



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA**

**CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DE ALIMENTOS**

**Caracterização físico-química e capacidade antioxidante  
de pitanga (*Eugenia uniflora* L.)**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Milena Bagetti**

**Santa Maria, RS, Brasil,  
2009**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E CAPACIDADE  
ANTIOXIDANTE DE PITANGA (*Eugenia uniflora* L.)**

**por**

**Milena Bagetti**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

**Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Tatiana Emanuelli**

**Santa Maria, RS, Brasil,  
2009**

Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**Caracterização físico-química e capacidade antioxidante de pitanga  
(*Eugenia uniflora* L.)**

elaborada por  
**Milena Bagetti**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

**Tatiana Emanuelli, Dr<sup>a</sup>.**  
(Presidente/Orientador)

---

**Claudia Severo da Rosa, Dr<sup>a</sup> (Unifra)**

---

**Roger Wagner, Dr. (UFSM)**

Santa Maria, 06 de fevereiro de 2009.

## DEDICATÓRIA

**Aos meus pais: Lucia e Vilmar,  
por todo amor, incentivo ao estudo e  
confiança.**

Ninguém ignora tudo, ninguém sabe tudo,  
portanto aprendemos SEMPRE  
(Paulo Freire).

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais por todo apoio, confiança e incentivo ao estudo que sempre me proporcionaram, por me motivarem a lutar sempre em minha vida por tudo que acredito, apesar das dificuldades. Essa conquista também é de vocês!

Aos meus irmãos, Tatiana, Aline e Mateus, pelo carinho, dedicação e amizade. Amo vocês!

A Dr<sup>a</sup> Elizete Facco, não somente por toda sua contribuição neste trabalho, mas por sua amizade, compreensão e pelos ensinamentos tanto profissionais quanto pessoais.

A prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Tatiana Emanuelli, por sua orientação e apoio sempre de muito boa vontade, muito obrigada!

À Daniele, Jaqueline e Gabriela pela ajuda nos experimentos e amizade.

Aos amigos e colegas da Pós-Graduação: Anne, Tiffany, Fabrício e Larissa Alves por toda força, carinho e apoio.

Aos demais colegas da Pós-graduação pelos conhecimentos trocados e descontração.

Ao Carlos pelo auxílio no cromatógrafo gasoso, disponibilidade para ajudar e amizade.

Ao pessoal do Nidal: Ana Paula Veeck, Julcemar, Paula, Taís, Greicy, prof<sup>o</sup> Dr Laerte, os integrantes dos Tropeiros do Nidal e demais colegas de laboratório, que compartilharam comigo esta caminhada.

Ao pessoal do Departamento de Tecnologia de Alimentos, em especial a Marialene e Moisés, pelo apoio e carinho e por sempre estarem dispostos a ajudar!

A professora Maria da Graça, por seus ensinamentos e amizade.

Aos demais professores do Programa de Pós-graduação, por todos os conhecimentos proporcionados.

Aos amigos: Tatiana Escobar, Franciele Gabriel, Ciro de Oliveira, Aloísio Licht, Luana Grivot, Geisi Balsamo, pelos momentos de descontração, amizade, compreensão e apoio nas horas difíceis.

Aos amigos do Coletivo Até Quando Esperar pelos momentos de reflexões e debates que contribuíram com o meu conhecimento de mundo e com isso para o aperfeiçoamento deste trabalho.

A Embrapa Clima Temperado de Pelotas-RS pelas amostras cedidas, em especial à Dr<sup>a</sup> Márcia Vizzotto.

Às mestrandas e doutorandas do Laboratório de Carotenóides da UNICAMP, em especial à Cintia Kobori, pela cordialidade com que me receberam ensinamentos e momentos agradáveis.

À prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Delia Rodriguez-Amaya pelos ensinamentos e oportunidade de realização de análises em seu laboratório.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) pela oportunidade.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para realização deste trabalho.

Muito obrigada!

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos  
Universidade Federal de Santa Maria

### **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE PITANGA (*Eugenia uniflora* L.)**

AUTOR (A): MILENA BAGETTI

ORIENTADOR (A): TATIANA EMANUELLI

CO-ORIENTADOR (A): ELIZETE MARIA PESAMOSCA FACCO

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 06 de fevereiro de 2009.

Devido à escassa quantidade de trabalhos sobre a composição físico-química de frutos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.), este estudo teve como objetivo a caracterização de pitangas do Rio Grande do Sul (Brasil) através da determinação da composição e capacidade antioxidante da polpa e das sementes de pitanga. Foram analisadas pitangas de diferentes colorações de polpa (roxa, vermelha e laranja) de seleções que estão sendo cultivadas na Embrapa Clima Temperado (RS-Brasil). Os parâmetros de qualidade das pitangas (pH, brix e acidez) ficaram dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira para polpas congeladas. Foram observadas apenas pequenas diferenças nestes parâmetros, na composição centesimal e de ácidos graxos entre as frutas com diferentes colorações de polpa. As pitangas de cor laranja apresentaram maior conteúdo de carotenóides que as de cor vermelha. Os extratos de pitangas roxas apresentaram o maior conteúdo de fenólicos totais e de antocianinas, bem como, a maior capacidade antioxidante. A capacidade antioxidante (valores de DPPH e FRAP) dos extratos metanólicos de pitanga apresentou alta correlação com o conteúdo de fenólicos totais, mas nos extratos etanólicos o conteúdo de antocianinas correlacionou-se apenas com a capacidade antioxidante avaliada pelo método de FRAP. Os resultados indicam que as pitangas cultivadas no Rio Grande do Sul, especialmente as de cor roxa, podem ser consideradas fontes de compostos bioativos. As sementes de pitanga apresentaram também capacidade antioxidante, que foi parcialmente correlacionada com o alto teor de fenólicos, apresentando variação de acordo com a coloração das pitangas. Assim, sugere-se que este resíduo de baixo valor do processamento da pitanga, poderia ser usado como uma fonte natural de antioxidantes. Não foram encontradas diferenças relevantes na composição de sementes de pitanga de diferentes colorações. Os resultados revelaram que a pitanga é uma

boa fonte de fibra dietética, que poderia ser explorada para uso na nutrição animal e/ou humana. No entanto, mais estudos são necessários para determinar se a presença de algum fator antinutricional como glicosídeos cianogênicos poderia limitar esta aplicação.

Palavras-chave: ácidos graxos insaturados,  $\beta$ -criptoxantina, licopeno,  $\beta$ -caroteno, semente, pitanga.



## ABSTRACT

Master Dissertation  
Graduate Program in Food Science and Technology  
Federal University of Santa Maria

### PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF PITANGA (*Eugenia uniflora* L.)

AUTHOR: MILENA BAGETTI

ADVISOR: TATIANA EMANUELLI

CO-ADVISOR: ELIZETE MARIA PESAMOSCA FACCO

Date and Defense place: Santa Maria, 06 de fevereiro de 2009.

Due to the scarce amount of studies on the physicochemical composition and antioxidant capacity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.) this study was performed, with objective of increase data on pitanga fruits from Rio Grande do Sul state (Brazil) by determining the composition and antioxidant capacity of flesh and seeds from pitanga. We analyzed pitanga fruits with different flesh colors (purple, red and orange) from tree selections cultivated at Embrapa Clima Temperado (RS-Brazil). The quality parameters of pitanga fruits (pH, brix, acidity) were within the legal limits established for frozen pulp and only slight differences were observed in these parameters and in the proximate and fatty acid composition among fruits with different flesh color. Orange fleshed pitanga had higher carotenoid content than red samples. The extracts from purple fleshed color pitanga had the highest total phenolic and anthocyanin content along with the highest antioxidant capacity. Antioxidant capacity (DPPH and FRAP assay) of methanolic pitanga extracts was highly correlated to the total phenolic content, but in ethanolic extracts anthocyanin content was correlated only to FRAP antioxidant capacity. These results indicate that pitanga cultivated in the Rio Grande do Sul state, specially the purple fleshed fruits, can be considered sources of bioactive compounds. Pitanga seeds had antioxidant capacity that was partially correlated to their high phenolic content and showed some variation according to the pitanga flesh colors. Accordingly, we suggest that this low value waste of pitanga processing, could be used as a source of natural antioxidants. No relevant differences were found in the proximate composition among seeds from pitanga of different colors. Results revealed that pitanga seeds are a good source of dietary fiber, which could be explored for use in animal and/or human nutrition. However, more studies are necessary to determine if some antinutritional factor like cyanogenic glycosides could be a limit for this application.

Key-words: unsaturated fatty acids,  $\beta$ -cryptoxanthine, lycopene,  $\beta$ -carotene, seed, pitanga.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Pitangas ( <i>Eugenia uniflora L.</i> ) com diferente coloração de polpa.....	17
<b>FIGURA 2.</b> Cátion flavilium .....	20
<b>FIGURA 3.</b> Exemplos de terpenos .....	23

## LISTA DE TABELAS

### MANUSCRITO 1

**TABLE 1:** Quality parameters of purple, red and orange fleshed color pitanga (*Eugenia uniflora L.*).....38

**TABLE 2:** Proximate composition (%) of purple, red and orange fleshed color pitanga (*Eugenia uniflora L.*).....39

**TABLE 3:** Fatty acid composition (% of total fatty acids) of purple, red and orange fleshed color pitanga (*Eugenia uniflora L.*).....40

**TABLE 4:** Phenolic content and antioxidant capacity of methanolics extracts from purple, red and orange fleshed color pitanga (*Eugenia uniflora L.*).....42

**TABLE 5:** Anthocyanin content and antioxidant capacity of ethanolics extracts from purple, red and orange fleshed color pitanga (*Eugenia uniflora L.*).....44

**TABLE 6:** Carotenoid composition ( $\mu\text{g/g}$ ) of red and orange pitanga (*Eugenia uniflora L.*) pulp.....45

### MANUSCRITO 2

**TABLE 1:** Proximate composition (%) of seeds from purple, red and orange pitanga (*Eugenia uniflora L.*).....66

**TABLE 2:** Fatty acid composition (% of total fatty acids) of seeds from purple, red and orange pitanga.....67

**TABLE 3:** Antioxidant activity and phenolic content of extracts from purple, red and orange pitanga.....68

## **LISTA DE APÊNDICES**

**APÊNDICE 1.** Pitangas utilizadas no experimento: roxa (a cima), laranja (a esquerda) e vermelha (a direita):.....82

**APÊNDICE 2.** Sementes de pitanga utilizadas: roxa (a cima), laranja (a esquerda) e vermelha (a direita).....83

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1. Pitanga (<i>Eugenia uniflora</i> L.) .....</b>	<b>16</b>
2.1.1. Características gerais .....	16
2.1.2. Benefícios à saúde.....	17
<b>2.2. Composição físico-química de frutas .....</b>	<b>18</b>
<b>2.3. Compostos bioativos .....</b>	<b>19</b>
2.3.1. Polifenóis .....	19
2.3.2. Flavonóides e Antocianinas .....	20
2.3.3. Carotenóides .....	21
<b>2.4. Antioxidantes.....</b>	<b>23</b>
2.4.1. Defesas antioxidantes.....	23
2.4.2. Avaliação da capacidade antioxidante.....	24
<b>2.5. Aproveitamento de resíduos.....</b>	<b>25</b>
<b>3. MANUSCRITOS.....</b>	<b>27</b>
<b>3.1. Manuscrito 1. Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (<i>Eugenia uniflora</i> L.).....</b>	<b>28</b>
<b>3.2. Manuscrito 2. Antioxidant capacity and composition of pitanga (<i>Eugenia uniflora</i> L.) seeds .....</b>	<b>52</b>
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>69</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>73</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>74</b>
<b>7. APÊNDICES.....</b>	<b>82</b>
<b>Apêndice 1. Pitangas utilizadas no experimento: roxa (acima), laranja (a esquerda) e vermelha (a direita).....</b>	<b>82</b>

<b>Apêndice 2. Sementes de pitanga utilizadas: roxa (acima), laranja (a esquerda) e vermelha (a direita).....</b>	<b>83</b>
---	-----------

## 1. INTRODUÇÃO

É largamente conhecido, por estudos epidemiológicos, que o consumo de frutas e vegetais confere muitos benefícios à saúde, pois tem se demonstrado uma associação positiva entre o consumo destes alimentos e a redução do índice da mortalidade por doenças crônicas (STEINMETZ, POTTER, 1996; GARCÍA-CLOSAS et al., 1999). Os fitoquímicos presentes em frutas e vegetais podem ser benéficos na proteção do corpo humano contra danos causados por espécies reativas de oxigênio (ROS) (DIPLOCK et al, 1998). Isto promove proteção contra doenças crônicas, incluindo câncer e desordens neurodegenerativas, inflamação e doenças cardiovasculares (PRIOR ; GU, 2005).

A pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) é uma planta da família das mirtáceas, que tem seu cultivo disseminado por vários países do mundo, no Brasil ela é cultivada principalmente no Estado de Pernambuco. Esta planta começou a ser estudada pelos pesquisadores devido às propriedades benéficas à saúde atribuídas às folhas, pois estas são utilizadas na medicina popular para inúmeras desordens (ADEBAJO, OLOKI, ALADESANMI, 1989). Além disso, ações benéficas tais como atividade antiinflamatória, diurética, hipotensora, inibidora do aumento da glicose e de triglicerídios séricos (MATSMURA et al, 2000) estão sendo estudadas.

No entanto, além das folhas da pitanga possuem compostos com propriedades benéficas. Os frutos também possuem carotenóides e fenólicos, entre outros compostos, os quais proporcionam benefícios à saúde. A presença de antocianinas aliada aos teores de flavonóis e carotenóides totais fazem deste fruto uma fonte promissora de compostos antioxidantes (LIMA, MELO, LIMA, 2002).

Na indústria brasileira de alimentos, os frutos de pitanga vêm sendo usados na produção de sucos e polpa congelada. A polpa congelada possui um alto potencial econômico, devido a sua alta concentração de antocianinas e carotenóides (LIMA, MELO, LIMA, 2002). Além disso, a investigação da composição centesimal dos frutos e do perfil lipídico nos oferece dados sobre o valor nutricional de frutas, pouco estudadas como a pitanga. O conhecimento de diferentes seleções da fruta pode ser útil para programas de melhoramento genético, a fim de selecionar as que contêm alto valor nutricional ou alto teor de fitoquímicos, pois sabe-se que as frutas, em função de fatores intrínsecos (cultivar, variedade, estágio de maturação) e extrínsecos (condições climáticas e edáficas) apresentam, em termos

quantitativos e qualitativos, composição variada de constituintes como fenólicos, por exemplo (MELO et al., 2008).

Devido ao fato de milhões de toneladas de resíduos sólidos agro-alimentares serem produzidos anualmente e isto gerar conseqüências e danos ambientais, cresce a preocupação com o descarte de resíduos (ISCI; DEMINER, 2007). Uma alternativa para a utilização de sementes de frutas, as quais são resíduos do processamento da indústria de polpas e sucos de frutas, é a utilização destas como fontes de antioxidantes. Antioxidantes de fontes residuais podem ser usados como aditivos naturais nos alimentos para prevenir a oxidação lipídica (MOURE et al., 2001).

Considerando o exposto acima, o objetivo deste trabalho foi avaliar as características físico-químicas de frutos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) de diferentes colorações (roxa, vermelha e laranja) produzidos no Estado do Rio Grande do Sul e determinar a capacidade antioxidante dos extratos da porção comestível e da semente.



## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

#### 2.1.1. Características gerais

A *Eugenia uniflora* L. (pitangueira) é uma planta largamente distribuída nos países do Sul da América do Sul, incluindo Argentina, Brasil, Uruguai e Paraguai. Localmente, é conhecida como pitanga ou nangapiri (CONSOLINI, 2001) e pertence à família das mirtáceas, composta por mais de 100 gêneros e 3600 espécies. Esta família está dividida em duas subfamílias: Myrtoideae, apresentando frequentemente frutos em bagas, e incluindo os gêneros *Myrtus*, *Psidium*, *Pimenta*, *Eugenia*, *Pseudocaryophyllus* e *Syzygium*, e Leptospermoideae, com frutos na sua maioria com semente única do tipo noz, à qual pertencem os gêneros *Eucalyptus*, *Leptospermum* e *Malaleuca* (TYLER, 1996). Do ponto de vista econômico, as mirtáceas são muito apreciadas pela população devido à produção de saborosos frutos carnosos do tipo baga. O perfil químico da família Myrtaceae é bem conhecido e caracteriza-se pela presença de taninos, flavonóides, mono e sesquiterpenos, triterpenos e caracteristicamente derivados do floroglucinol (Cruz e Kaplan, 2005).

