



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS
Área de Concentração: Ciência de Alimentos

**FRUTOS DE TAMARILLEIRO (*Solanum betaceum* Cav.) CARACTERIZAÇÃO
QUÍMICA E POTENCIAL ANTIOXIDANTE**

Autor: Ícaro Pereira Silva
Orientadora: Prof^ª. DSc. Andréa Gomes da Silva

ITAPETINGA – BAHIA – BRASIL
Fevereiro de 2017

ÍCARO PEREIRA SILVA

**FRUTOS DE TAMARILLEIRO (*Solanum betaceum* Cav.) CARACTERIZAÇÃO
QUÍMICA E POTENCIAL ANTIOXIDANTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Prof^ª. DSc. Andréa Gomes da Silva

Coorientadora: Prof^ª. DSc. Simone Andrade Gualberto

Coorientadora: Prof^ª. DSc. Renata Cristina Ferreira Bonomo

ITAPETINGA – BAHIA – BRASIL
Fevereiro de 2017

634.7
S687f

Silva, Ícaro Pereira

Frutos de tamarilleiro (*Solanum betaceum* cav.) caracterização química e potencial antioxidante. / Ícaro Pereira Silva. - Itapetinga: UESB, 2017. 67p.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de *Magister Scientiae*. Sob a orientação da Prof^a. D.Sc. Andréa Gomes da Silva e coorientação da Prof^a. D.Sc. Simone Andrade Gualberto e Prof^a. D.Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo.

1. Tamarillo - Composição química. 2. Tamarillo - Constituintes bioativos. 3. Alimentos Funcionais. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. II. Silva, Andréa Gomes da. III. Gualberto, Simone Andrade. IV. Bonomo, Renata Cristina Ferreira. V. Título.

CDD(21): 634.7

Catálogo na fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB/5-535

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Tamarillo - Composição química
2. Tamarillo - Constituintes bioativos
3. Alimentos Funcionais



Áreas de Concentração: Engenharia de Alimentos
Ciência de Alimentos

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

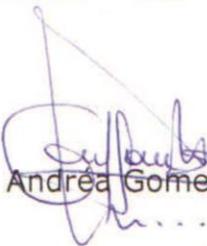
Título: FRUTOS DE TAMARILLEIRO (*Solanum betaceum* Cav.)
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E PONTENCIAL ANTIOXIDANTE.

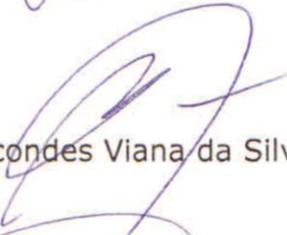
Autor (a): ÍCARO PEREIRA SILVA

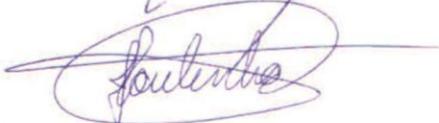
Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Andréa Gomes da Silva

Coorientadores: Prof.^a Dr.^a Renata Cristina Ferreira Bonomo
Prof.^a Dr.^a Simone Andrade Gualberto

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de **MESTRE EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS**, pela Banca Examinadora.


Prof.^a Dr.^a Andréa Gomes da Silva (UESB)


Prof.º Dr. Marcondes Viana da Silva (UESB)


Prof.º Dr. Janclei Pereira Coutinho (UESC)

Itapetinga-BA, 22 de fevereiro de 2017.

A minha família
e aos meus amigos,
por todo amor e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da vida, saúde e sabedoria para vencer mais esta etapa importante em minha vida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, pelo apoio na realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro concedido.

Ao Instituto Federal de Roraima, pelo auxílio, compreensão e apoio para conclusão dessa pesquisa.

A minha orientadora, Andrea Gomes da Silva, pela paciência, compreensão nos momentos difíceis, orientação e saberes a mim transmitidos.

As minhas co-orientadoras, Renata Cristina Ferreira Bonomo e Simone Andrade Gualberto pela disponibilidade em participarem dessa pesquisa e por todo o apoio, ensinamentos.

Aos Professores Marcondes Viana da Silva e Janclei Pereira Coutinho pelas contribuições realizadas a esse trabalho durante o exame de qualificação.

Ao meu amigo, Alexandre Araújo Pimentel, que esteve ao meu lado em momentos cruciais na condução do experimento e pelo conhecimento compartilhado.

A Juarez da Silva Souza Júnior, pela amizade apoio e pela preciosa ajuda na realização da pesquisa.

As equipes dos laboratórios de Tecnologia de Produtos de Origem Vegetal (LTPOV) e de Pesquisa de Produtos Naturais (LAPRON).

Aos meus pais Cassia Cristina Pereira Silva e Rito Humberto Silva e a minha vó Vera por todo amor e incentivo a alcançar caminhos cada vez mais distantes.

A minha noiva, Rebeca de Carvalho Rosas, por todo o companheirismo, incentivo, compreensão, aprendizagem colaborativa, amor e dedicação.

Aos membros da república, Adriano, Andrey, Diogo, Gleidson, Ícaro Couto, Leonardo, Marcus Vinícius, Murilo, Ricardo, Rodrigo, Tarcizio, pela amizade, convivência e troca de experiências.

