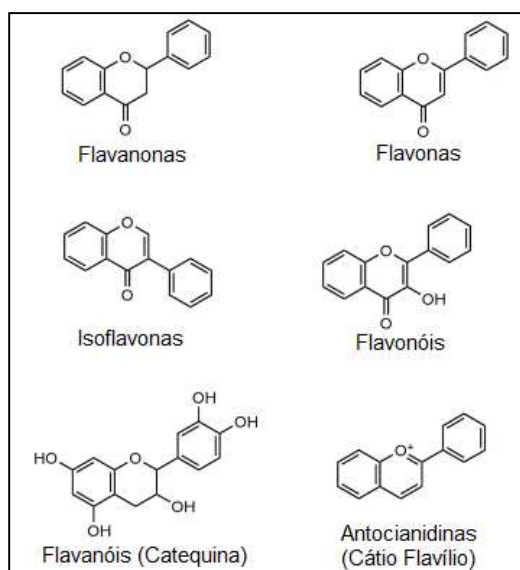


Figura 3– Estrutura química dos Flavonoides.
Fonte: Adaptado de Shahidi; Naczk (2004).

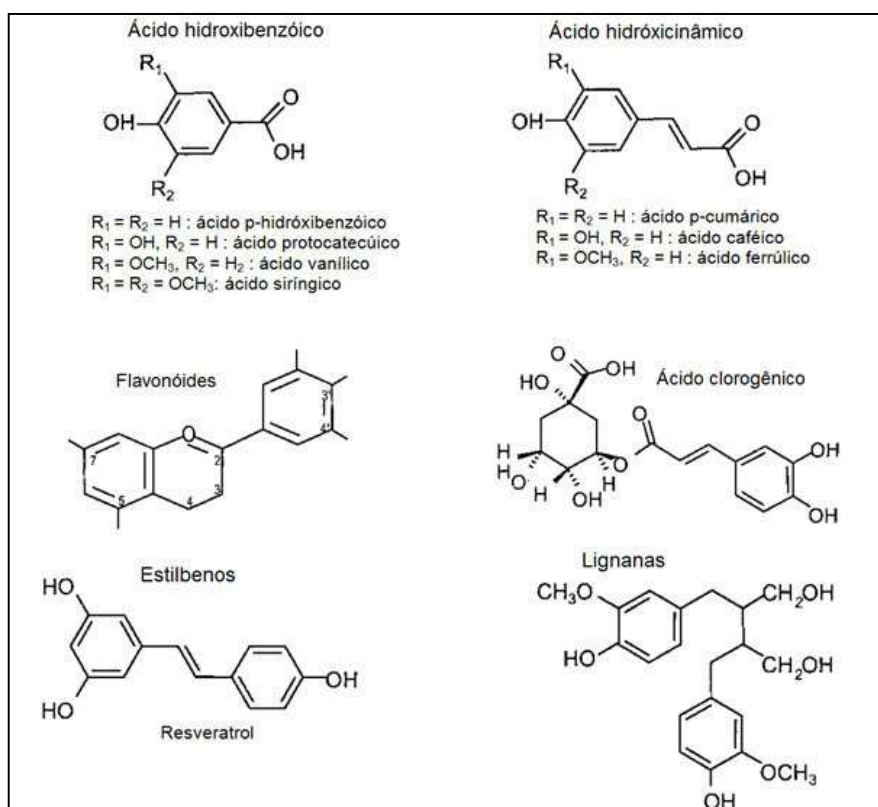


Figura 4 – Estrutura química dos compostos fenólicos.
Fonte: Adaptado de Manach *et al.* (2004).

Na Tabela 2 estão apresentados resultados dos principais trabalhos envolvendo a identificação e quantificação de compostos fenólicos em frutos de *Euterpe edulis* Martius.

Tabela 5- Compostos bioativos dos frutos de juçara de diferentes regiões descritos na literatura no período de 1994 à 2016

Material	Origem da matéria-prima	Componente analisado/ Técnica de identificação	Composição	Fonte
Polpa <i>in natura</i>	Santa Catarina	Antocianina	cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinoside	Harborne; Saito; Detoni, (1994)
Polpa liofilizada	São Paulo	Antocianina* ^c	cianidina-3-glucosídeo (1358); cianidina-3-rutinosídeo (1565); cyanidin-3-sambubioside (13); pelargonidin-3-glucoside (8); pelargonidin-3-rutinoside (5); cyanidin-3-rhamnoside (7).	Brito <i>et al.</i> , (2007)
Polpa <i>in natura</i>	São Paulo	Antocianinas totais ^g	192,00	Rufino <i>et al.</i> , (2010)
		Flavonóides amarelos ^g	375,00	
Polpa branqueada e desidratada à 40°C por 12 h	Santa Catarina	Antocianina ^f	409,85 – 14,84	Borges <i>et al.</i> , (2011)
		Ácidos fenólicos ^g	Felúrico (1,48-8,16)	
			Gálico (7,97-52,25)	
		Flavan 3-óis ^g	Protocatecuico (6,29-33,32)	
p-cumárico (0,38-1,26)				
Flavonol ^g	Catequina (0,74-16,24)			
	Epicatequina (6,84-30,56)			
Extrato aquoso de juçara	Santa Catarina	Compostos fenólicos totais (%)	10,31	Lima <i>et al.</i> (2012)

Tabela 2 – Continuação...

Polpa congelada	Mongi das Cruzes- São Paulo	Antocianinas	667,05	Silva <i>et al.</i> , (2013)
		mg cy-3-glc/L polpa		
		Compostos fenólicos totais (mg ac gálico/100g)	7,72	
Polpa branqueada e desidratada à 40°C por 12 h	Santa Catarina	Compostos fenólicos totais (mg ac gálico/100g PSD)	1418,73 – 1476,74	Borges <i>et al.</i> , (2013)
		Flan-3-óis totais (mg catequina/ /100g PSD)	38,75 - 75,06	
Polpa liofilizada	Minas Gerais	Antocianinas ^h	cy-3-glc (9,524); cy-3-rut (16,305)	Castro <i>et al.</i> , (2014)
		Compostos fenólicos totais (mg GAE/g dm)	81,69 – 49,09	
Polpa <i>in natura</i>	Antonina - Paraná	Antocianinas* ^c	cy-3,5-diglc (0,33 – 0,11) cy-3-glc (108,97 – 29,09) cy-3-rut (137,27 – 42,77) pg-3-rut (0,07 – 0,04) pn-3-glc (1,27 – 0,33) pn-3-rut (0,83 – 0,46)	Bicudo; Ribani; Beta, (2014)
		Ácidos fenólicos* ^a	ácido gálico (0,98 – 0,31); ácido protocatecuico (3,80 – 2,54); ácido p-hidroxibenzóico (14,75 – 6,47); ácido vanílico (3,97 – 2,66) ácido clorogênico (2,51 -1,31); ácido caféico (0,85 – 0,21); ácido siríngico (9,84 – 4,70); ácido p-cumárico (3,11 – 1,03); ácido sinápico (3,22 – 2,44); ácido felúrico (5,92 – 3,54)	

Tabela 2 - Continuação ...

Polpa fresca	São Paulo	carotenóides (µg/100 g)*	9-cis-neoxanthin ^b (13,2) 13-cis-violaxanthin ^b (6,5) cis-lutein ^b (12,6) 9-cis-violaxanthin ^b (5,5) all-trans-lutein ^b (292,7) all-trans-zeaxanthin ^c (5,4) all-trans-zeinoxanthin ^c (7,7) 15-cis-β-carotene ^d (9,2) 13-cis-β-carotene ^d (15,8) all-trans-α-carotene ^d (60,2) all-trans-β-carotene ^d (266,5) 9-cis-β-carotene ^d (37,8) Carotenoides totais (737,5)	Silva <i>et al.</i> , (2014)
		Antocianinas* ^f	cy-3,5-hex pent (1,43); cy-3-glc (47,93); cy-3-rut (179,6); pg-3-glc (1,66); pg-3- rut (2,87); pn-3-rut (3,59); cy-3-rhm (0,3)	
		Flavona* ^f	apigenin dihexoside (11,06) luteolin deoxyhexosylhexoside (37,6) apigenin hexoside (13,2) apigenin deoxyhexosidehexoside (25,4) dihydroluteolin deoxyhexosylhexoside (12,7) chrysoeriol deoxyhexosylhexoside (22,5)	
		Flavonol* ^f	taxifolin hexoside (13,3); dihydrokaempferol; hexoside (66,4); kaempferol; deoxyhexosylhexoside (7,21); dihydrokaempferol; acetyl- hexoside (2,8)	

Tabela 2 – Continuação...

Polpa	Rio de Janeiro	Antocianinas ^e	cy-3-glc (425,0); cy-3-rut (1255,0)	Inada <i>et al.</i> , (2015)
		Fenólicos totais (mg de ácido gálico equiv/ 100 g bs)	7,5	
		Ácidos ^e	Gallic acid (4,4) 3,4-dihydroxybenzoic acid (4,5) 4-hydroxybenzoic acid (3,4) <i>trans</i> -cinnamic acid (0,03) <i>m</i> -coumaric acid (0,4) 4-hydroxyphenylacetic acid (2,6)	
Polpa	Ubatuba/ São Paulo	Antocianinas ^g	cy-3-glc (71,4); cy-3-rut (191,0)	Morais <i>et al.</i> , (2015)
		Flavona ^g	Apigenin deoxyhexosyl-hexoside (25,4) Luteolin deoxyhexosyl-hexoside (37,6)	
		Flavonol ^g	Dihydrokaempferol-hexoside (66,4)	
Polpa	Florianópolis/ Santa Catarina	ácidos fenólicos* ^c	ácido gálico (0,21 a 0,34); Protocatechuic (1,53 a 2,79) p-Coumaric (0,16 a 0,39)	Schulz <i>et al.</i> , (2015)
		Flavonóis* ^c	Rutin (0,02 a 0,28) Quercetin (0,29 a 1,48) Myricetin (0,03 a 0,09) Kaempferol (0,16 a 0,88)	
		flavanonol* ^c	Aromadendrin (2,04 a 7,64) Taxifolin (1,09 a 3,70)	
		flavona* ^c	Hispidulin (0,15 a 0,29)	

Tabela 2 – Continuação...

Suco de juçara	Paraná	fenólicos totais (mg de ácido gálico equiv/ 450 mL de suco)	1992,1 ± 59,1	Cardoso <i>et al.</i> , (2015)
		Antocianinas totais (mg cy-3-glc/ 450 mL suco)	2033,7 ± 28,1	
		Antocianinas (mg / 450 mL suco)	cy-3-glc (102,9); cy-3-rut (480,5)	
		Ácidos fenólicos (mg/450 mL suco)	Ferulic acid (1,3); Gallic acid (0,9) Protocatechuic acid (1,5) ; Syringic acid (0,2); Vanillic acid (0,5); <i>p</i> -Coumaric acid (0,1)	
Polpa liofilizada	Rolândia/ Paraná	Antocianinas ^c	cy-3-rut (966); cy-3-glc (322) mv-3-glc (33,2); pn-3-rut (16,2) pg-3-glc (15,6)	Guergoletto <i>et al.</i> , (2016)
		Flavonol ^c	Rutina (9,4); Quercetina (4,8)	
		Ácidos fenólicos ^e	p-cumárico (6,96)	
		Fenólicos totais ^a	3474,0	
Polpa	Espírito Santo	Fenólicos totais (mg ácido gálico equiv/ 100 g polpa)	302,10	Paim <i>et al.</i> , (2016)
		Antocianinas Totais ^f	104,66	

*Análises realizadas por HPLC-MS/MS; ^amg ácido gálico equiv/ 100 g polpa liofilizada; ^bequivalente de all-trans-lutein; ^cequivalente de all-trans-β-cryptoxanthin. ^dequivalent de all-trans-β-carotene; ^emg/100g (bs); ^fmg cy-3-glc/100g (bu); ^gmg/100g (bu); ^hmg/g; PSD: polpa seca desengordurada

3.3.1. Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos são constituídos por dois grupos de compostos: ácidos hidróxicinâmico e ácido hidroxibenzóico.

Os ácidos hidroxicinâmicos ou fenilpropanoides abrange o ácido *p*-cumárico e seus derivados hidroxilados e metilados, tais como: ácido caféico e ácido ferrúlico (Figura 2). Esses compostos raramente são encontrados nas formas livres, geralmente apresentam-se na forma de ésteres, glicosídeos ou ligados à proteínas e outros polímeros da parede celular. O ácido clorogênico, por exemplo, é um estér do ácido caféico com o ácido quínico (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Os ácidos hidróxicinâmico são encontrados em todas as partes dos frutos, porém sua maior concentração ocorre nas partes mais externas. O ácido caféico, em sua forma livre e esterificada, é o ácido fenólico mais abundante, representando de 75 a 100% dos hidróxicinâmicos totais (MANACH *et al*, 2004).

Os ácidos hidroxibenzóicos são formados a partir da perda de dois carbonos a partir do fenilpropanoides. Eles podem ser hidroxilados e metilados formando o ácido protocatecúico, ácido vanílico e ácido siríngico (Figura 4) (SHAHIDI; NACZK, 2004).

Segundo Bicudo *et al.* (2014) a concentração da maioria dos ácidos fenólicos da juçara decresce entre o primeiro e último estágio de maturação, devido reações de polimerização, oxidação e conjugação. Os ácidos fenólicos identificados na polpa de juçara foram: ácido gálico, ácido protocatecúico, ácido 4-hidroxibenzóico, ácido vanílico, ácido 5-cafeoilquínico (clorogênico), ácido caféico, ácido siríngico, ácido *p*-cumárico, ácido sinapínico e ácido ferúlico. Os ácidos 4-hidroxibenzóico, siríngico e ferúlico foram encontrados em maior concentração em todos os estágios de amadurecimento do fruto.

3.3.2. Antocianinas

As antocianinas são pigmentos naturais responsáveis pelas cores azul, roxo, violeta, magenta, vermelho e laranja das plantas, tornando-se atrativos para polinizadores. Elas se diferem dos outros flavonóides por absorver luz na região visível do espectro (520 nm) (UGAZ, 1997).

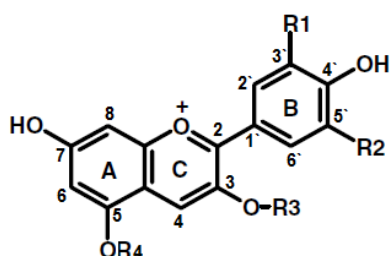
Os tipos de antocianinas se diferem em relação à: posição, número e tipo de substituições presentes no anel B; tipos e números de açúcares na molécula; e tipos e número de ácidos alifáticos ou aromáticos ligados ao açúcar (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

As antocianinas mais encontradas em frutas são glicosiladas na posição C-3 (3-O-monoglicosídeo) do cátion flavílio (Figura 3) e, em menor extensão, nas posições C-3 e C-5 (3,5-O-diglicosídeo) (FREITAS; MATEUS, 2006). Entre os açúcares mais comuns estão os monossacarídeos (glicose, galactose, rarnnose, arabnose e xilose) e dissacarídeos (rutinose) (UGAZ, 1997).

Quando o açúcar é hidrolisado da molécula de antocianina devido a condições específicas de temperatura e pH, libera-se uma aglicona, chamada de antocianidina. Apenas seis estão presentes nos alimentos (Figura 5), e se diferem em relação ao número de grupos de metoxil ou hidroxil do anel B (FREITAS, 2005).

Harborne; Saito; Detoni (1994) conduziram um dos primeiros estudos de determinação de antocianinas em frutos da *Euterpe edulis*. Os autores identificaram duas principais antocianinas: cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo, porém não as quantificaram.

Teores de 1358 mg/100g (bs) e 1565 mg/100g (bs) foram encontrados por Brito et al. (2007) para cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo, respectivamente. Neste estudo também foram relatados a presença de cianidina-3-sambubiosídeo, perlagonidina-3-glicosídeo, perlagonidina-3-rutinosídeo e cianidina-3-rarnnosídeo em menores quantidades.



Cátio flavílio. $R_3 = R_4 = H$.

Antocianidina	R_1	R_2
Perlagonidina	H	H
Cianidina	OH	H
Delfinidina	OH	OH
Peonidina	OCH ₃	H
Petunidina	OCH ₃	OH
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

Figura 5 – Antocianidinas mais comuns em vegetais.

Fonte: Adaptado de Damodaran; Parkin; Fennema (2010).

A determinação do teor de antocianinas dos frutos de juçara ao decorrer do período de amadurecimento foi realizado por Bicudo et al. (2014). Durante o

amadurecimento do fruto, ocorreu aumento no teor de antocianinas, com conseqüente aumento na coloração da casca e da polpa. A concentração de pigmentos antociânicos aumentou de 91,52 para 236,19 mg de cianidina-3-glicosídeo/100g de polpa liofilizada. A cianidina-3-rutinosídeo e cianidina-3-glicosídeo estavam presentes em maiores proporções do que outras antocianinas em todos os estádios de maturação. Pequenas quantidades de cianidina-3,5-diglicosídeo, pelargonidina-3-rutinosídeo, peonidina-3-glicosídeo e peonidina-3-rutinosídeo também foram detectadas. O aumento dos pigmentos antociânicos totais durante a maturação também foi observado por Borges et al. (2013) ao avaliar frutos de juçara colhidos em Lagoa da Conceição (Florianópolis - SC).

As antocianinas são pigmentos muito instáveis, principalmente em pH neutro e alcalino. Os principais fatores que influenciam em sua degradação são o pH, temperatura e concentração de oxigênio. Além desses, a presença de enzimas deteriorantes, ácido ascórbico, íons metálicos e açúcares interferem em menor proporção (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A estrutura da molécula também influencia em sua estabilidade. Estudos mostraram que quanto menor o grau de hidroxilação e maior grau de metoxilação e glicosilação, maior é a estabilidade das antocianinas durante armazenamento, tratamento térmico e exposição à luz (UGAZ, 1997). A presença de grupos acilas ligados ao açúcar da posição C-3 também aumenta a estabilidade da molécula (STRINGHETA; BOBBIO, 2000).

3.3.3. Flavonóis

Os flavonóis são flavonóides, ou seja, possuem esqueleto $C_6C_3C_6$, que absorvem luz nos comprimentos de onda de 328 a 385 nm (banda I, anel B) e 240 a 280 (banda II, anel A) (GOTTLIEB, 1975) e são utilizados por insetos como localizadores de pólen e néctar (TAIZ; ZEIGER, 2006). Eles podem estar presentes nos vegetais como agliconas ou em sua forma glicosilada. Os compostos pertencentes a esse grupo apresentam diferenças estruturais relacionadas ao tipo e número de açúcares ligados à molécula e ao número de grupos hidroxil presentes no anel B (HARBONE; WILLIAMS, 1975). Na Figura 6 estão apresentados os tipos fundamentais de flavonóis. Na polpa de juçara estão presentes, principalmente, os derivados de quercetina e kaempferol (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; SCHULZ *et al.*, 2015).

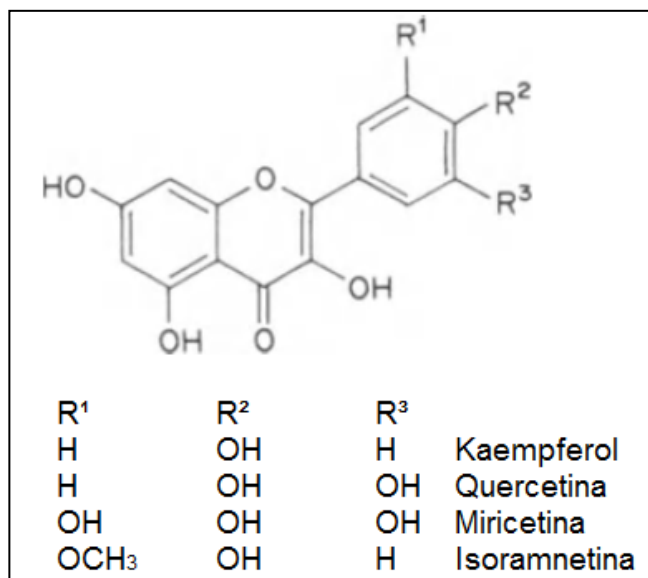


Figura 6 – Flavonóis mais comuns em vegetais.
Fonte: Adaptado de Gottlieb (1975).

3.3.4. Flavan-3-óis e Proantocianinas

Os flavan-3-óis são flavonóides incolores que, assim como as antocianinas, não possuem o grupo carbonila no anel C (SHAHIDI; NACZK, 2004). A catequina e epicatequina são os flavan-3-óis mais encontrados na natureza. Esses compostos são diastereoisômeros (HASLAM, 1975), ou seja, isômeros que não são imagens especular um do outro. Borges et al. (2011) demonstrou a presença de ambos em polpa de juçara.

Quando os flavan-3-óis encontram-se condensados entre si ou com outros flavonóides, eles são chamados de taninos condensados ou proantocianinas. Assim como descrito para os outros flavonóides, o nível de substituição do anel B indica o tipo de proantocianina, que podem ser: procianidinas, propelargonidinas ou prodelfinidinas (SHAHIDI; NACZK, 2004).

Quando a ligação entre duas unidades ocorre entre o carbono C-4 da unidade de extensão de cadeia e o carbono C-6 ou C-8 da unidade terminal, as proantocianinas são classificadas como do tipo B. Quando existe uma segunda ligação, do tipo éter, no carbono C-2, as proantocianinas são classificadas como do tipo A (FERREIRA; SLADE; MARAIS, 2006). Na Figura 7 estão apresentadas as estruturas de alguns flavan-3-óis e proantocianinas.

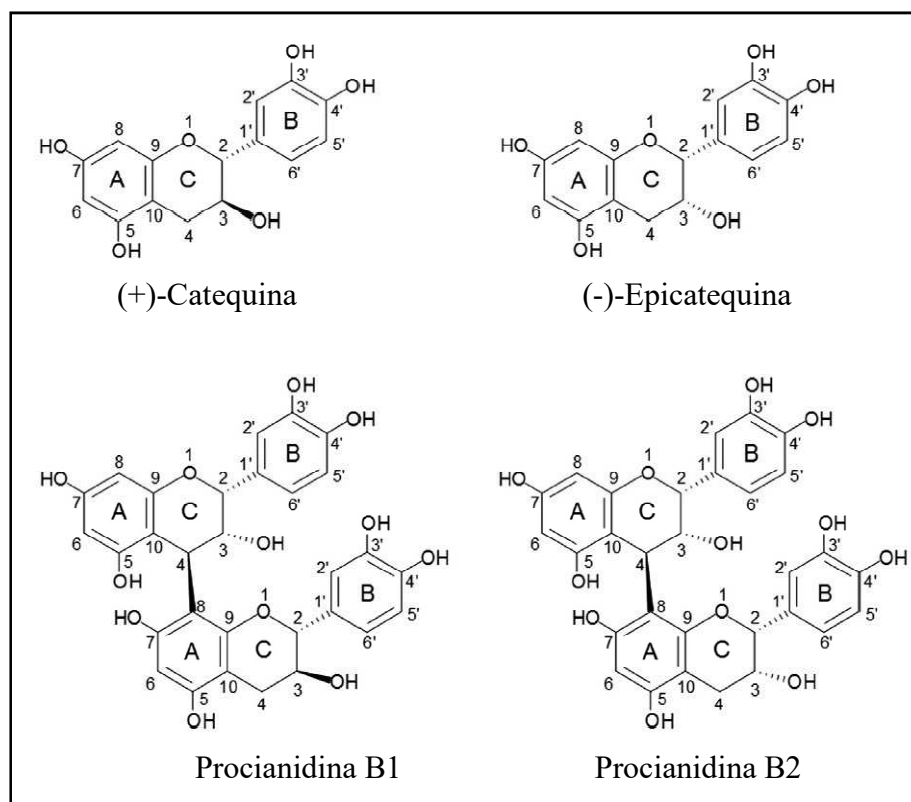


Figura 7 – Estrutura química de flavan-3-óis e proantocianinas do tipo B.

Fonte: Adaptado de Mendoza-Wilson; Castro-Arredondo; Balandrán-Quintana (2014).

3.4. Capacidade antioxidante da juçara

Os compostos fenólicos encontrados em frutos de juçara têm sido associados à sua elevada capacidade antioxidante, sendo que as antocianinas são os principais responsáveis por essa característica (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; BORGES *et al.*, 2011). Na Tabela 3 estão apresentados os principais estudos de determinação de capacidade antioxidante em *Euterpe edulis*.