Conforme Bezerra et al. (2000), devido a sua adaptabilidade às mais distintas condições de clima e solo, a pitangueira foi disseminada e é atualmente cultivada nas mais variadas regiões do globo como Américas do Sul e Central, Caribe, Florida, Califórnia, Havaí, Sudeste da Ásia, China, Índia, Sri Lanka, México, Madagascar, África do Sul, Israel e diversos países do Mediterrâneo. Seus frutos apresentam-se em forma de bagas globulosas, que vão da coloração laranja-claro até roxo-escuro (Figura 1), apresentando alto potencial industrial na fabricação de polpas, sorvetes e geléias.

Em média, as frutas maduras, apresentam um rendimento (porção comestível) de 80 e 65% (SANTOS et al., 2002) para os tipos vermelho e roxo, respectivamente, e Bezerra et al. (2000) encontraram valores variando de 74,6 a 88,4%. O diâmetro das frutas é, em geral, em torno de 2,0 cm e, o teor de sólidos solúveis totais (SST) é alto, com valores acima de 12 °Brix, atingindo até 17 °Brix em algumas seleções (Franzom, 2004).



Figura 1. Pitangas (*Eugenia uniflora* L.) com diferente coloração de polpa. (Fonte: LIRA JUNIOR et al, 2008)

No que concerne à produção e comercialização da fruta, não se dispõe de dados oficiais, tanto no Brasil quanto no mundo, no entanto estima-se que o Brasil seja o maior produtor mundial. Os maiores plantios estão localizados no Estado de Pernambuco, onde uma região possui cerca de 300 hectares cultivados (BEZERRA et al., 2000).

O cultivo da pitangueira, principalmente no Estado de Pernambuco, vem crescendo a cada ano em razão da utilização dos frutos para o preparo de polpa, bem como para a elaboração de sorvetes, sucos, refrescos, geléias, licores e vinhos (LEDERMAN et al., 1992; Bezerra et al., 2000). Entende-se por polpa de fruta o produto não-fermentado, não-concentrado, não-diluído, obtido de frutos polposos, por meio de processo tecnológico adequado, com um teor mínimo de sólidos totais, proveniente da parte comestível do fruto. O padrão de identidade e qualidade (PIQ) é específico para cada fruta (EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA, 2003). A polpa congelada de pitanga deve obedecer aos parâmetros da Instrução Normativa, n.º 1, de 7 de janeiro de 2000, que aprova o Regulamento Técnico Geral para Fixação da Identidade e Qualidade para polpa de fruta (BRASIL, 2000).

Esta espécie nativa pode entrar como uma nova atividade nas propriedades rurais do Sul do Brasil gerando renda, pois a pitangueira tem sua primeira safra em outubro/novembro, e a segunda em março/maio, podendo esta última se estender até a entrada do inverno. A segunda safra do ciclo da pitangueira ocorre quando já terminou a colheita do pêssego. Nesta época, já terminou a colheita de outras culturas economicamente importantes, logo existe mão-de-obra disponível para colheita de pitanga (FRANZOM, 2004).

### **2.1.2. Benéficos à saúde**

Estudos realizados demonstraram que a pitangueira pode ser muito útil para prevenir doenças humanas. Neste sentido, estão sendo desenvolvidas para comprovar o uso dos extratos de folhas introduzidos na medicina popular pelos índios Guaranis no século XV

(ALONSO, 1998). Tal utilização se deve às propriedades diuréticas, antiinflamatórias e inibidoras da xantina oxidase (efeito anti-gota). Trabalhos recentes têm demonstrado a inibição do trânsito gastrintestinal “in vivo” e ação hipotensora (CONSOLINI et al., 2002). SCHAPOVAL et al. (1994) também destacam a pronunciada ação antiinflamatória dos extratos de folhas.

Extratos da folha da pitanga têm mostrado pronunciada inibição do aumento da glicose e de triglicerídeos no plasma (MATSUMURA et al., 2000), possui ainda atividade antimicrobiana (HOLETZ et al., 2002) e atividade antifúngica (SOUZA et al., 2002). Extratos da fruta de *Eugenia uniflora* L. apresentaram capacidade antioxidante maior em comparação a outras frutas cultivadas no Brasil, como o cupuaçu, a jaboticaba e a manga (EINBOND et al., 2004)

Tanto as folhas como os frutos da pitanga possuem vários constituintes importantes, logo, se o consumo da fruta for estimulado pode proporcionar efeitos benéficos à saúde, assim como com a utilização das folhas (OLIVEIRA, 2006). Seleções de pitanga provenientes do Estado de Pernambuco apresentam consideráveis teores de polifenóis e carotenóides totais, sendo que a seleção roxa no estágio maduro destacou-se por apresentar grandes teores destes fitoquímicos (LIMA, MELO, LIMA, 2002). Devido ao fato de haver variações nos teores dos compostos, dependendo do local de origem das amostras, dependentes de fatores climáticos ou edáficos (MELO et al., 2008) necessita-se de estudos sobre a composição de frutas provenientes do Estado do Rio Grande do Sul.

## **2.2. Composição físico-química de frutas**

A composição química de frutas depende em grande medida do tipo de fruto e do grau de maturação, contudo os componentes fundamentais quantitativamente das porções comestíveis são açúcares, polissacarídeos e ácidos orgânicos, enquanto os compostos nitrogenados e lipídios são escassos (BELITZ; GROSH, 1988). Além disso, possuem importância por seu valor nutritivo: as vitaminas e minerais, compostos que atribuem cor, sabor e aroma (BELITZ; GROSH, 1988). Na família das mirtáceas especificamente, a qual a pitanga pertence, as frutas, em geral, enquadram-se na classe de frutos carnosos e suculentos (GEMTCHÜJNICOV, 1976). Conforme Franco (2006) a pitanga possui 6,40% de carboidratos, 1,02% de proteínas, 1,90% de lipídios. Já na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2006) verificamos 10,2% de carboidratos, 0,9% de proteínas, 0,2% de lipídios, 88,3% de umidade e 0,4% de cinzas.

O amido se encontra presente normalmente somente em frutas não maduras, e diminui sua concentração ao longo da maturação até desaparecer, exceto em bananas e alguns frutos secos, já a fração protéica, em sua maioria, está constituída por enzimas do metabolismo de carboidratos, lipídico, protéico, catalases, peroxidases, fenoloxidasas, entre outras e os pigmentos do fruto modificam-se com o amadurecimento, sendo que o licopeno incrementa-se (BELITZ; GROSH, 1988).

A proporção lipídica dos frutos é normalmente muito baixa, da ordem de 0,1-0,5% do peso fresco (BELITZ; GROSH, 1988). Porém, alguns autores encontraram valores maiores de lipídios em cambuci (*Campomanesia phaea*) (VALILO et al., 2005) e uvaia (*Eugenia pyriformis Camb.*) (Franco, 1992), ambas da família das mirtáceas com 1,53% e 2,07%, respectivamente. Entre os ácidos graxos predominam os ácidos palmítico, oléico e linoléico nas polpas de frutas como maçã, abacate e banana (BELITZ; GROSH, 1988). Os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAS), em especial os ômega 3, são considerados compostos desejáveis na dieta humana, devido a sua ação de reduzir a incidência de doenças cardiovasculares (LEAF; WEBER, 1988). Os ácidos graxos poliinsaturados de frutas vem sendo pesquisados, sendo que, resíduos do processamento de vinho, com partes variadas de uva (*Vitis vinifera*) se mostraram com alto teor de ácidos graxos poliinsaturados, em torno de 60-64% do total de ácidos graxos pesquisados (Yi et al., 2008).

## **2.3.Compostos bioativos**

### **2.3.1. Polifenóis**

Os polifenóis são compostos largamente distribuídos no reino vegetal, fazendo parte da dieta de forma significativa, influenciando fortemente a qualidade dos frutos, pois contribuem sensorial e nutricionalmente com estes (BAHORUN et al., 2004; SCALZO et al., 2005). A condensação de catecóis a taninos provoca a aparição de um sabor amargo e adstringente, característico de maçãs imaturas (BELITZ; GROSH, 1988). Diversos autores têm estudado a presença de compostos fenólicos em plantas, em razão de sua participação em processos responsáveis pela cor, adstringência e aroma de vários alimentos, da atividade farmacológica e nutricional e da capacidade de inibir a oxidação lipídica e a proliferação de fungos (PELEG et al., 1998). Segundo Reynerton et al. (2008) polifenóis de frutas são importantes constituintes antioxidantes da dieta. As frutas, principais fontes dietéticas de

polifenóis, apresentam variações quantitativas e qualitativas na composição desses constituintes em função de fatores intrínsecos (cultivar, variedade, estágio de maturação) e extrínsecos (condições climáticas e edáficas). Por sua vez, a eficácia da ação antioxidante depende da concentração destes fitoquímicos no alimento (MELO et al., 2008). Os polifenóis podem ser classificados em dois grandes grupos: os flavonóides e os não flavonóides.

### 2.3.2. Flavonóides e Antocianinas

Os flavonóides representam o maior grupo de polifenóis encontrados em alimentos (SCALBERT; WILLIANSO, 2000), sendo os compostos de maior diversificação no reino vegetal, os quais são formados por uma estrutura básica C6-C3-C6. Neste grupo encontram-se as antocianinas, flavonóis, flavonas, auronas, chalconas e isoflavonas dependendo do lugar, número e combinação da molécula (SOARES et al., 2002). Os flavonóides são considerados os mais potentes antioxidantes entre os compostos fenólicos (SHAHID et al., 1992; SOOBRAATTEE et al., 2005). A sub-classe de flavonóides chamada de antocianinas é responsável pela coloração vermelha, azul e roxa de muitas frutas e vegetais, flores e outros tecidos de plantas ou produtos. A estrutura química básica das antocianinas é o cátion flavilium (Figura 2).

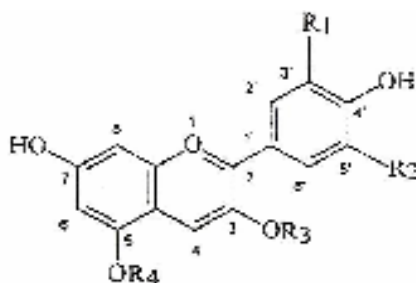


Figura 2. Cátion flavilium. R1 e R2= -H, -OH, OCH<sub>3</sub>, R3= -glicosil, R4=-H,-glicosil.(Fonte: FENNEMA, 2000).

As antocianinas são particularmente abundantes em *berries* e outras frutas de coloração vermelha, azul ou roxa e em vinhos tintos (MAZZA, 2007). Algumas fontes de antocianinas são o mirtilo, a pitanga, a framboesa, o morango, a groselha, uvas e vinho tinto.

Uma quantia de 100g de berries pode conter 500 mg de antocianinas (MAZZA; MINIATI, 1993).

A coloração da pitanga sugere a presença de pigmentos naturais como os flavonóides. A presença e a quantidade desses pigmentos estão relacionadas com o grau de maturação. Tanto na pitanga roxa como na vermelha a tendência das antocianinas é aumentar o conteúdo durante o processo de maturação, indicando haver uma síntese desses pigmentos na pitanga (SANTOS et al., 2002), como ocorre em outras frutas (FIGUEIREDO et al., 2002). O rápido acúmulo destes pigmentos nos estádios finais de maturação proporciona uma aparência atrativa, característica da fruta madura (SANTOS et al., 2002). O extrato antociânico de pitanga roxa surge como perspectiva para uso como corante natural em produtos alimentícios, acondicionados em embalagem opaca. Alguns fatores como pH, temperatura, ausência de oxigênio e a forma de acondicionamento do derivado da pitanga podem influenciar na estabilidade das antocianinas (LIMA et al., 2005).

Muitos estudos sugerem que flavonóides exibem várias atividades biológicas, incluindo antialérgica, anti-viral, anti-tumoral, ações antiinflamatórias e antioxidantes (HARBONE, 1992). As antocianinas possuem diversos efeitos *in vitro* que sugerem benefícios potenciais à saúde em geral e redução de doenças coronarianas, em particular (MAZZA, 2007). Os mecanismos primários creditados como responsáveis pela redução no risco de doenças coronarianas incluem a redução de coagulação plaquetária (ELWOOD et al., 1991) e o aumento circulatório da lipoproteína de alta-densidade (HDL; GRAZIANO et al., 1993), além da atividade removedora de radicais livres (antioxidante) (BOORS & SARAN, 1987). O representante das antocianinas encontrado em grande quantidade na pitanga é a delphinidina-3-glicosídeo (EINBOND et al., 2004).

### **2.3.3. Carotenóides**

Os carotenóides pertencem ao grupo químico dos terpenóides ou terpenos (Figura 3) e são encontrados amplamente distribuídos em uma grande variedade de alimentos: muitas frutas, hortaliças, peixes, grãos, flores e raízes. Estes pigmentos são biossintetizados por plantas superiores e por microrganismos, enquanto que os animais os adquirem através da dieta (PORCU, 2004). São atribuídas aos carotenóides atividades de precursores de vitamina A (BAWERNFLEIND, 1981), contribuem com a diminuição do risco de catarata, aumento da eficiência do sistema imunológico, além do bloqueio da degeneração macular e de reduzir a incidência de doenças cardiovasculares (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997). A atividade pró-

vitaminica A já é uma função comprovada dos carotenóides. Em países em desenvolvimento, onde os produtos de origem animal (fontes de vitamina A pré-formada) não são economicamente acessíveis a toda população, a vitamina A da dieta é proveniente principalmente das pró-vitaminas A (SIMPSON, 1983). A vitamina A exerce inúmeras funções importantes no organismo, como ação protetora na pele e nas mucosas e papel essencial na função da retina e da capacidade funcional dos órgãos de reprodução (FRANCO, 2006). O  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno e a  $\beta$ -criptoxantina são precursores da vitamina A, sendo que o primeiro apresenta o dobro de atividade do que os demais. A luteína e a zeaxantina são os carotenóides relacionados com a proteção à degeneração macular e catarata (SNODDERLY, 1995).

A atividade antioxidante de carotenóides também vem sendo relatada na literatura. Entre uma série de carotenóides avaliados, o licopeno mostrou-se como um dos mais eficientes, podendo doar elétrons para neutralizar as moléculas de oxigênio singlete e outras moléculas oxidantes, antes que elas prejudiquem as células vivas (RAO et al., 2002). Alguns autores citam o licopeno como o principal carotenóide da pitanga, porém existem variações quanto ao teor desse pigmento, assim como em outros carotenóides, dependendo do local de origem da fruta (CAVALCANTE; RODRIGUEZ-AMAYA, 1992; AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004). Azevedo-Meleiro & Rodriguez-Amaya (2004) identificaram e quantificaram os principais carotenóides em pitangas do estado de São Paulo, e encontraram o licopeno e a rubixantina como os majoritários desta classe de compostos. Já Cavalcante & Rodriguez-Amaya (1992) encontraram licopeno e  $\gamma$ -caroteno como os principais carotenóides em amostras provenientes do estado de Pernambuco. Efeitos geográficos e de clima tem sido apontados como responsáveis pela variação quantitativa destes compostos em frutas, como por exemplo, a acerola (CAVALCANTE; RODRIGUEZ-AMAYA, 1992) e a uva (CANTOS et al., 2002). Além disso, condições de altas temperaturas e exposição à luz podem ser responsáveis pelo alto teor de carotenóides em camu-camu (*Myrciaria dubia*) (ZANATTA; MERCADANTE, 2007), podendo ocorrer algo semelhante na pitanga.