A todos aqueles que, embora não tenham sido citados, mas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
I – REFERENCIAL TEÓRICO	1
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 O tamarillo	3
2.2 Fitoquímicos do tamarillo	4
2.2.1 Carotenoides	5
2.2.2 Compostos fenólicos.....	7
2.2.2.1 Flavonoides.....	9
2.3 Rotas biossintéticas	13
2.4 Radicais livres e estresse oxidativo.....	15
2.5 Antioxidantes	17
2.6 Mecanismo de proteção endógeno e exógeno.....	19
2.7 Quantificação de carotenoides	20
2.8 Método Folin-Ciocalteu	21
2.9 Quantificação de flavonoides.....	21
2.10Quantificação de antocianinas totais Método pH único.....	22
2.11Métodos de avaliação da capacidade antioxidante	22
2.11.1 Método de ensaio do radical ABTS ^{•+} (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)).....	23

2.11.2 Método do ensaio do sequestro do radical livre DPPH [•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)	24
2.11.3 Método do ensaio FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>).....	25
II – OBJETIVOS	27
1 – Objetivo geral.....	27
2 – Objetivos específicos.....	27
III MATERIAL E MÉTODOS	28
1 Material.....	28
1.1 Local do experimento	28
1.2 Aquisição dos frutos	28
2 Recepção e seleção dos frutos.....	28
3 Acondicionamento e armazenamento	29
4 Composição centesimal do tamarillo.....	29
5 Obtenção dos extratos.....	29
5.1 Método de extração 1	30
5.2 Método de extração 2	31
5.3 Método de extração 3	32
6. Quantificação de carotenoides	33
7. Quantificação de constituintes fenólicos totais	34
8. Quantificação de flavonoides totais	35
9. Quantificação de antocianinas	35
10. Métodos de avaliação da capacidade antioxidante	36
10.1 Método do sequestro do radical ABTS ^{•+}	36
10.2 Método do sequestro do radical livre DPPH [•]	37
10.3 Método do ensaio FRAP.....	38
11. Análise estatística.....	39
IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40

1	Caracterização dos frutos.....	40
2	Quantificação de carotenoides totais.....	42
3	Quantificação de constituintes fenólicos totais.....	43
4	Quantificação de flavonoides totais.....	45
5	Quantificação de antocianinas totais.....	47
6	Avaliação da capacidade antioxidante.....	48
6.1	Capacidade antioxidante pelo método do radical livre ABTS ^{•+}	48
6.1.1	Capacidade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre DPPH [•]	50
6.1.2	Capacidade antioxidante pelo método do ensaio FRAP.....	52
V	CONCLUSÕES.....	54
VI	REFERÊNCIAS.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – O fruto tamarillo.....	03
Figura 2 – Estruturas químicas dos principais carotenoides em alimentos vegetais.....	05
Figura 3 – Mecanismos de ação dos carotenoides.....	06
Figura 4 – Estruturas dos precursores dos polifenóis.....	08
Figura 5 – Estruturas químicas de alguns compostos fenólicos.....	09
Figura 6 – Estrutura básica dos flavonoides.....	10
Figura 7 – Estruturas dos diferentes grupos de flavonoides.....	11
Figura 8 – Estrutura da antocianina.....	12
Figura 9 - Vias biossintéticas do metabolismo secundário.	14
Figura 10 – Formação mitocondrial de radicais livres via cadeia transportadora de elétrons.....	16
Figura 11 – Estruturas de compostos fenólicos sintéticos.....	17
Figura 12 – Mecanismo de ação de antioxidantes primários.....	18
Figura 13 – Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.....	21
Figura 14 – Complexação da quercetina com o cloreto de Alumínio.....	22
Figura 15 – Estabilização do radical ABTS ^{•+} por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.....	23
Figura 16 – Mecanismo de ação do método de ensaio do radical DPPH [•]	24
Figura 17 – Mecanismo de redução do composto férrico para ferroso.....	26
Figura 18 – Método de extração 1, antocianinas e carotenoides.....	30
Figura 19 – Método de extração 2, antocianinas e carotenoides.....	32
Figura 20 – Método de extração 3, antocianinas e carotenoides.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Safras e datas do fruto tamarillo.....	28
Tabela 2 – Composição centesimal e caracterização físico-química dos tamarillos das safras 2015 e 2016.	40
Tabela 3 – Teores de carotenoides totais dos extratos acetônicos de tamarillo obtidos por três métodos de extração, das safras de 2015 e 2016.....	43
Tabela 4 - Teores de constituintes fenólicos totais dos extratos hidroetanólicos de tamarillo liofilizados obtidos por três métodos de extração das safras de 2015 e 2016.....	44
Tabela 5 – Teores de flavonoides totais dos extratos hidroetanólicos de tamarillo liofilizados obtidos por três métodos de extração, expressos em teores de quercetina, das safras de 2015 e 2016.....	45
Tabela 6 – Teores de flavonoides totais dos extratos hidroetanólicos de tamarillo liofilizados obtidos por três métodos de extração, expressos em teores de ácido cafeico, das safras de 2015 e 2016.....	46
Tabela 7 – Teores de antocianinas totais dos extratos hidroetanólicos de tamarillo liofilizados obtidos por três métodos de extração, expressos em teores de antocianinas por grama de extrato, das safras de 2015 e 2016.	47
Tabela 8 – Resultados dos ensaios de avaliação da capacidade antioxidante pelo ensaio do radical livre ABTS, dos extratos acetônicos de tamarillo obtidos por três métodos de extração, das safras de 2015 e 2016.....	49
Tabela 9 – Avaliação da capacidade antioxidante pelo ensaio do radical livre DPPH [•] , dos extratos hidroetanólicos de tamarillo obtidos por três métodos de extração, expressos em EC ₅₀ das safras de 2015 e 2016.	50
Tabela 10 – Avaliação da capacidade antioxidante pelo ensaio do radical livre DPPH [•] , dos extratos hidroetanólicos de tamarillo obtidos por meio três métodos de extração, expressos em índice de atividade antioxidante (IAA), das safras de 2015 e 2016.....	51
Tabela 11 – Avaliação da capacidade antioxidante pelo método do ensaio FRAP, dos extratos hidroetanólicos de tamarillo obtidos por meio de três métodos de extração, nas safras de 2015 e 2016.	52

RESUMO

SILVA, Ícaro Pereira. **Frutos de tamarilleiro (*Solanum betaceum* Cav.) caracterização química e potencial antioxidante**. 2017. 67 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação de Engenharia e Ciência de Alimentos, Itapetinga, 2017.*