Os compostos com capacidade antioxidante podem eliminar radicais livres, moléculas que danificam biomoléculas, tornando-se importantes na prevenção de doenças crônicas, como câncer (WOLFE *et al.*, 2008). Isso ocasionou em um aumento do interesse pelas propriedades químicas e funcionais da juçara.

O efeitos benéficos açaí (*Euterpe oleracea*) para o organismo foram muito estudados na última década, sendo este considerado uma “super fruta” devido sua elevada capacidade antioxidante, cardioprotetora, anti-proliferativa e seu potencial anti-inflamatório (LEONG *et al.*, 2010; HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011; KANG *et al.*, 2012). No entanto, estudos sobre os efeitos do consumo da *Euterpe edulis* para a saúde são limitados. Um estudo pioneiro realizado por Borges *et al.* (2013)

demonstrou o efeito protetor do extrato de juçara contra o estresse oxidativo induzido por TBH (terc-butil-hidroperóxido) em células Vero.

Tabela 6- Capacidade antioxidante em *Euterpe edulis* cultivadas em diferentes regiões entre os anos de 2010 e 2016

Fonte	Região	Método	Capacidade Antioxidante
Rufino et al. (2010)	São Paulo	DPPH* (EC ₅₀ (g/g DPPH*))	1711 ± 46
		ABTS ^{•+} (µmol de Trolox equivalente/ grama)	78,3 ± 13,3
		FRAP (µmol de Fe ₂ SO ₄ /grama)	84,9 ± 16,1
		Oxidação do β-Caroteno (% inibição)	70,8 ± 7,9
Borges et al. (2011)	Santa Catarina	DPPH* (EC ₅₀ : mg.mL ⁻¹)	0,85 – 4,83
Lima et al. (2012)	Santa Catarina	DPPH* (EC ₅₀ : mg.mL ⁻¹ de extrato)	67,95 ± 0,25
Borges et al. (2013)	Santa Catarina	DPPH* (µmoL.L ⁻¹ Trolox.100 g ⁻¹ polpa seca desengurdurada)	836,1 ± 5,7 – 1325,50 ± 6,8
		FRAP (µmoL.L ⁻¹ Trolox.100 g ⁻¹ polpa seca desengurdurada)	571,14 ± 8,9 – 1110,86 ± 13,11
Bicudo et al. (2014)	Paraná	ORAC Capacidade antioxidante (µmol TroloxEqui/g bs)	2071,55 ± 37,03
		DPPH* Capacidade antioxidante (µmol Trolox Equi/g bs)	703,32±1,21
Cardoso et al. (2015)	Paraná	DPPH* (µmol /L Trolox)	12608,9 ± 134,8
		FRAP (µmol /L Trolox)	9699,2 ± 105,5
		FRAP (mmol Fe ²⁺ /100 g)	100,4 ± 5,4
		ORAC (mmol Trolox/100 g)	154,4 ± 10,0
Inada et al. (2015)	Rio de Janeiro	TEAC (mmol Trolox/100 g)	67,7 ± 2,9
		FRAP (µM of Trolox/ 100 g of defatted dry pulp)	1016,33 ± 54,32 a 7600,43 ± 390,07
Schulz et al (2015)	Florianópolis/ Santa Catarina	DPPH (EC ₅₀) mg/ mL extract concentration	2,09 ± 0,05 a 29,71 ± 1,70
		ABTS ^{•+} (µmol de Trolox equivalente/ grama)	21,92 ± 1,08
Paim et al. (2016)	Espírito Santo		

3.5. REFERENCIAS

ARAUJO, J. M. A. Química de Alimentos – Teórica e Prática. 5ed. Viçosa: Editora UFV, 2011.

ARJEH, Edris; BARZEGAR, Mohsen; SAHARI, Mohammad Ali. Effects of gamma irradiation on physicochemical properties, antioxidant and microbial activities of sour cherry juice. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 114, p. 18–24, 2015.

BANERJEE, Aparajita *et al.* Gamma irradiation inhibits wound induced browning in shredded cabbage. *Food Chemistry*, v. 173, p. 38–44, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.166>>.

BICUDO, Milene Oliveira Pereira; RIBANI, Rosemary Hoffmann; BETA, Trust. Anthocyanins, Phenolic Acids and Antioxidant Properties of Juçara Fruits (*Euterpe edulis* M.) Along the On-tree Ripening Process. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 69, n. 2, p. 142–147, 26 jun. 2014. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11130-014-0406-0>>.

BORGES, Graciele Da Silva Campelo *et al.* Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. *Food Research International*, v. 44, n. 7, p. 2128–2133, ago. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.006>>.

BORGES, Graciele Da Silva Campelo *et al.* Protective effect of *Euterpe edulis* M. on Vero cell culture and antioxidant evaluation based on phenolic composition using HPLC–ESI-MS/MS. *Food Research International*, v. 51, n. 1, p. 363–369, abr. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.035>>.

BRASIL. Ministerio da Agricultura, Pecuaria e Abastecimento. Instrucao Normativa no 01, de 07 de janeiro de 2000. Aprova padroes de identidade e qualidade para polpas de frutas. Diario Oficial [da] Republica Federativa do Brasil, Brasilia, DF, 10 jan. 2000, Secao 1. p.54.

BREWER, M S. Natural Antioxidants : Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 10, p. 221–247, 2011.

BRITO, Edy Sousa De *et al.* Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, n. 23, p. 9389–9394, nov. 2007. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0715020>>.

CARDOSO, Alyne Lizane *et al.* Acute consumption of juçara juice (*Euterpe edulis*) and antioxidant activity in healthy individuals. *Journal of Functional Foods*, v. 17, p. 152–162, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.05.014>>.

CARDOSO, L. M; LEITE, J. P. V. Palmeira Jucara: A exploracao dos frutos e mais ecologica e rentavel do que a do palmito. Espaco do Produtor. Vicosa: UFV, 2009. Disponível em: <<
<<https://www2.cead.ufv.br/espacoProdutor/scripts/verArtigo.php?codigo=19&acao=exibir>>> Acesso em: 06/11/2015.

CASTRO, Cynthia Aparecida De *et al.* Aerobic exercise and not a diet supplemented

with jussara açai (*Euterpe edulis* Martius) alters hepatic oxidative and inflammatory biomarkers in ApoE-deficient mice. *British Journal of Nutrition*, v. 112, n. 3, p. 285–294, 19 ago. 2014. Disponível em:

<http://www.journals.cambridge.org/abstract_S000711451400083X>.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pos-colheita de Frutas e Hortaliças-Fisiologia e Manuseio. 2ed. Lavras: Editora UFLA, 2005.

Cuyckens, Filip; Claeys, Magda. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. *Journal of Mass Spectrometry*, v. 39, p.1–15, 2004.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O.R. Química de Alimentos de Fennema. Porto Alegre: Artmed, 2010.

FREITAS, A. A. REATIVIDADE QUÍMICA E FOTOQUÍMICA DE ANTOCIANINAS EM SISTEMAS ORGANIZADOS. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005.

FREITAS, V.; MATEUS, N. Chemical transformations of anthocyanins yielding a variety of colours (Review). *Environmental Chemistry Letters*, v. 4, p. 175–183, 2006.

Ferreira, Daneel; Slade, Desmond; Marais, Jannie P. J. Flavans and Proanthocyanidins. In: Andersen, Oyvind M.; Markham, Kenneth R. FLAVONOIDS Chemistry, Biochemistry and Applications. Editora: CRC Press, 2006. cap 11.

GUERGOLETTI, Karla Bigetti *et al.* In vitro fermentation of juçara pulp (*Euterpe edulis*) by human colonic microbiota. *Food Chemistry*, v. 196, p. 251–258, abr. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.048>>.

GUIMARAES, L. A. O. P.; SOUZA, R. G. PALMEIRA JUCARA: Palmeira jucara : patrimonio natural da Mata Atlantica no Espirito Santo/organizadores, Lorena Abdalla de Oliveira Prata Guimaraes e Roberta Guimaraes de Souza. – Vitória, ES : Incaper, 2017. 68 p.

GOTTILIEB, Otto Richard. Flavonol. In: Harboni, J. B.; Mabry, T. J.; Mabry, H. (Org.). The Flavonoids. Editora: Springer-Science+Business Media, B.Y., 1975. cap. 7.

HARBORNE, Jeffrey B; SAITO, Norio; DETONI, Claudia H. Anthocyanins of *Cephaelis*, *Cynomorium*, *Euterpe*, *Lavatera* and *Pinanga*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 22, n. 8, p. 835–836, dez. 1994. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0305197894900884>>.

HARBONE, Jeffrey B.; WILLIAMS, Christine A. Flavone and flavonol glycosides. In: Harboni, J. B.; Mabry, T. J.; Mabry, H. (Org.). The Flavonoids. Editora: Springer-Science+Business Media, B.Y., 1975. cap. 8.

Haslam, E. Natural proanthocyanidins. In: Harboni, J. B.; Mabry, T. J.; Mabry, H. (Org.). The Flavonoids. Editora: Springer-Science+Business Media, B.Y., 1975. cap. 10.

- HEINRICH, M.; DHANJI, T.; CASSELMAN, I. Acai (*Euterpe oleracea* Mart.) -A phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. *Phytochemistry Letters*, v. 4, p. 10–21, 2011.
- INADA, Kim Ohanna Pimenta *et al.* Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. *Journal of Functional Foods*, v. 17, p. 422–433, ago. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.002>>.
- ITO, Vivian Cristina *et al.* Effects of gamma radiation on the phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of apple pomace flour during storage using multivariate statistical techniques. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 33, p. 251–259, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.015>>.
- KANG, J.; THAKALI, K. M.; XIE, C.; KONDO, M.; TONG, Y.; OU, B.; JENSEN, G.; MEDINA, M. B.; SCHAUSS, A. G.; WU, X. Bioactives of acai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and antiinflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. *Food Chemistry*, v. 3, p. 671–677, 2012.
- LEONG, A. C. N.; LEONG, KINJO, Y.; TAKO, M.; IWASAKI, H.; OKU, H.; TAMAKI, H. Flavonoid glycosides in the shoot system of Okinawa Taumu (*Colocasia esculenta* S.). *Food Chemistry*, v. 119, n. 2, p. 630–635, 2010.
- LIMA, C. P.; CUNICO, M. M.; MIYAZAKI, C. M. S.; MIGUEL, O. G.; COCCO, L. C.; YAMAMOTO, C. I.; MIGUEL, M. D. Conteúdo polifenólico e atividade antioxidante dos frutos da palmeira Jucara (*Euterpe edulis* Martius). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 321-326, 2012.
- LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*). Sao Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006. 672p.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 79, p. 727-747, 2004.
- MARTINS, S. V.; LIMA, D. G. Cultura de Palmeiras I: Palmiteiro (*Euterpe edulis* Mart.). Vicosa: Editora UFV, 1999. 28p.
- MARTINS, S. V.; SOUZA, M. N. Palmiteiro-jucara (*Euterpe edulis* Mart.) – Produção de palmito e restauração florestal. Vicosa: Aprenda Fácil Editora, 2009. 107p.
- MENDOZA-WILSON, Ana María; CASTRO-ARREDONDO, Sergio Ivan; BALANDRÁN-QUINTANA, René Renato. Computational study of the structure-free radical scavenging relationship of procyanidins. *Food Chemistry*, v. 161, p. 155–161, 2014.
- MORAIS, Carina Almeida *et al.* Polyphenols-rich fruit in maternal diet modulates inflammatory markers and the gut microbiota and improves colonic expression of ZO-1 in offspring. *Food Research International*, v. 77, p. 186–193, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.043>>.

- NOGUEIRA, J. N. Palmito: producao, pre-processamento e transformacao agroindustrial. (Serie Extensao agroindustrial, 6). Piracicaba: Editora Grafica editora Hamburg. 1982. 66p.
- PAIM, Diego R S F *et al.* LWT - Food Science and Technology Microencapsulation of probiotic jussara (*Euterpe edulis M .*) juice by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, v. 74, p. 21–25, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.022>>.
- PICHERSKY, E.; GANG, D. R. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends in plant science*, v. 5, n. 10, 2000.
- REBELLO, Ligia Portugal Gomes *et al.* Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea×IAC 1398-21) using HPLC–DAD–ESI-MS/MS. *Food Research International*, v. 54, n. 1, p. 354– 366, nov. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.024>>.
- REIS, M. S.; CONTE, R.; FANTINI, A. C.; GUERRA, M. P. Extrativismo e Manejo de Populacoes Naturais do Palmito (*Euterpe edulis Martius*) na Mata Atlantica. In Simoes, L. L.; Lino, C. F. (Org.). Sustentavel Mata Atlantica: a exploracao de seus recursos naturais. Sao Paulo: Editora Senac, 2003. p. 103 – 116. Disponível em: <<<https://books.google.com.br/books?id=1F2cRtsYBMC&pg=PA103&dq=Euterpe+edulis+Martius&hl=pt-BR&sa=X&ei=ZzOrVPjLJoW7ogSW4YGYDQ&ved=0CCoQ6AEwAw#v=onepage&q=Euterpe%20edulis%20Martius&f=false>>> Acesso em: 06/11/2015.
- RIBEIRO, L. O.; MENDES, M. F.; PEREIRA, C. S. S. Avaliação da Composição Centesimal, Mineral e Teor de Antocianinas da Polpa de Juçai (*Euterpe edulis Martius*). Revista Eletrônica TECCEN, Vassouras, v. 4, n. 2, p. 5-16, 2011.
- RUFINO, Socorro M *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. v. 121, p. 996–1002, 2010.
- RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; SILVEIRA, M. R. S.; MOURA, C. F. H. Quality for fresh consumption and processing of some non-traditional tropical fruits from Brazil. *Fruits*, v. 64, p. 361–370, 2009.
- SANTOS, A. F.; CORREA-JUNIOR, C.; NEVES, E. J. M. Palmeiras para Producao de Palmito: Jucara, Pupunheira e Palmeira Real. Colombo: Embrapa Florestas, 2008. 188p.
- SCHULZ, Mayara *et al.* Chemical composition , bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis Martius*) during ripening. *Food Research International*, v. 77, p. 125–131, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.006>>.
- SERAGLIO, Siluana Katia Tischer *et al.* Development and validation of a LCESI- MS / MS method for the determination of phenolic compounds in honeydew honeys with the diluted-and-shoot approach. *Food Research International journal*, v. 87, p. 60–67, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.019>>.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Phenolics in food and nutraceuticals. Florida: CRC PRESS, 2004. Disponível em: <<
<https://books.google.com.br/books?id=vHOJKw4umikC&printsec=frontcover&dq=Food+Phenolics&hl=pt-BR&sa=X&ei=XFwHVYP1J4eeNv7ugoAE&ved=0CBwQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false>>> Acesso em: 27/03/2015.

SILVA, M. G. P. C.; BARRETTO, W. S.; SERÔDIO, M. H. Comparação nutricional da polpa dos frutos de juçara e de açaí. In: XVIII Congresso Brasileiro de Fruticultura. Florianópolis, Santa Catarina, 22 a 26 de novembro de 2004..Anais...CD ROOM, Florianópolis, SC, 2004.

SILVA, Paula Porrelli Guilherme Mei *et al.* PHYSICAL , CHEMICAL , AND LIPID COMPOSITION OF JUÇARA (*Euterpe edulis* MART.) PULP. *Brazilian Journal of Food & Nutrition*, v. 24, p. 7–13, 2013.

SILVA, Nathalia Azevedo Da *et al.* Phenolic Compounds and Carotenoids from Four Fruits Native from the Brazilian Atlantic Forest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 62, n. 22, p. 5072–5084, 4 jun. 2014. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf501211p>>.

STRINGHETA, P. C.; BOBBIO, P. A. Copigmentacao de antocianinas. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, v.14, p.34–37, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Metabolitos Secundarios e defesa vegetal. In Fisiologia vegetal. Tradução: Eliane Romanato Santarem *et al.* – 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TIWARI, U.; CUMMINS, E. Factors influencing levels of phytochemicals in selected fruit and vegetables during pre- and post-harvest food processing operations. *Food Research International*, v. 50, n. 2, p. 497–506, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.007>>.

UGAZ, O. L. S. Colorantes Naturales. Peru: Fondo editorial, 1997. Disponível em: <<
https://books.google.com.br/books?id=LjmH_3qjaEIC&pg=PA106&dq=antocianinas&hl=pt-BR&sa=X&ei=8vcRVYixHMPmsASAYI4&ved=0CDAQ6AEwBDgU#v=onepage&q=antocianinas&f=false>> Acesso em: 27/03/2015.

VIEIRA, Gláucia S *et al.* Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*). v. 119, p. 196–204, 2013.

WOLFE, Kelly L. *et al.* Cellular Antioxidant Activity of Common Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 8418–8426, 2008.

CAPÍTULO 2- IDENTIFICATION OF THE PHENOLIC COMPOUNDS OF JUSSARA (*Euterpe edulis Martius*) FROM THE ZONA DA MATA OF MINAS GERAIS/BRAZIL BY HPLC-DAD-ESI-MS/MS

Abstract: Jussara (Euterpe edulis Martius) is source of a number of classes of phenolic compounds, mainly anthocyanins. The composition of the fruit depicted in the literature has shown variations depending on the region where the plant was cultivated and the methodology used for identification. This study has identified, for the first time, the phenolic composition of Minas Gerais fruits using HPLC-DAD-MS/MS. Seventeen anthocyanins were detected in fruits derived from cyanidin, pelargonidin and peonidin. Among the non-anthocyanic phenolic compounds, flavonols (kaempferol, quercetin and isorhamnetin derivatives), hydroxycinnamic acids (derived from caffeic acid with quinic acid) and flavan-3-ols (catechin, epicatechin, B-type procyanidins and unknown dimers). Resveratrol in its glycosylated form has been identified. Thus, the jussara pulp was considered a potential source of several classes of phenolic compounds, and may have beneficial effects on health. The analytical methodology used (HPLC-DAD-MS/MS) permitted the identification of compounds that had not yet been reported in this fruit.

Keywords: Jussara fruit, Mass spectrometry, Anthocyanins, Flavonols, Hydroxycinnamic acid, Flavan-3-ol

1. INTRODUCTION

Jussara is the name of the *Euterpe edulis Mart.* fruit, a native palm tree of the Brazilian Atlantic Forest. It has a round shape (approximately 1 to 1.5 cm in diameter) and a thin layer of purple pulp and skin that surrounds its seed. After being harvested, the fruit should be macerated with water so that the mesocarp and epicarp can be separated from the seed, resulting in a consistent pulp (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; BORGES *et al.*, 2013). The consumption of fresh pulp and its use as an ingredient have been encouraged in recent years due to its high nutritional value (SCHULZ *et al.*, 2015).

This fruit is a source of lipids, proteins, carbohydrates, fiber, vitamin C, carotenoids and minerals such as potassium, calcium, phosphorus and magnesium. The concentration of these components will depend, among other factors, on the region where the plant is grown (BORGES *et al.*, 2013; CASTRO *et al.*, 2014; INADA *et al.*, 2015; SCHULZ *et al.*, 2015). Its energy value can vary from 83 kcal/ 100 g (Inada *et al.*, 2015) to 403 kcal/ 100 g (GUERGOLETTTO *et al.*, 2016). Nevertheless, the interest in jussara is especially due to its antioxidant compounds, such as phenolic compounds. These substances, when ingested by the human body, can eliminate free radicals, that is, molecules that harm biomolecules, becoming important in disease prevention (WOLFE *et al.*, 2008).

The main phenolic compounds of jussara are anthocyanins. Among them, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-rutinoside are present in higher concentration, being identified for the first time in this fruit by (HARBORNE; SAITO; DETONI, 1994). Minor anthocyanins were previously detected at lower concentrations, however, their type varies according to the region of the raw material origin. The cyanidin-3-sambubioside, pelargonidin-3-glucoside, pelargonidin-3-rutinoside and cyanidin-3-rhamnoside was detected in pulp from São Paulo (BRITO *et al.*, 2007). The cyanidin-3,5-diglucoside and glucoside and rutinoside of peonidin were first identified in jussara from Santa Catarina/Paraná (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014). Cyanidin-3,5-hexose pentose was detected in a pulp from São Paulo (SILVA *et al.*, 2014). The malvidin glycoside was first identified by Guergoletto *et al.*, (2016) in a pulp from Rolândia/Paraná.

Among the non-anthocyanin phenolic compounds of the *Euterpe edulis* fruit, it was detected phenolic acids, flavonols, flavones and flavan-3-ols (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; BORGES *et al.*, 2011; CASTRO *et al.*, 2014; INADA *et al.*, 2015;

SCHULZ *et al.*, 2015, 2017; SILVA *et al.*, 2014). Flavonols, flavones and flavan-3-ols, specifically, have not been studied in detail up to the present time. Thus, the papers are limited to indicate the group which the compound belongs without giving information on the structure of the molecules and their substituents.

Most of the published papers evaluated the jussara composition by high performance liquid chromatography coupled with a diode arrangement detector (HPLC-DAD). This technique compares the UV-VIS spectra and retention times of the compounds present in the extract with those of standards (SEERAM *et al.*, 2006). However, different secondary plant metabolites may have similar UV-VIS spectra or a chromatographic retention time, and it is impossible to distinguish them by using a DAD detector (REBELLO *et al.*, 2013). On the other hand, mass spectrometry provides the fragmentation pattern and m/z ratio of the compounds, making it possible to define the structure of the molecule by comparing it with data previously depicted in the literature (ARDREY, 2003; LOPES-DA-SILVA *et al.*, 2002).

Hence, this current study aimed to identify most of the phenolic compounds of the jussara cultivated in the Zona da Mata of Minas Gerais/Brazil using HPLC-DAD-MS/MS. This was the first work that characterized the phenolic composition of jussara fruits in this region.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Chemicals

The water used was of Milli-Q quality. The solvents used for chromatography were LC-MS grade. Cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3,5-diglucoside, procyanidins B1 and B2 and the flavonol aglycones kaempferol, quercetin and isorhamnetin and their respective 3-glucosides were obtained from Extrasynthese (Genay, France). Gallic acid, *trans*-resveratrol, (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin 3-gallate, and (-)-gallocatechin-3-gallate were obtained from Sigma (Tres Cantos, Madrid, Spain). Caffeic acid, *p*-coumaric acid, epigallocatechin, and (-)-gallocatechin were obtained from Phytolab (Vestenbergsgreuth, Germany).

2.2. Collecting and processing of fruits

Jussara fruits (*Euterpe edulis* Martius) were collected in Araponga/Minas Gerais (S20°41'06609" W042°32'12.001", 959 meters of altitude) during the harvest of 2015. The fruits were harvested in the last stage of ripeness, when their bark had a dark purple

color. The fruits were selected, washed and weighed. Then, they were sanitized with chlorinated water (200 mg/L of active chlorine) for 10 minutes and rinsed with chlorinated water (20 mg/L of active chlorine) for 5 minutes. After the sanitation, the fruits were immersed in hot water (40°C) for 15 minutes to soften the mesocarp. The pulp was carried out in a vertical depulper with addition of water (0.6 liters/ kg of fruit) (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014). The pulp was lyophilized and used to prepare the extracts.

2.3. Phenolic extract preparation

The extraction procedure was adapted from (REBELLO *et al.*, 2013). Approximately 0.1 grams of lyophilized pulp was extracted with 10 mL of a methanol/water/formic acid (50:48,5:1.5) mixture using ultrasonic nozzle (Brand Q sonic), with 80% amplitude, at 4°C for 3 minutes (every 30 seconds, a pause of 5 seconds). The extract was centrifuged (4200 g x 10 minutes) (Orci Alresa centrifuge, Digicen model) and the supernatant was filtered. The new residue was further extracted with 10 mL of methanol/water/formic acid, centrifuged and filtered. The two filtered ones were combined and mixed with hexane (10 mL) to remove the lipids. The hexane was separated from the methanolic extract through decantation. The methanolic extract was dried in a rotary evaporator (35°C) and its volume was made up to 25 mL, in a volumetric flask, with milli-Q water. This extract was used for the analysis of anthocyanins and non-anthocyanic phenolic compounds by high performance liquid chromatography with diode array detector, coupled with an ion trap mass spectrometry detector having a electrospray ionization system (HPLC-DAD-ESI-MS/MS).