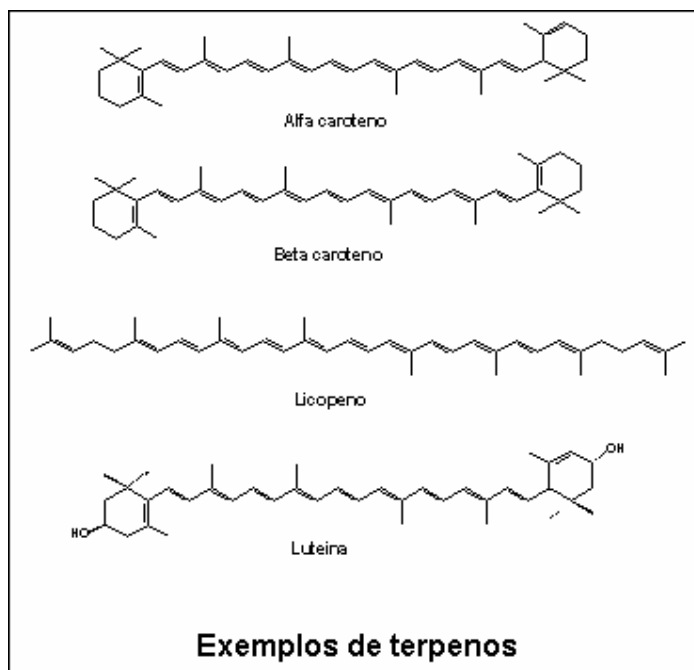


Figura 3. Exemplos de terpenos (Fonte: GAZZONI, 2008)

## 2.4 Antioxidantes

### 2.4.1. Defesas antioxidantes

Atualmente, a atividade antioxidante de compostos bioativos, em geral, tem recebido muita atenção dos pesquisadores. Espécies reativas de oxigênio (ROS) são produzidas naturalmente no organismo de mamíferos, como resultado do metabolismo oxidativo. Contudo, ROS podem causar danos celulares às membranas e DNA, propiciando mutações que podem desencadear a carcinogênese. Além disso, pode ocorrer a oxidação de lipoproteína de baixa densidade (LDL), e, assim, pode ser considerada um dos principais fatores de promoção de doenças coronarianas (RAHMAN; ADCOCK, 2006). A maioria das espécies animais possui um sistema eficiente de proteção, sendo assim capaz de neutralizar os efeitos prejudiciais decorrentes do metabolismo do oxigênio e da oxidação de lipídios. A remoção enzimática dos intermediários reativos, oriundos da redução do oxigênio, ocorre pela ação conjunta das enzimas intracelulares, como a superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GSH-Px) e catalase. A formação de radicais livres *in vivo* ocorre pela ação de



enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição a fatores exógenos, tais como: ozônio, radiações gama e ultravioleta, dieta, uso de medicamentos e tabagismo (CERUTI, 1991). O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes, que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres, tem sido chamado de estresse oxidativo (SIES, 1993).

Além das defesas antioxidantes enzimáticas, os antioxidantes não enzimáticos, supridos pela dieta, também participam do sistema de defesa antioxidante do organismo. Esses compostos são definidos como quaisquer substâncias que, quando presentes em baixas concentrações, comparadas as de um agente oxidante, são capazes de prevenir a oxidação do substrato (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000). Entre os compostos antioxidantes incluem-se os fenólicos, vitamina E, carotenóides, ácido ascórbico, entre outros. Estes atuam protegendo as células vivas e alimentos *in natura* bloqueando a ação de radicais livres, formados pela oxidação química e, ou enzimática (lipoxigenase e cicloxigenase), envolvidas na oxidação de ácidos graxos poliinsaturados e, conseqüentemente, na formação de peróxidos. As dietas contendo substâncias que atuam como antioxidantes (frutas, vegetais, cereais, óleos e grãos) são benéficas para o mecanismo de defesa celular, protegendo desta forma os componentes da célula das alterações oxidativas (ARAÚJO, 2004). Os antioxidantes estão freqüentemente relacionados com a prevenção de doenças degenerativas, tais como doenças cardiovasculares, neurológicas e câncer, além de outras disfunções nas quais haja envolvimento do estresse oxidativo (BOLCK, 1992; DIPLOCK, 1995).

Segundo Bianchi & Antunes (1999), os antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos. O primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é impedir a sua formação, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre. O segundo, pela interceptação de radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídios, os aminoácidos das proteínas, as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular.

#### **2.4.2. Avaliação da capacidade antioxidante**

Um grande número de métodos tem sido desenvolvido como o objetivo de avaliar a capacidade antioxidante em alimentos. Contudo, devido à complexidade da composição de cada tipo de alimento, tendo em vista que antioxidantes não atuam separadamente, a possível interação entre eles pode fazer com que a determinação da capacidade antioxidante individualmente seja menos efetiva do que o estado antioxidante total (PRIOR; CAO, 1999).

Logo, são numerosas as metodologias para determinação da capacidade antioxidante e podem estar sujeitas a interferências, sendo necessário o emprego de duas ou mais técnicas, pois nenhum método sozinho poderia refletir exatamente a capacidade antioxidante total de uma amostra (HUAN et al., 2005).

Uma das estratégias mais aplicadas nas medidas *in vitro* da capacidade antioxidante total de compostos, pertencentes a um alimento, consiste em determinar a atividade antioxidante frente a substâncias cromógenas de natureza radicalar; onde o desaparecimento da cor ocorre de forma proporcional à concentração de antioxidantes (ARENA et al., 2001). O método do DPPH (diphenyl-2-picrylhydrazyl) (BRAND-WILLIAMS et al, 1995) é baseado na redução do radical DPPH na presença de antioxidante doador de hidrogênio. Este método tem sido considerado um dos mais representativos para o emprego em modelos de radicais na avaliação da capacidade de remoção de radicais livres (GENOVESE et al, 2008).

Outro método utilizado para medir a atividade antioxidante é a capacidade de redução do ferro (FRAP, ferric reducing antioxidant power). No FRAP ocorre a redução do íon férrico para íon ferroso, em pH baixo, causando o aparecimento de um complexo colorido ferroso-tripiridiltriazina (ferroso-TPTZ) (BENZIE; STRAIN, 1996). O complexo Fe (II)-TPTZ tem uma coloração azul intensa e pode ser monitorado a 593 nm.

Além disso, são utilizados métodos que fazem uso de modelos de substratos lipídicos. Um deles é o método que utiliza  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico, o qual mede a habilidade de um composto em inibir a descoloração do  $\beta$ -caroteno, causada por radicais livres formados durante a peroxidação do ácido linoléico (YANISHILIEVA; MARINOVA, 1995).

A capacidade antioxidante em modelos alimentares também pode ser verificada através de metodologias de determinação da estabilidade oxidativa, como por exemplo, através da determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), determinação de peróxidos e de compostos voláteis. A capacidade antioxidante é representada pelo aumento do tempo de indução ou retardo na velocidade de formação dos produtos da oxidação (SILVA et al., 1999).

## **2.5. Aproveitamento de resíduos de frutas**

Milhões de toneladas de resíduos sólidos agro-alimentares são produzidos anualmente e são dispostos de várias formas, incluindo incineração e aterramento (ISCI; DEMIRER, 2007). As indústrias que processam água de coco, por exemplo, geram volumes significativos

e crescentes da casca deste material, que é enterrado em lixões e aterros, causando problemas, especialmente em grandes centros urbanos (ROSA, 1998). O resíduo industrial, depois de gerado, necessita de destino adequado, pois não pode ser acumulado indefinidamente no local onde foi produzido. A disposição dos resíduos no meio-ambiente por meio de emissões de matéria e de energia lançados na atmosfera, nas águas ou nos solos deve ocorrer após os resíduos sofrerem tratamentos adequados, seguindo os padrões estabelecidos na legislação ambiental, para não causarem poluição (AQUARONE, 1990).

Durante o processamento de frutas para obtenção da polpa, são recolhidos materiais não aproveitados na produção industrial, os chamados resíduos, tais como as cascas e centro das frutas, as sementes, os caroços e o bagaço. Para diminuir o impacto ambiental, é importante o aproveitamento alternativo destes materiais. Por exemplo, as frutas refugadas durante a seleção podem ser utilizadas na indústria de vinagres e aguardentes; cascas e miolos de abacaxi, na fabricação de bebidas fermentadas, álcool e vinagre, casca de maracujá, para elaboração de doces em massa e em calda. Outros resíduos que podem ser aproveitados são determinados caroços que podem fornecer óleos vegetais não-voláteis utilizados na indústria de sabão, alimentícia e de cosméticos. Atualmente, nas agroindústrias de polpas de frutas, praticamente todos os resíduos sólidos são conduzidos a uma área destinada para esse fim, onde sofrem uma fermentação natural e, posteriormente, são utilizados como adubo nas plantações de frutas (EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA, 2003).

Compostos antioxidantes estão presentes não somente na porção comestível dos frutos, mas também na semente, desta forma sua ação antioxidante pode motivar o aproveitamento destes resíduos como matérias-primas para a extração de antioxidantes naturais para uso em alimentos. Soong & Barlow (2004) encontraram maior teor de compostos fenólicos na amêndoa da semente de manga do que na polpa da fruta, sugerindo que estes compostos poderiam ser boas fontes de antioxidantes para alimentos.

A valoração de resíduos agroindustriais, através do seu aproveitamento como fonte de nutrientes para a alimentação animal e/ou humana, ou como matéria-prima para a extração de aditivos antioxidantes, depende do conhecimento da composição destes resíduos. No caso da semente da pitanga, não foram encontrados na literatura estudos desta natureza.

### 3. MANUSCRITOS

#### 3.1. Manuscrito 1:

**PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANTIOXIDANT CAPACITY  
OF PITANGA FRUITS (*Eugenia uniflora* L.)**

Submetido à revista Ciência e Tecnologia de Alimentos<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>O manuscrito foi formatado conforme as normas exigidas pela Revista.

**PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANTIOXIDANT  
CAPACITY OF PITANGA FRUITS (*Eugenia uniflora* L.)**

Milena BAGETTI<sup>I</sup>, Elizete Maria Pesamosca FACCO<sup>I</sup>, Jaqueline PICCOLO<sup>I</sup>, Gabriela  
Elisa HIRSCH<sup>I</sup>, Delia B. RODRIGUEZ-AMAYA<sup>II</sup>, Cintia Nanci KOBORI<sup>II</sup>, Márcia  
VIZZOTTO<sup>III</sup>, Tatiana EMANUELLI<sup>I,\*</sup>

**Corresponding author:**

Tatiana Emanuelli

Núcleo Integrado de Desenvolvimento de Análises Laboratoriais (NIDAL)

Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos

Centro de Ciências Rurais

Universidade Federal de Santa Maria

Campus – Camobi, 97105-900

Santa Maria, RS - Brasil

Telephone: +55 55 3220 8547

Fax: +55 55 3220 8353

E-mail: [tatiemanuelli@smail.ufsm.br](mailto:tatiemanuelli@smail.ufsm.br)

---

Recebido para publicação em

Aceito para publicação em

<sup>I</sup> Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL), Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>II</sup> Dept. de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP.

<sup>III</sup> Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil.

\* To whom correspondence should be sent (E-mail: [tatiemanuelli@smail.ufsm.br](mailto:tatiemanuelli@smail.ufsm.br)).

## Summary

This study was carried out to obtain more information about the physicochemical properties, composition and antioxidant activity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.), particularly fruits from Rio Grande do Sul, Brazil. Pitanga with different flesh colors (purple, red and orange) from tree selections cultivated at Embrapa Clima Temperado (RS-Brazil) were analyzed. Only slight differences were observed in the quality parameters and in the proximate and fatty acid compositions among the fruits studied. The extracts from purple-fleshed pitanga had the highest total phenolic and anthocyanin contents along with the highest antioxidant capacity. Antioxidant capacity (DPPH and FRAP assays) of methanolic pitanga extracts was highly correlated with the total phenolic content, but in ethanolic extracts, the anthocyanin content was correlated only with the FRAP antioxidant capacity. Orange fleshed pitanga had higher  $\beta$ -cryptoxanthin and  $\beta$ -carotene levels than the red fruit, which had higher lycopene content. The results indicate that the purple-fleshed pitanga, cultivated in Rio Grande do Sul, is a rich source of phenolic compounds and has high antioxidant capacity. The red and orange-fleshed pitanga, on the other hand, are rich sources of carotenoids.

**Keywords:**  *$\beta$ -carotene;  $\beta$ -cryptoxanthin; lycopene; sugars; unsaturated fatty acids*

## Resumo

Este estudo foi realizado para obter mais informações sobre as propriedades físico-químicas, composição e atividade antioxidante de frutos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.), especialmente os do Rio Grande do Sul (Brasil). Foram comparadas pitangas com diferente coloração de polpa (roxa, vermelha e laranja) de seleções cultivadas na Embrapa Clima Temperado (RS-Brazil). Foram observadas pequenas diferenças nos parâmetros de qualidade e na composição centesimal e de ácidos graxos entre as frutas com diferentes colorações de polpa. Os extratos

de pitanga roxa apresentaram maiores conteúdos totais de fenólicos e de antocianinas, bem como, a maior capacidade antioxidante. A capacidade antioxidante (valores de DPPH e FRAP) dos extratos metanólicos de pitanga apresentou alta correlação com o conteúdo de fenólicos totais, mas nos extratos etanólicos, o conteúdo de antocianinas correlacionou-se apenas com a capacidade antioxidante avaliada pelo método de FRAP. A pitanga de cor laranja apresentou maiores teores de  $\beta$ -criptoxantina e  $\beta$ -caroteno, enquanto que a de cor vermelha continha alto teor de licopeno. Os resultados indicam que a pitanga de cor roxa, cultivada no Rio Grande do Sul, é uma fonte rica de compostos fenólicos e possui alta capacidade antioxidante. As de cor vermelha e laranja, por outro lado, são fontes ricas de carotenóides.

**Palavras-chave:** *açúcares; ácidos graxos insaturados;  $\beta$ -criptoxantina; licopeno;  $\beta$ -caroteno.*

## **1. Introduction**

It is widely known, from epidemiological studies, that the consumption of fruits and vegetables imparts many health benefits, especially reduced risk of chronic diseases, such as cancer, cardiovascular disease, and stroke (BLOCK et al., 1992; DILLARD & GERMAN, 2000; PRIOR & CAO, 2000; KAUR & KAPOOR, 2001). Fruits and vegetables contain different antioxidant compounds, such as vitamin C, vitamin E and carotenoids. These phytochemicals may protect the human body against reactive oxygen and nitrogen species (DIPLOCK et al., 1998). Reactive oxygen species (ROS) are produced naturally in mammalian systems as a result of oxidative metabolism. However, excessive ROS production may damage cell membranes and DNA, causing cancerous mutations. Moreover, the

oxidation of low-density lipoprotein is a major factor in the pathogenesis of heart disease (RAHMAN & ADCOCK, 2006).

Vitamins and carotenoids are not the sole compounds that contribute to the antioxidant activity of fruits and vegetables. Polyphenolic compounds, such as flavonoids also contribute to the beneficial effects of this group of foods (BORS et al., 1990). Polyphenolic compounds have shown antiallergenic, antiviral, antibacterial, antifungal, antitumor, and antihemorrhagic activities (PIETTA, 2000).

*Eugenia uniflora* L. is a tree widely distributed in South American countries, mainly in Brazil, Argentina, Uruguay and Paraguay (CONSOLINI & SARUBBIO, 2002). Its leaves are used in popular medicine, as infusion in the treatment of fever, rheumatism, stomach diseases, disorders of the digestive tract, hypertension, yellow fever and gout. It may also reduce weight, blood pressure, and serve as a diuretic (ADEBAJO et al., 1989). Pitanga fruits, also known as Brazilian cherry or Suriname cherry, contain various volatile compounds that are also found in the essential oil of pitanga leaves (WEYERSTAHL et al., 1988; OLIVEIRA et al., 2006). Like the leaves, pitanga fruits could also have health benefits. In the Brazilian food industry, pitanga fruits have mostly been used to produce juice and frozen pulp. Pulp production has high economic potential because the product has consumer appeal and high concentrations of antioxidant compounds, such as anthocyanins, flavonols and carotenoids (LIMA et al., 2002).

Carotenoids are known to have various biological functions, such as vitamin A activity and prevention of cataract, age-related macular degeneration, cancer and cardiovascular diseases (KRIS-ETHERTON et al., 2002; TAPIERO et al., 2004; KRINSKY & JOHNSON, 2005; STAHL & SIES, 2005). However, the carotenoid composition of pitanga fruits is variable. Lycopene is the major carotenoid in pitanga fruits from the states of São Paulo, Pernambuco and Paraná (Brazil), but other carotenoids were found in different proportions



depending on the geographic origin of the fruits (CAVALCANTE & RODRIGUEZ-AMAYA, 1992; AZEVEDO-MELEIRO & RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; PORCU & RODRIGUEZ-AMAYA, 2008). Climate was found to influence the carotenoid composition of this fruit. The mean lycopene content of ripe pitanga fruits from Pernambuco ( $73 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) was slightly higher than that of Campinas, São Paulo ( $71 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), which was much higher than that of Medianeira, Paraná ( $14 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). For  $\beta$ -cryptoxanthin and rubixanthin, the levels were much higher in fruits from Pernambuco (47 and  $23 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectively) than those from São Paulo (12 and  $9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectively) and Paraná (13 and  $12 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectively). Besides carotenoids, the environmental factors can influence other components of fruits like the phenolics (ROBARDS & ANTOLOVICH, 1997; AHERNE & O'BRIEN, 2002). However, these data are lacking for pitanga fruits and no data were found for pitanga from the Southern region of Brazil.