O tamarillo é fruto de origem Andina, que apresenta constituintes com alegação funcional, dentre eles os polifenóis, (flavonoides, antocianinas) e carotenoides. Esses componentes, despertam interesse dos consumidores, que buscam alimentos com capacidade antioxidante, devido a associação na prevenção de doenças degenerativas e a capacidade de neutralizar radicais livres. Neste sentido, objetivou-se determinar as características físico-químicas, quantificar a capacidade antioxidante e os metabólitos secundários a partir de diferentes frações obtidas por partição sólido líquido dos frutos de tamarilleiro, em quatro safras diferentes, (março de 2015; outubro de 2015; março de 2016 e outubro de 2016) provenientes da região da Chapada Diamantina – Bahia. O experimento foi realizado na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus* Juvino Oliveira, Itapetinga, Bahia. As amostras foram analisadas quanto a composição centesimal, teores de carotenoides, constituintes fenólicos totais, antocianinas, flavonoides totais e a capacidade antioxidante pelos ensaios ABTS, DPPH e FRAP. Os tamarillos apresentaram valores que variaram de 84,31 - 88,68, 8,17 - 11,61 e 5,48 - 7,31 g.100g⁻¹ para umidade, carboidratos e açúcares totais, respectivamente. Os valores de proteínas e lipídios apresentam-se reduzidos como na maioria dos vegetais. A safra D apresentou maior teor de carotenoides quando extraída pelo método de extração 3 (9,40 mg.g⁻¹). Para os constituintes fenólicos totais, os extratos hidroetanólicos de tamarillo da safra A obtiveram melhores resultados quando extraídos pelo método 3 (208,38 mg.g⁻¹ EAG). O extrato hidroetanólico de tamarillo da safra B, extraído pelo método 3 apresentou o maior teor de antocianina (24,00 mg.g⁻¹). Para a capacidade antioxidante dos extratos acetônicos de tamarillo pelo ensaio ABTS, não houve diferença significativa entre os métodos de extração nas safras B e C. A safra A pelo método de extração 3 apresentou (1474,05 µmol.g⁻¹ ET). Os resultados para DPPH, mostram que os métodos de extração 2 e 3 para as safras B e D (1,96 e 2,53 IAA) apresentaram-se mais eficientes que o método 1. Para FRAP, o método de extração 3 apresentou maior capacidade antioxidante quando comparado aos demais métodos, para as safras A e D. No geral, os extratos de tamarillo obtidos pelo método de extração 3 apresentam valores superiores de carotenoides, constituintes fenólicos totais, flavonoides totais, antocianinas e capacidade antioxidante.

Palavras chave: Alimentos Funcionais; Composição química, Constituintes bioativo.

*Orientadora: Andréa Gomes da Silva, DSc., UESB; Coorientadora: Simone Andrade Gualberto, DSc., UESB;
Coorientadora: Renata Cristina Ferreira Bonomo, DSc., UESB.

ABSTRACT

SILVA, Ícaro Pereira. **Tamarillo fruits (*Solanum betaceum* Cav.) chemical and antioxidant potential**. 2017. 67 p. Dissertation (Master Degree) - University of Southwest Bahia, Post-Graduate Program of Engineering and Food Science, Itapetinga, 2017.*

The tamarillo is a fruit of Andean origin, which presents constituents with functional claim, among them polyphenols, (flavonoids, anthocyanins) and carotenoids. These components, which seek foods with antioxidant capacity, due to an association in the prevention of degenerative diseases and an ability to neutralize free radicals. In this sense, the objective was to quantify the antioxidant capacity and the secondary metabolites from the different fractions obtained by partitioning the solids of the tamarillo fruits into four different crops (March 2015, March 2016 and October Of 2016) of the Chapada Diamantina - Bahia region. The experiment was carried out at the State University of the Southwest of Bahia, Campus Juvino Oliveira, Itapetinga, Bahia. The samples were analyzed for centesimal composition, carotenoid contents, total phenolic constituents, anthocyanins, total flavonoids and antioxidant capacity by the ABTS, DPPH and FRAP tests. The tamarins presented values ranging from 84.31 - 88.68, 8.17 - 11.61 and 5.48 - 7.31 g.100g - 1 for moisture, carbohydrates and total sugars, respectively. The values of proteins and lipids are reduced as in most vegetables. The D crop presented a higher carotenoid content when extracted by extraction method 3 (9.40 mg.g-1). For the total phenolic constituents, the tamarin hydrothermal extracts of the crop (208.38 mg.g-1 EAG). The hydroethanolic extract of tamaril from crop B, extracted by method 3 presented the highest anthocyanin content (24.00 mg.g-1). For the antioxidant capacity of the acetylic extracts of tamaril by the ABTS test, there was no significant difference between the extraction methods in the B and C harvests. The harvest extraction method 3 presented (1474.05 μ mol.g-1 ET). The results for DPPH show that extraction methods 2 and 3 for B and D crops (1.96 and 2.53 IAA) were more efficient than method 1. For FRAP, extraction method 3 presented higher Antioxidant capacity when compared to other methods for the A and D crops. In general, extracts of tamarins obtained by extraction method 3 present higher values of carotenoids, total phenolic constituents, total flavonoids, anthocyanins and antioxidant capacity.

Keywords: Functional Foods; Chemical composition, Bioactive constituents.

*Advisor: Andréa Gomes da Silva, DSc., UESB; Co-advisor Simone Andrade Gualberto, DSc., UESB; Co-advisor: Renata Cristina Ferreira Bonomo, DSc., UESB.

I – REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

O tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) é um fruto de origem andina, pertencente à família Solanaceae. Ao se tratar de alimentos, esta família se destaca devido ao grande número de vegetais com importância econômica e nutricional, a exemplo da batata, berinjela e tomate. As Solanaceas também apresentam compostos de interesse farmacêutico, como alcaloides esteroidais, compostos fenólicos, carotenoides, dentre outros. No Brasil, o tamarillo é conhecido popularmente como tomate de árvore, tomate berinjela ou tomate francês. É um fruto naturalmente encontrado em quintais de casas, principalmente nos estados da Bahia, Minas Gerais e São Paulo.