2.4. Determination of anthocyanins by HPLC-DAD-ESI-MS-MS

For the analysis of anthocyanins, the fresh extract was filtered with polyester membranes (0.20 µm, Chromafil PET 20/25, Machery-Nagel, Düren, Germany) and 10 µl were injected on a Ascentis Express column C18 (2.1 X 150 mm , 2.7 µm particle, Sigma-Aldrich). The flow rate was 0.22 mL/min and the solvents were A (water/ formic acid/ acetonitrile, 88.5:8.5:3, v/v/v) and B (water/ formic acid/ acetonitrile, 41.5:8.5:50, v/v/v). The solvents were eluted in gradient: zero minute, 98% A and 2% B; 15 minutes, 85% A and 15% B; 20 minutes, 70% A and 30% B; 25 minutes 100% B; 29 minutes, 100% B; and 35 minutes, 98% A and 2% B. The Ion Trap ESI-MS/MS detector was

used in positive ion mode for identification and the chromatograms at 520 nm were used for quantification. The methodology was adapted from Rebello et al., (2013)

2.5. Determination of flavonols and hydroxycinnamic acid derivatives by HPLC-DAD-ESI-MS-MS

The non-anthocyanin phenolic compounds were isolated from fresh extract using SPE cartridges (40 μ m, 500 mg, 6 mL, Agilent, Bond Elut Plexa PCX). Firstly, the cartridges were conditioned with 5 mL of methanol and 5 mL of water. After, 10 mL of jussara extracts, diluted with 10 mL of HCl 0.1 N, were passed through the SPE cartridges. The cartridges were washed with 5 mL of HCl 0.1 N acid and 5 mL of water. Then, the purified fraction (without anthocyanin) was recovered with 2 x 3 mL ethanol. This fraction was concentrated until completely dry in a rotary evaporator at 35 °C, resuspended with 1 mL of 20% methanol solution and 20 μ L were injected onto the HPLC equipment (CASTILLO-MUÑOZ *et al.*, 2007; REBELLO *et al.*, 2013).

The column used was ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 x 150 mm, 3.5 μ m). Flow rate was 0.19 mL/minutes. The solvents A (water/ formic acid/ acetonitrile, 88.5:8.5:3, v/v/v), B (water/ formic acid/ acetonitrile, 41.5:8.5:50, v/v/v) and C (water/ formic acid/ methanol, 1.5:8.5:90, v/v/v) was eluted in gradient: zero minute, 96% A e 4% B; 10 minutes, 96% A e 4% B; 60 minutes, 70% A, 15% B e 15% C; 61 minutes, 50% A, 25 % B e 25% C; 65 minutes, 50% B e 50% C; 68 minutes, 50% B e 50% C; e 74 minutes, 96% A e 4% B. The Ion Trap ESI-MS/MS detector was used in positive ion mode for identification (CASTILLO-MUÑOZ *et al.*, 2009; REBELLO *et al.*, 2013).

2.6. Determination of flavan-3-ols and resveratrol by HPLC-DAD-ESI-MS/MS

SPE C18 cartridges (Waters sep-Pak C18 cartridges) were conditioned with 10 mL of ethyl acetate, 10 mL of methanol and 10 mL of milli-Q water. Then, 10 mL of the fresh extract passed through the cartridge. The cartridges were then washed with 3 x 5 mL of methanol, 5 mL of ethyl acetate, fully dried by passing air and the eluate dried in a rotary evaporator at 35°C. The dried residue was re-dissolved in 2 mL of methanol (REBELLO *et al.*, 2013).

The chromatographic conditions were performed according to Rebello et al. (2013). The analysis was performed using an Agilent 1200 series system equipped with DAD (Agilent, Germany), and coupled to an AB Sciex 3200 Q TRAP (Applied Biosystems) electrospray ionization mass spectrometry system (ESI-MS/MS). The

column used was reversed-phase column Agilent Eclipse XDB-C18 (2.1 × 150 mm; 3.5 µm particle; Agilent, Germany), thermostated at 16 °C. Flow rate was 0.1 mL/min and the injection volume was 10 µL. The solvents A (water/methanol/formic acid, 97:2:1, v/v/v) and B (methanol) was eluted in gradient: 0 min, 5% B; 2 min, 5% B; 25 min, 30% B; 40 min, 55% B; 50 min, 65% B; 55 min, 95% B; 65 min, 95% B; 70 min, 5% B; and 80 min, 5% B. The following standards were used: the flavan-3-ol monomers and dimers (+)-catechin monomers, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, (-)-gallocatechin, (-)-epicatechin-3-gallate and procyanidins (B1, B2 and B4); and resveratrol isomers and resveratrol-3-glucosides.

2.7. Determination of hydrolysable tannins by HPLC-DAD-ESI-MS/MS

The level of gallotannins and ellagitannins was determined following a modification of the method of Peng, Scalbert, & Monties, (1991). The anthocyanin-free extract (the same extract used for flavonols determination) (300 µL) was mixed with methanol (2100 µL) and HCl at 37% (600 µL) in a sealed test tube. The mixture was heated in boiling water for a total of 2 hours for hydrolysis of the sample. Finally, the tube was cooled in cold water and 3 mL of Milli-Q water were added to the sample tube. Polyester membrane (0.20 µm, PET Chromafil 20/25, Machery-Nagel, Düren, Germany) was used to filter the homogenized mixture prior to their injection onto the HPLC.

The hydrolyzed sample (50 µl) was injected onto a ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 x 150 mm, 3.5µm). The flow rate was 0.1 mL/minute. The mobile phases were: A (97% water/ 2% methanol/ 1% formic acid) and B (100% methanol). The gradient of solvent B used was 0 min, 5%; 2 min, 5%; 25 min, 30%; 40 min, 55%; 50 min, 65%; 55 min, 95%; 70 min, 5% and 80 min, 5%. The identification was based on spectroscopic data (UV-vis and MS/MS) obtained from authentic standards.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Identification of anthocyanins from jussara pulp

Seventeen anthocyanins were detected in the jussara fruit from Minas Gerais/Brazil. Figure 1 shows the HPLC-DAD chromatogram (520 nm) of the jussara extracts. The mono-substituted anthocyanins in the 3-position of the oxygenated heterocyclic (ring C) correspond to 14 of the compounds found, being predominant in

the jussara pulp. Besides, 1 anthocyanin 3,5-disubstituted and 2 compounds that could not be identified with current data (peaks 13 and 14) were detected. Table 1 shows the retention time and mass spectra (MS and MS/MS) of the detected compounds.

Table 4- Anthocyanins of jussara fruits from Araçá/MG/Brasil

Peak	R _t (min)	λ _{max} (nm)	[M] ⁺ (m/z)	MS/MS (m/z)	Nomenclature*
1	6.21	294, 508	611	449/287	cy-3,5-diglc
2	8.32	279, 515	449	287	cy-3-gal
3	8.50	279, 515	611	287	cy-3-soph
4	10.31	280, 514	449	287	cy-3-glc
A	10.60	280, 514	581	449/287	cy-3-pentgal
B	11.00	280, 514	595	449/287	cy-3-rhmgal
C	11.10	280, 514	581	449/287	cy-3-pentglc
5	12.75	281, 516	595	449/287	cy-3-rhmglc
6	13.39	281, 516	433	271	pg-3-glc
7	16.06	-	579	433/271	pg-3-rhmglc
8	16.16	-	433	287	cy-3- <i>cis</i> -rhm
9	16.50	-	463	301	pn-3-glc
10	16.81	-	419	287	cy-3-pent
11	18.67	272, 517	609	463/301	pn-3-rhmglc
12	22.13	280, 519	433	287	cy-3- <i>trans</i> -rhm
13	24.66	287, 527	547	385	385-glc
14	24.92	-	693	547/385	385-rhmglc

*Abbreviations of the nomenclature: cy, cyanidin; pg, pelargonidin; pn, peonidin; diglc, diglucoside; gal, galactoside; soph, sophoroside; glc, glucoside; pent, pentoside; rhm, rhamnoside.

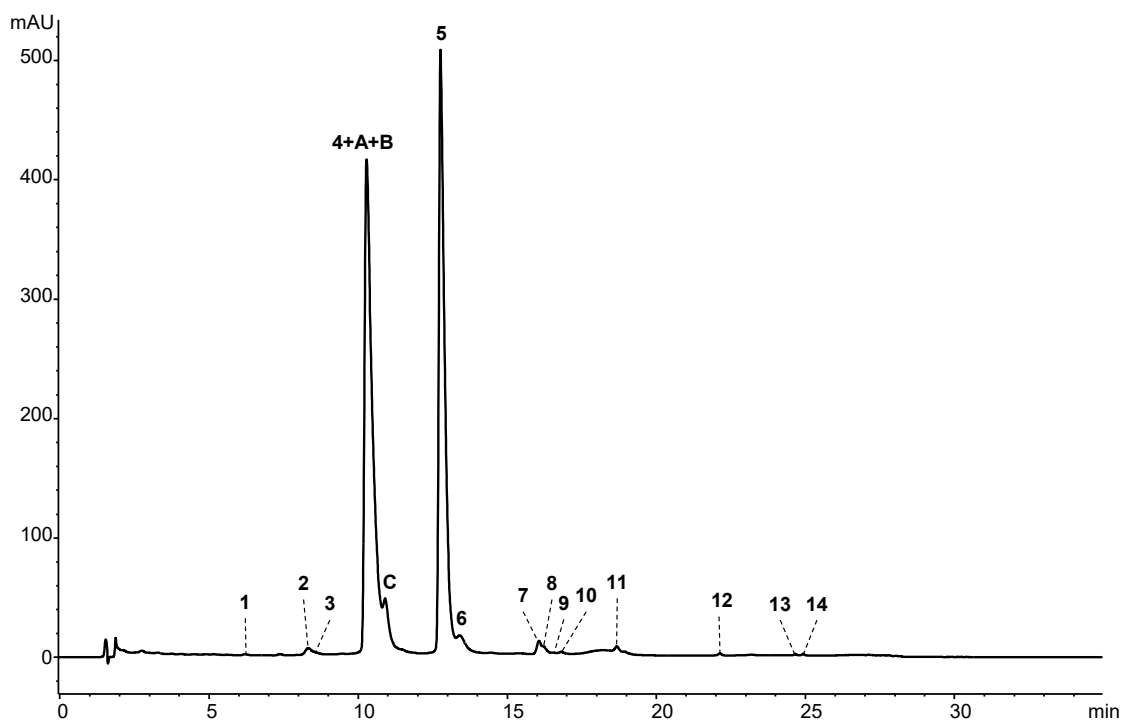


Figure 1. Chromatogram HPLC-DAD (520 nm) for the anthocyanins from jussara. Peaks indicated in the Table 1.

The qualitative analysis of the anthocyanins, including those co-eluting under the chromatographic conditions used, was possible by comparing data from MS and MS/MS spectra with those obtained from standards or reported previously. It was found that cyanidin (cy), pelargonidin (pg) and peonidin (pn) structures were detected by MS/MS spectra (m/z 287, 271 and 301, respectively) (BRITO *et al.*, 2007; REBELLO *et al.*, 2013). GUERGOLETTO *et al.* (2016) also reported the presence of malvidin-3-glucoside (mv-3-glc) in jussara pulp, from Paraná, using HPLC-DAD. However, it is not explained how they do the identification of anthocyanin compounds.

The cyanidin is the major aglycone in the jussara, for this anthocyanidin was found the 3-glucoside (3-glyc), 3-galactoside (3-gal), 3-sophoroside (3-soph), 3-rhamnosylglucoside (3-rhmglc), 3-pentosylgalactoside (3-pentgal), 3-rhamnosylgalactoside (3-rhmgal), 3-*cis*-rhamnoside (3-*cis*-rhm), 3-pentidoside (3-pent), 3-*trans*-rhamnoside (3-*trans*-rhm) and 3,5-diglucoside (3,5-diglc). The 3-glc and 3-rhmglc were also detected for pelargonidin (pg) and peonidin (pn), minor aglycones in the jussara fruit.

The differentiation between cy-3-gal (peak 2) and cy-3-glc (peak 4), which have similar MS/MS spectra, was performed through the pattern injection of both compounds

and checking their retention times. It was verified that cy-3-gal eluted before cy-3-glu. Based on this, it was attributed that the galactosylated residues elute before the glucosylated residues, so 3-pentgal and 3-rhmgal were differentiated from 3-pentglc and 3-rhmglc, respectively.

The MS/MS spectra for compounds A and C show the loss of the pentosyl residue (-132 m.u.) and a residue of m/z 162, relative to galactose (TRUCHADO; FERRERES; TOMAS-BARBERAN, 2009) and glucose, respectively. Compounds 5, 7 and 11 lose a residue of rhamnose (-146 m.u.) and glucose (-162 m.u.), suggesting the presence of 3-rhmglc of cyanidin, pelargonidin and peonidin (RUIZ *et al.*, 2013). The cyanidin-3-rhmglc (peak 5) had its retention time confirmed by a commercial standard.

The peak B has the same fragmentation pattern of the cyanidin-3-rhmglc, both exhibiting the molecular ion of m/z 595 and a loss of rhamnose (-146 m.u.) followed by a loss of m/z 162 m.u., but it elutes before the cy-3-rhmglc, thus it was identified as cy-3-rhmgal.

Peaks 8 and 12 have molecular ion m/z 433 and MS/MS fragmentation with signal at m/z 287, based on this they were identified as two isomers of cyanidin-3-rhamnoside (SILVA *et al.*, 2014). The data of MS and MS/MS suggest that compound 10 is the cy-3-pent, since the molecular ion and products of fragmentation have m/z signals 419 and 287, respectively, being compatible with those found in the literature (DALL'ASTA *et al.*, 2012). The cyanidin-3,5-diglycoside (peak 1) and cyanidin-3-sophoroside (peak 3) had their mass spectra (MS and MS/MS) and retention times compared to those of commercial standards.

The compounds 1, 4, 5, 6, 7, 8, 9 and 11 had already been reported in previous works in *Euterpe edulis* pulp from São Paulo and Paraná (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; BRITO *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2014). However, until now it has not been found yet in the literature the presence of compounds 2, 3, A, B, C, 10, 12, 13 and 14 in jussara pulp. In this work, it was obtained spectroscopic evidence of these compounds in *Euterpe edulis* from Minas Gerais.

3.2. Identification of flavonols from jussara pulp

It was identified 12 compounds derived from kaempferol (k), quercetin (q) and isorhamnetin (i) by MS/MS spectra (m/z values 303, 287 and 317, respectively). The

retention time data and mass spectra (MS and MS/MS) are summarized in the Table 2. Figure 2 shows the 360 nm HPLC-DAD chromatogram of the purified jussara extracts.

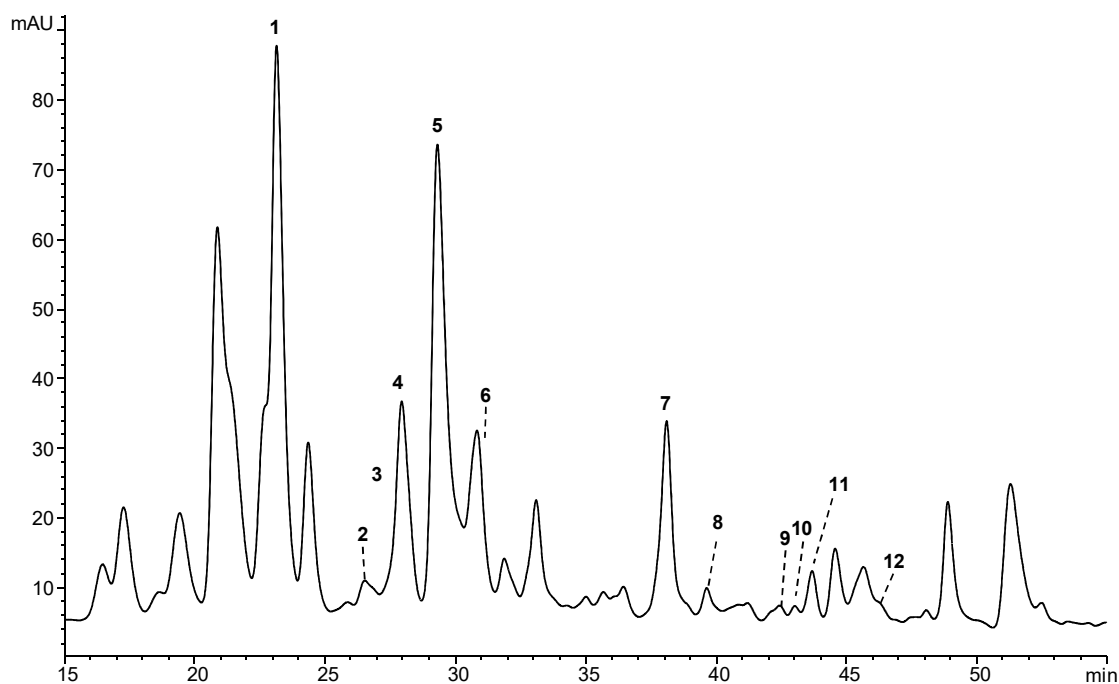


Figura 2 – Cromatograma HPLC – DAD (360 nm) for the anthocyanins from jussara. Peaks indicated in the Table 2.

Table 5- Flavonols of jussara fruits from Araçá/MG/Brasil

Peak	Nomenclature*	R _t (min)	[M] ⁺ (m/z)	MS/MS (m/z)
1	q-3-gal	23.2	465	303
2	q-3-glc	26.6	465	303
3	k-3-gal	27.1	449	287
4	q-3-rhmglc	27.9	611	465/303
5	k-3-glc	29.3	449	287
6	q-3-(6''-mal)-glc	30.9	551	303
7	k-3-rhmglc	38.1	595	449/287
8	i-3-gal	39.7	479	317
9	i-3-glc	42.5	479	317
10	k-3-(6''-mal)-glc	43.0	535	287
11	i-3-rhmglc	43.8	625	317
12	k-3-(2''-mal)-glc	46.5	535	449/287

*q-3-gal, quercetin-3-galactoside; q-3-glc, quercetin-3-glucoside; q-3-rhmglc, quercetin-3-(6''-rhamnosyl)-glucoside; q-3-(6''-mal)-glc, quercetin-3-(6''-malonyl)-glucoside; k-3-glc, kaempferol-3-glucoside; k-3-(6''-mal)-glc, kaempferol-3-(6''-malonyl)-glucoside; k-3-(2''-mal)-glc, kaempferol-3-(2''-malonyl)-glucoside; k-3-rhmglc, kaempferol-3-(6''-rhamnosyl)-glucoside; i-3-gal, isorhamnetin-3-galactoside; i-3-glc, isorhamnetin-3-glucoside; i-3-rhmglc, isorhamnetin-3-(6''-rhamnosyl)-glucoside.

The kaempferol derivatives are predominant in the jussara samples. It was detected 3-galactoside, 3-glucoside, 3-(6''-malonyl)-glucoside, 3-(2''-malonyl)-glucoside and 3-(6''-rhamnosyl)-glucoside of kaempferol. Among the derivatives of quercetin, 3-galactoside, 3-glucoside, 3-(6''-rhamnosyl)-glucoside and 3-(6''-malonyl)-glucoside. Three isorhamnetin derivatives were observed, the isorhamnetin-3-galactoside, isorhamnetin-3-glucoside, isorhamnetin-3-(6''-rhamnosyl)-glucoside. The flavonols confirmation was performed using MS and MS/MS spectrometric data from the literature and commercial standards.

The presence of k-3-gal (peak 3), k-3-glc (peak 5) and k-3-rhmglc (peak 7) were confirmed by comparing the retention times and MS/MS and UV spectra with those from standards. Besides both compounds, galactoside and glucoside, have or presented the same mass spectrum with molecular ion of m/z 449 and loss of 162 m.u., they can be identified since their retention times are different. The k-3-rhmglc has a molecular ion with m/z signal of 595 and fragmentation products with m/z signals of 449 and 287. Peaks 9 and 11 present molecular ion of m/z 535 with loss of 248 m.u., implying to correspond to malonyl-glucoside of kaempferol (CARAZZONE *et al.*, 2013), the relative abundance of their fragments allowed their assignment.

Peaks 1, 2, 4 and 6 were identified as q-3-gal, q-3-glc, q-3-rhmglc and q-3-(6''-mal)-glc based on comparing their retention times and MS/MS spectra with those of standard. The isorhamnetin derivatives are the minor in the purified extracts of jussara. The i-3-glc (peak 9) and i-3-rhmglc (peak 11) were identified by comparing their retention times and MS/MS spectra with commercial standards. The i-3-gal (peak 8) had its mass spectrum compared with data from the literature.

The flavonols of the *Euterpe edulis* fruit had not been studied until now. Some research point the presence of rutin, free quercetin, kaempferol and myricetin (BORGES *et al.*, 2011, 2013; GUERGOLETTI *et al.*, 2016; SCHULZ *et al.*, 2015). The presence of free myricetin observed by Schulz *et al.*, (2015) in fruits from Santa Catarina, was not confirmed in the present study due to absence of the MS spectrum of m/z values equal to 319. In this paper, it was identified the presence of 11 flavonols in the jussara pulp from Minas Gerais that had not yet been described in the literature for this fruit.

3.3. Identification of hydroxycinnamic derivatives

Figure 3 shows the chromatogram HPLC-DAD and mass spectra for the hydroxycinnamic acid derivatives.

It is observed in Figure 3 that only caffeic acid and quinic acid derivatives are detected due to the presence of well-defined spectral peaks with m/z 353 (Figure 3-B). In this chromatogram the presence of 4 peaks with retention times of 3.2, 4.1, 4.8 and 7.0 minutes is observed, and their mass spectra are shown in the Figure 4.

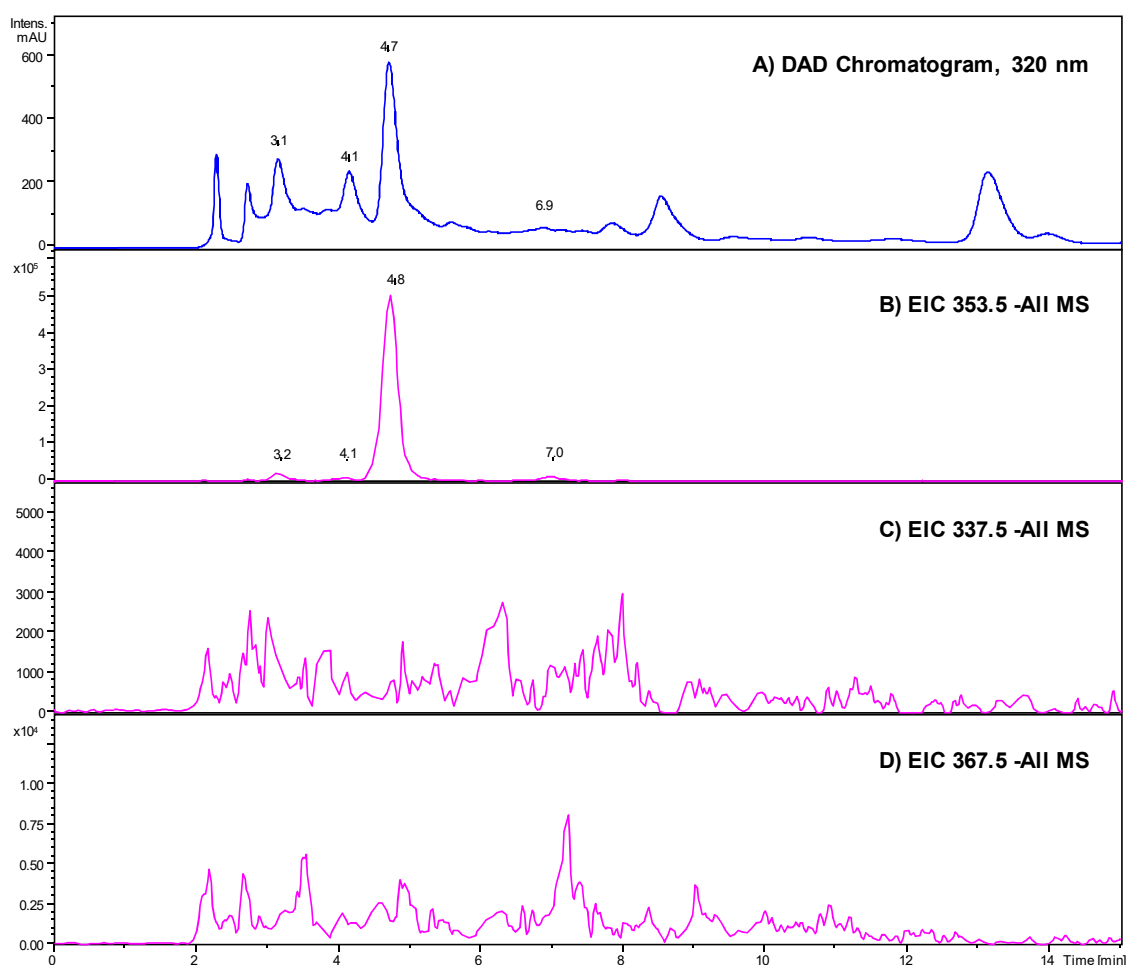


Figure 3 - HPLC-DAD Chromatograms and mass spectra for hydroxycinnamic acid derivatives. Chromatogram HPLC-DAD (320 nm) (A) and mass spectra of hydroxycinnamic acids derived from caffeic acid with quinic acid (B), coumaric acid with quinic acid (C) and ferulic acid with quinic acid (D).