Knowledge of the proximate composition and the contents of bioactive compounds in different fruit varieties may be useful for genetic improvement programs to select those varieties with higher nutritional value. Thus, the objective of this work was to evaluate the physicochemical characteristics of pitanga fruits produced in the state of Rio Grande do Sul and to determine the antioxidant capacity of flesh extracts. We compared pitanga fruits with different flesh colors (purple, red and orange). These fruits were from tree selections cultivated at Embrapa Clima Temperado (RS-Brazil) and are being studied to yield cultivars adapted to the Southern region of Brazil.

## **2. Materials and methods**

### ***2.1. Samples***

Samples of purple, red and orange-fleshed breeding lines of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.), were harvested at Embrapa Clima Temperado (Rio Grande of Sul, Brazil) in the years 2007 and 2008. Each sample was a mixture of completely ripe fruits from various plant selections with the same flesh color. Three independent lots were collected, frozen at -18°C and transported to the Federal University of Santa Maria. Fruits were thawed; the flesh (edible portions) was manually separated from seeds and homogenized in a blender; samples were immediately analyzed for the carotenoids composition or stored at -18°C until required for the other assays.

### ***2.2. Determination of quality parameters***

The parameters of quality evaluated were pH, total soluble solids and acidity. These parameters were evaluated according to AOAC (1995).

### ***2.3 Determination of proximate composition***

Except for fat, the analyses were carried out according to AOAC (1995). Moisture was determined as the weight loss after 24 h at 60°C in a vacuum oven (method 925.09/17). Ash content was determined at 550°C (method 923.03). Protein content (N x 6.25) was determined by the microkjeldahl procedure (method 960.2). Fat was extracted using chloroform and methanol as described by Bligh and Dyer (1959); the extract was used for the determination of the fat content and fatty acid profile. To prevent lipid oxidation during and after extraction, 0.02% butyl hydroxyl toluene was added to the chloroform used.

### ***2.4. Determination of fatty acid composition***

Aliquots (2-3 mL) of the chloroform-lipid extract were evaporated at 50°C using a vacuum pump. Fat was saponified and methylated with methanolic sulfuric acid solution as

described by Hartman and Lago (1973). Methylated samples were analyzed using an Agilent Technologies (HP 6890) gas chromatograph with flame ionization detector. The methylated fatty acids were separated in a capillary column DB-23 (50% cyanopropyl-methylpolysiloxane; 60 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$ ; Agilent Technologies). The oven temperature was held at 140°C for 5 min, increased to 240°C at a rate of 4°C  $\text{min}^{-1}$  and held at the latter temperature for 5 min. The injector port and detector temperature were adjusted at 250°C. Samples (1  $\mu\text{L}$ ) were injected in a split mode (split ratio 1:50). Nitrogen was used as carrier gas at a flow rate of 0.6  $\text{mL min}^{-1}$ .

### ***2.5. Determination of phenolic content***

The extraction of phenolic compounds was performed using the method of Escarpa and González (2001) with some modifications as described by Pellegrini et al. (2007). This method allows a quantitative extraction of the main polyphenolic classes: hydroxybenzoic acids, hydroxycinnamic acids and flavonoids. The homogenized sample (4g) was extracted in an ultrasonic bath at room temperature in the absence of light with an aqueous solution consisting of 800 mL methanol and 50 mL formic acid per liter. The samples were sequentially extracted with 6 mL of solvent for 1h, 6 mL for 30 min and 3 mL for 30 min. After each extraction, the extracts were filtered under vacuum. The combined filtrate was brought to a final volume of 25 mL with the solvent and stored at -18°C until required for analysis.

Total phenolic content was determined using the method of Singleton and Rossi (1965). An aliquot of 0.1 mL pulp extract was mixed with 2.5 mL 0.25 N Folin-Ciocalteu reagent. After 5 min, 2 mL 1 N  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  was added. The absorbance was determined at 740 nm after 1 h in the dark. Gallic acid was used as a standard for the calibration curve. The

amount of total phenolic compounds was calculated and expressed as mg gallic acid. 100 g<sup>-1</sup> sample.

### ***2.6. Determination of anthocyanin content***

The extraction of anthocyanins was performed as described by Lees and Francis (1972). The pulp was homogenized in the extracting solvent containing 95% ethanol and 1.5 N HCl 85:15 v/v. The proportion sample/extracting solvent was 0.8 g mL<sup>-1</sup>. The sample was stored for 12 h at 4°C, filtered under vacuum and the residue was exhaustingly washed with the extracting solvent for complete removal of pigments. The filtrates were collected in a volumetric flask, brought to 50 mL with the extracting solvent, left to stand in the absence of light for 2 h at room temperature, and absorbance was measured at 535 nm.

### ***2.7. Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay***

A solution of DPPH was used for the determination of the antioxidant activity of extracts according to Brand-Williams *et al.* (1995). DPPH solution was previously diluted until  $1.10 \pm 0.02$  absorbance at 515 nm was obtained. The extract (0.05 mL) was mixed with 1.9 mL diluted methanolic DPPH solution. The antiradical power of the different extracts was determined by measuring the decrease of DPPH absorbance after 24 hours in the dark against a blank. Trolox was used as standard for the calibration curve and the results were expressed as mmol trolox equivalents. 100 g<sup>-1</sup> sample.

### ***2.8. Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) assay***

The method of Benzie and Strain (1996) was used for the FRAP assays. Ferric-2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) solution was prepared by mixing 2.5 mL 10 mM TPTZ solution in 40 mM HCl, 2.5 mL 20 mM FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O and 25 mL 0.3 M acetate buffer at pH 3.6. The

sample (40  $\mu\text{L}$ ) was mixed with 1.2 mL of ferric-TPTZ reagent and incubated at 37°C during 15 min. The absorbance of the colored complex formed with  $\text{Fe}^{+2}$  and TPTZ was taken at 593 nm. Trolox was used as standard for the calibration curve and the results were expressed as mol trolox equivalents.  $100 \text{ g}^{-1}$  sample.

## **2.9. Carotenoid analysis**

Carotenoid analyses were performed at the Carotenoid Laboratory of the University of Campinas-UNICAMP. Carotenoids were extracted with cold acetone, partitioned to petroleum ether:ethyl ether (2:1), saponified overnight with 10% KOH in methanol with 0.1% butyl hydroxy toluene, washed with water and concentrated in a rotary evaporator (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). Saponification was necessary to hydrolyze carotenoid esters. HPLC–DAD analyses were carried out on a Waters separation module (model 2690) equipped with a quaternary pump, a four-channel in-line vacuum degasser and an autosampler injector, controlled by Millennium 2010 workstation. A monomeric C18 Spherisorb ODS 2, 3  $\mu\text{m}$ , 4.6 i.d. x 150 mm, column was used for all samples. After drying the extract with nitrogen gas, the carotenoids were dissolved in 2 mL acetone, filtered through a 0.22  $\mu\text{m}$  PTFE syringe filter (Millipore) and 10  $\mu\text{L}$  were injected. The mobile phase consisted of acetonitrile (containing 0.05% triethylamine), methanol and ethyl acetate. A concave gradient was employed, from 95:5:0 to 60:20:20 in 20 min, maintaining the last proportion until the end of the run. Reequilibration took 15 min (time of set up) and the flow rate was  $0.5 \text{ mL min}^{-1}$ . For quantification, calibration curves were constructed for  $\beta$ -cryptoxanthin,  $\beta$ -carotene and lycopene with five concentration levels, each in triplicate. Carotenoid quantification was performed by comparison of peak area of the sample with that of the standard, injected daily. The identification of carotenoids was performed according to Rodriguez-Amaya (1999), by the combined use of chromatographic behavior, UV-visible spectra obtained with a

photodiode array detector and co-chromatography with authentic carotenoid standards. The results were expressed as  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  fresh sample.

### ***2.10. Statistical analysis***

All measurements were carried out in triplicate. Results were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test when appropriate. Carotenoid data was analyzed by Student's T test. Results were considered significant when  $p < 0.05$ . Statistical analyses were carried out using Statistica 6.0 (Copyright Sta Soft, Inc 1984-2001).

## **3. Results and discussion**

The quality parameters of purple, red and orange-fleshed pitanga fruits are shown in Table 1. Purple-fleshed pitanga had higher pH, total soluble solids and acidity than the red and orange-fleshed fruits ( $p < 0.05$ ). Orange and red-fleshed pitanga had similar pH and total soluble solids, but the red-fleshed fruit had higher acidity than orange-fleshed pitanga ( $p < 0.05$ ). The pH of red-fleshed pitanga is close to that previously reported for commercial frozen pulp of pitanga (2.89) (SALGADO et al., 1999). However, the total soluble solids content obtained in the present work is higher than that found for frozen pulp (SALGADO et al., 1999). The quality characteristics of the purple, red and orange pitanga fruits analyzed are within the legal limits established for frozen fruit pulp in Brazil (BRASIL, 1999), indicating that the maturation stage of the pitanga fruits evaluated was suitable for processing into frozen pulp.

**Table 1.** Quality parameters of purple, red and orange-fleshed pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

Samples	pH	TSS (°Brix )	Acidity (% citric acid)	Yield (%)
Legal limits	2.5 - 3.4	> 6.0	> 0.92	-
Purple	3.38 ± 0.02 <sup>a</sup>	13.8 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.87 ± 0.09 <sup>a</sup>	74.4
Red	2.88 ± 0.06 <sup>b</sup>	11.5 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.67 ± 0.01 <sup>b</sup>	76.8
Orange	3.01 ± 0.11 <sup>b</sup>	11.8 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.63 ± 0.02 <sup>c</sup>	77.2

Results are means ± standard deviations (n=3). Means with different letters within the same column are statistically different (p< 0.05). TSS: total soluble solids.

Moisture content varied significantly among pitanga samples with different flesh color: orange > red > purple (Table 2). Although the moisture of all samples was lower than previously reported for pitanga (88%) (TACO, 2006) and for commercial frozen pitanga pulps (90.5%) (SALGADO et al., 1999), it is still considered high. This characteristic is common among fruits from the Myrtaceae family, which are classified as succulent (GEMTCHÛJNICOV, 1976).

Purple-fleshed pitanga had the highest ash content followed by orange and red- fleshed pitanga (p<0.05). Ash content of all samples was higher than previously reported for pitanga (0.4%) (TACO, 2006), which demonstrates the good concentration of minerals in the samples analyzed. No significant difference was observed in the protein, fat and carbohydrate contents, which were higher than previously reported for pitanga (0.9, 0.2 and 10.2%, respectively) (TACO, 2006). As observed for other fruits, these data show that carbohydrates were the major contributors to the caloric value of pitanga with minor contribution from protein and fat.

**Table 2.** Proximate composition (%) of purple, red and orange-fleshed pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

Samples	Moisture	Ash	Protein	Fat	Carbohydrate*
Purple	81.2 ± 0.0 <sup>c</sup>	2.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.5 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.0 <sup>a</sup>	14.8 ± 0.4 <sup>a</sup>
Red	83.9 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.1 ± 0.0 <sup>c</sup>	1.4 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.0 <sup>a</sup>	13.2 ± 0.0 <sup>a</sup>
Orange	84.7 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.8 <sup>b</sup>	1.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.0 <sup>a</sup>	12.9 ± 1.1 <sup>a</sup>

Results are means ± standard deviations (n=3). Means with different letters within the same column are statistically different (p<0.05). \*Calculated by difference.

The predominant fatty acids in all pitanga samples were palmitic (C16:0), followed by oleic (C18:1n9c) and linoleic acids (C18:2n6) (Table 3). We found no study on the fatty acid composition of pitanga or other fruits from the Myrtaceae family.

Pitanga fruits had a high proportion of unsaturated fatty acids (49-56%), being 20-25% monounsaturated and 29-32% polyunsaturated fatty acids. No significant difference was found in palmitic and linolenic (C18:3n3) acids among samples (Table 3). Oleic acid was found at higher proportion in purple, followed by red and orange pitangas, while palmitoleic acid (C16:1n7c) was higher in the orange and red fruits than in purple pitanga. Linoleic acid was found at higher proportion in the purple and red fruits than in orange pitanga.



**Table 3:** Fatty acid composition (% of total fatty acids) of purple, red and orange-fleshed pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

Fatty acids	Purple	Red	Orange
C16:0	34.6 ± 1.0 <sup>a</sup>	33.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	34.7 ± 0.2 <sup>a</sup>
C16:1n7c	2.7 ± 0.1 <sup>b</sup>	3.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.1 <sup>a</sup>
C18:1n9c	22.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	21.1 ± 0.2 <sup>b</sup>	17.6 ± 0.2 <sup>c</sup>
C18:2n6c	18.9 ± 0.2 <sup>a</sup>	18.8 ± 0.4 <sup>a</sup>	17.0 ± 0.3 <sup>b</sup>
C18:3n3	12.8 ± 0.6 <sup>a</sup>	13.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	12.4 ± 0.3 <sup>a</sup>
NI	8.6 ± 0.6	7.8 ± 0.7	7.9 ± 0.1

Results are means ± standard deviations (n=3). Means with different letters within the same row are statistically different (p<0.05). C12:0, C14:0, C14:1n5, C18:0, C18:1n9t, C18:2n6t, C20:1n9, C20:4n6, C20:5n3, C22:0, C22:5n3 and C22:6n3 were not detected. NI: unidentified compounds.

The phenolic compounds influence the fruit quality, contributing both to their sensory and health-promoting properties (SCALZO et al., 2005). The phenolic content and antioxidant capacity of the extracts of the three fruits are shown in Table 4. The methanolic extract from purple-fleshed pitanga had higher phenolic content than those of the red and orange-fleshed fruits (p<0.05; Table 4), possibly due to the presence of anthocyanins. According to REYNERSTON et al. (2008), who analyzed and quantified several antioxidants and anti-inflammatory flavonols, phenolic acids and anthocyanins from 14 underutilized tropical Myrtaceae fruits, the anthocyanins are the most abundant compounds among those quantified and are responsible for the bright color of these fruits.

The phenolic content of purple fleshed pitanga was higher than previously reported for purple (325 mg catechin.100 g<sup>-1</sup> f.w.) and red (257 mg catechin.100 g<sup>-1</sup> f.w.) mature pitanga

from Pernambuco (LIMA et al., 2002) and for cambuci (*Campomanesia phea Berg.*), which also belongs to the Myrtaceae family (246 mg gallic acid.100 g<sup>-1</sup> f.w) (GENOVESE et al., 2008). Although red and orange-fleshed pitanga had lower phenolic content when compared to the purple samples, their content is higher than that of araçá (*Psidium guineensis Sw.*), which is also a Myrtaceae fruit (129 mg gallic acid.100 g<sup>-1</sup> f.w.) (GENOVESE et al., 2008). Moreover, the phenolic content of pitanga fruits was higher than that of mulberry, grape and açai pulps (119, 117 and 137 mg gallic acid.100 g<sup>-1</sup> f.w., respectively) (KUSKOSKI et al., 2006).

DPPH and FRAP assays are indicated as simple and rapid methods for assessing the antioxidant capacity of fruits and vegetables. The antioxidant capacity of pitanga fruits, determined by the FRAP and DPPH assays, was expressed as equivalents of the standard antioxidant trolox, which is a hydrosoluble analog of vitamin E. Both the ferric-reducing power and the DPPH radical scavenging capacity were higher for the methanolic extracts from purple fleshed color pitanga than for the red and orange fruits ( $p < 0.05$ ) (Table 4). Several authors demonstrated a strong positive correlation between phenolic content and the antioxidant capacity of fruits (VISON et al., 1998; KAUR & KAPPOR, 2001; ABIDILLE et al., 2005; PINTO et al., 2007). We also found a highly positive correlation between the content of phenolics and DPPH ( $r^2 = 0.987$ ;  $p < 0.05$ ) and FRAP ( $r^2 = 0.983$ ;  $p < 0.05$ ) values. This suggests that the phenolics are the compounds mainly responsible for the antioxidant capacity of the methanolic extracts from pitanga samples.