O fruto apresenta variação, quanto à coloração do epicarpo, mesocarpo e endocarpo. As cores das cascas podem ser roxa, vermelha, alaranjada, amarela ou laranja amarelada e podem apresentar ainda estrias longitudinais de coloração variando de verde-escura à marrom. A polpa varia entre a cor laranja-avermelhada, laranja e também amarela, enquanto que a mucilagem que envolve as sementes apresenta cor vermelha ou roxa em frutas que possuem epicarpo de coloração avermelhada e amareladas, entretanto, nas frutas amarelas e laranja-avermelhadas apresentam uma coloração alaranjada.

O tamarillo é usualmente consumido in natura, por possuir características sensoriais atrativas, além de fornecer importantes nutrientes como vitaminas (B6, C e E) e minerais (ferro, potássio, magnésio e fósforo). Além disso, o tamarillo é um fruto que apresenta potencial antioxidante devido à presença de compostos que, comprovadamente, apresentam capacidade antioxidante, como antocianinas e carotenoides.

Antioxidantes naturais vêm sendo pesquisados para que seja possível obter compostos que sejam eficientes na neutralização dos radicais livres e assim, se torne uma alternativa aos antioxidantes sintéticos, visto que estes têm sido alvo de questionamentos quanto à sua inocuidade por apresentarem efeitos tóxicos e mutagênicos.

Para realização do experimento, foram adquiridos tamarillo em quatro períodos diferentes caracterizando quatro safras distintas. Os frutos foram coletados por um período de dois anos de modo que fosse possível verificar diferença na constituição química e a

capacidade antioxidante dos frutos conforme a variação das safras. Desse maneira foi possível determinar as características físico-químicas, quantificar a capacidade antioxidante e os teores de antocianinas, flavonoides, fenóis totais e carotenoides totais a partir de diferentes frações obtidas dos frutos de tamarileiro em quatro safras diferentes provenientes da região da Chapada Diamantina – Bahia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O tamarillo aspectos gerais

O tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) é conhecido popularmente no Brasil como tomate de árvore, tomate chimango, tomate francês, tomate da serra, tomate japonês, tomate berinjela entre outros. O tamarilleiro é uma árvore frutífera subtropical, de origem Andina, pertencente à família Solanaceae, cujo o grupo inclui o tomateiro, a batateira, os pimenteiros e a berinjela e são largamente utilizados na alimentação humana (ARANZAZU e RONDÓN, 2001).

O fruto apresenta uma forma ovoide, de casca lisa e amarga, podendo ser diferenciada de acordo com a cor, que podem apresentar coloração roxa, vermelha escura, laranja ou amarela, possuindo ainda estrias longitudinais de cor verde escura ou marrom, como mostra a Figura 1. Apresenta cerca de 4-10 cm de comprimento e um diâmetro de 3-5 cm e contém muitas sementes pequenas que provocam um sabor ligeiramente amargo e adstringente, com um aroma característico (MORTON, 1987).

Figura 1 – O fruto tamarillo.



Fonte: Próprio autor.

O tamarillo geralmente é consumido in natura ou utilizado em algumas preparações culinárias, como saladas, molhos, sopas, geleias, sorvetes, sucos e licores (MORTON, 1987). É um fruto exótico, de baixa caloria e um significativo valor nutricional, fornecendo quantidade considerável de nutrientes como vitaminas, minerais e compostos bioativos, a exemplo das antocianinas, carotenoides e compostos fenólicos (OSÓRIO et al. 2012). Os níveis das vitaminas (Piridoxina-B6, ácido ascórbico-C e retinol-E) e minerais (ferro,

magnésio, cobre e potássio) presentes em uma unidade do fruto podem fornecer mais de 5% da DRI (ingestão diária de referência) desses nutrientes (LISTER et al. 2005).

2.2 Fitoquímicos do tamarillo

Fitoquímicos são compostos de natureza química, produzidos pelos vegetais. É um termo utilizado para descrever um grande número de compostos do metabolismo secundário das plantas. Os vegetais produzem uma variedade de compostos orgânicos, estes se dividem em dois grupos: metabólitos primários e secundários (PERES, 2010).

Os metabólitos primários podem ser encontrados em todos os vegetais e possuem função no armazenamento de energia e estrutural. Suas rotas metabólicas são essenciais ao desenvolvimento das espécies, a exemplo dos aminoácidos, nucleotídeos, acil-lipídeos e fitoesteróides. Já os metabólitos secundários compreendem espécies químicas que não participam diretamente nos processos de crescimento e desenvolvimento (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Os metabólitos secundários possuem estruturas químicas distintas e complexas. A maioria desses compostos pertence a diferentes classes como: terpenos, compostos fenólicos e componentes nitrogenados, os quais possuem características estruturais particulares devido a sua via biossintética (DEWICK, 2002; VIZZOTTO, KROLOW e WEBER, 2010).