The parent ion of m/z 353 indicates the presence of caffeic acid derivatives with quinic acid, the differentiation between its isomers was performed according to the methodology of chlorogenic acid identification proposed by Clifford, Johnston, Knight, & Kuhnert, (2003). In the Figure 4.a the base peak has m/z 197.7 and the secondary

peak 178.9, with 37.85% relative intensity, suggesting that this isomer is the 3-*trans*-caffeoyl-quinic acid. When the base peak shows m/z of 172.8 (Figure 4.b), the presence of 4-*trans*-caffeoyl-quinic acid is suggested. Fig. 4.c and Fig. 4.d show base peaks of m/z 190.8 and 190.7 and a low intensity a m/z 278.9 signal, corresponding to the 5-*trans*-caffeoyl-quinic acid isomers (c) and 5-*cis*-caffeoyl-quinic acid, respectively.

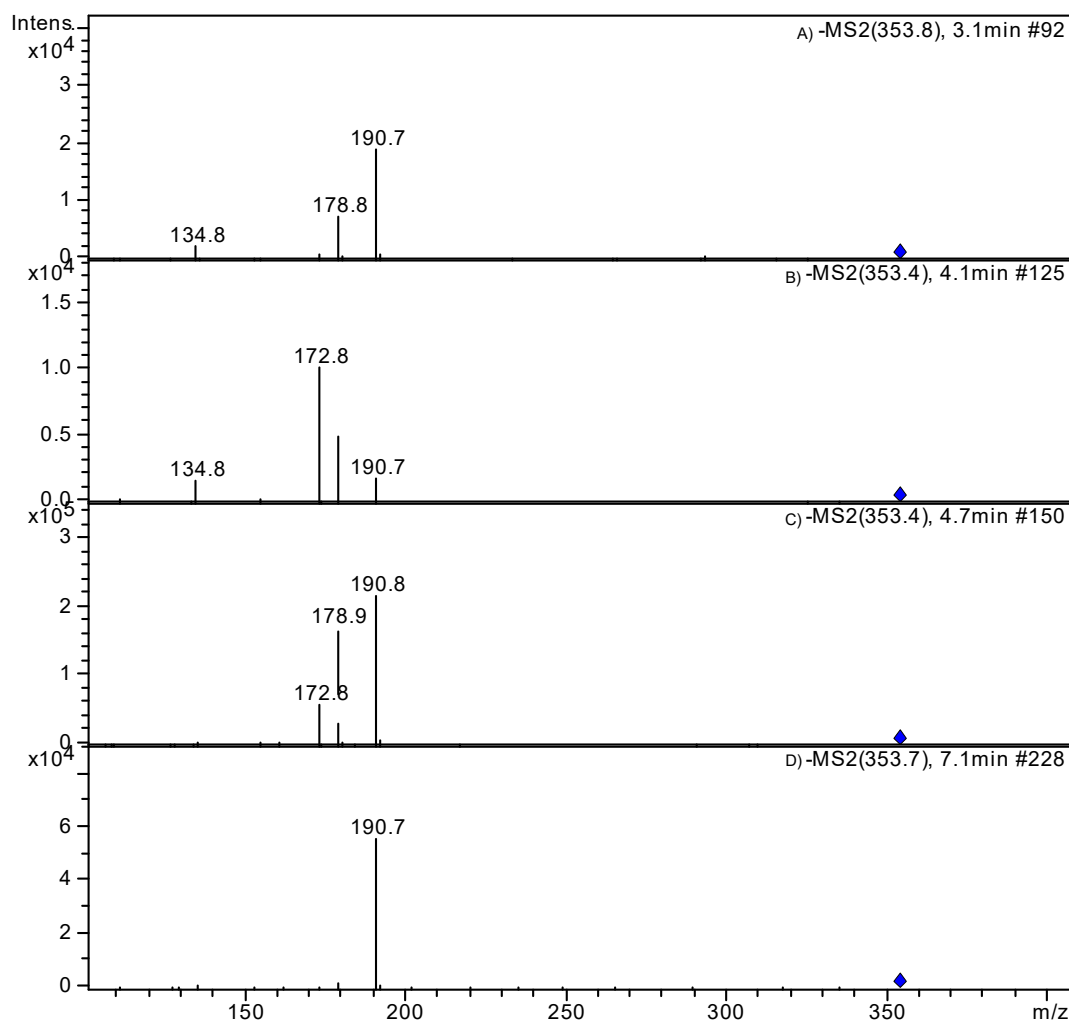


Figure 4 - Mass spectra of the hydroxycinnamic acids derived from caffeic acid with quinic acid: 3-*trans*-caffeoyl-quinic acid (A), 4-*trans*-caffeoyl-quinic acid (B), 5-*trans*-caffeoyl-quinic acid (C) and 5-*cis*-caffeoyl-quinic acid (D).

Among the chlorogenic acid derivatives, the 5-*trans*-caffeoyl-quinic acid (chlorogenic acid) is the only one reported previously in the literature for the fruit of jussara from Paraná (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014) and Santa Catarina (BORGES *et al.*, 2013). Other hydroxycinnamic acids found in the literature and reported in the literature were ferulic acid, *p*-coumaric acid and free-caffeic acid (BICUDO; RIBANI;

BETA, 2014; BORGES *et al.*, 2011, 2013; GUERGOLETTTO *et al.*, 2016; INADA *et al.*, 2015; SCHULZ *et al.*, 2015).

3.4. Identification of monomers and dimers of flavan-3-ols and resveratrol

It was found two monomers and 8 dimers of flavan-3-ols, as well as 2 resveratrol glucosides in the jussara pulp of Minas Gerais (Table 3). The identification of the compounds was performed by comparing the retention times and mass spectra with those of commercial standards.

Table 6- Monomers and dimers of flavan-3-ols and resveratrol of the jussara from Araponga/MG/Brasil

Compound	R _t (min)	[M] ⁻ (m/z)	MS2(m/z)
Catequina	25.60	289	164, 137
Epicatequina	32.64	289	164, 137
PB1	21.80	577	425; 407
PB2	27.40	577	425; 407
PB4	23.10	577	425; 407
Dímero	20.43	577	425; 407
Dímero	26.10	577	425; 407
Dímero	30.80	577	425; 407
Dímero	32.00	577	425; 407
Dímero	38.30	577	425; 407
<i>trans</i> -resveratrol-3-O-glucoside	38.25	389	227; 185
<i>cis</i> -resveratrol-3-O-glucoside	43.80	389	227; 185

Monomers are represented only by catechin and epicatechin (M-H *m/z* 289 and MS/MS *m/z* 164 and 137). The signal *m/z* 289 in negative ion mode indicates the presence of flavan-3-ols monomers (MONAGAS *et al.*, 2003), the fragments *m/z* 164 and 137 may be due to fission in the heterocyclic ring and fission retro-Diels-Alder, respectively (FLAMINI; TRALDI, 2009).

Mass spectra (M-H *m/z* 577) confirm the presence of B-type procyanidins (PB1, PB2 and PB4) and other (epi) catechin dimers which could not have their structures defined with the current data. These compounds fragmented under MS/MS conditions releasing the ions of *m/z* 425 and 407. The first fragment results from the loss of ring B by retro-Diel-Alder fission of the upper unit and the second fragment by a subsequent loss of water (DI LECCE *et al.*, 2014; FRIEDRICH, EBERHARDT, & GALENSA, 2000; MONAGAS *et al.*, 2003; BAROFSK, 1989). Catechin and epicatechin were identified in fruit of Santa Catarina jussara (BORGES *et al.*, 2011). The dimers of flavan-3-ols had not been reported in jussara fruits until now.

Resveratrol glucosides (*cis* and *trans*) were confirmed because of the presence of the deprotonated molecular ion of m/z 389 with fragments of m/z 227 and 185. The first fragment is caused by the loss of one molecule of glucose [M-162] - and the second fragment by the subsequent loss of a C₂OH₂ group [M-162- C₂OH₂]⁻ (BUIARELLI *et al.*, 2007). Resveratrol in its free form had already been identified in jussara by Schulz *et al.*, (2015), but its glucosides had not yet been reported.

3.5. Hydrolyzable tannins by HPLC-DAD-ESI-MS/MS

It was not found any research on the determination of hydrolysable tannins in *Euterpe edulis* to date; therefore, this is the first work that has verified the occurrence of this group of compounds in this fruit. The hydrolyzable tannins are a group of compounds formed by a sugar molecule esterified with gallic acids or their derivatives (HARTZFELD *et al.*, 2002). Under the hydrolysis conditions described in item 2.6, the hydrolyzable tannins release gallic acid and ellagic acid. In the presence of methanol, gallic acid is presented in its esterified form (methyl gallate) (LEI; JERVIS; HELM, 2001).

It was not found any hydrolysable tannins in the jussara samples. It is observed that gallic acid (in its esterified form) elutes at 26.805 min and ellagic acid elutes at 51.632 min. No peaks are observed at these times for the hydrolyzed sample; in other words, these substances are not present in the sample. This fact was proven with co-injections of the sample mixed with the standards. Besides the UV-Visible spectra, the MS/MS spectra were analyzed, in which no m/z 183 and 301 ions were detected, which would indicate the presence of methyl gallate and ellagic acid, respectively.

4. CONCLUSION

The detailed phenolic composition of the jussara from Zona da Mata of Minas Gerais was studied by high performance liquid chromatography coupled with a mass spectrometer. The analytical methodology used allowed the identification of compounds that had not yet been reported in this fruit.

The anthocyanins identified in the jussara were derivatives of cyanidin, peonidin and pelargonidin. Pentosides, galactosides, sophorosides of cyanidin, cyanidin-3-pentosylgalactoside and cyanidin-3-pentosylglucoside were first described in the literature for this fruit. The flavonols had not been well described in the literature until the present moment. It was detected in this study the presence of kaempferol, quercetin

and isorhamnetin derivatives. Four hydroxycinnamic acids derived from chlorogenic acid were identified for the first time in jussara. Catechin, epicatechin, procyanidins B1, B2 and B3 and 4 unknown dimers correspond to the detected flavan-3-ols. Resveratrol was found in its glucosylated form. At last, no hydrolysable tannins were found in the jussara samples. Because of that, jussara pulp from Minas Gerais has proved to be a potential source of several classes of phenolic compounds, and may have beneficial health effects when consumed fresh or as an ingredient of processed food.

5. REFERENCES

ARDREY, Robert E. *Liquid Chromatography – Mass Spectrometry: An Introduction*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2003. v. 1. Disponível em: <<http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=f1QiHP3wsAcC&pgis=1>>. (Analytical Techniques in the Sciences (AnTS)).

BAROFSKY, Douglas F. FAB-MS Applications in the Elucidation of Proanthocyanidin Structures. In: HRMINGWAY, Richard W.; KARCHESY, Joseph J (Org). *Chemistry and Significance of Condensed Tannins*. Editora: Plenum Press, 1989. cap. 11.

BICUDO, Milene Oliveira Pereira; RIBANI, Rosemary Hoffmann; BETA, Trust. Anthocyanins, Phenolic Acids and Antioxidant Properties of Juçara Fruits (*Euterpe edulis* M.) Along the On-tree Ripening Process. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 69, n. 2, p. 142–147, 26 jun. 2014. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11130-014-0406-0>>.

BORGES, Graciele Da Silva Campelo *et al.* Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. *Food Research International*, v. 44, n. 7, p. 2128–2133, ago. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.006>>.

BORGES, Graciele Da Silva Campelo *et al.* Protective effect of *Euterpe edulis* M. on Vero cell culture and antioxidant evaluation based on phenolic composition using HPLC–ESI-MS/MS. *Food Research International*, v. 51, n. 1, p. 363–369, abr. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.035>>.

BRITO, Edy Sousa De *et al.* Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, n. 23, p. 9389–9394, nov. 2007. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0715020>>.

BUIARELLI, Francesca *et al.* Analysis of some stilbenes in Italian wines by liquid chromatography / tandem mass spectrometry. *RAPID COMMUNICATIONS IN MASS SPECTROMETRY*, v. 21, p. 2955–2964, 2007.

CARAZZONE, Chiara *et al.* Identification of phenolic constituents in red chicory salads (*Cichorium intybus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, v. 138, n. 2–3, p. 1062–1071, jun. 2013. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.060>>.

CASTILLO-MUÑOZ, Noelia *et al.* Flavonol 3- O -Glycosides Series of *Vitis vinifera* Cv. Petit Verdot Red Wine Grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, n. 1, p. 209–219, 2009. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf802863g>>.

CASTILLO-MUÑOZ, Noelia *et al.* Flavonol Profiles of *Vitis vinifera* Red Grapes and Their Single-Cultivar Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, n. 3, p. 992–1002, fev. 2007. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf062800k>>.

CASTRO, Cynthia Aparecida De *et al.* Aerobic exercise and not a diet supplemented with jussara açai (*Euterpe edulis* Martius) alters hepatic oxidative and inflammatory biomarkers in ApoE-deficient mice. *British Journal of Nutrition*, v. 112, n. 3, p. 285–294, 19 ago. 2014. Disponível em: <http://www.journals.cambridge.org/abstract_S000711451400083X>.

CLIFFORD, Michael N *et al.* Hierarchical Scheme for LC-MSn Identification of Chlorogenic Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, n. 1, p. 2900–2911, 2003.

DALL'ASTA, Margherita *et al.* Identification of microbial metabolites derived from in vitro fecal fermentation of different polyphenolic food sources. *Nutrition*, v. 28, n. 2, p. 197–203, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2011.06.005>>.

DI LECCE, Giuseppe *et al.* Phenolic profiling of the skin, pulp and seeds of Albariño grapes using hybrid quadrupole time-of-flight and triple-quadrupole mass spectrometry. *Food Chemistry*, v. 145, p. 874–882, fev. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.115>>.

FLAMINI, Riccardo; TRALDI, Pietro. *Mass Spectrometry in Grape and Wine Chemistry*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2009. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/9780470552926>>.

FRIEDRICH, Wolfgang; EBERHARDT, Annett; GALENSA, Rudolf. Investigation of proanthocyanidins by HPLC with electrospray ionization mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, v. 211, n. 1, p. 56–64, 5 jun. 2000. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s002170050589>>.

GUERGOLETTI, Karla Bigetti *et al.* In vitro fermentation of juçara pulp (*Euterpe edulis*) by human colonic microbiota. *Food Chemistry*, v. 196, p. 251–258, abr. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.048>>.

HARBORNE, Jeffrey B; SAITO, Norio; DETONI, Claudia H. Anthocyanins of *Cephaelis*, *Cynomorium*, *Euterpe*, *Lavatera* and *Pinanga*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 22, n. 8, p. 835–836, dez. 1994. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0305197894900884>>.

HARTZFELD, Paul W. *et al.* Determination of Hydrolyzable Tannins (Gallotannins and Ellagitannins) after Reaction with Potassium Iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, n. 7, p. 1785–1790, mar. 2002. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0111155>>.

INADA, Kim Ohanna Pimenta *et al.* Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. *Journal of Functional Foods*, v. 17, p. 422–433, ago. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.002>>.

LEI, Zhentian; JERVIS, Judith; HELM, Richard F. Use of Methanolysis for the Determination of Total Ellagic and Gallic Acid Contents of Wood and Food Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, n. 3, p. 1165–1168, mar. 2001. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf000974a>>.

LOPES-DA-SILVA, Fátima *et al.* Identification of anthocyanin pigments in strawberry (cv Camarosa) by LC using DAD and ESI-MS detection. *European Food Research and Technology*, v. 214, n. 3, p. 248–253, 7 mar. 2002. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00217-001-0434-5>>.

MONAGAS, Maria *et al.* Monomeric , Oligomeric , and Polymeric Flavan-3-ol Composition of Wines and Grapes from *Vitis*. *Journal Agricultural of Food Chemistry*, v. 51, n. November, p. 6475–6481, 2003.

PENG, Shuyun; SCALBERT, Augustin; MONTIES, Bernard. Insoluble ellagitannins in *Castanea sativa* and *Quercus petraea* woods. *Phytochemistry*, v. 30, n. 3, p. 775–778, jan. 1991. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0031942291852504>>.

REBELLO, Ligia Portugal Gomes *et al.* Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea×IAC 1398-21) using HPLC–DAD–ESI-MS/MS. *Food Research International*, v. 54, n. 1, p. 354–366, nov. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.024>>.

SCHULZ, Mayara *et al.* Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, v. 228, p. 447–454, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.038>>.

SCHULZ, Mayara *et al.* Chemical composition , bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. *Food Research International*, v. 77, p. 125–131, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.006>>.

SEERAM, Navindra P *et al.* Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. *Food Chemistry*, v. 97, n. 1, p. 1–11, jul. 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814605002682>>.

SILVA, Nathalia Azevedo da *et al.* Phenolic Compounds and Carotenoids from Four Fruits Native from the Brazilian Atlantic Forest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 62, n. 22, p. 5072–5084, 4 jun. 2014. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf501211p>>.

TRUCHADO, Pilar; FERRERES, Federico; TOMAS-BARBERAN, Francisco A. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry reveals the widespread occurrence of flavonoid glycosides in honey, and their potential as floral origin markers. *Journal of Chromatography A*, v. 1216, n. 43, p. 7241–7248, out. 2009. Disponível em:

<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967309011455>>.

WOLFE, Kelly L. *et al.* Cellular Antioxidant Activity of Common Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 8418–8426, 2008.

CAPÍTULO 3- EFEITO DA REGIÃO DE CULTIVO NA COMPOSIÇÃO FENÓLICA E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS DE JUÇARA (*Euterpe edulis*) CULTIVADOS NOS ESTADOS DE MINAS GERAIS E ESPÍRITO SANTO

Resumo: Fatores geográficos e climáticos podem afetar a composição fenólica do fruto. O objetivo dessa pesquisa foi estudar a composição dos frutos de juçara provenientes de Minas Gerais e Espírito Santo utilizando HPLC-DAD-MS/MS. Os compostos fenólicos foram extraídos de frutos de 7 microrregiões com uma mistura de metanol/água/ácido fórmico, utilizando ultrassom. Antocianinas, flavonóis, ácidos hidroxicinâmicos, flavan-3-óis e glicosídeos de resveratrol foram identificados e quantificados. A capacidade antioxidante foi determinada pelos métodos ORAC e DPPH. Os resultados foram comparados por análise de variância (ANOVA). O perfil fenólico da polpa de juçara foi composto preferencialmente por flavonóides mono ou di-substituídos no anel B do esqueleto C₆C₃C₆. O 3-ramnosilglicosídeo de cianidina e quercetina foram, respectivamente, a antocianina e o flavonol mais abundante na polpa de todas as regiões, exceto Araponga. A catequina e a epicatequina foram os principais flavan-3-óis presentes nos frutos. Canaã-MG apresentou frutos com o maior teor de antocianinas totais e flavonóis totais dentre as regiões estudadas, esses compostos são os principais responsáveis pela capacidade antioxidante dos frutos.

Palavras-chave: síntese de compostos fenólicos; frutos brasileiros; flavonóides; HPLC-DAD-MS/MS

1. INTRODUÇÃO

Euterpe edulis é uma palmeira encontrada na Mata Atlântica brasileira da qual se pode extrair um fruto semelhante ao açaí da Amazônia. O fruto, conhecido como juçara, pode ser comercializado como polpa (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; BORGES *et al.*, 2013), possibilitando a geração de renda para agricultores locais. A colheita pode ser feita anualmente e a época da safra varia de acordo com a região onde a palmeira é cultivada.

A polpa da juçara possui efeito antioxidante e seu consumo tem apresentado benefícios sobre a saúde humana e de animais. Esses efeitos têm sido associados à sua alta concentração de compostos fenólicos, dentre os quais as antocianinas da classe das cianidinas aparecem em maior concentração (BORGES *et al.*, 2011; CARDOSO *et al.*, 2015; MORAIS *et al.*, 2014, 2015). Esses compostos podem ser extraídos da polpa e utilizados como aditivos naturais pela indústria de alimentos e farmacêutica.

A biossíntese dos compostos fenólicos via rota dos fenilpropanoides envolve uma vasta gama de enzimas reguladoras que transformam a fenilalanina em diferentes classes de flavonóides ou ácidos fenólicos. Essa rota metabólica pode ser afetada por fatores genéticos, agronômicos, grau de maturação, condições ambientais e interação entre esses fatores (TIWARI; CUMMINS, 2013). Logo, a região de origem da palmeira influencia diretamente a composição fenólica presente no fruto da juçara.

A composição fenólica foi investigada nos frutos de juçara provenientes dos estados de Santa Catarina (BORGES *et al.*, 2011, 2013; SCHULZ *et al.*, 2015a), São Paulo (BRITO *et al.*, 2007; MORAIS *et al.*, 2015; RUFINO *et al.*, 2010), Paraná (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; CARDOSO *et al.*, 2015; GUERGOLETTTO *et al.*, 2016), Rio de Janeiro (INADA *et al.*, 2015). Diferenças qualitativas e quantitativas em relação aos compostos fenólicos presentes nos frutos podem ser observadas, inclusive, dentro de uma mesma região. Borges *et al.* (2011) encontrou diferenças significativas na concentração de antocianinas e compostos fenólicos não antociânicos entre os frutos de *Euterpe edulis* de 5 microrregiões do estado de Santa Catarina/Brasil, que se diferenciavam em relação a altitude, temperatura ambiente e época de frutificação.

Até o presente momento não foram encontradas na literatura pesquisas sobre a influência de fatores ambientais em frutos produzidos nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo. Diante disso o objetivo dessa pesquisa foi estudar a composição dos frutos de juçara provenientes de Minas Gerais e Espírito Santo utilizando HPLC-DAD-MS/MS.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Coleta dos frutos e Informações geoclimáticas

Os frutos foram coletados em 7 microrregiões dos estados de Minas Gerais e Espírito Santo durante a safra de 2015. Os frutos foram colhidos quando apresentaram casca com coloração roxa escura. As informações sobre a data de colheita, coordenadas geográficas e dados climáticos de cada região de coleta estão apresentados na Tabela 1 e 2.

Para caracterizar climaticamente cada região foi utilizada a base de dados de acesso livre CLIMATE-DATA.ORG. Esta base de dados utiliza um modelo climático construído com dados coletados por estações meteorológicas de todo o mundo, durante o período de 1982 a 2012, classificando as regiões segundo o sistema de classificação climática de Köppen-Geiger, descrita por Alvares, Stape, Sentelhas, Gonçalves, & Sparovek (2013). Foram extraídos dados mensais de temperatura máxima, temperatura mínima e precipitação que foram utilizados para calcular os fatores descritos na Tabela 2.

Tabela 1- Região de origem e dados geográficos das regiões de coleta de juçara

Região	UF	Data	Latitude	Longitude	Altitude
Rio Novo do Sul	ES	26/05	S20°48'34.529"	W40°56'05.826"	452
Viçosa	MG	03/06	S20°47'28.082"	W42°52'45.120"	685
Rio Pomba	MG	24/06	S21°9'6.062"	W43°8'19.397"	839
Canaã	MG	10/07	S20°41'16.881"	W42°36'15.417"	759
Araponga	MG	22/07	S20°41'06.609"	W42°32'12.001"	959
Rosário de Limeira	MG	27/09	S20°53'58.275"	W42°32'41.884"	1092
Vargem Alta	ES	19/11	S20°31'47.900"	W40°58'33.500"	1058

*Dados obtidos em GPS. Altitude (m). UF: Unidade Federativa.