**Table 4:** Phenolic content and antioxidant capacity of methanolic extracts from purple, red and orange-fleshed pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

Samples	Phenolic content (mg gallic acid.100 g <sup>-1</sup> )	DPPH (mmol trolox.100 g <sup>-1</sup> )	FRAP (mol trolox.100 g <sup>-1</sup> )
Purple	463 ± 16 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.7 <sup>a</sup>	9.3 ± 1.6 <sup>a</sup>
Red	210 ± 3 <sup>b</sup>	1.4 ± 0.1 <sup>b</sup>	4.2 ± 0.9 <sup>b</sup>
Orange	179 ± 5 <sup>b</sup>	1.4 ± 0.0 <sup>b</sup>	3.3 ± 1.7 <sup>b</sup>

Results are expressed as gallic acid or trolox equivalents per 100 g of fresh pulp used to prepare the extract and are the means ± standard deviations (n=3); DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; FRAP: ferric reducing antioxidant power. Different letters within the same column indicate significant differences (p<0.05).

Among phenolic compounds, the anthocyanin content has been suggested as important criterion for predicting a high antioxidant activity of fruits, since anthocyanin-rich samples usually show the highest antioxidant capacity (HASSIMOTTO et al., 2005). Therefore, we extracted anthocyanins from pitanga pulp using an ethanolic solution. Results of anthocyanin content and antioxidant capacity of these extracts are shown in Table 5. As with the phenolic content, the ethanolic extract from purple-fleshed pitanga had the highest anthocyanin content followed by the extracts from red and orange samples (p<0.05). The anthocyanin contents of purple and red fleshed pitanga are higher than those of frozen pulps of blackberry (*Morus nigra*) (41.8 mg.100 g<sup>-1</sup>), grape (*Vitis vinifera*) (30.9 mg.100 g<sup>-1</sup>), and açai fruit (*Euterpe oleracea*) (22.8 mg.100 g<sup>-1</sup>), but lower than those of methanolic (578 mg.100 g<sup>-1</sup>) and ethanolic extracts (596 mg.100 g<sup>-1</sup>) from baguaçu (*Eugenia umbelliflora* Berg.) (KUSKOSKI et al., 2006), which is from the same genus as pitanga.

The DPPH radical scavenging capacity was not different among ethanolic extracts from pitanga samples. However, the ferric-reducing power of the ethanolic extract from purple-fleshed pitanga was higher than those of the other samples. Moreover, the anthocyanin content had a positive correlation with FRAP values ( $r^2=0.938$ ;  $p<0.05$ ), but no relationship with DPPH values (data not shown). The antioxidant capacity (DPPH and FRAP values) of anthocyanin extracts (Table 5) was (5 to 30 fold) higher than that of the phenolic extracts (Table 4).

Two possible explanations can be given for the discrepancy noted above. First, the two assays are based on different principles. While the FRAP assay measures the ferric reducing capacity of antioxidants, the DPPH assay measures the ability of antioxidants to scavenge the DPPH radical. Second, the conditions used to obtain the anthocyanin extract like the successive washing until complete extraction of pigments or the polarity of the extracting solution might have led to the extraction of more compounds with greater antioxidant capacity. In agreement with this proposal, Beekwilder et al. (2005) found that anthocyanins, ellagitanins and proanthocyanidins are the major compounds responsible for the antioxidant capacity of raspberry samples.

The results demonstrated that pitanga is a rich source of anthocyanins when compared with other fruits and that purple pitanga, in general, had the highest antioxidant capacity when compared to the other fleshed color samples.

**Table 5.** Total anthocyanin content and antioxidant capacity of ethanolic extracts from purple, red and orange-fleshed pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

Samples	Anthocyanin content (mg.100g <sup>-1</sup> )	DPPH (mmol trolox.100g <sup>-1</sup> )	FRAP (mol trolox.100g <sup>-1</sup> )
Purple	136 ± 6 <sup>a</sup>	37 ± 2 <sup>a</sup>	48 ± 2 <sup>a</sup>
Red	69 ± 3 <sup>b</sup>	41 ± 0 <sup>a</sup>	25 ± 2 <sup>b</sup>
Orange	25 ± 1 <sup>c</sup>	41 ± 0 <sup>a</sup>	24 ± 2 <sup>b</sup>

Results are expressed as anthocyanin content or trolox equivalents per 100g of fresh pulp used to prepare the extract and are the means ± standard deviations (n=3); DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; FRAP: ferric reducing antioxidant power. Different letters within the same column indicate significant differences (p<0.05).

$\alpha$ -Carotene,  $\beta$ -carotene,  $\beta$ -cryptoxanthin, lycopene, lutein and zeaxanthin are the most studied and are considered the most important carotenoids in terms of human health (Rodriguez-Amaya, 1999). Among them, lycopene has remarkably high antioxidant efficiency (DI MASCIO et al., 1989) and has been suggested to protect humans against degenerative disorders (CLINTON, 1998). The carotenoids found in red and orange pitanga samples in the present study were lycopene,  $\beta$ - cryptoxanthin and  $\beta$ -carotene (Table 6). Rubixanthin was also detected, but as a minor carotenoid.

The lycopene contents of the red and orange samples analyzed in this work were much higher than those of pitanga samples from São Paulo (71  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) and Paraná (14  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) (PORCU & RODRIGUEZ-AMAYA, 2008). Moreover, the pitanga samples from Rio Grande do Sul state had higher lycopene content than fruits considered as important sources of lycopene such as watermelon (36  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) (NIIZU & RODRIGUEZ-AMAYA, 2003), guava (53  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) (PADULA & RODRIGUEZ-AMAYA, 1986) and papaya (cv. Formosa, 26  $\mu\text{g.g}^{-1}$ )

(KIMURA et al., 1991). Orange-fleshed pitanga had higher  $\beta$ -carotene and  $\beta$ -cryptoxanthin content than red pitanga ( $p < 0.05$ ). The  $\beta$ -carotene and  $\beta$ -cryptoxanthin contents of red pitanga obtained in the present study are similar to those previously reported for red pitanga from São Paulo and Paraná (PORCU & RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

**Table 6.** Carotenoid composition ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) of red and orange-fleshed pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

Samples	$\beta$ - Cryptoxanthin	Lycopene	$\beta$ - Carotene
Red	$16 \pm 2$	$166 \pm 7$	$2.9 \pm 0.8$
Orange	$34 \pm 7^*$	$151 \pm 30$	$5.1 \pm 0.8^*$

Results are the mean  $\pm$  standard deviation (n=3). \*Different from red samples (Student's T test,  $p < 0.05$ ).

#### 4. Conclusions

Only slight differences were observed in the quality parameters and in the proximate and fatty acid compositions among fruits with different flesh color. Although the red-fleshed pitanga had higher lycopene content, the orange-fleshed pitanga had higher  $\beta$ -cryptoxanthin and  $\beta$ -carotene concentrations than the red fruit. The extracts from purple-fleshed pitanga had the highest total phenolic and anthocyanin content along with the highest antioxidant capacity. The antioxidant capacity determined by the DPPH and FRAP assays of the methanolic pitanga extracts was highly correlated with the total phenolic content, but in ethanolic extracts, the anthocyanin content was correlated only to FRAP antioxidant capacity. The results showed that purple fleshed pitanga cultivated in the Rio Grande do Sul is a rich source of phenolics while the orange and red-fleshed pitanga fruits are rich sources of carotenoids.

## 5. References

- ABIDILLE, M. D. H.; SINGH, R. P.; JAYAPRAKASHA, G. K.; JENA, B. S. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 891-896, 2005.
- ADEBAJO, A. C.; OLOKI, K. J.; ALADESANMI, A. Antimicrobial activity of the leaf extract of *Eugenia uniflora*. **Journal of Phytotherapy Resource**, v. 3, n. 6, p. 258-259, 1989.
- AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: Chemistry, food content, and metabolism. **Nutrition**, v. 18, n. 1, p. 75-81, 2002.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of the Official Analytical Chemists**. 16<sup>th</sup> ed. Arlington, Virginia, 1995.
- AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.17, n. 3-4, p. 385-396, 2004.
- BEEKWILDER, J.; LONKER, H.; MEESTERS, P.; HALL, R. D.; VAN DER MEER, I. M.; DE VOS, C. H. R. Antioxidant in raspberry: on-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 9, p. 3313 -3320, 2005.
- BENZIE, F. F. I.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n.1, p. 70-76, 1996.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.
- BLOCK, G.; PATTERSON, B.; SUBAR, A. Fruits, vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. **Nutrition and Cancer**, v. 18, n. 1, p.1-29, 1992.

- BORS, W.; HELLER, W.; MICHEL, C.; SARAN, M. Flavonoids as antioxidants: determination of radical scavenging efficiencies. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 343-355, 1990.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluated antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. Instrução Normativa , nº 1, de 7 de janeiro de 2000. Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2000, Seção 1, p. 54. Available in: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=7777>, accessed at 18/12/2008.
- CAVALCANTE, M. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoid composition of the tropical fruits *Eugenia uniflora* and *Malpighia glabra*. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.), **Food Science and Human Nutrition**. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, p. 643-650, 1992.
- CLINTON, S. K. Lycopene: Chemistry, biology, and implications for human health and disease. **Nutrition Reviews** , v. 56, n. 2, p. 35-51, 1998.
- CONSOLINI, A. E.; SARUBBIO, M. Pharmacological effects of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) aqueous extract on rat's heart. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, n. 1, p. 57-63, 2002.
- DI MASCIO, P.; KAISER, S.; SIES, H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 274, n. 2, p. 532-538, 1989.
- DILLARD, C. J.; GERMAN, J. B. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 12, p. 1744-1756, 2000.



- DIPLOCK, A. T.; CHARULEUX, J.; CROZIER-WILLI, G.; KOK, F. J.; RICE-EVANS, C.; ROBERFROID, M.; STAHL, W.; VINA-RIBES, J., Functional food sciences and defense against reactive oxidative species. **British Journal of Nutrition**, v. 80, n. 1, p. 77-112, 1998.
- ESCARPA, A.; GONZALEZ, M. C. Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 427, n. 1, p.119-127, 2001.
- GEMTCHÜJNICOV, I. D. **Manual de taxonomia vegetal: plantas de interesse econômico, agrícola, ornamentais e medicinais**. São Paulo:Ceres, 1976. 368p.
- GENOVESE, M. I.; DA SILVA M. P.; DE SOUZA, A. E. S. G.; LAJOLO, F. M. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology International**, v. 4, n. 3, p. 207-214, 2008.
- HARTMANN, L.; LAGO, B. C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, n. 6, p. 475-477, 1973.
- HASSIMOTTO, N. M. A.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 8, p. 2928-2935, 2005.
- KAUR, C.; KAPOOR, H. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium’s health. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 36, n. 7, p. 703-725, 2001.
- KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; YOKOYAMA S. M., Cultivar differences and geographic effects on the carotenoid composition and vitamin A value of papaya. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 24, n. 5, p. 415-418, 1991.
- KRINSKY, N. I.; JOHNSON, E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v.26, n. 6, p. 459-516, 2005

- KRIS-ETHERTON, P. M.; HECKER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S.M.; BINKOSKI, A. E.; HILPERT, K. F., GRIEL A. E.; ETHERTON, T. D. Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **American Journal of Medicine**, v. 113, n. 9, p. 71-88, 2002.
- KUSKOSKI, M. E.; ASUERO, A. E.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutas tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p.1283-1287, 2006.
- LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **Hortscience**, v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.
- LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 3, p. 447-450, 2002
- NIIZU, P. Y.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. A melancia como fonte de licopeno. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n. 3, p.195-199, 2003.
- OLIVEIRA, A. L.; LOPES, R. B., CABRAL, F. A., EBERLIN M. N. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p.1-5, 2006
- PADULA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Characterization of the carotenoids and assessment of the vitamin A value of Brazilian guavas (*Psidium guajava* L.). **Food Chemistry**, v. 20, n. 1, p.11-19, 1986.
- PELLEGRINI, N.; COLOMBI, B.; SALVATORE, S.; BRENNNA, O. V.; GALAVERNA, G.; DEL RIO, D.; BIANCHI, M.; BENNETT, R. N.; BRIGHENTI, F. Evaluation of antioxidant capacity of some fruit and vegetable foods: efficiency of extraction of a sequence of solvents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n. 1, p.103-111, 2007.
- PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p.1035–1042, 2000.

- PINTO, M. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). **Food Chemistry**, v. 107, n. 4, p.1629-1635, 2007.
- PORCU, O. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Variation in the carotenoid composition of the lycopene-rich Brazilian fruit *Eugenia uniflora* L. **Plant Foods for Human Nutrition** v. 63, n. 4, p. 195-199, 2008.
- PRIOR, R. L.; CAO, G. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. **Horticulture Science**, v. 35, n. 4, p. 588-592, 2000.
- RAHMAN, I.; ADCOCK, I. M. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. **European Respiratory Journal**, v. 28, n. 1, p. 219-242, 2006.
- REYNERSTON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. B.; KENNELLY, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883-890, 2008.
- ROBARDS, K.; ANTOLOVICH, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. **Analyst**, v. 122, p. 11R-34R, 1997.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. ILSI Press, Washington DC. 1999.
- SALGADO, S.M.; GUERRA, N. B.; MELO FILHO, A.B. Frozen fruit pulps: Effects of the processing on dietary fiber contents. **Brazilian Journal of Nutrition**, v.12, n. 3, p.303-308, 1999.
- SCALZO, J.; POLITI, A.; PELEGRINI, N.; MEZZETI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 207-213, 2005.

- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Jr. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, n. 3, p.144-158, 1965.
- STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1740, n. 2, p. 101-107, 2005.
- TACO, **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos** – NEPA/UNICAMP – Version II – 2.ed.Campinas –SP: NEPA/UNICAMP 2006. 113P.
- TAPIERO, H.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 58, n. 2, p. 100-110, 2004.
- VISON, J.A.; HAO, Y.; SU, X.; ZUBIK, L. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 9, p. 4113-4117, 1998.
- WEYERSTAHL, P.; MARSCHALL-WEYERSTAHL, H.; CHRISTIANSEN, C.; OGUNTMEIN, B. O.; ADEOYE, A.O. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil. **Planta Médica**, v. 54, n. 6, p. 546-549, 1988.

### **Acknowledgements**

The authors thank Embrapa Clima Temperado of Pelotas-RS for the samples of pitanga and Carlos Rubini Junior for the work in the gas chromatograph. Tatiana Emanuelli and Delya B. Rodriguez-Amaya are the recipients of CNPq research fellowships. Milena Bagetti is the recipient of a CAPES Master Degree fellowship. Jaqueline Piccolo is the recipient of a CNPq Master Degree fellowship. This study was supported by Edital Casadinhos (FAPERGS/CAPES) to PPGCTA-UFSM.

### 3.2. Manuscrito 2:

#### ANTIOXIDANT CAPACITY AND COMPOSITION OF PITANGA

*(Eugenia uniflora L.)* SEEDS

Submetido à Revista Ciência Rural<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> O manuscrito foi formatado conforme as normas da Revista.

**Antioxidant capacity and composition of pitanga (*Eugenia uniflora* L.) seeds****Capacidade antioxidante e composição de sementes de pitanga (*Eugenia uniflora* L.)**

Milena Bagetti<sup>I</sup>; Elizete Maria Pesamosca Facco<sup>II</sup>; Daniele Bobrowski Rodrigues<sup>III</sup>; Márcia Vizzotto<sup>IV</sup>; Tatiana Emanuelli<sup>III,\*</sup>

**ABSTRACT**

Food industry generates a significant amount of seed wastes from the production of juices, frozen pulps and jams. Considering that the characterization of wastes is the first step to determine their potential use, the aim of the present study was to determine the composition and the antioxidant capacity of seeds from pitanga fruits with different flesh colors (purple, red and orange). The fruits were obtained from trees cultivated at Embrapa Clima Temperado (RS, Brazil) and are being studied to yield cultivars adapted to the south region of Brazil. Composition was determined according to AOAC and the antioxidant capacity was determined by the DPPH and FRAP methods, and was correlated to the total phenolic content. Results of chemical composition revealed that pitanga seeds are a good source of insoluble dietary fiber, with low protein and fat levels, and no relevant differences were found among seeds from pitanga of different colors. Pitanga seed extracts had powerful antioxidant capacity that was partially correlated to their high phenolic content and showed some variation according to the pitanga flesh colors. Accordingly, we suggest that this low value waste of pitanga processing, could be used as a source of natural antioxidants and dietary fiber, for use in animal and/or human nutrition.

**Key-words:** diphenyl-2-picrylhydrazyl; brazilian cherry, industrial residues

---

<sup>I</sup> Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>II</sup> Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brasil.

<sup>III</sup> Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL), Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria. Avenida Roraima, n.1000, Bairro Camobi - 97105-900 - Santa Maria, RS - Brasil. E-mail: tatiemanuelli@smail.ufsm.br. \* Autor para correspondência.