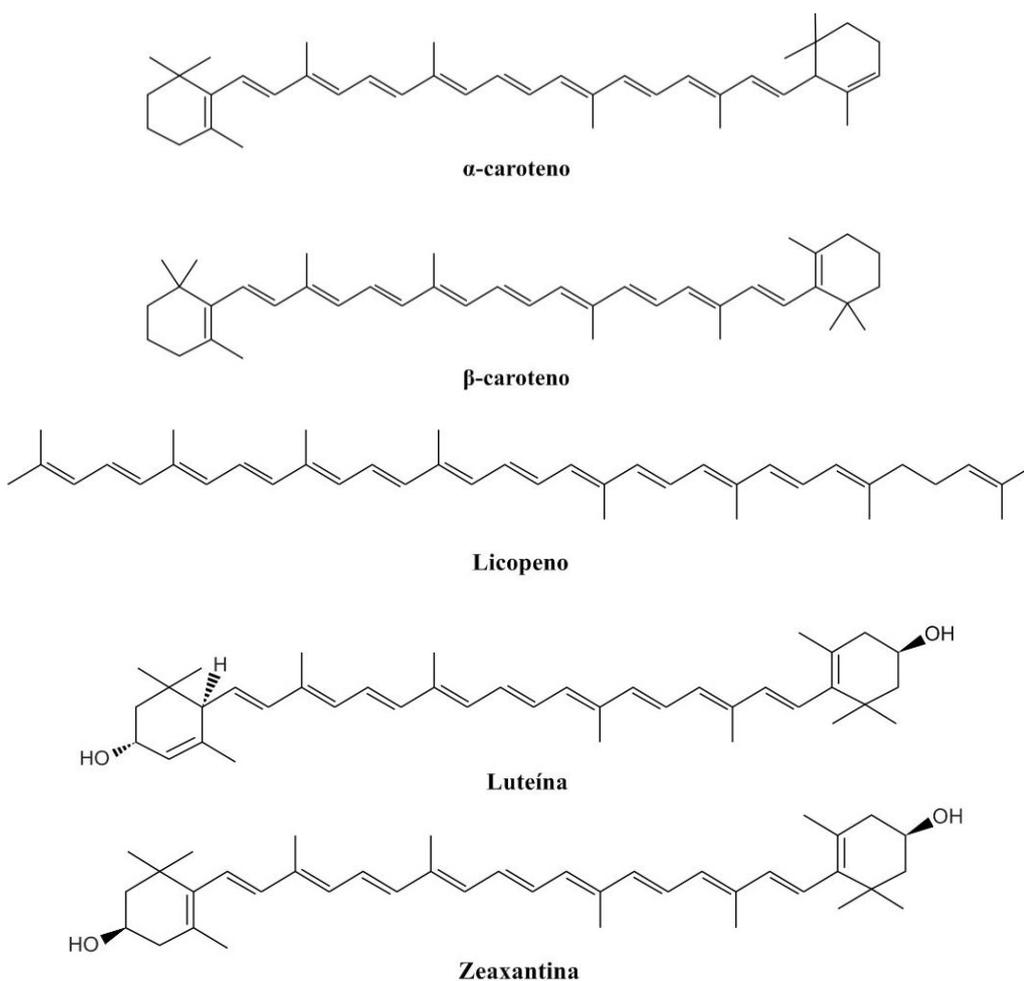
Os metabólitos secundários estão presentes em uma grande variedade de alimentos de origem vegetal inseridos em nossa dieta diária, como frutas, legumes, óleos, vinho, chocolate, café e chá (IOANNONE et al. 2015). O consumo destes alimentos está relacionado com a redução dos riscos de diversas doenças como o câncer (DURAN e MORENO, 2000), depressão (SMITH, 2013), doenças cardíacas (ARRANZ, 2013) e neurológicas (MARTIN, GOYA e RAMOS, 2013).

Nos últimos anos, tem ocorrido um aumento no interesse por pesquisas relacionadas a estes compostos, devido à importância na manutenção da saúde e sua associação na prevenção de algumas doenças crônicas e degenerativas. Diante disso, alguns vegetais fonte de compostos bioativos, como carotenoides e compostos fenólicos, despertam interesse da indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica (GIL-CHÁVEZ et al. 2013; EL-ABHAR e SCHAALAN, 2014; SILVA et al. 2014).

2.2.1 Carotenoides

Os carotenoides são compostos que absorvem luz na região do visível, devido à presença de múltiplas ligações duplas conjugadas, são compostos lipofílicos e coloridos apresentando cores como amarelo, laranja e vermelho. Entre todos os pigmentos naturais, os carotenoides são provavelmente os de maior ocorrência, são geralmente encontrados em frutas e hortaliças, em animais e micro-organismos. Os carotenoides são pigmentos cuja estrutura mais frequente é a do tipo tetraterpenoide C_{40} , formados a partir da união de oito unidades isoprenoides C_5 . (CARDOSO, 1997; FONTANA et al. 2000). Existem diversos tipos de carotenoides, tendo o α -caroteno, β -caroteno, licopeno, luteína e zeaxantina os representantes comumente presentes nos alimentos, como mostrado na Figura 2 (FERNÁNDEZ-GARCÍA et al. 2012).

Figura 2 – Estruturas químicas dos principais carotenoides em alimentos vegetais.



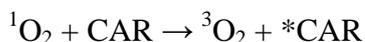
Fonte: Dewick, 2002.

Segundo Barreto (2008), os carotenoides são classificados conforme sua estrutura química como carotenos, quando constituídos por carbono e hidrogênio, ou como xantofilas, quando constituídos por carbono, hidrogênio e oxigênio. Os carotenoides possuem uma cadeia poliênica, definida como um sistema de duplas ligações conjugadas, podendo ser providas ou não de um anel nas extremidades da cadeia e grupos funcionais (carbonila, hidroxila e dentre outros). Estas propriedades influenciam tanto na capacidade de absorver luz no visível, como na capacidade antioxidante do carotenoide.

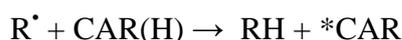
De acordo com Fernández-García et al. (2012) e Gulçin (2012), a cadeia poliênica também confere a estes pigmentos alta reatividade química e é responsável pela capacidade antioxidante dos carotenoides, tanto na absorção de energia do oxigênio singleto, que constitui uma forma altamente reativa do oxigênio molecular, quanto de radicais livres, interrompendo as reações em cadeia onde eles estão envolvidos Figura 3.

Figura 3 – Mecanismos de a ação dos carotenoides.

Na presença do oxigênio singlet



Interação com radicais livres



Formação de um peróxido



Fonte: Uenojo, Marostica e Pastore (2007).

Em baixas concentrações de oxigênio, os carotenoides apresentam efeitos antioxidantes, entretanto podem ter efeitos pró-oxidantes em grandes concentrações de oxigênio. Os carotenoides participam do mecanismo de fotoproteção na qual ocorre a transferência de energia entre o oxigênio singleto (${}^1\text{O}_2$) e o carotenoide para gerar oxigênio tripleto (${}^3\text{O}_2$) (SCHAFER et al. 2002; CARIS-VEYRAT, 2007). As maiores causas de

destruição dos carotenoides durante processamento e armazenamento dos alimentos são oxidações enzimáticas e não enzimáticas. Isso se dá devido à natureza insaturada dos carotenoides (DUTTA, CHAUDHURI, CHAKRABORTY, 2005).