Tabela 2 - Dados climáticos das regiões de coleta de Juçara

Região	Classificação climática*	Temp _{máx} (°C)	Temp _{mín} (°C)	Temp _{méd} (°C)	Precipitação anual (mm)
Rio Novo do Sul	Aw	29,03	19,48	24,24	1051
Viçosa	Cwa	26,44	14,70	20,55	1229
Rio Pomba	Aw	28,34	16,23	22,27	1384
Canaã	Cwa	26,26	13,74	19,96	1265
Araponga	Cwb	24,83	12,19	18,50	1357
Rosário Limeira	Cwa	26,48	13,62	20,03	1328
Vargem Alta	Cfa	26,01	15,43	20,69	1237

Fonte: <https://pt.climate-data.org>; *Classificação climática segundo Köppen-Geiger. Aw, clima tropical com estação seca de inverno; Cwa, clima temperado úmido com inverno seco e verão quente; Cwb, clima temperado úmido com inverno seco e verão temperado; Cfa, clima temperado úmido com verão quente. Temp_{máx}: média das temperaturas máximas mensais; Temp_{mín}: média das temperaturas mínimas mensais; Temp_{méd}: média das temperaturas médias mensais; Precipitação anual: soma da precipitação mensal.

2.2. Processamento dos frutos

As amostras de cada região foram processadas separadamente. Para cada região foram colhidos 3 lotes de aproximadamente 5 kg, do qual foram selecionados as bagas maduras e homogêneas. Os frutos selecionados (aproximadamente 2,3 kg) foram lavados e sanitizados com água clorada (200 mg/L de cloro ativo) durante 10 min e enxaguadas com água clorada (20 mg/L de cloro ativo) durante 5 min. Após a sanitização, os frutos foram imersos em água quente (40 °C) por 15 min para amolecimento do mesocarpo.

A despolpa foi realizada em despulpadeira vertical com adição de água (0,6 litros/Kg de fruta) (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014). Para cada região foram obtidos 3 lotes de polpa fresca. Cada lote foi liofilizado separadamente. As características físico-químicas da polpa, medidas segundo metodologia da AOAC (2005), e o rendimento do processo de liofilização estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Composição química do fruto de juçara e rendimento da liofilização para a safra de 2015

Região	Umidade (%)	pH	Acidez*	Rendimento Liofilização (%)
Rio Novo do Sul	88,76±0,45	4,97±0,04	3,00±0,84	16,07
Viçosa	88,44±2,62	4,99±0,12	2,57±0,10	15,13
Rio Pomba	89,40±1,81	4,95±0,02	1,81±0,15	9,81
Canaã	82,54±0,76	4,59±0,05	6,68±1,44	18,39
Araponga	95,90±0,95	4,54±0,05	2,10±0,21	3,48
Rosário de Limeira	92,20±4,69	4,67±0,24	3,17±0,80	4,19
Vargem Alta	92,27±0,95	5,12±0,02	2,08±0,54	10,15

*% ácido cítrico

2.3. Preparo do extrato fenólico para análise em HPLC-DAD-MS/MS

O procedimento de extração dos compostos fenólicos e purificação do extrato foi adaptado de REBELLO et al. (2013). Aproximadamente 0,1 g da polpa liofilizada foram extraídas duas vezes com 10 mL de uma mistura de metanol/água/ácido fórmico (50:48.5:1.5), utilizando ultrassom de ponteira (Marca Q sonica), com 80% de amplitude, a 4 °C por 3 minutos (a cada 30 s, uma pausa de 5 s). O extrato foi centrifugado (4200 g x 10 min) (centrifuga marca Orto Alresa, modelo Digicen) e os sobrenadantes mesclados. Após a mescla das frações, o extrato foi desengordurado com hexano e, em seguida, concentrado em evaporador rotativo (35° C) para remoção do metanol. O volume do resíduo foi aferido para 25 mL em um balão volumétrico, utilizando água milli-Q. Testes preliminares demonstraram que 2 etapas de extração foram suficientes para recuperar 98,1% do conteúdo fenólico.

Para a análise de antocianinas, o extrato bruto foi filtrado em membrana de poliéster (0,20 µm, Chromafil PET 20/25, Machery-Nagel, Düren, Germany) e diretamente injetado no equipamento de HPLC. Para análise de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos a fração de antociânos foi removida utilizando cartuchos SPE (40 µm, 500 mg, 6 mL, Agilent, Bond Elut Plexa PCX). Para a análise de flavan 3-óis e reverastrol o extrato bruto foi purificado utilizando cartuchos SPE C18 (Waters sep-Pak C18 environmental cartridges Ref WAT023635). Os procedimentos de purificação foram realizados conforme Rebello et al. (2013), descrito no Capítulo 2.

2.4. Antocianinas

As antocianinas foram analisadas com adaptações do método descrito por Rebello et al. (2013). Foi utilizada uma coluna cromatográfica Ascentis Express C18 (2,1 X 150 mm, partícula de 2,7 µm, Sigma-Aldrich). O volume de injeção da amostra foi de 10 µL. Foram utilizados os solventes A (água/ ácido fórmico/ acetonitrila, 88,5:8,5:3, v/v/v) e B (água/ ácido fórmico/ acetonitrila, 41,5:8,5:50, v/v/v) em um fluxo de 0,22 mL/min. Os solventes foram eluídos em gradiente: 0,0 min, 98% A e 2% B; 15 min, 85% A e 15% B; 20 min, 70% A e 30% B; 25 min 100% B; 29 min, 100% B; e 35 min, 98% A e 2% B. O detector de trampa iônica foi configurado em modo positivo de ionização. Os espectros de massa e UV-VIS obtidos pela injeção de padrões ou previamente relatados na literatura foram utilizados para identificação. Os cromatogramas a 520 nm foram utilizados para a quantificação. Para os compostos que possuíam tempo de retenção semelhante, foram utilizados os íon cromatogramas no valor de *m/z de cada* um para estimar sua porcentagem de área. O fator calculado foi aplicado à área total do pico. Os resultados foram expressos % molar de cada compostos.

2.5. Flavonóis

O método cromatográfico foi adaptado de Castillo-Muñoz et al. (2009) e Rebello et al. (2013). O extrato purificado (20 µL) foi injetado em uma coluna ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2,1x150 mm, 3,5µm). A taxa de fluxo foi de 0,19 mL/min . Os solventes foram água/ácido fórmico/acetonitrila (88,5/8,5/3, solvente A; 41,5/8,5/50, solvente B) e metanol/água/ácido fórmico (90/1,5/8,5, solvente C). O gradiente linear de eluição foi: 0,0 min, 96% A e 4% B; 10 min, 96% A e 4% B; 60 min , 70% A, 15% B e 15% C; 61 min , 50% A, 25 % B e 25% C; 65 min , 50% B e 50% C;

68 min , 50% B e 50% C; e 74 min , 96% A e 4% B. O Ion Trap ESI-MS/MS foi utilizado em modo positivo de ionização. Os flavonóis da juçara foram identificados por HPLC-DAD-MS/MS por comparação dos espectros de massa e tempo de retenção com os de padrões comerciais. Para a quantificação, foram extraídos os cromatogramas DAD a 360 nm. Foram utilizadas curvas padrões de 3-glucosídeo e 3-rutinosídeo de kaempferol e quercetina e 3-glucosídeo de isoramnetina. Os resultados foram expressos em %molar.

2.6. Flavan-3-óis e Resveratrol

As condições cromatográficas foram realizadas de acordo com o descrito por Rebello et al. (2013). Foi utilizado cromatógrafo Agilent series 1200 equipado com DAD (Agilent, Alemanha). Um espectrometro de massa (ESI-MS / MS) com ionização por electrospray AB Sciex 3200 Q TRAP (Applied Biosystems) foi acoplado ao cromatógrafo. Foi utilizada uma coluna Agilent Eclipse XDB-C18 (2,1 x 150 mm, 3,5 um de partículas; Agilent, Alemanha), termostaticada a 16 °C. Os solventes A (água/metanol/ácido fórmico, v/v/v) e B (100% metanol) foram eluídos em gradiente: 0 min, 5% de B; 2 min, 5% de B; 25 min, 30% de B; 40 min, 55% de B; 50 min, 65% de B; 55 min, 95% de B; 65 min, 95% de B; 70 min, 5% de B; e 80 min, 5% de B. O volume de injeção foi de 10 µL e a taxa de fluxo foi de 0,1 mL/min. Para identificação e quantificação foram utilizados os padrões: (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epigallocatequina, (-)-galocatequina, procianidinas B1, B2 e B4 e 3-glicosídeos de resveratrol. Os resultados foram expressos em %molar de cada composto.

2.7. Determinação da capacidade antioxidante

Determinação da capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC) foi realizada segundo o método adaptado de Dávalos, Gómez-Cordovés, & Bartolomé (2004). Para a análise foi utilizada uma placa de superfície preta NUNCLON™ Surface e um leitor de placas com 528 nm de emissão e 485 nm de filtros de excitação. Os extratos fenólicos foram diluídos em tampão fosfato (Diluição 1/400). Primeiramente foi realizada uma pré-incubação (37 °C durante 15 minutos) de uma mistura de 20 µL do extrato fenólico diluído e 120 µL de fluoresceína (70nM). Em seguida, foram adicionados 60 µL de AAPH (2,2'-Azobis (2-Amidinopropane) Dihydrochloride) (24Mm) à mistura e novamente incubada a 37 °C. Foram realizadas leitura automática de fluorescência, a cada 60 segundos, durante 80 minutos. As amostras foram analisadas em duplicata. Foi

utilizado Trolox como padrão externo. Os resultados foram expressos em mg de Trolox/100 grama de matéria seca.

A atividade seqüestraste do radical DPPH[•] foi determinada segundo metodologia adaptada de Brand-Williams, Cuvelier, & Berset (1995). Primeiramente, aproximadamente 11,8266 mg de DPPH[•] foram diluídos em metanol utilizando um balão volumétrico de 500 mL. Para reação, 100 µL do padrão ou extrato fenólico diluído (1/2 em metanol) foi misturado à 2,9 mL da solução de DPPH[•] e incubado por 40 min à temperatura ambiente. Este tempo de reação foi determinado em testes preliminares. Em seguida, as absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro a 515 nm utilizando metanol como branco. Os valores de atividade sequestraste de DPPH[•] foram determinados utilizando uma curva padrão de soluções metanolicas de Trolox. Os resultados foram expressos em µmol de Trolox equivalente/ grama de matéria seca.

2.8. Análise estatística

Todos os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de 3 repetições. A análise estatística foi realizada utilizando o Minitab 17 (versão Demo). Para comparar a composição fenólica dos frutos das 7 diferentes regiões (ARA, CAN, RL, RN, RP, VA e VIC) foi conduzida uma análise de variância (one-way ANOVA) para identificar diferenças significativas à nível de 5%. Diferenças entre médias foram comparadas pelo teste HSD de Tukey. As análises de correlação foram conduzidas por meio da determinação do coeficiente de Pearson.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Antocianinas

Na rota metabólica de síntese de compostos fenólicos as enzimas flavonoide 3'-hidroxilase (F3'H) e flavonoide 3'5'-hidroxilase (F3'5'H) são as responsáveis por catalisar a reação de substituição nas posições 3' e 3' e 5', respectivamente, no anel B do esqueleto C₆C₃C₆, dando origem aos flavonóides di-substituídos ou tri-substituídos (ZHANG; BUTELLI; MARTIN, 2014). Foram encontradas 17 tipos de antocianinas derivadas de pelargonidina, cianidina e peonidina nos frutos das 7 regiões estudadas. A pelargonidina é uma antocianidina com uma substituição na posição 4' do anel B, enquanto a cianidina e peonidina são di-substituídas na posição 3' e 4'. Esse resultado poderia indicar que na espécie *Euterpe edulis Martius* o fluxo de carbono está direcionado para a síntese de antocianinas di-substituídas pela ação da enzima F3'H. O perfil das antocianinas encontradas neste estudo corrobora com dados da literatura

para frutos de juçara cultivados no Paraná (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014). Apesar disso, um estudo recente com juçara do sul do Brasil detectou glicosídeo de malvidina no fruto (GUERGOLETTO *et al.*, 2016), indicando que condições geoclimáticas diferentes, das estudadas no presente trabalho, podem estimular a síntese de antocianinas tri-substituídas nas posições 3', 4' e 5'.

O perfil antociânico dos frutos de todas as regiões foram muito semelhantes, porém houve uma diferença na concentração de cada composto de acordo com a região de cultivo. Na Tabela 4 estão apresentados as médias \pm desvio padrão da porcentagem molar de cada antocianina e do teor de antocianinas totais encontrados nos frutos de cada região.

O grupo das cianidinas foi o mais abundante de todas as amostras analisadas independente da região. Canaã e Vargem Alta possuem frutos mais concentrados em cianidinas do que Araponga. Com exceção da região de Araponga, a cy-3-rhmglc foi a antocianina majoritária nos frutos de cada região, variando de 38,09% do em amostras de Araponga a 59,17% nas de Canaã. A cy-3-glc foi predominante em juçara de Araponga e a segunda antocianina mais concentrada nas juçaras das demais regiões, variando de 34,57% (Canaã) a 52,43% (Araponga). O ramnosilglicosídeo e glicosídeo de cianidina já foram descritas como principais antocianinas da juçara, sendo a primeira a mais abundante (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; MORAIS *et al.*, 2015).

Tabela 4 – Porcentagem molar de cada antocianina e teor de antocianinas totais encontrados nos frutos Minas Gerais e Espírito Santo para a safra de 2015

Antocianina	Região de coleta						
	ARA	CAN	RL	RN	RP	VA	VIC
cy-3,5-diglc	0,09±0,01	nq	nq	nq	nq	nq	nq
cy-3-gal	0,57±0,08 ^a	nq	nq	0,19±0,06 ^b	nq	nq	nq
cy-3-soph	0,17±0,01 ^a	0,05± 0,00 ^b	0,12±0,04 ^a	0,13±0,01 ^a	nq	0,12±0,02 ^a	nq
cy-3-glc	52,43±0,56 ^a	34,57±2,75 ^c	42,93±6,54 ^{bc}	41,68±2,16 ^{bc}	43,81±1,23 ^{ab}	37,77±1,16 ^{bc}	39,44±4,32 ^{bc}
cy-3-pentgal	0,45±0,05 ^b	0,58±0,09 ^{ab}	0,76± 0,11 ^a	0,55±0,02 ^{ab}	0,66±0,21 ^{ab}	0,54±0,07 ^{ab}	0,47±0,07 ^{ab}
cy-3-rhmgal	1,01±0,10 ^a	0,91±0,04 ^{ab}	1,02±0,11 ^a	0,95±0,24 ^a	0,57±0,15 ^b	1,01±0,10 ^a	0,85±0,07 ^{ab}
cy-3-pentglc	2,92±0,05 ^{bc}	3,45±0,23 ^{ab}	4,14±0,76 ^a	2,89±0,46 ^{bc}	2,14± 0,32 ^c	2,48± 0,13 ^{bc}	2,39±0,35 ^{bc}
cy-3-rhmglc	38,09±0,29 ^c	59,17±3,12 ^a	48,34±7,29 ^b	51,14±2,48 ^{ab}	51,11±1,11 ^{ab}	56,72±1,07 ^{ab}	54,47±4,54 ^{ab}
pg-3-glc	2,44±0,17 ^a	0,26±0,19 ^b	1,14±0,98 ^b	0,66±0,34 ^b	0,69±0,09 ^b	0,39± 0,07 ^b	0,66±0,25 ^b
pg-3-rhmglc	0,65±0,08 ^{ab}	0,23±0,12 ^b	0,46± 0,43 ^b	0,45±0,06 ^b	1,02±0,15 ^a	0,41±0,03 ^b	0,54±0,17 ^{ab}
cy-3-rhm	0,47±0,06 ^{abc}	0,19±0,03 ^d	0,47±0,10 ^{bc}	0,52±0,12 ^{ab}	nq	0,28±0,08 ^{cd}	0,68±0,02 ^a
pn-3-glc	0,12±0,00 ^{ab}	0,08±0,01 ^b	0,13±0,03 ^{ab}	0,15±0,04 ^a	nq	nq	nq
cy-3-pent	0,17±0,02 ^a	0,10±0,01 ^b	0,17±0,02 ^a	0,14±0,03 ^{ab}	nq	nq	nq
pn-3-rhmglc	0,22±0,02 ^b	0,29±0,06 ^{ab}	0,20±0,06 ^b	0,34±0,07 ^{ab}	nq	0,28±0,02 ^{ab}	0,50±0,20 ^a
cy-3-rhm-iso	0,10±0,02 ^{ab}	0,05±0,01 ^b	0,12±0,04 ^{ab}	0,13±0,03 ^a	nq	nq	nq
385-glc	0,05±0,00 ^a	0,02±0,00 ^b	nq	0,03±0,01 ^{ab}	nq	nq	nq
385-rhmglc	0,04±0,00 ^a	0,04±0,01 ^a	nq	0,05±0,02 ^a	nq	nq	nq
cy total	96,48±0,21 ^b	99,07±0,31 ^a	98,08±1,46 ^{ab}	98,32±0,27 ^{ab}	98,29±0,08 ^{ab}	98,92±0,08 ^a	97,85±0,92 ^{ab}
pg total	3,09±0,20 ^a	0,50±0,30 ^b	1,60±1,40 ^{ab}	1,10±0,40 ^b	1,71±0,08 ^{ab}	0,80±0,09 ^b	1,20±0,42 ^b
pn total	0,34±0,01 ^a	0,37± 0,07 ^a	0,33±0,08 ^a	0,49±0,10 ^a	nq	0,28±0,02 ^a	0,50±0,20 ^a
total ¹	96,37±11,00 ^b	737,00±341,00 ^a	98,10±30,90 ^b	318,60±120,50 ^b	11,97±6,08 ^b	96,36±2,91 ^b	61,30±22,70 ^b

nq: abaixo do limite de quantificação. ¹: expresso em mg de cy 3-rhmglc/100 gramas de fruto. cy-3,5-diglc: cianidina-3,5-diglicosídeo; cy-3-gal: cianidina-3-galactosídeo; cy-3-soph: cianidina-3-sulforosídeo; cy-3-glc: cianidina-3-glicosídeo; cy-3-pentgal: cianidina-3-pentosilgalactosídeo; cy-3-rhmgal: cianidina-3-ramnosilgalactosídeo; cy-3-pentglc: cianidina-3-pentosilglicosídeo; cy-3-rhmglc: cianidina-3-ramnosilglicosídeo; pg-3-glc: perlagonidina-3-glicosídeo; pg-3-rhmglc: perlagonidina-3-ramnosilglicosídeo; cy-3-rhm: cianidina-3-ramnosídeo; pn-3-glc: peonidina-3-glicosídeo; cy-3-pent: cianidina-3-pentosídeo; pn-3-rhmglc: peonidina-3-ramnosilglicosídeo; cy-3rhm-is: isômero da cianidina-3-ramnosídeo.

Na biossíntese dos antocianos, a UFGT (UDP-açúcar: flavonóide-3-O-glicosiltransferase) catalisa adição de um açúcar (glucose ou galactose) na posição 3-OH da aglicona, formando a antocianidina-3-glc. Em seguida, ocorre uma segunda glicosilação com adição de uma ramnose ao glicosídeo de antocianidina, pela ação da enzima 1,6-ramnosiltransferase (1,6RhaT) (FRYDMAN *et al.*, 2013). Os resultados aqui reportados sugerem que o clima Cwb presente em Araponga, com a temperatura média mais baixa dentre as regiões avaliadas e precipitação anual elevada, reduz a atividade da 1,6RhaT nas antocianidinas glicosiladas, ocasionando em maior acúmulo de cy-3-glc nos frutos. Além disso, essa região se difere das demais por possuir frutos com cy-3,5-diglc em concentrações quantificáveis (0,09% do total de antocianinas). Todas as amostras possuem maior porcentagem de cy-3-rhmgal (0,57 a 1,02%) do que de cy-3-gal (0,19 a 0,57 %).

A cianidina-3-pentosilglucósido (cy-3-pentglc) foi a terceira antocianina mais abundante em frutos de todas as regiões, variando de 2,14% em amostras de Rio Pomba a 4,14 nas de Rosário de Limeira. A cy-3-pentgal variou de 0,47% em frutos de Araponga a 0,76% nos de Rosário de Limeira. Observa-se que os glucosídeos são predominantes quando comparados aos galactosídeos, isso ocorre, provavelmente, porque as UFGTs da *Euterpe edulis* tem maior afinidade com o grupo doador de glucose (UDP-glucose) do que com o doador de galactose (UDP-galactose).

Amostras de Viçosa possuem a maior porcentagem de cy-3-rhm (0,68% do conteúdo de antocianos) do que as de Vargem alta (0,28%), Rosário de Limeira (0,47%) e Canaã (0,19%). O conteúdo do isômero da cianidina-3-ramnosídeo (cy-3-rhm-iso) varia de 0,12% em juçara de Rosário de Limeira a teores não quantificáveis nas de Rio Pomba, Vargem Alta e Viçosa.

Frutos de Araponga possuem a maior proporção de derivados de pelargonidina totais (pg total) do que os de Rio Novo do Sul, Viçosa, Canaã e Vargem Alta. O conteúdo de pg-3-glc é maior em Araponga (2,44% do conteúdo total de antocianos) do que nas demais regiões. Rio Pomba apresenta maior proporção de pg-3-rhmglc (1,02%) do que Canaã (0,23%), Vargem Alta (0,41%), Rosário de Limeira (0,46%) e Rio Novo do Sul (0,45%).

O conteúdo total de derivados de peonidina (pn total) não variou significativamente entre as regiões. Nos frutos de todas as regiões, exceto Araponga, o total de derivados de peonidina é inferior ao total de derivados de pelargonidina. Isso sugere que o tipo de clima de Araponga (Cwb) pode estar estimulando a metilação do

anel B. A proporção de pn-3-rhmglc é superior à de pn-3-glc nos frutos de todas as regiões, exceto os de Rio Pomba, que possui teores não quantificáveis de ambos os compostos.

Nota-se que os frutos de Canaã possuem maior concentração de antocianinas totais (737,00 mg/ 100 gramas de fruto) do que os das demais regiões. Viçosa e Rosário de Limeira possuem a mesma classificação climática que Canaã, porém apresentam frutos com teores de antocianinas totais muito inferiores. Rosário de Limeira e Rio Pomba são classificadas como Aw, porém possuem grandes diferenças entre si em relação ao teor dos componentes individuais em seus frutos. Logo, sugere-se que a concentração das antocianinas nas amostras de juçara também seja influenciada por outros fatores não abordados neste estudo (fatores agronômicos e bióticos, tipo de solo, idade da palmeira e intensidade de luz), bem como de uma interação complexa entre os fatores.

3.2 Flavonóis

Na Tabela 5 estão apresentadas a porcentagem molar de cada antocianina e o teor de antocianinas totais encontrados nos frutos de cada região. Os perfis de flavonóis encontrado nos frutos de cada região foram muito semelhantes entre si. Foram identificados 5 derivados de kaempferol, 3 derivados de quercetina e 3 derivados de isoramnetina. Assim como descrito para os compostos antociânicos, observa-se apenas a presença de flavonóis mono ou di-substituídos no anel B.

Os frutos da região de Canaã apresentou o maior teor de flavonóis totais (65,60 mg/ 100 gramas de fruto) do que os frutos das demais regiões. Viçosa e Rosário de Limeira possuem a mesma classificação climática que Canaã, porém seus frutos apresentam teores de 4 a 6 vezes menores do que os de Canaã. Logo, supõe-se que outros fatores estão influenciando a conversão de di-hidroflavonol em flavonol pela enzima flavonol síntese (FLS) (DAVIES *et al.*, 2003). A dose de luz solar e tempo de exposição à luz do sol estão entre os fatores que podem ser responsáveis pela diferença encontrada entre os frutos de regiões de mesma classificação climática (LI *et al.*, 2014).

Tabela 5 –Porcentagem molar de cada flavonol e teor de flavonóis totais encontrados nos frutos de Minas Gerais e Espírito Santo para a safra de 2015.