<sup>IV</sup> Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil.

## RESUMO

A indústria de alimentos gera quantidades significativas de resíduos de sementes a partir da produção de sucos, polpas congeladas e geléias de frutas. Considerando que a caracterização dos resíduos é o primeiro passo para determinar o seu uso potencial, o objetivo do presente estudo foi determinar a composição e a capacidade antioxidante de sementes de pitanga com diferentes colorações de polpa (roxa, vermelha e laranja). As frutas foram obtidas de seleções cultivadas na Embrapa Clima Temperado (RS, Brasil) e estão sendo estudadas para produzir cultivares adaptadas a região Sul do Brasil. A composição foi determinada de acordo com a AOAC. A capacidade antioxidante foi avaliada pelos métodos do DPPH e FRAP e esta foi correlacionada com o teor de compostos fenólicos totais. Os resultados da composição química revelaram que as sementes de pitanga são boas fontes de fibra alimentar insolúvel, com níveis baixos de proteína e gordura, e sem diferenças relevantes entre as sementes de pitangas de diferentes colorações. Os extratos das sementes apresentaram uma excelente capacidade antioxidante, que foi parcialmente correlacionada com o alto teor de fenólicos e apresentou alguma variação de acordo com a coloração da polpa das pitangas. Assim, sugere-se que este resíduo de baixo valor, resultante do processamento da pitanga, poderia ser utilizado como fonte de antioxidantes naturais e de fibra alimentar, para a nutrição humana e/ou animal.

Palavras-chave: difenil-2-picrilhidrazil, pitanga, resíduos industriais.

## INTRODUCTION

The Brazilian cherry or pitanga (*Eugenia uniflora*) is a member of the Myrtaceae family. Myrtaceae is a pan-tropical family that occurs in South America, Southeast Asia, and Australia. Many species of Myrtaceae, including pitanga, are cultivated in home gardens for their edible fruit, and their leaves have been used in traditional medicine to treat several

inflammatory conditions (REYNERSTON et al., 2008). In the Brazilian food industry, pitanga fruits have mostly been used to produce juice and frozen pulp.

Worldwide several million tons of agri-food solid wastes are produced annually and are likely to be discarded or used as low-value by-products (TALCOTT et al., 2003; BERARDINI et al., 2005; ISCI & DEMIRER, 2007). Food industry generates a significant amount of seed wastes from the production of juice nectars, concentrates, jams, jelly powders and fruit bars. These wastes could be used as a source of ingredients for the food industry, since many fruit seeds have high content of antioxidant phenolic compounds (PURAVANKARA et al., 2000), dietary fiber (AL-FARSI & LI, 2008), oils (KOBORI & JORGE, 2005) and other components. This practice would reduce the impact on the environment, besides yielding value added ingredients (EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA, 2003).

Fruit seeds have not generally received much attention as antioxidant sources, however SOONG & BARLOW (2004) demonstrated a significantly higher phenolic content and total antioxidant capacity in the seeds of fruits than in their edible portions. Antioxidants from residual sources could be used as natural food additives to increase the stability of foods by preventing lipid oxidation (MOURE et al., 2001). Besides its antioxidant capacity, phenolic compounds, mainly phenolic acids and flavonoids, have been shown to possess other interesting health beneficial properties like anti-carcinogenic (BAILEY & WILLIAMS, 1993), antimicrobial (TAKECHI et al., 1985), anti-mutagenic (LIVERIO et al., 1994) and anti-inflammatory activities (LANDOLFI et al., 1984), which could be exploited by the pharmaceutical industry.

Besides phenolic compounds, some fruit seeds contain other nutritionally important compounds that are usually underused. Blackcurrant or groselha (*Ribes nigrum*) seeds contain an exceptionally high level of nutritionally desirable polyunsaturated  $\gamma$ -linolenic acid



(TRAITLER et al., 1984), while date seeds have a high content of dietary fiber (AL-FARSI & LEE, 2008).

We found no data in the literature concerning to the composition or antioxidant capacity of pitanga seeds. Considering that the characterization of wastes is the first step to determine their potential use, the aim of the present study was to determine the composition and the antioxidant capacity of seeds from pitanga fruits with different flesh colors (purple, red and orange). These fruits were from trees cultivated at Embrapa Clima Temperado (RS, Brazil) and are being studied to yield cultivars adapted to the Southern region of Brazil.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Samples**

The samples of purple, red and orange fleshed pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.), were harvested at EMBRAPA Clima Temperado (Rio Grande of Sul, Brazil) in the year 2007. Each sample was a mixture of completely ripe fruits from various plant selections with the same flesh color. Three independent lots were separated, frozen at -18°C and transported to Federal University of Santa Maria. Fruits were thawed and flesh (edible portions) was manually separated from seeds. Seeds were dried in conventional air-oven during 4 hours at 60°C and then ground using a Wiley grinder with a 2 mm hole screen and stored at -18°C until analysis.

### **Composition**

Moisture was determined as the weight loss at 105°C (method 925.10; AOAC, 1995). Ash content was determined at 550°C (method 923.03) according to AOAC (1995). Protein content (N x 6.25) was determined by the microkjeldahl procedure (method 960.2) of the AOAC (1995). Total and insoluble dietary fiber were determined by the enzymatic-gravimetric methods (985.29 and 991.42) from AOAC (1995). Fat was extracted using chloroform and methanol as described by BLIGH & DYER (1959) and used for

determination of the fat content and fatty acid profile. To prevent lipid oxidation during and after extraction, 0.02% butyl hydroxyl toluene was added to the chloroform used. The nitrogen free extract fraction (Nifext) was calculated by difference.

#### **Fatty acid methyl esters (FAMES)**

Aliquots (2-3 ml) of chloroform-lipid extract from BLIGH & DRYER (1959) were evaporated at 50°C using a vacuum pump. Fat was saponified in methanolic sulfuric acid solution as described by HARTMANN & LAGO (1973). Methylated samples were analyzed using an Agilent Technologies gas chromatograph (HP 6880) fitted with a capillary column DB-23 (60m x 0.25 mm x 0.25 µm, Agilent) and flame ionization detection. The temperature of the injector port and the detector were set at 250°C, and the carrier gas was nitrogen (0.6 ml/min). After injection (1 µl, split ratio 1:50), the oven temperature was held at 140 °C for 5 min, increased to 240°C at a rate of 4 °C min<sup>-1</sup> and held for 5 min.

#### **Phenolic compounds**

The extraction of phenolic compounds was performed using the method of ESCARPA & GONZÁLEZ (2001) modified as follows. The homogenized samples (2g) were extracted in an ultrasonic bath at room temperature in the absence of light with an aqueous solution consisting of 800 mL methanol and 50 mL formic acid per liter. The samples were sequentially extracted with 6 mL of solvent for 1h, 6 mL for 30 min and 3 mL for 30 min. After each extraction, the extracts were filtered in qualitative filter paper under vacuum. The combined filtrate was brought to a final volume of 25 mL with the solvent and stored at -18°C until required for analysis.

Total phenolic content was determined using the method of SINGLETON & ROSSI (1965). An aliquot of 0.1 mL pulp extract was mixed with 2.5 mL 0.25 N Folin-Ciocalteu. After 5 minutes, 2 mL 1 N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> was added. The absorbance was determined at 740 nm

after 1 h in the dark. Gallic acid was used as a standard for the calibration curve. The amount of total phenolic compounds was calculated and expressed as mg gallic acid. 100 g<sup>-1</sup> sample.

#### **Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay**

A stable solution of DPPH was used for determination of total antioxidant activity of extracts according to BRAND-WILLIAMS et al. (1995). DPPH solution was previously diluted until 1.10±0.02 absorbance at 515 nm was obtained. The extract (0.05 mL) was mixed with 1.9 mL diluted methanolic DPPH solution. The antiradical power of the different extracts was determined by measuring the decrease of DPPH absorbance after 24 hours in the dark against a blank. Trolox was used as standard for the calibration curve and the results were expressed as mmol trolox equivalents. 100 g<sup>-1</sup> sample.

#### **Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) assay**

The method of BENZIE & STRAIN (1996) was used for FRAP assays. Ferric-2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) solution was prepared by mixing 2.5 ml 10 mM TPTZ solution in 40 mM HCl, 2.5 ml 20mM FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O and 25 ml of 0.3 M acetate buffer at pH 3.6. The sample (40 µL) was mixed with 1.2 ml of ferric-TPTZ reagent and incubated at 37°C during 15 min. The absorbance of the colored complex formed with Fe<sup>+2</sup> and TPTZ was taken at 593 nm. Trolox was used as standard for the calibration curve and the results were expressed as mol trolox equivalents. 100 g<sup>-1</sup> sample.

#### **Statistical analysis**

The experiment was conducted at a completely randomized design with three groups (colors of pitanga flesh) and three repetitions per group. All measurements were made in triplicate. Results were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA). Post hoc comparisons were made using Tukey's test (p<0.05). The relationship between phenolic content and antioxidant capacity was evaluated by Pearson's correlation. Statistical analyses were carried out using Statistica 6.0 (Copyright Sta Soft, Inc 1984-2001).

## RESULTS AND DISCUSSION

Chemical composition of the seeds from purple, red and orange fleshed pitanga were similar (table 1). No significant difference was observed in the moisture, ash, protein, total carbohydrate, total and insoluble dietary fiber or Nifext fraction among samples. However, the fat content of seeds from purple fleshed pitanga were lower than that of the other samples ( $p < 0.05$ ). Moisture content of seeds is similar to that of seed wastes of orange and guava (55.4 and 43.3%, respectively), but much lower than that of passion fruit (80.9%; KOBORI & JORGE, 2005). Carbohydrate was the major nutrient found in pitanga seeds. This fraction was found to be composed mainly by insoluble dietary fiber, with a lower amount of digestible carbohydrates (Nifext fraction). Dietary fiber has important therapeutic implications for certain conditions such as diabetes, cardiovascular diseases and intestinal disorders in humans (SUTER, 2005). The insoluble fraction facilitates gastrointestinal transit and reduces constipation (SUTER, 2005). Besides, complex carbohydrates, like those found in the dietary fiber fraction, are also very important in the nutrition of ruminants (FOX et al., 1992). Therefore, the insoluble dietary fiber of pitanga of seeds could be evaluated for use in human and/or animal nutrition.

Table 2 presents the fatty acid composition of pitanga seeds. Pitanga seeds had a high proportion of unsaturated fatty acids (60-70%) being 13-16% monounsaturated fatty acids (MUFA) and 45-47% polyunsaturated fatty acids (PUFAS). PUFAS, especially the n-3 fatty acids, are considered desirable compounds in the human diet because of their effect in reducing the incidence of cardiovascular disease (LEAF & WEBER, 1988). Pitanga seeds had MUFA proportion similar to that of black currant seed residue (HELBIG et al., 2008).

In seeds from purple and red pitanga the predominant unsaturated fatty acid was linoleic acid (C18:2n6c), followed by oleic acid (C18:1n9c), while seeds from orange pitanga

had  $\alpha$ -linolenic acid (C18:3n3) as the second most abundant unsaturated fatty acid. Yi et al. (2008) also found linoleic acid as the predominant fatty acid in berry seeds press residues. Palmitoleic acid was found only in seeds from purple and red pitanga. Seeds from purple and red pitanga had higher linoleic acid and lower  $\alpha$ -linolenic acid content than seeds from orange pitanga ( $p<0.05$ ). Seeds from red pitanga had higher oleic acid (C18:1n9c) followed by seeds from orange and purple pitanga ( $p<0.05$ ).

The only saturated fatty acid found was palmitic acid, which was found in higher proportion in seeds from orange pitanga when compared to the other samples ( $p<0.05$ ). Tomato seeds also had high content of palmitic acid, but followed by stearic acid (CANTARELI et al., 1993), which was not found in pitanga seeds.

Seeds from orange pitanga had higher phenolic content than seeds from purple and red pitanga (table 3,  $p<0.05$ ). Total phenolic content of pitanga seeds is very similar to that found for jackfruit seed (*Artocarpus heterophyllum Lam.*) (SOONG & BARLOW, 2004) and about 5-10-times higher than that of grape pomace powder from winemaking industry (YI et al., 2008) and that of the edible portion of various fruits (VINSON et al., 2001). Hence, pitanga seeds can be considered good sources of phenolics.

The antioxidant capacity of pitanga seeds was expressed as equivalents of trolox, which is a hydrosoluble analog of vitamin E. Seeds from orange pitanga had higher antioxidant capacity in the DPPH assay than seeds from purple pitanga ( $p<0.05$ ), while seeds from red pitanga had intermediate values (table 3). In contrast, in the FRAP assay seeds from purple pitanga had higher antioxidant capacity than all the other samples ( $p<0.05$ ; table 3). According to these results pitanga seeds can be considered powerful antioxidants, since their antioxidant activity was about two-times higher than that presented by the pulp of various tropical fruits including grape, açai (*Euterpe oleracea*) and baguaçu (*Eugenia umbelliflora Berg*) (KUSKOSKI et al., 2006). Generally, a positive relationship between total phenolics

and antioxidant activity has been reported previously (ALONSO et al., 2002). In the present study the phenolic content had a positive correlation with antioxidant capacity measured by the DPPH assay ( $r^2 = 0.72$ ,  $p < 0.05$ ), indicating that phenolic compounds are responsible for the scavenging of DPPH radical. However, the antioxidant capacity assessed by the FRAP method had no significant correlation with total phenolic content, suggesting that compounds that are not evaluated in the total phenolic assay may be more important to the FRAP antioxidant capacity. Alternatively, seeds from purple fleshed pitanga could be enriched in some specific polyphenol with higher FRAP antioxidant capacity than those found in the other seeds. The discrepancy between results of DPPH and FRAP assay may be related to the different mechanisms involved in each evaluation. In the FRAP assay the antioxidant capacity is measured as the ability to reduce 2,4,6-tripyridyl-s-triazine-Fe(III) complex to 2,4,6-tripyridyl-s-triazine-Fe(II) complex (BENZIE & STRAIN, 1996), while the DPPH assay involves a fast electron transfer process from phenolic compounds to the DPPH radical (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; MARTINS et al., 2008). In a recent study MARTINS et al. (2008) showed that results of DPPH were more correlated with the antioxidant capacity of compounds *in situ*, than the FRAP assay.

Flavonoids are considered the most powerful antioxidants among the polyphenol compounds (SHAHID et al., 1992 & SOOBRAATTEE et al., 2005). LU & FOO (2002) showed the presence of an array of polyphenols in blackcurrant seeds, such as anthocyanins, consisting of the rutosides and glucosides of delphinidin, cyanidin, myricetin, quercetin, kaempferol-3-glucoside, dihydroquercetin and aureusidin, as well as the phenolic acids 1-cinnamoyl- and 1-p-coumaroyl-b-D-glucosides. Thus, it is possible that flavonoid compounds could be the major responsible for the antioxidant capacity of pitanga seeds. However, more studies are needed to identify the phenolic profile of pitanga seeds.

## CONCLUSIONS

Pitanga seeds had powerful antioxidant capacity that was partially correlated to their high phenolic content and showed some variation according to the pitanga flesh colors. Accordingly, we suggest that this low value waste of pitanga processing, could be used as a source of natural antioxidants. No relevant differences were found in the composition among seeds from pitanga of different colors. Results revealed that pitanga seeds are a good source insoluble dietary fiber, which could be explored for use in animal and/or human nutrition. However, more studies are necessary to determine if some antinutritional factor like cyanogenic glycosides could be a limit for this application.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Authors thanks to Embrapa Clima Temperado (Pelotas-RS) for the samples of pitanga and Carlos Rubini for the work in gas chromatograph. Tatiana Emanuelli is the recipient of CNPq research Fellowship. Milena Bagetti is the recipient of a CAPES Master Degree fellowship. Daniele Bobrowski Rodrigues is the recipient of CNPq-PIBIC/UFSM scientific initiation fellowship. This study was supported by Edital Casadinhos (FAPERGS/CAPES) to PPGCTA-UFSM.

## REFERENCES

- AL-FARSI, M.; LEE C.Y. Optimization of phenolics and dietary fiber extraction from date seeds. **Food Chemistry**, v.108, p.977–985, 2008.
- ALONSO, A.M. et al. Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with polyphenolic content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.5832-5836, 2002.