A deficiência de alguns carotenoides pode prejudicar a visão levando xerofatalmia. O β -caroteno que tem atividade de pro-vitamina A, é simétrico e corresponde estruturalmente a duas moléculas de retinol, apresentando maior atividade pró-vitáminica A em relação a outros carotenoides. Contudo, estudos sobre os carotenoides têm frequentemente relatado o seu poder antioxidante, o qual combate os radicais livres, reduzindo o estresse oxidativo (FERNÁNDEZ-GARCÍA et al. 2012). A dieta rica em carotenoides correlaciona-se positivamente com uma redução significativa no risco de alguns tipos de câncer, doenças cardíacas e degenerativas (GIL-CHÁVEZ et al. 2013; SHASHIREKHA, MALLIKARJUNA e RAJARATHNAM, 2015). Os carotenoides podem ser quantificados e identificados nos alimentos através de várias técnicas instrumentais, dentre as quais a espectrofotometria na região visível do espectro, a espectrometria de massas, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (VERONEZI, JORGE, 2011). Acosta-Quezada, et al. 2015, encontraram o teor de carotenoides variando entre 2,60 mg.100 g⁻¹ e 11,20 mg.100 g⁻¹, eles estudaram a diversidade química em variedades de tamarillo. Mertz et al. 2010 encontraram valores entre 61% e 85% para β -caroteno, eles avaliaram a estabilidade dos carotenoides em diferentes temperaturas.

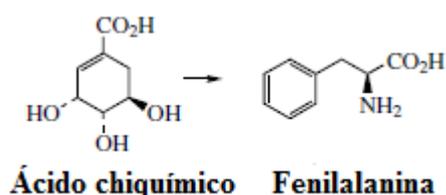
2.2.2 Constituintes fenólicos

Os constituintes fenólicos são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Estão amplamente distribuídos no reino vegetal, englobando desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização (SOARES et al. 2008). Estas substâncias estão relacionadas, com mecanismos de proteção de vegetais, conferindo resistência a microrganismos e pragas (LESSCHAEVE e NOBLE, 2005).

De acordo com Everette et al. (2010), os compostos fenólicos são os principais antioxidantes em vegetais. Em sua estrutura química existe, no mínimo, um anel aromático, que está unido a uma ou mais hidroxilas e, dependendo do número e da posição dessas hidroxilas na cadeia, esses compostos apresentam distintas propriedades de se complexar com os radicais livres (KARAKAYA, 2004).

Mais de 8000 compostos fenólicos estão distribuídos na natureza, fazendo parte dos constituintes de diversos vegetais. Estes compostos surgem a partir de um interposto comum, a fenilalanina, ou um precursor, o ácido chiquímico, Figura 4. Dentre eles, destacam-se os flavonoides, ácidos fenólicos, cumarinas e taninos Figura 5. Essas fitomoléculas ocorrem principalmente na forma conjugada com um ou mais resíduos de açúcar ligado à hidroxila fenólica. A associação com outros compostos, como os ácidos orgânicos carboxílicos, aminas, lipídios e a articulação com outro fenol também é comum (KONDRATYUK e PEZZUTO, 2004).

Figura 4 – Estruturas dos precursores dos polifenóis.

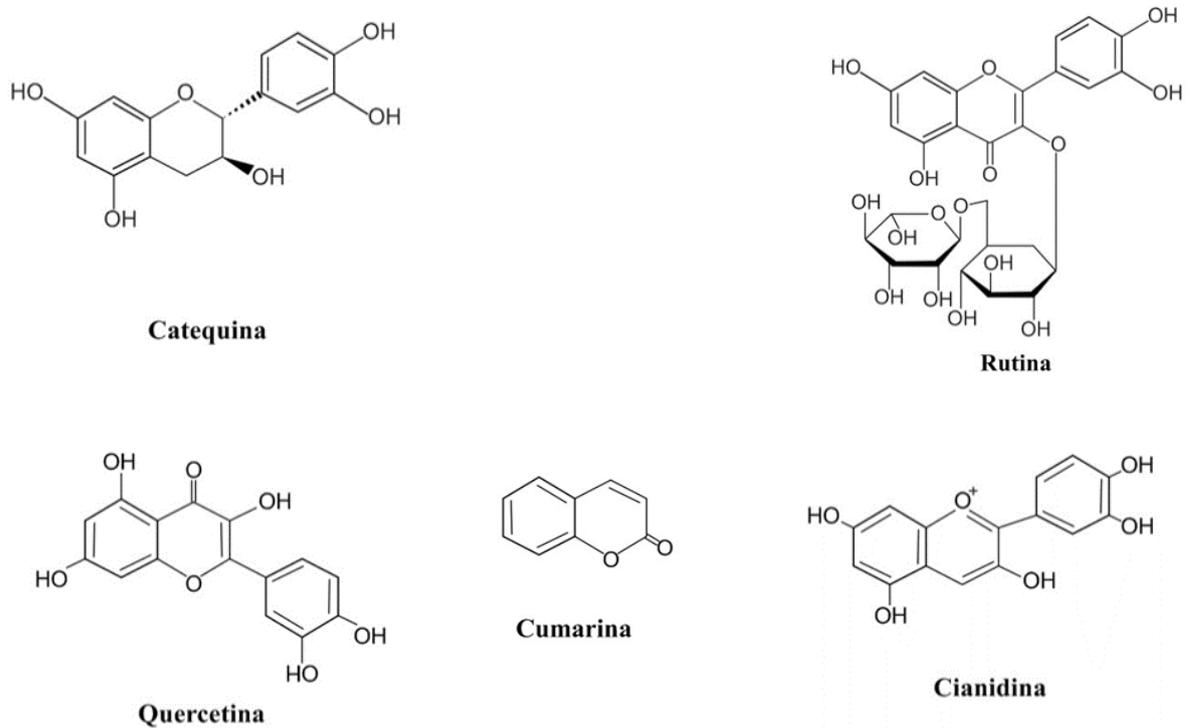


Fonte: Dewick, 2002.