Composto	Região de coleta						
	ARA	CAN	RL	RN	RP	VA	VIC
q-3-gal	2,79±0,82 ^{ab}	1,34±0,52 ^{bc}	3,68±0,90 ^a	1,45±0,68 ^{bc}	nq	2,41±0,36 ^{ab}	0,33±0,09 ^c
q-3-glc	3,20±0,82 ^b	11,05±4,68 ^a	8,76±2,62 ^{ab}	9,40±0,27 ^{ab}	7,88±0,78 ^{ab}	11,98±0,40 ^a	9,28±2,72 ^{ab}
k-3-gal	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq
q-3-rhmglc	23,41±0,28 ^b	54,91±5,02 ^a	44,32±8,48 ^a	45,91±5,42 ^a	50,64±1,52 ^a	54,64±0,78 ^a	45,78±8,78 ^a
k-3-glc	48,15±1,52 ^a	16,78±6,00 ^{bc}	19,87±4,09 ^b	20,20±2,79 ^b	7,58±0,71 ^{cd}	1,79±0,43 ^d	9,86±7,16 ^{bcd}
q-3-(6''-mal)-glc	1,22±0,18 ^{bc}	nq	0,89± 0,36 ^c	2,04±0,50 ^{ab}	1,80±0,51 ^{abc}	1,60±0,21 ^{abc}	2,23±0,11 ^a
k-3-rhmglc	15,81±0,98 ^{abc}	7,73±4,60 ^c	14,39±6,11 ^{abc}	12,35±3,86 ^{bc}	22,87±1,31 ^a	16,78±0,58 ^{abc}	16,99±0,41 ^{ab}
i-3-gal	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq
i-3-glc	0,49±0,29 ^b	nq	nq	nq	1,01±0,12 ^a	0,56± 0,09 ^b	0,45±0,03 ^b
k-3-(6''-mal)-glc	0,85±0,04 ^a	nq	nq	nq	nq	nq	0,54±0,10 ^b
i-3-rhmglc	2,90±0,04 ^c	6,64±1,74 ^b	5,15± 0,93 ^{bc}	5,97±1,16 ^{bc}	8,22±0,65 ^{ab}	10,25±0,94 ^a	6,73±1,77 ^b
k-3-(2''-mal)-glc	1,18±0,19 ^b	1,53±0,35 ^b	2,93±1,00 ^b	2,69±1,36 ^b	nq	nq	7,80±0,71 ^a
kaempferol total	65,99±1,23 ^a	26,05±10,17 ^{bc}	37,19±8,78 ^b	35,24±5,21 ^{bc}	30,45±0,62 ^{bc}	18,57±0,17 ^c	35,19±7,96 ^{bc}
quercetina total	30,62±0,95 ^b	67,31±9,12 ^a	57,66±9,64 ^a	58,79±6,35 ^a	60,32±1,20 ^a	70,62±1,13 ^a	57,63±6,20 ^a
isoramnetina total	3,39±0,28 ^d	6,64±1,74 ^{bcd}	5,15±0,934 ^{cd}	5,97±1,16 ^{bcd}	9,23±0,65 ^{ab}	10,81±1,03 ^a	7,18±1,77 ^{bc}
flavonóis totais ¹	28,52±4,84 ^b	89,20±39,00 ^a	15,08±4,19 ^b	42,27±3,48 ^b	7,90±1,25 ^b	15,99±0,88 ^b	18,90±1,99 ^b

nq: abaixo do limite de quantificação; ¹expresso em mg kaempferol-3-glucosídeo/100 gramas de fruto; q-3-gal: quercetina-3-galactosídeo; q-3-glc: quercetina-3-glicosídeo; q-3-rhmglc: quercetina-3-rhamnosilglucosídeo; q-3-(6''-mal)-glc: quercetina-3-(6''-malonil)-glicosídeo; k-3-glc: kaempferol-3-glicosídeo; k-3-gal: kaempferol-3-galactosídeo; k-3-rhmglc: kaempferol-3-ramnosilglucosídeo; k-3-(6''-mal)-glc: kaempferol-3-(6''-malonil)-glicosídeo; k-3-(2''-mal)-glc: kaempferol-3-(2''-malonil)-glicosídeo; i-3-gal: isoramnetina-3-galactosídeo; i-3-glc: isoramnetina-3-glicosídeo; i-3-rhmglc: isoramnetina-3-ramnosilglucosídeo;

Os glicosídeos de quercetina totais (quercetina total) foram os predominantes nos frutos de todas as regiões, exceto em Araponga. Os frutos desta região possuem uma proporção de quercetina total (30,62% do teor de flavonóis total) inferior aos das demais regiões estudadas. A q-3-rhmglc é o glicosídeo de flavonol majoritário em todas as regiões, sendo que os frutos de Araponga são os que possuem a menor proporção deste composto (23,41%).

O k-3-rhmglc é o principal derivado de kaempferol presente nos frutos Rio Pomba (22,87%), Vargem Alta (16,78%) e Viçosa (16,99%). Por outro lado, o k-3-glc predomina nos frutos de Araponga (48,15%), Canaã (16,78%), Rosário de Limeira (19,87%) e Rio Novo do Sul (20,20%). O k-3-gal foi encontrado em concentrações não quantificáveis em todas as regiões. O k-3-(6''-mlal)-glc foi detectado em maior proporção nos frutos de Araponga (0,85%) e o k-3-(2''-mal)-glc estava em maior proporção nos frutos de Viçosa.

Os derivados de isoramnetina (isoramnetina total) são minoritários na juçara quando comparados com os derivados de kaempferol e quercetina. Traços de i-3-gal são encontrados em todas as regiões. A i-3-glc foi encontrada em maior proporção (1,01%) nos frutos de Rio Pomba. A fração de i-3-rhmglc variou de 2,90% nos frutos de Araponga a 10,25% nos frutos de Vargem Alta.

Os valores de quercetina encontrados em juçara de distintas microrregiões de Santa Catarina variaram de 17,59 a 36,34 mg/100 gramas (base úmida). Os valores mais elevados foram referentes aos frutos provenientes da região que apresentava época de colheita no verão (BORGES *et al.*, 2011).

3.3 Flavan-3-óis e Resveratrol

Os monômeros de catequina e epicatequina foram os flavan-3-óis majoritários encontrados na juçara (Tabela 6). As proantocianidinas B1, B2 e B4, dímeros formados por unidades de catequina e epicatequina, também foram detectados em menores concentrações. Este resultado confirma que, na biossíntese de compostos fenólicos da juçara, a ação da enzima F3'H direciona o fluxo de carbono para a síntese de flavonoides di-hidroxilados no anel B, formando a leucocianidina, precursor comum das antocianinas di-substituídas (cianidina e peonidina) e flavan-3-óis (catequina, epicatequina, PB1, PB2 e PB4) (PFEIFFER *et al.*, 2006).

Tabela 6 – Flavan-3-óis (%molar) e resveratrol dos frutos de juçara de Minas Gerais e Espírito Santo para a Safra de 2015

Composto	Região de coleta						
	ARA	CAN	RL	RN	RP	VA	VIC
c	42,69±5,31 ^b	36,53±11,29 ^b	46,49±4,55 ^{ab}	32,41±4,95 ^b	60,56±0,56 ^a	35,98±1,83 ^b	32,77±9,06 ^b
ec	36,82±3,54 ^a	39,40±4,90 ^a	32,58±0,81 ^a	40,84±7,49 ^a	18,86±0,59 ^b	39,11±2,15 ^a	40,92±7,32 ^a
PB1	7,09±1,12 ^{ab}	7,50±1,75 ^{ab}	7,37±2,53 ^{ab}	7,36±1,12 ^{ab}	6,08±0,61 ^b	5,84±0,07 ^b	10,24±1,25 ^a
PB2	1,14±0,19 ^{bc}	2,12±0,48 ^{ab}	0,96±0,07 ^c	2,40±0,85 ^a	1,06±0,13 ^{bc}	2,15±0,36 ^{ab}	1,47±0,10 ^{abc}
PB4	0,17± 0,04 ^b	nq	0,18±0,03 ^b	0,34±0,10 ^a	nq	nq	nq
Dím _{20,43}	8,00±0,15 ^a	10,05±3,13 ^a	8,83±2,45 ^a	10,06±3,94 ^a	10,06±0,91 ^a	11,17± 0,51 ^a	8,17± 0,91 ^a
Dím _{26,10}	2,80±0,65 ^{ab}	3,79±1,11 ^{ab}	2,20±0,72 ^{ab}	4,99±1,63 ^a	1,88±0,34 ^b	4,45±1,30 ^{ab}	4,86±1,43 ^{ab}
Dím _{30,80}	0,64±0,04 ^a	nq	0,70±0,22 ^a	0,78±0,09 ^a	0,68±0,19 ^a	0,53±0,11 ^a	0,80±0,12 ^a
Dím _{32,00}	0,50±0,05 ^a	0,58± 0,11 ^a	0,55±0,19 ^a	0,57±0,08 ^a	0,66±0,04 ^a	0,66±0,04 ^a	0,54±0,18 ^a
Dím _{38,30}	0,14±0,016 ^{ab}	nq	0,13± 0,01 ^b	0,25±0,05 ^a	0,16±0,02 ^{ab}	0,20± 0,06 ^{ab}	0,21±0,06 ^{ab}
Flavan-3-ol total*	39,02±14,80 ^{ab}	36,42±15,77 ^{ab}	15,82±4,26 ^{ab}	49,9±27,7 ^a	9,75±3,86 ^b	14,42±4,87 ^{ab}	22,59±10,54 ^{ab}
<i>trans</i> -Gluc-Resv	52,18±2,59 ^{ab}	90,79±3,88 ^a	68,76±6,61 ^{ab}	48,77±9,69 ^{ab}	42,00±41,70 ^{ab}	40,93±4,06 ^{ab}	25,00±43,20 ^b
<i>cis</i> -Glc. Resv	47,82±2,59 ^{ab}	9,21±3,88 ^b	31,24±6,61 ^{ab}	51,23±9,69 ^{ab}	58,00±41,70 ^{ab}	59,07±4,06 ^{ab}	75,00±43,20 ^a
total resveratrol**	0,09±0,01 ^b	0,91±0,61 ^a	0,12±0,05 ^{ab}	0,69±0,45 ^{ab}	0,01± 0,00 ^b	0,09±0,05 ^b	0,02±0,01 ^b

*mg de catequina/100 gramas de fruto. **mg de glicosídeo de resveratrol/ 100 gramas de fruto. t-Gluc-Resv: *trans*-glicosídeo de resveratrol; c-Glc. Resv: *cis*-glicosídeo de resveratrol.

A região de cultivo da planta influenciou no teor de flavan-3-óis dos frutos. O teor total de flavan-3-óis variou de 9,75 mg de catequina/100 g de fruto em Rio Pomba a 49,9 mg de catequina/100 g de fruto em Rio Novo do Sul. O teor de flavan-3-óis totais é, aproximadamente, 5 vezes superior nos frutos de Rio Novo do Sul do que nos de Rio Pomba, mesmo as duas regiões sendo classificadas climaticamente como Aw.

A fração de catequina varia de 32,41% em Rio Novo do Sul a 60,56% em Rio Pomba. A proporção de epicatequina é menor em Rio Pomba (18,86%) do que nas demais regiões estudadas. O dímero desconhecido com tempo de retenção de 20,43 min (Dim_{20,43}) é o terceiro flavan-3-ol mais abundante nos frutos de todas as regiões, exceto os de Viçosa, que possuem uma fração mais acentuada de PB1.

A porção de PB2 e Dim_{38,30} foi maior nos frutos de Rio Novo do Sul (2,40% e 0,25%, respectivamente) do que nos de Rosário de Limeira (0,96% e 0,13%, respectivamente). Em Rio Novo do Sul os frutos apresentaram maior proporção de PB4 (0,34%) do que nas demais regiões estudadas. A fração de Dim_{20,43}, Dim_{30,00} e Dim_{32,00} não variou entre as amostras de juçara das distintas regiões. A porção de Dim_{26,10} variou de 1,88% em Rio Pomba a 4,99% em Rio Novo do Sul.

O coeficiente de correlação de Pearson foi determinado para verificar a associação entre as características geoclimáticas de cada região e o teor de flavan-3-óis totais e individuais. Foram negativamente correlacionados com o índice de pluviosidade ($p < 0,05$) o PB2 e o Dim_{26,10}. Segundo dados da literatura, vinhos provenientes de regiões com menor precipitação anual apresentaram maior teor de catequina, epicatequina, epigallocatequina e epicatequinagalato (SUN *et al.*, 2015). Os frutos de juçara de Santa Catarina, com época de colheita no verão, apresentaram maior conteúdo de catequina e epicatequina, variando de 0,74 a 16,24 e 6,84 a 30,56 mg/ 100 gramas de fruto (b.u.), respectivamente (BORGES *et al.*, 2011).

A proporção de *cis* e *trans*-glicosídeo de resveratrol foram afetados pela região de origem da matéria-prima. O teor total de resveratrol foi proveniente dos isômeros glicosilados de resveratrol, variando de 0,01 mg/ 100 gramas de fruto em Rio Pomba a 0,91 mg/ 100 gramas de fruto em Canaã. Neste estudo, não foi obtida uma correlação entre o nível de glicosídeos de resveratrol e as condições geoclimáticas de cada região. Contrariamente, Roldán, Palacios, Caro, & Pérez (2003) associaram o aumento do resveratrol e seus glicosídeos ao stress hídrico e maior incidência de radiação durante o crescimento da planta.

3.4. Capacidade Antioxidante

Dois métodos de determinação de capacidade antioxidante baseados na varredura de radicais livres foram utilizados, ORAC e DPPH. Na Tabela 7 estão apresentadas as médias \pm desvio padrão da capacidade antioxidante dos frutos de juçara das 7 regiões.

Tabela 7 – Capacidade antioxidante dos frutos de juçara por ORAC e DPPH

Região	ORAC	DPPH
ARA	7527,68 \pm 679,56 ^{bc}	171,68 \pm 7,88 ^c
CAN	19409,67 \pm 5953,4 ^a	735,68 \pm 288,75 ^a
RL	6876,302 \pm 1734,97 ^{bc}	184,71 \pm 34,78 ^c
RN	11395,36 \pm 2152,48 ^b	504,38 \pm 48,77 ^{ab}
RP	2681,75 \pm 617,49 ^c	141,59 \pm 32,59 ^c
VA	6970,47 \pm 835,29 ^{bc}	234,44 \pm 23,74 ^{bc}
VIC	4759,71 \pm 456,16 ^{bc}	242,11 \pm 36,89 ^{bc}

mg trolox/100 gramas de fruto

Os valores obtidos para capacidade antioxidante pelo método ORAC foram muito superiores aos encontrados pelo método DPPH. Essa diferença pode ser atribuída aos diferentes princípios e mecanismos de reação empregados nos métodos. O método DPPH utiliza como radical livre um composto que não está presente em sistemas fisiológicos, o radical DPPH^{*}, e que apresenta molécula com conformação suscetível à ocorrência de impedimento estérico (XIE; SCHAICH, 2014), o que pode ter limitado a reação entre o radical e os antioxidantes presentes no extrato, justificando o valor mais baixo para a capacidade antioxidante. Por outro lado, o método ORAC utiliza o radical peroxil como agente oxidante, simulando de maneira mais verídica os sistemas fisiológicos (PRIOR, 2015). Apesar disso, os dois métodos apresentaram forte correlação positiva ($p < 0,01$) entre si, demonstrando que ambos podem ser utilizados para fazer uma comparação entre as regiões.

A capacidade antioxidante dos frutos de juçara variou de 19409,67 e 735,68 mg trolox/100 g, respectivamente pelos métodos ORAC e DPPH, em Canaã a 2681,75 mg e 141,59 mg trolox/100 g, respectivamente, em Rio Pomba. A capacidade antioxidante dos frutos de juçara de Minas Gerais e Espírito Santo foi positivamente correlacionada ($p < 0,01$) com seu teor de antocianinas totais e flavonóis totais. Uma correlação positiva ($p < 0,05$) também foi identificada entre ambos os métodos de determinação de capacidade antioxidante e o teor de resveratrol total e entre ORAC e *trans*-Gluc-Resv. O método ORAC apresentou correlação negativa ($p < 0,05$) com a fração de pg-3-rhmglc, Dim_{30,80} e *cis*-Gluc-Resv, enquanto ambos os métodos apresentaram correlação negativa ($p < 0,05$) com o k-3-rhmglc. Borges et al. (2011) relataram que a microrregião de Santa

Catarina com menores temperaturas médias possuiu frutos com maior capacidade antioxidante, porém esses não apresentaram o maior teor de antocianinas e outros compostos fenólicos entre as regiões estudadas.

4. CONCLUSÃO

O perfil fenólico da polpa de juçara dos estados de Minas Gerais e Espírito Santo é composto preferencialmente por flavonóides mono ou di-substituídos no anel B do esqueleto C₆C₃C₆. As antocianinas são os compostos fenólicos predominantes nos frutos. O 3-ramnosilglucosídeo de cianidina e quercetina foram, respectivamente, a antocianina e o flavonol mais abundante na polpa de todas as regiões, exceto Araponga. A catequina e a epicatequina foram os principais flavan-3-óis presentes nos frutos.

A região de cultivo da palmeira *Euterpe edulis* influenciou na concentração dos compostos fenólicos do fruto. Canaã-MG apresentou frutos com maior teor de antocianinas totais e flavonóis totais dentre as regiões estudadas, estes compostos são os principais responsáveis pela elevada capacidade antioxidante da juçara.

Em geral, todas as regiões apresentaram frutos com potencial para serem utilizados na produção de extratos concentrados em flavonóides para aplicação na indústria de alimentos e farmacêutica.

5. REFERENCIAS

ALVARES, Clayton Alcarde *et al.* Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.

ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official methods of analysis. 18 ed. Gaithersburg: 2005.

BICUDO, Milene Oliveira Pereira; RIBANI, Rosemary Hoffmann; BETA, Trust. Anthocyanins, Phenolic Acids and Antioxidant Properties of Juçara Fruits (*Euterpe edulis* M.) Along the On-tree Ripening Process. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 69, n. 2, p. 142–147, 26 jun. 2014. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11130-014-0406-0>>.

BORGES, Graciele Da Silva Campelo *et al.* Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. *Food Research International*, v. 44, n. 7, p. 2128–2133, ago. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.006>>.

BORGES, Graciele Da Silva Campelo *et al.* Protective effect of *Euterpe edulis* M. on Vero cell culture and antioxidant evaluation based on phenolic composition using HPLC–ESI-MS/MS. *Food Research International*, v. 51, n. 1, p. 363–369, abr. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.035>>.

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

BRITO, Edy Sousa De *et al.* Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, n. 23, p. 9389–9394, nov. 2007. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0715020>>.

CARDOSO, Alyne Lizane *et al.* Acute consumption of juçara juice (*Euterpe edulis*) and antioxidant activity in healthy individuals. *Journal of Functional Foods*, v. 17, p. 152–162, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.05.014>>.

CASTILLO-MUÑOZ, Noelia *et al.* Flavonol 3- O -Glycosides Series of *Vitis vinifera* Cv. Petit Verdot Red Wine Grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, n. 1, p. 209–219, 2009. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf802863g>>.

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, p. 48–54, 2004.

DAVIES, Kevin M *et al.* Enhancing anthocyanin production by altering competition for substrate between flavonol synthase and dihydroflavonol 4-reductase. p. 259–268, 2003.

FRYDMAN, Ahuva *et al.* The molecular and enzymatic basis of bitter / non-bitter flavor of citrus fruit : evolution of branch-forming rhamnosyl- transferases under domestication. *The Plant Journal*, v. 73, p. 166–178, 2013.

GUERGOLETTI, Karla Bigetti *et al.* In vitro fermentation of juçara pulp (*Euterpe edulis*) by human colonic microbiota. *Food Chemistry*, v. 196, p. 251–258, abr. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.048>>.

INADA, Kim Ohanna Pimenta *et al.* Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. *Journal of Functional Foods*, v. 17, p. 422–433, ago. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.002>>.

LI, Qiang *et al.* Plant Physiology and Biochemistry Comparison of distinct transcriptional expression patterns of flavonoid biosynthesis in Cabernet Sauvignon grapes from east and west China. *Plant Physiology et Biochemistry*, v. 84, n. 17, p. 45–56, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.08.026>>.

MORAIS, Carina Almeida *et al.* Polyphenols-rich fruit in maternal diet modulates inflammatory markers and the gut microbiota and improves colonic expression of ZO-1 in offspring. *Food Research International*, v. 77, p. 186–193, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.043>>.

MORAIS, Carina Almeida *et al.* Jussara (*Euterpe edulis* Mart.) Supplementation during Pregnancy and Lactation Modulates the Gene and Protein Expression of Inflammation Biomarkers Induced by trans -Fatty Acids in the Colon of Offspring. *Mediators of Inflammatio*, p. 1–11, 2014.

PFEIFFER, Judith *et al.* Biosynthesis of flavan 3-ols by leucoanthocyanidin 4-reductases and anthocyanidin reductases in leaves of grape (*Vitis vinifera* L.), apple (*Malus x domestica* Borkh.) and other crops. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 44, n. 5–6, p. 323–334, maio 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0981942806000751>>.

PRIOR, Ronald L. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): New horizons in relating dietary antioxidants / bioactives and health benefits. *Journal of Functional Foods*, v. 18, p. 797–810, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.018>>.

REBELLO, Ligia Portugal Gomes *et al.* Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea×IAC 1398-21) using HPLC–DAD–ESI-MS/MS. *Food Research International*, v. 54, n. 1, p. 354–366, nov. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.024>>.

ROLDÁN, Ana *et al.* Resveratrol Content of Palomino fino Grapes: Influence of Vintage and Fungal Infection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, n. 5, p. 1464–1468, fev. 2003. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf020774u>>.

RUFINO, Socorro M *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. v. 121, p. 996–1002, 2010.

SCHULZ, Mayara *et al.* Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. *Food Research International*, v. 77, p. 125–131, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.006>>.

SUN, Xiangyu *et al.* Profiles of Phenolic Acids and Flavan-3-ols for Select Chinese Red Wines: A Comparison and Differentiation According to Geographic Origin and Grape Variety. *Journal of Food Science*, v. 80, n. 10, p. C2170–C2179, out. 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/1750-3841.13011>>.

TIWARI, U.; CUMMINS, E. Factors influencing levels of phytochemicals in selected fruit and vegetables during pre- and post-harvest food processing operations. *Food Research International*, v. 50, n. 2, p. 497–506, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.007>>.

XIE, J; SCHAICH, K M. Re-evaluation of the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Free Radical (DPPH) Assay for Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry Article*, v. 62, p. 4251–4260, 2014. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf500180u>>.

ZHANG, Yang; BUTELLI, Eugenio; MARTIN, Cathie. Engineering anthocyanin biosynthesis in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 19, p. 81–90, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2014.05.011>>.

CAPÍTULO 4 – EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA E DA PASTEURIZAÇÃO NA ESTABILIDADE DE ANTOCIANINAS E NA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE POLPA DE JUÇARA (*Euterpe edulis*) DURANTE ESTOCAGEM

Resumo: A juçara é um fruto da Mata Atlântica que possui alto teor de antocianinas. Há poucos trabalhos na literatura sobre a estabilidade desses compostos durante processamento e estocagem da polpa. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da irradiação gama e da pasteurização na estabilidade das principais antocianinas e na capacidade antioxidante de polpa de juçara. Os frutos foram despulpados e a polpa foi dividida em 6 porções: controle (polpa sem tratamento), polpa irradiada (2, 4, 6, 8 kGy) e, por último, polpa pasteurizada (92 °C/ 1 minuto). As amostras tratadas e controle foram armazenadas a 4°C por 60 dias. O extrato fenólico foi preparado com uma solução de metanol/água/ácido fórmico. Foram realizadas as seguintes análises a cada 15 dias: compostos fenólicos totais por Folin-Ciocalteu, cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo por UPLC e capacidade antioxidante (ABTS e DPPH). Os fenólicos totais e as antocianinas reduziram com o aumento da dose de irradiação e tempo de estocagem. A pasteurização não afetou a concentração imediatamente após o processamento, por outro lado, o teor de CFT e cianidina-3-rutinosídeo reduziram no decorrer do armazenamento da polpa pasteurizada. Nenhuma amostra processada apresentou características similares a controle ao final da estocagem.

Palavras-chave: irradiação de vegetais, compostos fenólicos, frutos da Mata Atlântica.

1. INTRODUÇÃO

Juçara é o nome do fruto da *Euterpe edulis* Mart., palmeira nativa da Mata Atlântica brasileira. A colheita é anual e a época da safra varia de acordo com a região onde é cultivada. O processamento consiste em macerar o fruto com água, manualmente ou em despolpadeira vertical, para que a fina camada de mesocarpo e epicarpo sejam separados da semente (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; BORGES *et al.*, 2013). O consumo da polpa in natura e sua utilização como ingrediente têm sido incentivados nos últimos anos devido seu elevado valor nutricional (SCHULZ *et al.*, 2015). A comercialização da polpa possibilita a geração de renda para agricultores da Mata Atlântica.