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the association of the official analysis chemists**, 16<sup>th</sup> ed., Arlington, 1995.
- BAILEY, G. S.; WILLIAMS, D.E. Potential mechanisms for food related carcinogens and anti-carcinogens. **Food Technology**, v.47, p.105-118, 1993.
- BENZIE, F.F.I.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a Measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, p.70-76, 1996.
- BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry and Physiology**, v.37, p. 911-917, 1959.
- BRAND-WILLIAMS et al. Use of a free radical method to evaluated antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.
- CANTARELI, P.R. et al. Physicochemical Characteristics and fatty acid composition of tomato seed oils from processing wastes. **Scientia Agricola**, v.50 (1), p.117-120, 1993.
- EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. **Iniciando um pequeno grande negócio agroindustrial: polpa e suco de fruta**. Brasília: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 1<sup>a</sup> ed Brasília, DF, 2003, 123p.
- FOX, D.G., et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III. Cattle requirements and diet adequacy. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3578-3596, 1992.
- HARTMANN, L; LAGO, B.C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. **Laboratory Practice.**, v. 22, p. 475 – 477, 1973.
- HELBIG, D., et al. Berry seed press residues and their valuable ingredients with special regard to black currant seed press residues. **Food Chemistry**, v.111, p. 1043-1049, 2008.
- ISCI, A.; DEMIRER, G.N., Biogas production potential from cotton wastes. **Renewable Energy**, v.32, p.750–757, 2007.
- KOBORI, C.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, p.1008-1014, 2005.



- KUSKOSKI, E.M. et al. Frutas tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v.36, p.1283-1287, 2006.
- LANDOLFI, R., et al. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. **Biochemical Pharmacology**, v.33, p.1525-1530, 1984.
- LEAF, A.; WEBER, P.C. Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. **The New England Journal of Medicine**, v.318, p.549-557, 1988.
- LU, Y.; FOO, Y. Polyphenolic constituents of blackcurrant seed residue. **Food Chemistry**, v. 80(1), p.71-76, 2003.
- MARTINS, D.M. et al. Antioxidant Potential of New Pyrazoline Derivatives to Prevent Oxidative Damage. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v.104, p.107-112, 2009.
- MOURE, A., et al., Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v.72, p.145-171, 2001.
- PURAVANKARA, D., et al. Effect of antioxidant principles isolated from mango (*Mangifera Indica L.*) seed kernels on oxidative stability of buffalo ghee (butter-fat). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 80, 522-526, 2000.
- REYNERTSON K.A., et al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v.109, p.883 -890, 2008.
- SUTER, P.M. Carbohydrates and dietary fiber. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 170, p. 231-261, 2005.
- SHAHID F., et al. Phenolics antioxidants. **Critical Review and. Food Science Nutrition**, v.130, p.2073s-2085s, 1992.
- SCHLESIER K., et al. Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. **Free Radical Research**, 36 (2), 177-187, 2002.

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

SOOBRATTEE, M.A.; et al. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutation Resource**, v.579, n.1, p.200-213, 2005.

SOONG, Y.Y; BARLOW, P.J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, v.88, p.411-417, 2004.

TAKECHI, M., et al. Structure and antiherpetic activity among the tannins. **Phytochemistry**, v.24, p.2245-2250, 1985.

TRAITLER, H., et al. Characterization of  $\gamma$ -linolenic acid in Ribes seed. **Lipids**, v.19, p.923-928, 1984.

YI, C., et al., Fatty acid composition and phenolic antioxidants of winemaking pomace powder. **Food Chemistry**, in press, 2008. Available in: <  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.103>>. Accessed at January 5<sup>th</sup>, 2009.  
doi:10.1016/j.foodchem.2008.09.103.

VINSON, J.A, et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49 (11), p.5315-5321, 2001.

Table 1: Chemical composition (g. 100 g<sup>-1</sup> fresh weight) of seeds from purple, red and orange pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

Samples	Moisture	Ash	Protein	Fat	Total carbohydrate*	Total fiber	Insoluble fiber	<i>Nifext</i> fraction*
Purple	57.5±0.4 <sup>a</sup>	0.8±0.1 <sup>a</sup>	3.7±0.2 <sup>a</sup>	0.5±0.0 <sup>b</sup>	37.5±0.5 <sup>a</sup>	24.7±0.1 <sup>a</sup>	23.7±0.2 <sup>a</sup>	12.8±0.5 <sup>a</sup>
Red	58.6±0.7 <sup>a</sup>	0.8±0.0 <sup>a</sup>	3.6±0.2 <sup>a</sup>	0.7±0.0 <sup>a</sup>	36.4±0.9 <sup>a</sup>	23.4±0.1 <sup>a</sup>	23.3±0.0 <sup>a</sup>	13.0±0.9 <sup>a</sup>
Orange	57.0±0.0 <sup>a</sup>	0.6±0.0 <sup>a</sup>	3.3±0.2 <sup>a</sup>	0.7±0.0 <sup>a</sup>	38.4±0.2 <sup>a</sup>	23.0±0.1 <sup>a</sup>	23.0±0.0 <sup>a</sup>	14.4±0.2 <sup>a</sup>

Results are mean ± standard deviation (n=3). Means that have no common letters within the same column are statistically different (p<0.05).

\*Calculated by difference

Tabela 2: Fatty acid composition (% of total fatty acids) of seeds from purple, red and orange pitanga

Fatty acids	Purple	Red	<i>Orange</i>
C16:0	29.8±0.6 <sup>b</sup>	30.3±1.7 <sup>b</sup>	34.2±0.0 <sup>a</sup>
C16:1n7c	1.4± 0.0 <sup>a</sup>	1.5±0.1 <sup>a</sup>	ND
C18:1n9c	12.5±0.5 <sup>c</sup>	15.0±0.3 <sup>a</sup>	13.7±0.1 <sup>b</sup>
C18:2n6c	38.3± 0.9 <sup>a</sup>	36.0±2.0 <sup>a</sup>	28.6±0.0 <sup>b</sup>
C18:3n3	8.7±0.4 <sup>b</sup>	9.2±0.7 <sup>b</sup>	18.3±0.0 <sup>a</sup>
NI	9.3±0.3	8.0±2.2	5.3±0.0

Results are mean ± standard deviation (n=3). Means that have no common letters within the same row are statistically different (p<0.05). C12:0, C14:0, C14:1n5, C18:0, C18:1n9t, C18:2n6t C20:1n9, C20:4n6, C20:5n3, C22:0, C22:5n3 and C22:6n3 were not detected. NI: Non-identified compounds

Table 3: Antioxidant activity and phenolic content of extracts from purple, red and orange pitanga

Samples	Phenolic content (g galic acid.100g <sup>-1</sup> )	<i>Antioxidant capacity</i>	
		DPPH (mmol trolox.100g <sup>-1</sup> )	FRAP (mol trolox.100g <sup>-1</sup> )
Purple	2.5±0.2 <sup>b</sup>	14.6±0.6 <sup>b</sup>	369.0±34.1 <sup>a</sup>
Red	2.6±0.0 <sup>b</sup>	16.7±1.3 <sup>a,b</sup>	89.3±11.7 <sup>b</sup>
Orange	2.8±0.2 <sup>a</sup>	17.4±1.4 <sup>a</sup>	93.3±6.7 <sup>b</sup>

Results are mean ± standard deviation (n=3) and are expressed per 100 g of dried seed used to prepare the extract. DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; FRAP: ferric reducing antioxidant power. Means that have no common letter within the same column are different (p<0.05).

#### 4. DISCUSSÃO

Visando avaliar as características físico-químicas dos frutos de pitanga cultivados no Rio Grande do Sul e determinar a capacidade antioxidante dos extratos das porções comestíveis de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) roxa, vermelha e laranja, foram avaliados parâmetros de qualidade, composição centesimal, perfil lipídico, teor de fenólicos e de antocianinas dos extratos, capacidade antioxidante por FRAP e DPPH e perfil de carotenóides da polpa vermelha e laranja (Manuscrito 1).

Em relação aos parâmetros de qualidade ou norma da produção de polpa de pitanga congelada, as três colorações de pitanga ficaram dentro dos limites preconizados pela Legislação Brasileira. Os parâmetros de qualidade indicaram que o estágio de maturação da pitanga é considerado adequado para o processamento, no caso, a produção de polpa congelada. A acidez da pitanga possivelmente seja devido primordialmente aos ácidos orgânicos que estão relacionados com a composição do flavor característico da fruta, assim como outros compostos, pois esta apresenta sabor e aroma ácido adocicado.

Em relação às características físico-químicas, as diferentes colorações de pitanga apresentaram valores de proteína, lipídios e carboidratos mais elevados que o previamente relatado na literatura para pitanga (0,9; 0,2 e 10,2%, respectivamente; TACO, 1996), indicando ser uma boa fonte de carboidratos, onde possivelmente a maioria destes, seja constituída de açúcares, os quais conferem o sabor agradável da fruta e dos produtos dela derivados, como os sucos, característica importante para o consumo destes. Logo, observamos também que os carboidratos são os principais contribuintes para o valor calórico da pitanga, com menor contribuição da proteína e dos lipídios. A proporção lipídica de frutas, em geral, é muito baixa, da ordem de 0,1-0,5% do peso fresco (BELITZ; GROSH, 1988), sendo que as pitangas analisadas encontram-se dentro desta faixa.

No que se refere ao perfil de ácidos graxos, o ácido graxo predominante em todas as colorações de pitanga foi o palmítico (C16:0), seguido pelo oléico (C18:1n9c) e ácido linoléico (C18:2n6). Não foram encontrados estudos prévios avaliando a composição de ácidos graxos da pitanga ou de outras frutas da família das mirtáceas. Contudo, os ácidos graxos que predominaram nas pitangas foram os mesmos encontrados em frutas como maçã, abacate e banana (BELITZ; GROSH, 1988).

As frutas apresentaram cerca de 29-32% de ácidos graxos poliinsaturados do total de ácidos graxos pesquisados, aos quais vêm sendo atribuídos benefícios à saúde. As frutas apresentaram em torno de 20-25% de ácidos graxos monoinsaturados do total de ácidos

graxos pesquisados. Contudo, deve-se levar em consideração que o teor de lipídios encontrado nas frutas é pequeno, cerca de 0,4%, logo as pitangas não podem ser consideradas como excelentes fontes de ácidos graxos insaturados, apesar de apresentarem uma boa proporção destes em sua composição. Salienta-se que o consumo na forma de produtos processados, por apresentarem-se em maiores quantidades, poderia efetivamente trazer os benefícios à saúde dos ácidos graxos encontrados na pitanga.

A extração de compostos fenólicos, relatada na literatura, em sua maioria é realizada com metanol, porém o uso de etanol seria mais vantajoso do ponto de vista da utilização deste extrato na alimentação humana, devido à toxicidade do metanol. Entretanto, a utilização da secagem e ressuspensão do extrato em outros solvente também pode ser executada. Em relação ao teor de compostos fenólicos dos extratos metanólicos, a pitanga de coloração roxa obteve maiores valores de compostos fenólicos que as demais colorações, possivelmente devido à presença de antocianinas. As pitangas de coloração vermelha e laranja, embora com teor de compostos fenólicos menor que o da roxa apresentaram teores de compostos maiores que do araçá (*Psidium guineensis Sw.*) (GENOVESE et al., 2007). Isto indica que as pitangas analisadas são boas fontes de fenólicos, em especial a de coloração roxa. Os extratos metanólicos de pitangas roxas também apresentaram os maiores valores para capacidade antioxidante através dos ensaios de DPPH e FRAP. Nestes, os extratos apresentaram alta correlação positiva com o teor de fenólicos. Logo, percebemos que os compostos fenólicos são responsáveis pela capacidade antioxidante das pitangas analisadas. Contudo, as antocianinas também são compostos fenólicos e podem também estar contribuindo com a atividade antioxidante das amostras.

Assim como observado para o teor de fenólicos, os extratos etanólicos de pitangas de coloração roxa tiveram maiores teores de antocianinas que as outras amostras ( $p < 0,05$ ). Os resultados demonstram que a pitanga é uma rica fonte de antocianinas quando comparada com outras frutas e a pitanga de polpa roxa, em geral, apresenta a maior capacidade antioxidante quando comparada com amostras de outras colorações. Além disso, o método FRAP apresentou alta correlação positiva com o teor de antocianinas, demonstrando, a contribuição destes compostos para a capacidade antioxidante. A capacidade antioxidante pode ou não ter correlação com o teor de antocianinas, dependendo do ensaio utilizado. A capacidade antioxidante (valor de DPPH e de FRAP) dos extratos etanólicos foi muito maior (5 a 30 vezes mais) que a dos extratos metanólicos. Tal fato pode estar relacionado aos métodos de extração utilizados, já que na extração etanólica lava-se o resíduo exaustivamente com solução extratora até remoção completa do pigmento e na extração metanólica utiliza-se de

três extrações sucessivas em banho de ultra-som, porém a extração não é exaustiva. Além disso, a polaridade diferenciada dos solventes faz com que os compostos extraídos sejam diferentes, conseqüentemente alterando a capacidade antioxidante dos extratos. A diferença de composição entre os dois tipos de extratos era visível inclusive pela diferença de coloração destes: mais clara para o extrato metanólico e mais avermelhada para o extrato etanólico (dados não mostrados).

Os carotenóides nas amostras de pitanga vermelha e laranja no presente estudo foram licopeno,  $\beta$ -criptoxantina and  $\beta$ -caroteno. O teor de licopeno das amostras analisadas foi maior que o de pitanga proveniente do Estado de São Paulo (71.1  $\mu\text{g/g}$ ) e do Paraná (14  $\mu\text{g/g}$ ) (PORCU, 2004). Além disso, as amostras de pitanga tiveram um conteúdo maior de licopeno que frutas consideradas fontes importantes como a melancia (36  $\mu\text{g/g}$ ) (NIIZU & RODRIGUEZ-AMAYA, 2003), a goiaba (53  $\mu\text{g/g}$ ) (PADULA & RODRIGUEZ-AMAYA, 1986) e o mamão (cv. Formosa, 26  $\mu\text{g/g}$ ) (KIMURA et al., 1991). Logo, as amostras de pitanga se apresentam como ricas fontes de licopeno, um composto que também possui ação antioxidante, assim como os fenólicos.

Os teores de  $\beta$ - caroteno e  $\beta$ - criptoxantina foram mais altos na pitanga de coloração laranja do que na vermelha, com diferenças significativas. Além disso, os carotenóides deste estudo tiveram, em geral, teores maiores que os de pitangas provenientes de São Paulo e Paraná (PORCU, 2004). Estes resultados demonstram a influência de fatores geográficos nos teores de carotenóides.

A composição físico-química e a capacidade antioxidante das sementes da pitanga (roxa, vermelha e laranja) foram realizadas, considerando que a caracterização destas é o primeiro passo para determinar o seu uso potencial (Manuscrito 2) e que não existiam estudos prévios neste sentido. Não houveram diferenças significativas em relação ao teor de umidade, cinzas, proteína, fibra total, insolúvel e da fração Nifext entre as amostras. O teor de lipídios de sementes de pitangas de coloração roxa foi menor que nas demais amostras ( $p < 0,05$ ) e em geral todas as amostras apresentaram um conteúdo de lipídios que pode ser considerado baixo. A fibra alimentar, em sua maioria, a insolúvel, foi um componente encontrado em boa proporção na semente de pitanga. Sendo que esta fração de fibra está relacionada a ações fisiológicas como o aumento da velocidade do trânsito intestinal e conseqüentemente a com a redução da constipação (SUTER, 2005) podendo ser desta forma direcionada para produtos alimentícios, observando a presença ou não de fatores antinutricionais desta semente.

As sementes de pitanga apresentaram uma alta proporção de ácidos graxos insaturados (60-70%), sendo 13-16% de ácidos graxos monoinsaturados e 45-47% de ácidos graxos



poliinsaturados. O ácido linoléico (C18:2n6c) foi o preponderante nas sementes de pitanga, da mesma forma que o encontrado por Yi et al (2008) em sementes de “berries”, sendo que as sementes de pitanga roxa e vermelha tiveram maiores teores deste ácido graxo que a laranja ( $p < 0,05$ ), porém menores de linolênico (C18:3n3). O ácido palmitoléico foi encontrado somente nas sementes de pitangas de coloração roxa e vermelha. O único ácido graxo saturado encontrado foi o ácido palmítico, que foi encontrado em alta proporção em sementes de pitanga laranja quando comparado a outras amostras ( $p < 0,05$ ). As sementes de tomate também tiveram altos teores de ácido palmítico, mas seguido do ácido esteárico (CANTARELI et al, 1993), que não foi encontrado nas sementes de pitanga.