Os compostos fenólicos são moléculas que apresentam expressiva capacidade antioxidante e fazem parte da composição de diversos alimentos (DI MASCIO, KAISER e SIES, 1989). Estudos epidemiológicos indicam que o consumo regular de dietas ricas em polifenóis naturais pode prevenir o desenvolvimento de câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, osteoporose e doenças neurodegenerativas (GRAF, MILBURY, BLUMBERG, 2005; ARTS, HOLLMAN, 2005).

Os polifenóis são substâncias antioxidantes que inibem a oxidação lipídica e as espécies reativas de oxigênio (EROS), além de proteger contra a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL), impedindo assim a formação de placas ateroscleróticas. Podem ser pigmentos, como os flavonoides antocianinas, responsáveis por várias cores em vegetais, ou outros produtos do metabolismo secundário (RODRIGO, MIRANDA e VERGARA, 2011). Esses compostos são antioxidantes não somente por sua capacidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também, devido aos seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de alguns constituintes do alimento, particularmente de lipídios (SHASHIREKHA, MALLIKARJUNA e RAJARATHNAM, 2015; KAN et al. 2014).

Figura 5 – Estruturas químicas de alguns compostos fenólicos.



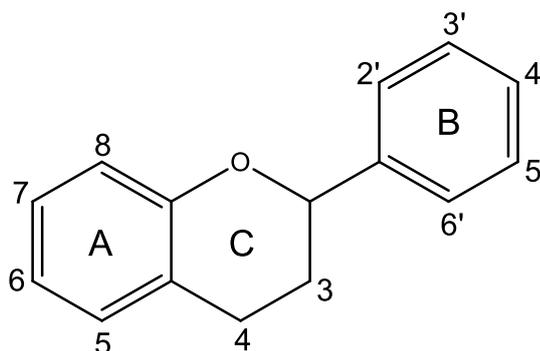
Fonte: Dewick, 2002.

2.2.2.1 Flavonoides

Os flavonoides são compostos fenólicos classificados de acordo com o nível de oxidações em sua estrutura química. São reconhecidos por suas propriedades antioxidantes, podendo ser encontrados em diversos alimentos de origem vegetal (EFRAIM, ALVES e JARDIM, 2011). Consistem de estrutura fenilbenzopirona (C6–C3–C6), composta por dois anéis aromáticos (anéis A e B) ligados por três carbonos e um átomo de oxigênio formando um anel heterocíclico oxigenado (anel C), como mostrado na Figura 6. Os flavonoides são compostos sintetizados por via biossintética mista, sendo o anel B e os três carbonos do anel C gerados a partir da via chiquimato, enquanto que a partir da via acetato se origina o anel A (ZUANAZZI e MONTANHA, 2007).

A estrutura química dos flavonoides permite propriedades como redutores, doadores de hidrogênio, extinção do oxigênio singlet, varredor de radical superóxido e até mesmo como agente quelante de metais. Também são capazes de modular a atividade de enzimas e afetar o comportamento de muitos sistemas celulares (PANDEY e RIZVI, 2009; PROCHÁZKOVÁ, BOUŠOVÁ e WILHELMOVÁ, 2011).

Figura 6 – Estrutura básica dos flavonoides.



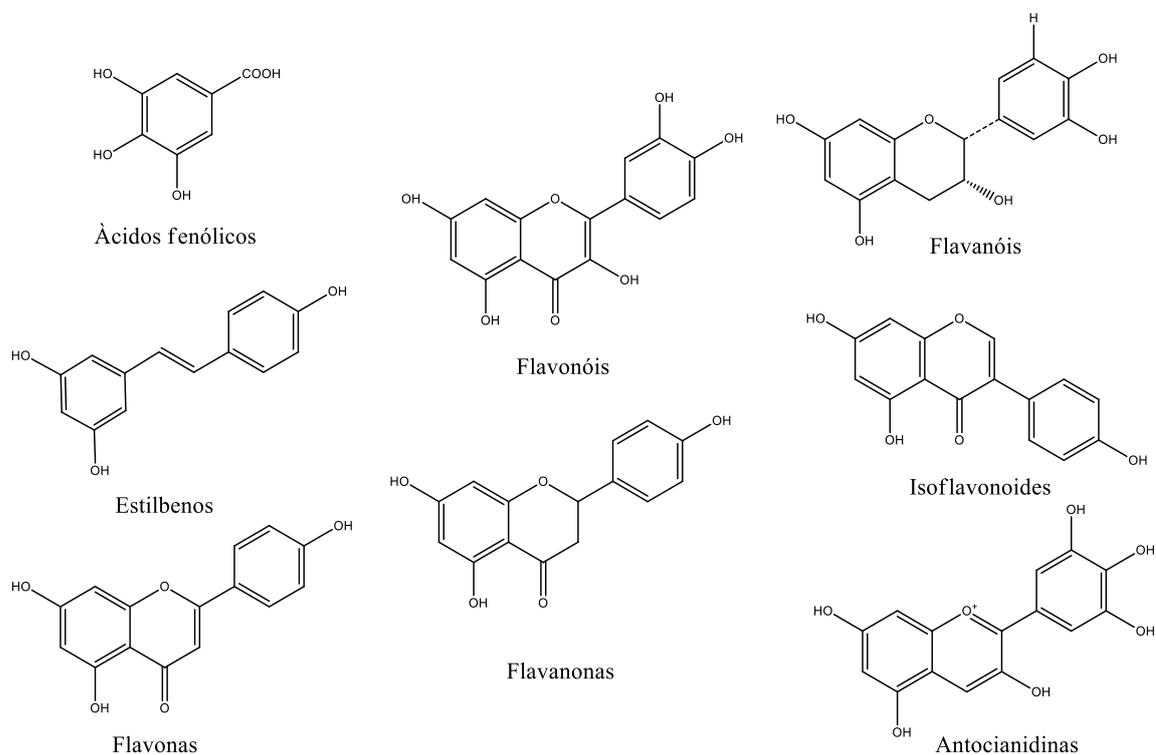
Fonte: Valls et al. 2009.