A juçara possui alta concentração de compostos fenólicos, principalmente antocianinas. As principais antocianinas encontradas em sua polpa são a cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo (BRITO *et al.*, 2007; RUFINO *et al.*, 2010). Esses compostos apresentam atividade antioxidante, que podem atuar eliminando os radicais livres, moléculas que danificam biomoléculas, tornando-se importantes na prevenção de doenças crônicas, como câncer (WOLFE *et al.*, 2008). Devido essa importante função biológica, torna-se importante conhecer a estabilidade desses compostos durante os diferentes tipos processamento que a polpa pode ser submetida antes de ser comercializada.

Devido ao interesse dos consumidores por alimentos mais parecidos com os produtos frescos, a aplicação de métodos não térmicos para conservação de alimentos tem sido muito estudada. Esses métodos promovem menor alteração nas propriedades nutricionais e sensoriais dos alimentos do que os métodos que envolvem a aplicação de calor (ARJEH; BARZEGAR; SAHARI, 2015), tais como pasteurização, esterilização e desidratação. A irradiação é um processo não térmico de conservação de alimentos eficaz na inativação de bactérias patogênicas e microorganismos deterioradores, contribuindo para o aumento da vida de prateleira dos alimentos processados (MOREHOUSE, 2002). O efeito da irradiação nas antocianinas dos frutos dependerá da composição da matriz alimentícia, da dose de irradiação aplicada e da estrutura da molécula (ALIGHOURCHI; BARZEGAR; ABBASI, 2008), podendo ocasionar em aumento ou redução do teor desses componentes. Esse comportamento já foi determinado em diversas matrizes alimentícias, tais como suco de cereja (ARJEH; BARZEGAR; SAHARI, 2015), framboesa (GOLDING *et al.*, 2014), mirtilo (GOLDING *et al.*, 2014) e jujuba selvagem (NAJAFABADI *et al.*, 2017).

As pesquisas sobre o fruto da juçara têm sido direcionadas para a quantificação dos compostos bioativos e determinação de atividade antioxidante da polpa *in natura* e seus benefícios para a saúde. No entanto, poucos trabalhos avaliaram os efeitos do processamento e estocagem na estabilidade de compostos fenólicos da polpa de juçara. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos da irradiação gama e da pasteurização na estabilidade das principais antocianinas e na atividade antioxidante de polpa de *Euterpe edulis*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras e Obtenção da polpa

Os frutos de juçara (*Euterpe edulis*) foram colhidos na cidade de Rio Novo (Espírito Santo, Brasil), no último estágio de maturação (casca com coloração roxa escura), durante a safra de 2015. Os frutos foram selecionados, lavados e pesados. Em seguida, foram sanitizados com água clorada (200 mg/L de cloro ativo) durante 10 minutos e enxaguados com água clorada (20 mg/L de cloro ativo) durante 5 minutos. Após a sanitização, os frutos foram imersos em água quente (40 °C) por 10 minutos para amolecimento do mesocarpo. A despolpa foi realizada conforme descrito por Bicudo et al. (2014), utilizando despoldadeira vertical com adição de água filtrada (0,6 litros/ Kg de fruta). A polpa obtida foi congelada até o momento em que foram submetidos a pasteurização e irradiação.

2.2. Aplicação da irradiação gama e pasteurização na polpa

A polpa foi descongelada e teve seu pH ajustado para 3,6 com ácido cítrico. Em seguida, foi dividida em 6 porções: controle (polpa sem tratamento), polpa irradiada (2, 4, 6, 8 kGy) e, por último, polpa pasteurizada. As amostras foram preparadas 3 vezes para cada tratamento.

O tratamento de irradiação foi aplicado nas diferentes doses para cada porção a uma taxa de dose média de 3,83 kGy/hora. Foi utilizado um irradiador com fonte de Cobalto 60, modelo IR-214 (Nordion, Canada).

Para a pasteurização, garrafas de vidro contendo a polpa foram colocadas em banho-maria até atingir a temperatura de 92 °C/ 1 minuto, sendo a temperatura aferida com auxílio de um termômetro colocado no centro de uma garrafa. Após o processamento as amostras foram armazenadas a 4 °C em BOD por 60 dias, sendo realizadas análises físico-químicas a cada 15 dias.

2.3. Análises da matéria prima

Análises de pH, acidez titulável, sólidos solúveis e umidade foram realizadas na polpa *in natura* conforme metodologias descritas pela AOAC (2005).

2.4. Preparo do extrato fenólico para realização das análises

Os compostos fenólicos foram extraídos de 5 gramas de polpa com 20 mL de uma mistura de metanol/água/ácido fórmico (70; 28,5;1,5), utilizando um banho de ultrassom a 25 °C por 10 minutos. O extrato foi centrifugado (2000 g x 10 minutos) e o sobrenadante filtrado. O resíduo foi extraído mais 3 vezes com uma mistura de metanol/água/ácido fórmico (50:48,5:1,5). Os quatro filtrados foram combinados, concentrados em evaporador rotativo (35 °C) (REBELLO *et al.*, 2013) para evaporação do metanol e o volume final aferido para 25 mL com água destilada.

2.5. Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi estimado utilizando adaptações do método descrito por Singleton e Rossi (1965). Primeiramente, o reagente Folin-Ciocalteu foi diluído em água destilada (1/10; v/v). Então, 2 mL do extrato foi diluído com água destilada em um balão volumétrico de 10 mL. Uma alíquota (600µL) do extrato diluído foi adicionada a 3 mL do reagente Folin-Ciocalteu previamente preparado. A mistura foi agitada e, após três minutos, foi adicionado 2,4 mL de carbonato de sódio saturado (7,5 % m/v). A leitura em espectrofotômetro a 760 nm foi realizada após 1 hora de repouso na ausência de luz. O teor de compostos fenólicos totais foi expresso em equivalentes de ácido gálico/ 100 gramas de polpa.

2.6. Análise de antocianina por UPLC-DAD

As antocianinas foram determinadas utilizando um sistema UPLC Thermo Scientific equipado com um software ChromQuest, autoinjeter (Accela autosample), bomba (Accela 600), detector UV-Visível (Accela PDA). Uma coluna UHPLC Hypersil Gold (50 x 2,1mm, 1,9µ) da Thermo Scientific foi utilizada para separação.

As condições cromatográficas foram adaptadas de Brito *et al.* (2007). O extrato foi filtrado em filtros de membrana Millex[®] de PVDF 0,45µm e 10 µL foram injetados no sistema cromatográfico. A taxa de fluxo foi de 300 µL·min⁻¹. Foram utilizados os solventes A (10% de ácido fórmico em água) e B (metanol). Os solventes foram eluídos à temperatura ambiente com fluxo isocrático de 95% de A até 10 minutos, seguido por

gradiente de 95 a 90% de A até 15 minutos e, então, aumentado para 95% de A até 20 minutos. As antocianinas foram identificadas por comparação de seus tempos de retenção com os de padrões. As amostras mescladas com o padrão foram injetadas para a confirmação do tempo de retenção. Os cromatogramas a 530 nm foram utilizados para a quantificação. A cianidina-3-glucosídeo e cianidina-3-rutinosídeo foram utilizadas como padrão externo.

2.7. Atividade sequestraste do radical livre DPPH

A atividade sequestraste do radical DPPH[•] foi determinada segundo metodologia adaptada de Brand-Williams, Cuvelier, & Berset (1995). Primeiramente, aproximadamente 11,8266 mg de DPPH doram diluídos em metanol utilizando um balão volumétrico de 500 mL. O extrato fenólico (2 mL) foi previamente diluído em metanol utilizando um balão volumétrico de 10 mL. Para a reação, 100 µL do padrão ou extrato diluído foi misturados à 2,9 mL da solução de DPPH[•] e incubados por 90 minutos à temperatura ambiente. Este tempo de reação foi determinado em testes preliminares. Em seguida, as absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro a 515 nm utilizando metanol como branco. Os valores de atividade sequestraste de DPPH[•] foram determinados utilizando uma curva padrão de soluções metanolicas de Trolox. Os resultados foram expressos em µmol de Trolox equivalente/ grama de matéria seca.

2.8. Atividade antioxidante pelo método do ABTS^{•+}

A determinação da atividade antioxidante através do método ABTS^{•+} foi adaptada de Re et al. (1999). Primeiramente, o radical ABTS^{•+} foi preparado, no mínimo 16 horas antes da análise, por meio da reação de 2,45 mM de persulfato de potássio com 7 mM de ABTS. O radical formado foi diluído em etanol (80%) até obter uma absorbância de 0,700 ± 0,01 no comprimento de onda 734 nm. O extrato (0,2 mL) foi diluído em um balão volumétrico de 10 mL com etanol (80%). Então, uma alíquota de 500 µL do extrato diluído foi transferida para tubos de ensaio contendo 3,5 mL do radical ABTS^{•+}. As absorbâncias foram lidas a 734 nm, após 90 minutos da reação, utilizando etanol (80%) como branco. Soluções de trolox nas concentrações de 10 a 200 µM foram utilizadas como padrão externo. Os resultados foram expressos em µmol de trolox equivalente/ grama de matéria seca.

2.9. Análise estatística

O efeito da irradiação sobre os compostos bioativos foi avaliada utilizando um fatorial (5 doses x 5 tempos) em um delineamento inteiramente casualizado. Aos dados foram ajustados modelos de regressão múltipla e superfícies de respostas foram construídas para os modelos significativos ($p < 0,05$).

Para o experimento de pasteurização, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado. Aos dados gerados foram ajustados modelos de regressão. O teste de Dunnett a 5% de probabilidade foi utilizando logo após o processamento e ao final da vida de prateleira de 60 dias para comparar a amostra pasteurizada com o controle.

Devido à grande quantidade de dados, uma análise de componentes principais (ACP) foi realizada para observar simultaneamente a correlação entre os efeitos dos tratamentos e do tempo de armazenamento. A ACP foi conduzida utilizando o programa estatístico Gemoface. Análises de correlação foram conduzidas por meio da determinação do coeficiente de Pearson.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização da matéria-prima

Na Tabela 1 está apresentada a composição química da polpa de juçara.

Tabela 1- Composição físico-química da polpa de juçara *in natura*

Parâmetro	Resultado	Literatura	Fonte
pH	4,7	4,0 a 6,2	Brasil (2000)
Sólidos solúveis ¹	2,8	2,01	Silva et al. (2013)
Acidez titulável ²	3,0	1,67	Paim, Costa, Walter, & Tonon (2016)
Umidade (%)	88,8	93,8	Paim, Costa, Walter, & Tonon (2016)

¹°Brix; ²% ácido cítrico

Uma vez que não existe legislação específica para polpa de juçara, os parâmetros foram comparados com dados da literatura. O pH da polpa está dentro dos limites estipulados para polpa de açaí (Brasil, 2000). O teor de sólidos solúveis foi semelhante ao encontrado por Silva et al. (2013) para polpa de juçara de São Paulo. A acidez titulável está superior à encontrada para polpa produzida no Espírito Santo, enquanto o teor de umidade é menor do que o da mesma polpa (PAIM *et al.*, 2016).

3.2. Ajuste de modelos

Para o experimento de irradiação foram testados o efeito do tempo de armazenamento e da dose de irradiação sobre o teor de CFT, cy-3-rut, cy-3-glc, ABTS e DPPH utilizando um modelo de regressão múltipla. Para o experimento de

pasteurização, o efeito do tempo de armazenamento sobre foi testado utilizando um modelo de regressão simples. Na Tabela 2 estão apresentados os modelos de regressão significativos, coeficiente de determinação (R^2) e falta de ajuste para as variáveis respostas da polpa irradiada e pasteurizada.

Tabela 2 – Equações ajustadas e parâmetros estatísticos calculados para análises químicas da polpa irradiada e pasteurizada

Irradiação			
Variável	Equação ajustada	R^2	FAj
CFT	$Y = 55,681 - 0,0726x_1 - 0,1594x_2$	91,95%	0,977 ^{ns}
cy-3-rut	$Y = 805,0 - 4,433x_1 - 16,23x_2$	97,92%	0,997 ^{ns}
c-3-glc	$Y = 172,97 - 1,2933x_1 - 3,083x_2$	98,97%	0,999 ^{ns}
ABTS	$Y = 503,6 - 1,125x_1$	78,24%	0,992 ^{ns}
Pasteurização			
Variável	Equação ajustada	R^2	FAj
CFT	$Y = 53,25 - 0,0869x_1$	82,24%	0,611 ^{ns}
cy-3-rut	$Y = 739,1 - 2,89x_1$	84,62%	0,864 ^{ns}

x_1 , tempo; x_2 , dose; R^2 , coeficiente de determinação; FAj, Falta de ajuste; CFT, Compostos Fenólicos Totais; cy-3-rut, cianidina-3-rutinosídeo; cy-3-glc, cianidina-3-glicosídeo; ^{ns}, Não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

A falta de ajuste foi não significativa ($p > 0,05$), o que indica que os modelos foram adequados para prever a variação dos dados. O coeficiente de determinação (R^2) variou de 78,24% a 97,92%, indicando que todos os modelos explicam a variabilidade dos dados.

Para a polpa irradiada, o efeito linear negativo de primeira ordem do tempo de armazenamento (x_1) e da dose de irradiação (x_2) foi significativo ($p < 0,05$) para o CFT, cy-3-rut e cy-3-glc. Para a variável ABTS, foi obtido efeito significativo apenas para o tempo de armazenamento. Observa-se, por meio dos coeficientes de regressão que acompanham x_1 e x_2 , que a cy-3-rut é a variável mais afetada pelo tempo de armazenamento e pela dose de irradiação. Por outro lado, o CFT é a variável menos influenciada por esses fatores.

Para a polpa pasteurizada, o efeito linear negativo de primeira ordem do tempo de armazenamento (x_1) foi significativo para os CFT e cy-3-rut. A cy-3-rut foi mais afetada pelo tempo de armazenamento do que o CPF.

Na Tabela 3 estão apresentadas as médias dos valores obtidos nas análises de compostos fenólicos totais, antocianinas e capacidade antioxidante para cada ponto tratamento.

Tabela 3 - Médias dos valores obtidos nas análises de compostos fenólicos totais, antocianinas e capacidade antioxidante para a polpa não tratada, irradiada e pasteurizada

Variável	Tempo (Dias)	Dose (kGy)				Pasteurização	
		0	2	4	6		8
CFT	0	54,30	55,03	54,31	54,99	54,95	52,61
	15	54,81	54,67	53,50	54,09	53,78	51,97
	30	55,04	53,41	51,72	53,19	53,17	51,32
	45	52,10	51,79	52,04	51,00	50,87	50,49
	60	52,98	50,83	49,17	50,31	49,58	46,83
cy-3-rut	0	781,44	747,44	728,88	709,52	684,58	706,04
	15	772,91	698,74	692,11	615,54	613,64	742,84
	30	707,15	641,23	603,60	557,95	622,47	646,92
	45	607,80	571,77	541,74	495,01	466,89	607,87
	60	566,58	472,16	451,83	426,96	426,68	556,87
cy-3-glc	0	167,33	165,17	162,23	156,55	150,58	136,20
	15	159,70	147,19	145,21	125,86	127,74	140,06
	30	143,51	128,48	122,49	111,06	117,11	128,34
	45	110,65	104,30	104,50	90,35	86,72	115,73
	60	99,46	82,28	82,02	78,24	79,57	115,44
DPPH	0	204,37	199,77	194,36	196,68	196,41	190,13
	15	249,94	245,22	242,06	245,20	246,20	238,93
	30	231,19	223,29	215,07	216,76	224,21	217,71
	45	219,59	215,80	208,01	219,24	205,87	208,43
	60	234,81	217,22	222,62	223,18	224,32	212,03
ABTS	0	514,12	512,26	495,34	509,62	501,86	466,89
	15	527,81	480,56	444,73	453,48	446,52	450,61
	30	514,86	496,17	490,02	487,15	449,34	470,84
	45	474,06	460,29	463,08	439,73	454,00	453,68
	60	458,58	396,17	427,92	443,16	411,53	413,77

*CPF (mg/g em base seca); DPPH ($\mu\text{Mol/g}$ em base seca); ABTS ($\mu\text{Mol/g}$ em base seca); cy-3-rut (mg/100g em base seca); cy-3-glc (mg/100g em base seca).

3.3. Efeito da Irradiação

O tempo de armazenamento e a dose de irradiação influenciaram no teor de compostos fenólicos totais. Observa-se por meio dos coeficientes de regressão (Tabela 2), que o efeito da dose de irradiação sobre os CFT é maior do que o efeito do tempo de armazenamento. De acordo com o modelo, imediatamente após a aplicação da irradiação, quando a dose de irradiação aumenta de 0 para 8 kGy, observa-se uma diminuição na concentração de CFT de 2,30%.

Durante o armazenamento da polpa irradiada houve redução nos CFT. Observa-se que no decorrer da estocagem, quanto maior a dose aplicada, menor foi o teor de CFT ao final dos 60 dias de armazenamento (Figura 1). A perda com o tempo de estocagem variou de 7,82% no controle à 10,69% na polpa irradiada com 8 kGy.

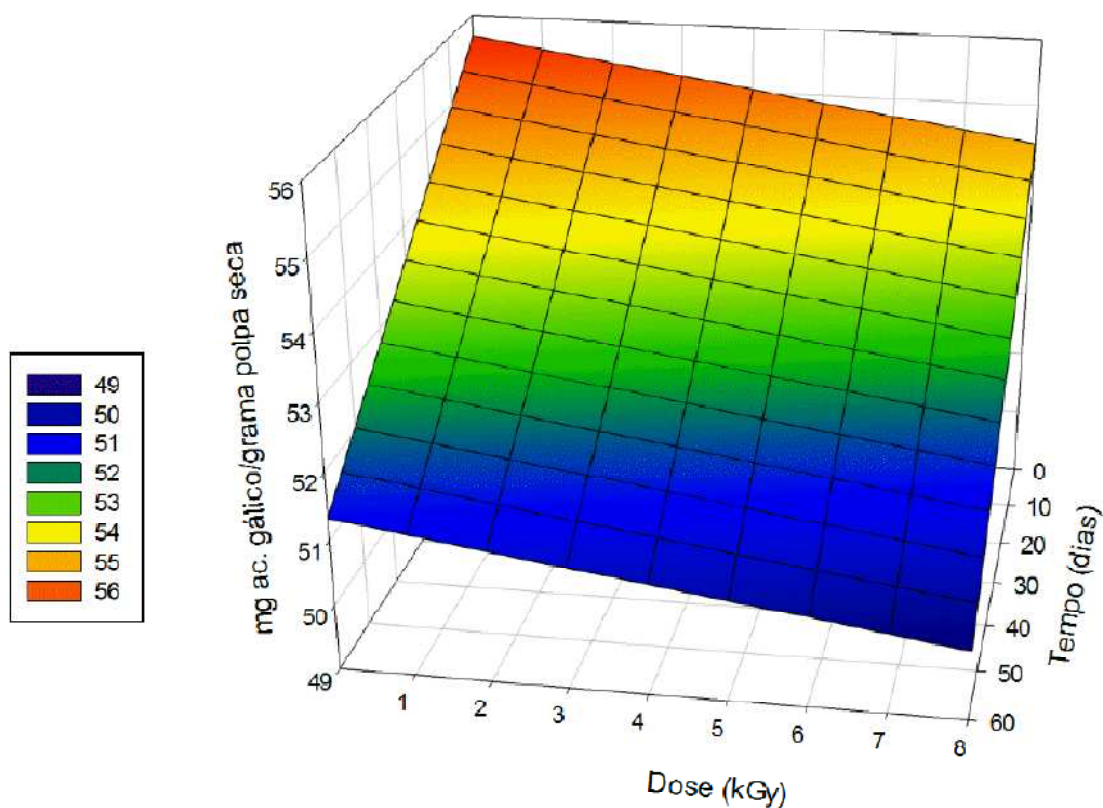


Figura 1- Superfície de resposta plotada para demonstrar a combinação do efeito da dose de irradiação e do tempo de armazenamento sobre os compostos fenólicos totais.

O tempo de armazenamento e a dose de irradiação influenciam no teor das antocianinas cy-3-rut e cy-3-glc. Observa-se por meio dos coeficientes de regressão (Tabela 2), que o efeito da dose de irradiação sobre a concentração de antocianinas é maior do que o efeito do tempo de armazenamento. A cy-3-rut sobre maior influencia do que a cy-3-glc de ambos os fatores.

Após o processamento, quando a dose de irradiação aumenta de 0 para 8 kGy, ocorre uma redução de 14,26 e 16,13%, respectivamente, no teor de cy-3-glc e cy-3-rut. O teor de antocianinas reduziu durante o período de estocagem e quanto maior a dose aplicada, maior foi a perda de cy-3-rut e cy-3-glc (Figura 2 e 3). No presente trabalho, após os 60 dias de armazenamento, o teor cy-3-glc reduziu de 44,86% (controle) a 59,12% na polpa irradiada com dose de 8 kGy. O teor de cy-3-rut reduziu de 33,04% na amostra controle a 49,17% na irradiada com 8 kGy.

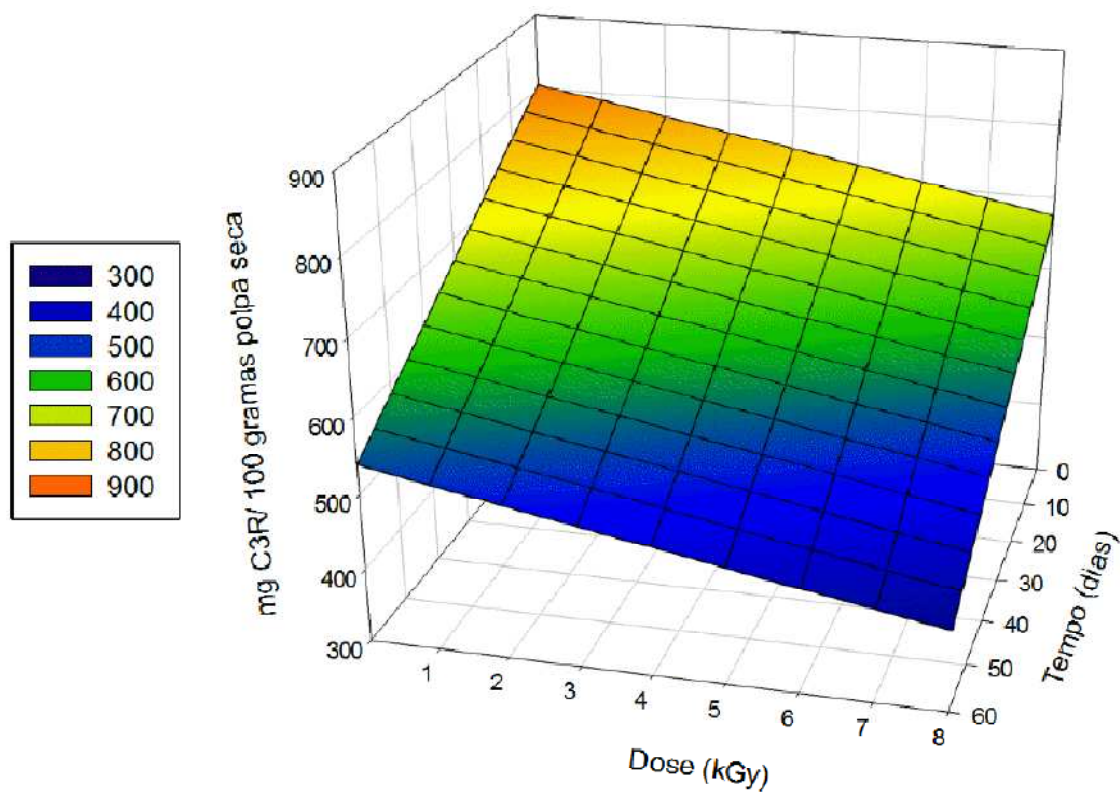


Figura 2 - Superfície de resposta plotada para demonstrar a combinação do efeito da dose de irradiação e do tempo de armazenamento sobre a cy-3-rut.