As sementes de pitanga laranja tiveram maiores teores de fenólicos que as de pitangas roxa e vermelha. O teor de fenólicos foi muito similar ao encontrado para sementes de jaca (*Artocarpus heterophyllum Lam.*) (SOONG; BARLOW, 2004) e cerca de 5-10 vezes maior que para pó do resíduo do processamento do vinho (YI et al., 2008) e que a porção comestível de várias frutas (VINSON et al., 2001). Com isso, as sementes de pitanga podem ser consideradas boas fontes de compostos fenólicos.

As sementes de pitanga laranja obtiveram maior capacidade antioxidante no método DPPH que as sementes de pitangas de coloração roxa ( $p < 0,05$ ), enquanto que as sementes de pitangas vermelhas obtiveram valores intermediários. Em contraste, no método FRAP as sementes de pitangas de coloração roxa tiveram maior capacidade antioxidante do que todas as outras amostras ( $p < 0,05$ ). De acordo com os resultados as sementes de pitanga podem ser consideradas excelentes antioxidantes, pois sua capacidade antioxidante foi cerca de duas vezes maior que a apresentada pela polpa de várias frutas tropicais e 4 a 40 vezes maior que a apresentada pela polpa de pitanga (manuscrito 1). A porção comestível possui rendimento de 65-80% (SANTOS et al, 2002) logo o restante seria composto pela semente ou resíduo do processamento. No manuscrito 1 demonstramos que a porção comestível das amostras analisadas ficou em torno de 75%. Não foram encontrados dados referentes ao volume de produção brasileira de pitanga. No entanto, no Estado de Pernambuco, estima-se que são produzidos em torno de 1300-1700 toneladas por ano de pitanga (SILVA, 2006). Dessa forma, haveria uma grande proporção de semente gerada anualmente, a qual poderia ser destinada à produção de extrato antioxidante. Os custos envolvidos na produção deste estão relacionados à secagem da semente em estufas, utilização de solventes extratores como metanol ou etanol, disponibilidade de banho de ultra-som, bomba à vácuo e evaporador rotatório (caso seja utilizado em pó). Necessita-se de análises mais aprofundadas para verificar se os extratos produzidos em grandes quantidades compensariam os custos, porém ao

que tudo indica se trata de uma extração simples que não demanda significativos custos e a quantidade de resíduos obtidos é alta.

Ainda não existem estudos sobre o perfil de polifenóis da semente da pitanga, porém sugere-se que os flavonóides possam ser os compostos responsáveis pela capacidade antioxidante desta, pois alguns autores relataram que os flavonóides são considerados excelentes antioxidantes (SHAHID et al., 1992; SOOBRAATTEE et al., 2005).

A partir dos resultados podemos propor que as porções comestíveis da pitanga poderiam ser usadas para elaboração de polpas congeladas de sucos, pós para sorvetes, sucos naturais, entre outros produtos, pois demonstraram ser uma rica fonte de compostos fitoquímicos, além dos nutrientes normalmente presentes em outras frutas. As sementes, por sua vez, poderiam ser usadas para extração de compostos antioxidantes. O resíduo dessa extração, rico em fibra alimentar, poderia ser investigado para uso na nutrição humana e ou animal.

## 5. CONCLUSÕES

- As diferentes colorações de pitanga provenientes da Embrapa Clima Temperado apresentaram-se dentro dos limites preconizados na Legislação Brasileira como norma para produção de polpa congelada de pitanga, indicando estágio de maturação adequado para o processamento, apresentando carboidratos como nutriente principal, possivelmente açúcares, os quais contribuem com seu aroma e sabor característico, demonstrando assim aptidão para consumo como polpa congelada.
- A pitanga de coloração roxa obteve maiores teores de compostos fenólicos, antocianinas, bem como maior capacidade antioxidante que as demais colorações de frutas, demonstrando uma excelente qualidade, devido aos vários benefícios à saúde atribuídos a estes compostos, em especial a capacidade antioxidante. Os extratos etanólicos são os mais indicados para obter maior capacidade antioxidante.
- Os resultados revelaram que as sementes são boas fontes de fibra alimentar, que poderia ser destinada para nutrição humana ou animal.
- As sementes de pitanga apresentaram excelente capacidade antioxidante, que foi parcialmente correlacionada com seu alto teor de fenólicos. Com isso, sugere-se que este resíduo do processamento da pitanga seja utilizado como fonte de antioxidantes naturais, tendo em vista sua atividade e a redução do impacto ambiental causado pela deposição de resíduos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIDILLE, M. D. H.; SINGH, R. P.; JAYAPRAKASHA, G. K.; et al. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. **Food Chemistry**, v. 90, p. 891-896, 2005.

ADEBAJO, A. C.; OLOKI, K. J.; ALADESANMI, A. Antimicrobial activity of the leaf extract of *Eugenia uniflora*. **Journal Phytotherapy Resource**, v. 3, n.3, p. 258-259, 1989.

ARAUJO, J. M. **Química de Alimentos: teoria e prática**, 3ªed., Editora UFV, 2004. 478 p.

ARENA, E.; FALLICO, B.; MACCARONE, E. Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. **Food Chemistry**, v. 74, p. 423-427, 2001.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia: tópicos de microbiologia industrial**. São Paulo: Ed. Blücher, 1990.

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

BAWERNFLEIND, J. C. **Carotenoids as colorants and vitamin A precursors**. New York: Academic Press, 1981, 983 p.

BEEKWILDER, J.; LONKER, H.; MEESTERS, P.; et al. Antioxidant in raspberry: On-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 3313 -3320, 2005.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Química de los Alimentos**. Zargagoza, Espanha: Ed. Acribia S. A.,1988. 813p.

BENZIE, F. F. I.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a Measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, p. 70-76, 1996.

BEZERRA, J. E. F.; SILVA Jr., J. F.; LEDERMAN, I.E. **Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)** Jaboticabal: Funep, 2000. 30p. (Série Frutas Nativas, 1).

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

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 22, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Instrução Normativa , nº 1, de 7 de janeiro de 2000. Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2000, Seção 1, p. 54. Available in:<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=7777>, accessed at 18/12/2008.

BOLCK, G. A role of antioxidants in reducing cancer risk. **Nutrition Review**, v. 50, p. 207-213, 1992.

BORS, W.; SARAN, M. Radical scavenging by flavonoids antioxidants. **Free Radical Resource**, v.2, p. 289-294, 1987.

CANTOS, E.; ESPIN, J. C.; TOMÁS-BARBERAN, F. A. Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivares studies by LC-DAD-MS-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5691-5696, 2002.

CAVALCANTE, M.L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoid composition of the tropical fruits *Eugenia uniflora* and *Malpighia glabra*. In: Charalambous, G. (Ed.), **Food Science and Human Nutrition**. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, p. 643-650, 1992.

CERUTTI, P. A. Oxidant stress and carcinogenesis. **European Journal of Clinical Investigation**, Oxford, v.21, n.1, p.1-5, 1991.

CONSOLINI, A.E.; SARUBBIO, M. G. Pharmacological effects of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) aqueous crude extract on rat's heart. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, p. 57-63, 2002.

CRUZ, A. V. M.; KAPLAN, M. A. C. A importância das famílias *Myrtaceae* e *Melastomataceae* na etnomedicina Brasileira. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.10, n. 5, 2005.

DIPLOCK, A.; CHARLEUX, J.; GROZIER-WILLI, G.; et al. Functional food sciences and defense against reactive oxidative species. **British Journal of Nutrition**, v. 80, p. 77-82, 1998.

EINBOND, L. S.; REYNERTSON, K. A.; DOUNGLUO, X.; et al. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v. 84, p. 23-28, 2004.

ELWOOD, P.C.; RENAUD, S.; SHARP, D.S.; et al. Ischemic heart disease and platelet aggregation. **Circulation**, v.83, p. 38-44, 1991.

DIPLOCK, A. Antioxidants nutrients-efficacy in disease prevention and safety. **Biochemistry**, v.17, p.16-18, 1995.

EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. **Iniciando um Pequeno Grande Negócio Agroindústria: polpa e suco de frutas/** Embrapa Agroindústria de Alimentos, 1ª ed., Brasília, DF, 2003, 123p.

FENNEMA, O. R. **Química de los Alimentos**. 2ª ed. Zaragoza: Editorial Acribia S.A, 2000, 1258p.

FIGUEIREDO, R. W.; LAJOLO, F. M.; ALVES, R. E.; et al. Physical-chemical changes in early dwarf cashew pseudofruits during development and maturation. **Food Chemistry**, v. 77, p. 343-347, 2002.

FRANCO, G. **Tabela de composição química de alimentos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1992. 305p.

FRANCO, G. **Tabela de composição química de alimentos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2006. 307p.

FRANZOM, R. **Frutíferas Nativas do Sul do Brasil**. In: 1º ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 2º SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, 2006. **Anais do 1º Encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul, 2º Simpósio Nacional do Morango**, Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, 2004.

GARCIA-CLOSAS, R.; GONZALEZ, C. A.; AGUDO, A.; et al. Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of gastric cancer in Spain. **Cancer Causes and Control**, v.10, p. 71-75, 1999.

GAZZONI, L.D., **Alimentos funcionais**. Disponível em:  
[http://dlgazzoni.sites.uol.com.br/alimentos\\_funcionais.htm](http://dlgazzoni.sites.uol.com.br/alimentos_funcionais.htm), acesso em: 29/12/2008

GEMTCHÜJNICOV, I. D. **Manual de taxonomia vegetal: plantas de interesse econômico, agrícola, ornamentais e medicinais**. São Paulo:Ceres, 1976. 368p.

GENOVESE, M. I.; SILVA M. P.; DE SOUZA, A. E. S. G.; LAJOLO, F. M. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology**, v.14, p. 207-214, 2008.

GRAZIANO, J. M.; BURING, J.E.; BRESLOOW, J. L. Moderate alcohol intake: increased levels of high-density lipoprotein and its subfractions and decreased risk of myocardial infarction. **The New England Journal of Medicine**, v. 329:1829-1834, 1993.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 3 ed. Clarendon, Oxford, 2000.

HARBONE, J.B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoids researches since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, p. 481-504, 1998.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. D. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for treatment of infectious diseases. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p.1027–1031, 2002.

HUANG, D.; OU B.; PRIOR, R. I. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53: 1981-1856, 2005.

ISCI, A.; DEMIRER, G. N. Biogas production potential from cotton wastes. **Renewable Energy**, v. 32, p.750–757, 2007.

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

KUSKOSKI, M. E., ASUERO A. E., MORALES M. T., FETT, R. Frutas tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, p.1283-1287, 2006.

KIMURA, M. RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; YOKOHAMA S.M. Cultivar differences and geographic effects on the carotenoid composition and vitamin A value of papaya. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 24, p. 415-418, 1991.

LEAF, A.; WEBER, P. C. Cardiovascular effects of n<sub>3</sub> fatty acids. **The New England Journal of Medicine**, v. 318, p. 549-557, 1998.

LEDERMAN, I. E.; BEZERRA, J. E. F; CALADO, G. **A pitangueira em Pernambuco**. Recife: IPA, 1992. 20p. (IPA. Documentos, 19).

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agricola**, v. 59, p. 447-450, 2002.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. Efeito da luz e da temperatura de congelamento sobre a estabilidade das antocianinas da pitanga roxa. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, v. 25, n.1, p. 92-94, 2005.

LIRA JUNIOR, S. J.; BEZERRA, J. E.; LEDERMAN, I. E. Melhoramento, propagação e produção de pitangueiras em Pernambuco. In: IV Simpósio Nacional do Morango e III Encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul. **Anais do 4º Simpósio Nacional do Morango ,3º Encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul**, Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, 2008.

LU, Y.; FOO, Y. Polyphenolic constituents of blackcurrant seed residue. **Food Chemistry**, v. 80, n. 1, p. 71-76, 2002.

MATSUMURA, T.; KASAI, M.; HAYASHI, T.; ARISAWA, M.; MOMOSE, Y.; ARAI, I., AMAGAYA S., KOMATSU Y.,  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors from Paraguayan natural medicine, Nangapiry, the leaves of *Eugenia uniflora*. **Pharmaceutical Biology**, v.38, p.302–307, 2000.

MAZZA, G.; MINIATI, E. Anthocyanis in Fruits, Vegetables and Grains. **CRC Press Inc.**, Boca Raton, 1993, 362 p.



MAZZA, G. Bioactivity, absorption and metabolism of anthocyanins. **Anais do Proc. 1<sup>st</sup> IS on Hum. Health Effects of F & V.** Ed.: Y. Desjardins, Acta Horticultural, 2007, 744p.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S., DE LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 193-201, 2008.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, p. 145-171, 2001.

OLIVEIRA, A. L.; LOPES, R. B. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v. 99, p.1-5, 2006.

PELEG, H.; BODINE, K. K.; NOBLE, A. C. The influence of acid on astringency of alum and phenolic compounds. **Chemical Senses**, Oxford, v. 23, n.3, p. 371-378, 1998.

PORCU, O. M., **Fatores que influenciam na composição de carotenóides em goiaba, acerola, pitanga e seus produtos processados.** Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 2004, 135p.

PRIOR, R. L.; CAO, G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 27 (11/12), p.1173-1181, 1999.

PRIOR, R. L.; GU, L. Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. **Phytochemistry**, v. 66, p. 2264-2280, 2005.

RAHMAN, I.; ADCOCK, I. M. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. **European Respiratory Journal**, v. 28 (1), p. 214-219, 2006.

RAO, A.V. Lycopene, tomatoes and the prevention of coronary heart disease. **Experimental Biology and Medicine**, v. 227, p. 908-913, 2002.

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

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods.** Arlington, U.S. Agency for International Development, 1997, 88p.

ROSA, M. F. **Alternativas para o uso da casca de coco verde.** Rio de Janeiro: Rede local da Embrapa Agroindústria de Alimentos, 1998.10 p. (Programa 10 – Extração, colheita, pós-colheita, transformação e preservação de produtos agrícolas. Subprojeto 10.1999.08303).

SUTER, P.M. Carbohydrates and dietary fiber. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 170, p. 231-261, 2005.

SANTOS, A. F. DOS; SILVA, S. DE M.; MENDONÇA, R. M. N.; SILVA, M. S. DA; ALVES, R. E.; ALMEIDA, H. Alterações fisiológicas durante a maturação de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) dos tipos vermelho e roxo. **Anais do 48th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, Tegucigalpa, Honduras, 2002.

SCALZO, J.; POLITI, A.; PELEGRINI, N.; MEZZETI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, v.21, p. 207-213, 2005.

SCHAPOVAL, E. E. S.; SILVEIRA, S. M.; MIRANDA, M. L.; ALICE, C. B.; HENRIQUES, A. T. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 44, p.137–142, 1994.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. Review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 215, n.2, p. 213-219, 1993.

SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n.1, p. 94-103, 1999.

SILVA, S. M. Pitanga. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 1, 2006.

SIMPSON, K. L. Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 42, p.7-17, 1983.

SNODDERLY, D.M. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. **American Journal of Nutrition**, v. 62, p. 1448S-1462S, 1995.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, p.71-81, 2002.

SOOBRATTEE, M. A.; NEERGHEEN, V. S; LUXIMON-RAMMA, A.; ARUOMA, O. I.; BAHORUN, T., Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutation Research**, v. 579, p. 200-213, 2005.

SOONG, Y.Y, BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, v. 88, p. 411-417, 2004.

SOUZA, L. K. H.; OLIVEIRA, C. M. A.; FERRI, P. H.; et al. Antifungal properties of Brazilian cerrado plants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, p. 247-249, 2002.

SHAHID, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolics antioxidants. **Critical Review and. Food Science Nutrition**, v.130, p.2073s-2085s, 1992.

STEINMETZ, K. A.; POTTER, J. D. Vegetable, fruit and cancer epidemiology. **Cancer Causes and Control**, v. 2, p. 325-351, 1996.

TACO, **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos** – NEPA/UNICAMP – Versão II – 2ªed.Campinas –SP: NEPA/UNICAMP, 2006, 113P.

TYLER, V. E. Phytomedicines: black to the future. **Journal Natural Products**, v. 62, p.1589-1592, 1999.

VISON, J.A.; HAO, Y.; SU, X.; ZUBIK, L. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4113-4117, 1998.

YANISHILIEVA, N. V. I., MARINOVA E. M., Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty acids on sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 54, p. 377-382, 1995.

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

## 7. APÊNDICES

**Apêndice 1.** Pitangas utilizadas no experimento: roxa (acima), laranja (a esquerda) e vermelha (a direita):



**Apêndice 2.** Sementes de pitanga utilizadas: roxa (acima), laranja (a esquerda) e vermelha (a direita).