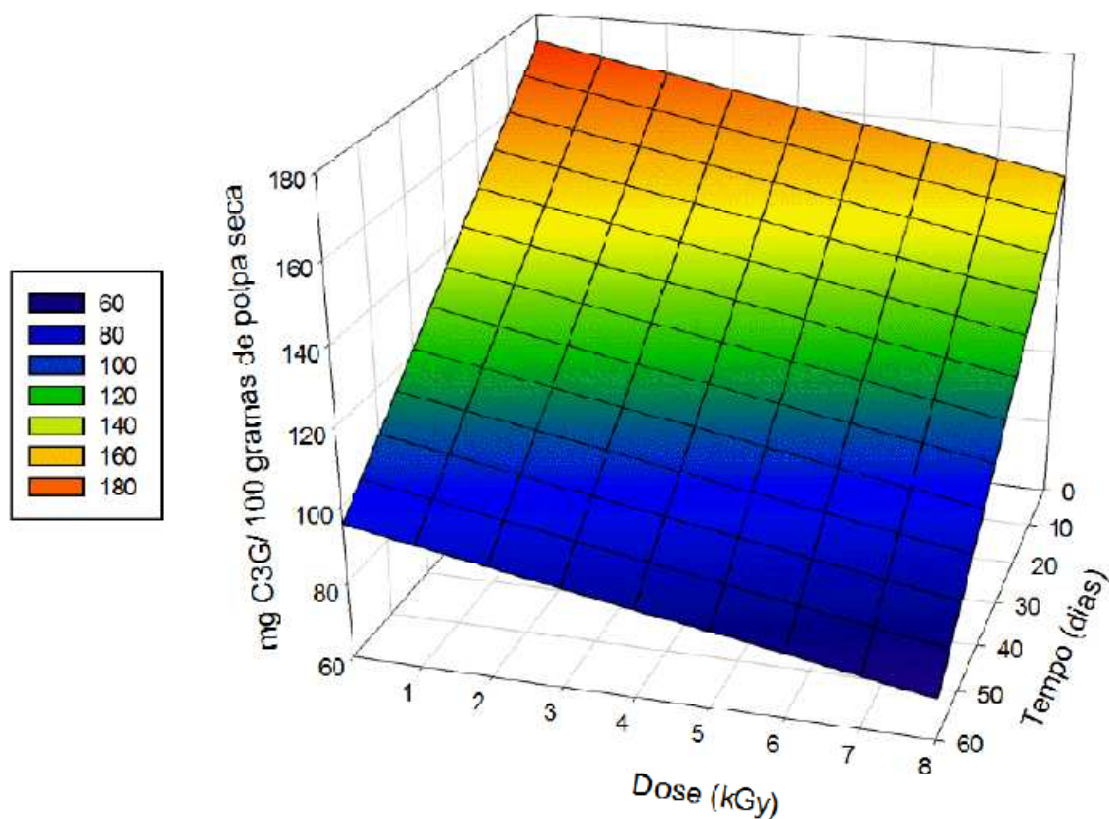


Figura 3 - Superfície de resposta plotada para demonstrar a combinação do efeito da dose de irradiação e do tempo de armazenamento sobre a cy-3-glc.

O processamento e o tempo de estocagem são fatores que podem modificar o teor de compostos fenólicos dos frutos após a colheita. No presente estudo, ocorreu um decréscimo do conteúdo de compostos fenólicos totais e antocianinas individuais com aumento da dose de irradiação (Figura 1-3), indicando que este processamento afeta negativamente a qualidade da polpa. Durante a irradiação são formados radicais livres pelo processo de radiólise da água (SEVILLA *et al.*, 2016). Esses radicais possuem alta reatividade e podem oxidar os compostos fenólicos que, por sua vez, estariam exercendo seu papel como antioxidantes naturais (SHAHBAZ *et al.*, 2014).

Observa-se pelos coeficientes de regressão apresentados na Tabela 2, que a dose de irradiação apresenta uma intensidade de efeito diferente em cada composto (CFT, cy 3-rut e cy 3-glc). Isso ocorre porque os radicais livres podem atuar de maneira distinta nos compostos fenólicos individuais de acordo com a estrutura da molécula (ALIGHOURCHI; BARZEGAR; ABBASI, 2008; ITO *et al.*, 2016).

No decorrer da estocagem, quanto maior foi a dose aplicada, menor foi o teor de CFT, cy-3-rut e cy-3-glc. Isso ocorre provavelmente devido os radicais livres causarem degradação de membranas por perda de fosfolipídeos. Esse efeito é potencializado pelo tempo de armazenamento, ou seja, o conteúdo de fosfolipídeos na membrana reduz mais rapidamente com o passar do tempo, quanto maior for a dose de irradiação aplicada inicialmente (VOISINE; VEZINA; WILLEMOT, 1991; VOISINE; VÉZINA; WILLEMOT, 1993). Logo, a descompartimentação da membrana celular provoca o contato entre enzimas oxidativas e compostos fenólicos (BANERJEE *et al.*, 2015), ocasionando em maior perda destes componentes quanto maior for a dose de irradiação aplicada e tempo de armazenamento. Enzimas oxidativas, como a polifenoloxidase, que utilizam compostos fenólicos como substrato, não são inativadas pelo processo de irradiação (KIM *et al.*, 2007; KRAPFENBAUER *et al.*, 2006).

3.4. Efeito da pasteurização

Imediatamente após a pasteurização não houve diferença significativa entre a amostra tratada e controle (Tabela 4). Houve um efeito significativo ($p < 0,05$) do tempo de armazenamento sobre os CFT da polpa pasteurizada (Tabela 2), acarretando em um decréscimo nos CFT no decorrer do tempo de estocagem de 9,79%, de acordo com o modelo proposto. Aos 60 dias de estocagem o teor de compostos fenólicos foi significativamente inferior na polpa pasteurizada em relação ao controle (Tabela 4).

TABELA 4- Efeito da pasteurização no teor de compostos fenólicos, antocianinas capacidade antioxidante

Após o processamento		
	Controle	Pasteurizada
Fenólicos totais	54,30 a	52,61 a
cy 3-glc	167,33 a	136,20 a
cy 3-rut	781,44 a	706,04 a
DPPH	204,37 a	190,13 a
ABTS	514,12a	498,51 a
Após 60 dias de armazenamento a 4°C		
	Controle	Pasteurizada
Fenólicos totais	52,98 a	46,83 b
cy 3-glc	99,46 a	115,44 a
cy 3-rut	566,58 a	556,87 a
DPPH	234,81a	212,03 a
ABTS	458,58 a	413,77 a

Médias seguidas pela mesma letra (a-b) na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunnet ao nível de 5% de probabilidade. CPF (mg/g em base seca); DPPH ($\mu\text{Mol/g}$ em base seca); ABTS ($\mu\text{Mol/g}$ em base seca); cy-3-rut (mg/100g em base seca); cy-3-glc (mg/100g em base seca).

Não houve diferença significativa no teor de cy-3-rut e cy-3-glc entre a polpa controle e a pasteurizada imediatamente após o processamento (Tabela 4).

Houve um efeito significativo ($p < 0,05$) do tempo de armazenamento apenas no teor de cy-3-rut da polpa pasteurizada (Tabela 2), porém a cy-3-glc não variou com o tempo. Houve uma perda de aproximadamente 21% na cy-3-rut durante o armazenamento a 4°C durante 60 dias. Apesar dessa perda, no presente trabalho, ao final da estocagem, a polpa pasteurizada não apresentou diferença significativa na concentração de cy-3-rut quando comparada com o controle (Tabela 4).

O processo de pasteurização não ocasionou um efeito imediato sobre o conteúdo de CFT, cy-3-rut e cy-3-glc. Por outro lado, o tempo de armazenamento teve um efeito negativo sobre o conteúdo de CFT e cy-3-rut (Tabela 2). O calor provoca aumento das reações de oxidação com conseqüente redução do conteúdo fenólico (ZHANG et al., 2012). Devido o aumento da temperatura, ocorre a degradação térmica de polissacarídeos da parede celular (LLANO *et al.*, 2003), ocasionando em maior contato entre os compostos fenólicos e o oxigênio. Para o caso específico das antocianinas, ocorre desglicosilação seguida de clivagem da antocianidina, formando compostos fenólicos de menor peso molecular (SADILOVA; STINTZING; CARLE, 2006) ou reações de polimerização, formando compostos de alto peso molecular que são instáveis

(CHOI; KIM; LEE, 2002; OLIVEIRA; ALMEIDA; PINTADO, 2014; PACHECO-PALENCIA; HAWKEN; TALCOTT, 2007).

3.5. Capacidade antioxidante

O efeito da dose de irradiação e do tempo de armazenamento sobre a atividade sequestrante do radical DPPH não foi significativo ($p > 0,05$). Logo, esses fatores não influenciaram na porcentagem de varredura do radical DPPH. Apenas o tempo de armazenamento apresentou efeito significativo ($p < 0,05$) sobre a atividade antioxidante da polpa de juçara irradiada, determinada pelo método de ABTS (Tabela 2). A capacidade de eliminar radicais livres diminuiu no decorrer do tempo de armazenamento.

A pasteurização não influenciou na capacidade antioxidante determinada pelos métodos de ABTS e DPPH da polpa de juçara pasteurizada imediatamente após o processamento (Tabela 4). O tempo de estocagem não teve efeito significativo ($p > 0,05$) sobre a capacidade de eliminar radicais livres da polpa pasteurizada (Tabela 2).

Não houve correlação entre a variável DPPH e antocianinas (cy-3-rut e cy-3-glc) ($p > 0,05$). A correlação entre DPPH e compostos fenólicos totais foi considerada baixa ($r = 0,215$). Houve correlação positiva entre a capacidade antioxidante pelo método de ABTS com as cy-3-rut ($r = 0,632$), cy-3-glc ($r = 0,466$) e CFT ($r = 0,403$). Portanto, as antocianinas, principalmente a cy-3-rut, são os componentes que mais contribuem para a capacidade antioxidante da polpa de juçara.

3.6. Análise de componentes principais

Uma análise de componentes principais foi usada para avaliar simultaneamente o efeito da irradiação e da pasteurização, inicialmente avaliados separadamente, e do tempo de armazenamento sobre compostos 0 fenólicos, antocianinas individuais e capacidade antioxidante da polpa de juçara. Os pontos na Figura 5 foram codificados com o tipo de tratamento (C, controle; I2, 2 kGy; I4, 4kGy; I6, 6 kGy; I8, 8 kGy; P, pasteurização) seguido pelo tempo de armazenamento (T0, imediatamente após o processamento; T15, 15 dias; T30, 30 dias; T45, 45 dias; T60, 60 dias). Os dois componentes principais juntos explicam 89,02% (PC1 67,86% e PC2 21,16%) da variabilidade contida nos dados (Figura 4). O primeiro componente principal está mais correlacionado com o CFT, cy-3-glc, cy-3-rut e ABTS. Por outro lado, o DPPH está fortemente correlacionado com o segundo componente principal.

Foram identificados 4 grupos distintos. O primeiro grupo é composto pelos tratamentos correspondentes ao tempo zero de estocagem (CT0, I2T0, I4T0, I6T0, I8T0 e PT0). Esse grupo foi positivamente correlacionado com CFT, cy-3-glc, cy-3-rut e ABTS, indicando que estes compostos estão presentes em maior proporção nessas amostras e são os principais responsáveis pela diferença entre estes tratamentos e os demais. O segundo grupo é representado por todas as amostras do 15º dia de armazenamento (CT15, I2T15, I4T15, I6T15, I8T15 e PT15) e o controle do 30º dia (CT30). Esse grupo apresenta correlação com as variáveis CFT, cy-3-glc, cy-3-rut e ABTS, porém estão principalmente relacionadas com o DPPH. No terceiro grupo estão 5 amostras do 30º dia (I2T30, I4T30, I6T30, I8T30 e PT30), 4 amostras do 45º dia (CT45, I2T45, I4T45 e PT45) e 1 amostra do 60º (CT60). Esse grupo está posicionado perto do centro do gráfico, indicando pouca correlação com CFT, cy-3-glc, cy-3-rut, ABTS e DPPH. O quarto grupo é composto por 2 amostras do 45º dia (I6T45 e I8T45) e 5 amostras do 60º dia (I2T60, I4T60, I6T60, I8T60 e PT60), apresentando forte correlação negativa com CFT, cy-3-glc, cy-3-rut e ABTS.

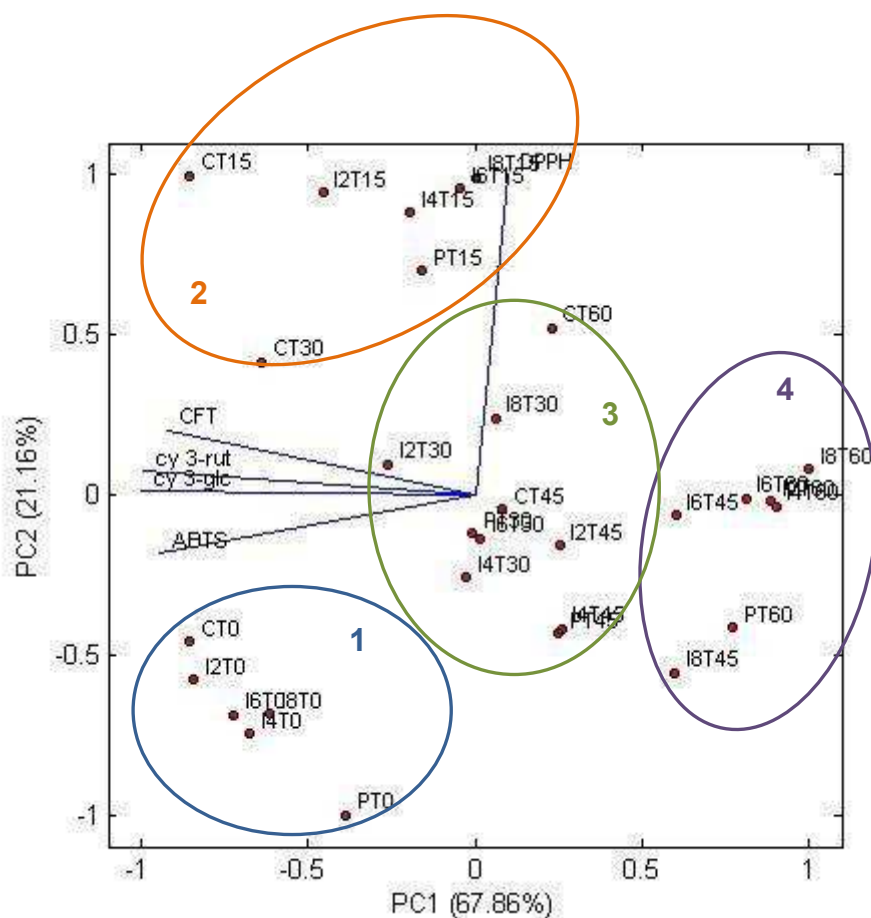


Figura 4 – Biplot entre tratamentos e variáveis resposta (CFT, cy-3-glc, cy-3-rut, ABTS e DPPH).

O primeiro componente principal, positivamente correlacionado com o CFT, cy-3-glc, cy-3-rut e ABTS, diferencia claramente as amostras do tempo zero de estocagem (grupo 1, 3º quadrante) das amostras do 60º dia de estocagem (grupo 4), indicando que o teor de compostos fenólicos totais, antocianinas e capacidade antioxidante é maior no início do armazenamento. De acordo com esse resultado, o fator tempo de armazenamento parece ter maior efeito do que o tipo de tratamento na composição fenólica da polpa, principalmente até o 30º dia de estocagem. A maior parte das amostras do 30º e 45º dias aparecem no mesmo grupo (grupo 3), indicando que são semelhantes entre si.

As amostras do 45º dia de armazenamento irradiadas com doses de 6 e 8 kGy (I6T45 e I8T45) apresentam maior semelhança com as amostras do 60º dia, indicando que ao final do tempo de armazenamento o efeito da dose de irradiação pode ser maior que no início do armazenamento. Esse resultado está de acordo com observado através dos modelos de regressão, indicando, mais uma vez, que o efeito da dose é potencializado pelo tempo de armazenamento (VOISINE; VEZINA; WILLEMOT, 1991; VOISINE; VÉZINA; WILLEMOT, 1993).

De acordo com a ACP, até 30 dias o efeito da irradiação e da pasteurização apresenta intensidade semelhante. A partir do 45º dia de estocagem, as doses mais altas de irradiação (6 e 8 kGy) parecem ter um efeito mais intenso à composição fenólica da polpa do que a pasteurização. Por fim, todas as amostras do 60º dia de armazenamento apresentam diferença em relação à amostra controle (CT60), indicando que todos os tratamentos foram prejudiciais ao conteúdo fenólico e capacidade antioxidante, pelo método ABTS, da juçara.

4. CONCLUSÃO

O processo de irradiação teve um efeito prejudicial sobre os compostos fenólicos, a cianidina-3-glicosídeo, a cianidina-3-rutinosídeo e a capacidade antioxidante, determinada pelo método ABTS, da polpa de juçara durante todo o período de armazenamento a 4 °C. A pasteurização não alterou o teor de cianidina-3-rutinosídeo, cianidina-3-glicosídeo e capacidade antioxidante da polpa quando comparado com o controle, após os 60 dias de armazenamento refrigerado. Os tipos de processamento afetaram de maneira distinta as antocianinas individuais. A cianidina-3-glicosídeo foi mais estável durante o armazenamento da polpa pasteurizada do que a

cianidina-3-rutinosídeo. Por outro lado, houve menor perda de cianidina-3-rutinosídeo na polpa irradiada durante o armazenamento.

Segundo a análise de componentes principais, o tipo de processamento teve efeito similar até o 30º dia de estocagem. A partir do 45º dia, as maiores doses de irradiação parecem ser mais prejudiciais. Uma pesquisa com tempos de estocagem mais longos é necessária para confirmar esse resultado. Por fim, nenhuma amostras processada apresenta similaridade com o controle ao final do armazenamento refrigerado.

5. REFERÊNCIAS

ALIGHOURCHI, H; BARZEGAR, M; ABBASI, S. Effect of gamma irradiation on the stability of anthocyanins and shelf-life of various pomegranate juices. v. 110, p. 1036–1040, 2008.

ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official methods of analysis. 18 ed. Gaithersburg: 2005.

ARJEH, Edris; BARZEGAR, Mohsen; SAHARI, Mohammad Ali. Effects of gamma irradiation on physicochemical properties, antioxidant and microbial activities of sour cherry juice. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 114, p. 18–24, 2015.

BANERJEE, Aparajita *et al.* Gamma irradiation inhibits wound induced browning in shredded cabbage. *Food Chemistry*, v. 173, p. 38–44, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.166>>.

BICUDO, Milene Oliveira Pereira; RIBANI, Rosemary Hoffmann; BETA, Trust. Anthocyanins, Phenolic Acids and Antioxidant Properties of Juçara Fruits (*Euterpe edulis* M.) Along the On-tree Ripening Process. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 69, n. 2, p. 142–147, 26 jun. 2014. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11130-014-0406-0>>.

BORGES, Graciele Da Silva Campelo *et al.* Protective effect of *Euterpe edulis* M. on Vero cell culture and antioxidant evaluation based on phenolic composition using HPLC–ESI-MS/MS. *Food Research International*, v. 51, n. 1, p. 363–369, abr. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.035>>.

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

BRASIL, INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 01, DE 7 DE JANEIRO DE 2000. Aprovar o Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta. Diário Oficial da União, nº 6, Brasília, 10 de janeiro de 2000.

BRITO, Edy Sousa De *et al.* Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, n. 23, p. 9389–9394, nov. 2007. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0715020>>.

CHOI, M H; KIM, G H; LEE, H S. Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. *Food Research International*, v. 35, p. 753–759, 2002.

GOLDING, John B *et al.* Postharvest Biology and Technology Low dose gamma irradiation does not affect the quality , proximate or nutritional profile of “ Brigitta ” blueberry and “ Maravilla ” raspberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, v. 96, p. 49–52, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.05.002>>.

ITO, Vivian Cristina *et al.* Effects of gamma radiation on the phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of apple pomace flour during storage using multivariate statistical techniques. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 33, p. 251–259, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.015>>.

KIM, Dongho *et al.* Effects of gamma irradiation on the radiation-resistant bacteria and polyphenol oxidase activity in fresh kale juice. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 76, p. 1213–1217, 2007.

KRAPFENBAUER, Gottfried *et al.* Effect of Thermal Treatment on the Quality of Cloudy Apple Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 54, p. 5453–5460, 2006.

LLANO, K M *et al.* Mechanical and biochemical response of kiwifruit tissue to steam blanching. *Food Research International*, v. 36, p. 767–775, 2003.

MOREHOUSE, Kim M. Food irradiation-US regulatory considerations. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 63, p. 281–284, 2002.

NAJAFABADI, Najmeh Shams *et al.* Effect of gamma irradiation on some physicochemical properties and bioactive compounds of jujube (*Ziziphus jujuba* var *vulgaris*) fruit. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 130, p. 62–68, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.07.002>>.

OLIVEIRA, Ana; ALMEIDA, Domingos P F; PINTADO, Manuela. Changes in Phenolic Compounds During Storage of Pasteurized Strawberry. *Food and Bioprocess Technology*, v. 7, p. 1840–1846, 2014.

PACHECO-PALENCIA, Lisbeth A; HAWKEN, Palo; TALCOTT, Stephen T. Phytochemical , antioxidant and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. *Food Research International*, v. 40, p. 620–628, 2007.

PAIM, Diego R S F *et al.* LWT - Food Science and Technology Microencapsulation of

probiotic jussara (*Euterpe edulis* M .) juice by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, v. 74, p. 21–25, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.022>>.

RE, Roberta *et al.* ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 26, p. 1231–1237, 1999.

REBELLO, Ligia Portugal Gomes *et al.* Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea×IAC 1398-21) using HPLC–DAD–ESI-MS/MS. *Food Research International*, v. 54, n. 1, p. 354–366, nov. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.024>>.

RUFINO, Socorro M *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. v. 121, p. 996–1002, 2010.

SADILOVA, E.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Thermal Degradation of Acylated and Nonacylated Anthocyanins. *Journal of Food Science*, v. 71, p. 504–512, 2006.

SCHULZ, Mayara *et al.* Chemical composition , bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. *Food Research International*, v. 77, p. 125–131, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.006>>.

SEVILLA, Michael D *et al.* Gamma and ion-beam irradiation of DNA: Free radical mechanisms, electron effects, and radiation chemical track structure. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 128, p. 60–74, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.04.022>>.

SHAHBAZ, Hafiz Muhammad *et al.* Chemical and sensory quality of fresh pomegranate fruits exposed to gamma radiation as quarantine treatment. *Food Chemistry*, v. 145, p. 312–318, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.052>>.

SILVA, Paula Porrelli Guilherme Mei *et al.* PHYSICAL , CHEMICAL , AND LIPID COMPOSITION OF JUÇARA (*Euterpe edulis* MART.) PULP. *Brazilian Journal of Food & Nutrition*, v. 24, p. 7–13, 2013.

SINGLETON, Vernon L.; ROSSI, Joseph A. Jr. Colourimetry of total phenolics with phosphomolybdc-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 16, p. 144–153, 1965.

VOISINE, Richard; VEZINA, Louis-p; WILLEMOT, Claude. Induction of Senescence-Like Deterioration of Microsomal Membranes from Cauliflower by Free Radicals Generated during Gamma Irradiation1. *Plant Physiology*, v. 97, p. 545–550, 1991.

VOISINE, Richard; VÉZINA, Louis-p; WILLEMOT, Claude. Modification of Phospholipid Catabolism in Microsomal Membranes of γ -Irradiated Cauliflower. *Plant Physiology*, v. 102, p. 213–218, 1993.

WOLFE, Kelly L. *et al.* Cellular Antioxidant Activity of Common Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 8418–8426, 2008.

ZHANG, Lixia *et al.* Compositions of anthocyanins in blackberry juice and their thermal degradation in relation to antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, v. 235, n. 50, p. 637–645, 2012.

CONCLUSÃO GERAL

- A polpa de juçara possui compostos antociânicos derivados de cianidina, peonidina e pelargonidina, sendo a cianidina-3-rutinosídeo o composto majoritário.
- Os flavonóis são constituídos por derivados de kaempferol, quercetina e isoramnetina, ou seja, apresentam o mesmo padrão de substituição que os antocianos.
- Foram encontrados na polpa de juçara apenas ácidos hidroxicinâmicos derivados do ácido clorogênico.
- Os principais flavan-3-óis encontrados foram a catequina e a epicatequina.
- A região de cultivo da planta influenciou na concentração de todas as classes de compostos e na capacidade antioxidante do fruto.
- As antocianinas e flavonóis foram os principais responsáveis pela elevada capacidade antioxidante.
- A pasteurização ocasionou em menor perda de compostos fenólicos totais e antocianinas do que a irradiação, quando aplicados à polpa de juçara.