Os flavonoides compõem uma classe constituída por uma diversidade de moléculas químicas, que são classificadas de acordo o grau de oxidação e do padrão de substituição no anel heterocíclico (anel C). Entretanto, os compostos dentro de uma mesma classe de flavonoides são classificadas de acordo com o padrão de substituição nos anéis A e B (STALIKAS, 2007). Dentre as diversas modificações na estrutura química dos flavonoides podemos citar as hidroxilações, metilações, glicosilações, acilações, polimerizações e a estereoquímica dos carbonos do anel heterocíclico (SANTOS-BUELGA e SCALBERT, 2000).

Conforme as modificações nos anéis, os flavonoides são classificadas em importantes grupos que incluem as flavanas, flavanonas, flavonas, isoflavonas, flavonóis e antocianidinas Figura 7, sendo que, as estruturas químicas são determinadas de acordo com o número e posição de hidroxilas e metoxilas (COOK e SAMMAN, 1996; MURTHY et al. 2012). Naturalmente, as antocianidinas estão ligadas a moléculas de açúcares, se constituindo uma antocianina (ALBARICI, PESSOA e FORIM, 2006).

Vários fatores interferem na formação dos flavonoides nos vegetais, como por exemplo, a incidência de luz, o fator genético dos vegetais, condições climáticas, germinação, estágio de maturação, pós-colheita, processamento e armazenamento, bem como, a variação das espécies (BRAVO, 1998).

Figura 7 – Estruturas dos diferentes grupos de flavonoides.



Fonte: Adaptado de Valls et al. 2009.

Algumas pesquisas demonstraram que os flavonoides tem influência na redução de doenças cardíacas, entretanto, esta ação, pode variar em função do teor ingerido na dieta (LESLIE et al. 1989; SAMMAN et al. 1998; KIM et al. 2013; VAN DAM, NAIDOO e LANDBERG, 2013). A biodisponibilidade é um dos principais fatores em relação aos efeitos benéficos à saúde, como a absorção, distribuição, metabolismo e eliminação dos compostos (MARTIN, GOYA e RAMOS, 2013).

2.2.2.1.1 Antocianinas

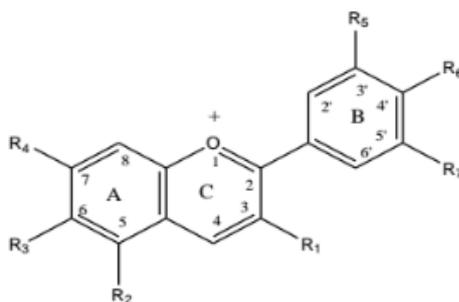
As antocianinas pertencem ao grupo dos flavonoides que possuem absorvância específica no espectro do visível. A estrutura das antocianinas possuem características que configuram a estrutura fundamental dos flavonoides, o cátion flavílico ou 2-fenilbenzopirilium, como mostra a Figura 8 (STRINGHETA e BOBBIO, 2000). As antocianinas são comumente encontradas na dieta humana, estão presentes em alimentos como frutas, hortaliças, flores, caules e raízes de planta, apresentam capacidade antioxidante devido a presença de hidroxilas, bem como a presença de cargas positivas favorecendo a

doação de hidrogênios que se combinam aos radicais livres neutralizando-os (TAPIERO et al. 2002; MARTÍNEZ-FLÓREZ et al. 2002; BARREIROS, DAVID e DAVID, 2006).

Apresentam-se, normalmente, associadas a açúcares, ligados geralmente na posição 3, o que favorece a estabilização da molécula. Os açúcares são facilmente hidrolisáveis pelo aquecimento em meio ácido, e este processo tem como produtos componentes glicídicos e as agliconas, que são denominadas de antocianidinas (KONCZAK e ZHANG, 2004; CASTAÑEDA-OVANDO et al. 2009).

De acordo com o grau de glicosilações, hidroxilações e metilações em diferentes posições dos anéis da estrutura molecular da antocianidinas, as antocianinas podem ser identificadas em 25 tipos distintos. No entanto, somente seis destas antocianinas são comumente encontradas em alimentos, as quais são: cianidina, peonidina, pelargonidina, malvinidina, delphinidina e petunidina (HE e GIUSTI, 2010).

Figura 8 – Estrutura da antocianina.



Fonte: Terci e Rossi, 2002.

No tamarillo as principais antocianinas presentes são, pelargonidina-3-O-rutinosídeo, cianidina-3-rutinosídeo e delphinidina-3-O-rutinosídeo, que são responsáveis pela coloração vermelho alaranjado, vermelho violáceo e azul violáceo, respectivamente (WROLSTAD e HEATHERBELL, 1974; TAIZ e ZEIGER, 2009; ESPIN et al. 2016).

As antocianinas são capazes de absorver luz ultravioleta no espectro do visível, garantindo um amplo espectro de cores variando do vermelho alaranjado ao azul em diversos tecidos vegetais (JACKMAN, YADA e TUNG, 1987; TANWAR e MODGIL, 2012). Devido ao seu amplo espectro de cores, bem como, as propriedades funcionais, a indústria tem voltado o interesse para pigmentos naturais. De acordo com Costa et al. (2013), a indústria de alimentos tem um grande interesse na diversidade frutífera dos países tropicais, devido a presença de constituintes com potencial bioativo.

Entretanto o uso deste pigmento como aditivo alimentício ainda está restrito, devido às limitações como a disponibilidade de matéria-prima produtora de pigmentos, poder corante reduzido quando comparado aos aditivos sintéticos e, principalmente, a baixa estabilidade apresentada pelas antocianinas (STRINGHETA, 1991; REIS et al. 2016).

Várias pesquisas têm focado nos benefícios à saúde por meio do consumo de frutas vermelhas, afirmando-os como fontes naturais de compostos bioativos, tais como flavonoides e antocianinas, que apresentaram capacidade antioxidantes e características anti-inflamatórias promissoras (KANG et al. 2011; COSTA et al. 2013).

Alguns antioxidantes naturais são encontrados em frutas de coloração vermelha e roxa, que evidenciam a presença de antocianinas (FALCO et al. 2016). Segundo Ali-Hassan e Abu-Bakar (2013), a polpa do tamarillo demonstra capacidade antioxidante, devido à presença de pigmentos como as antocianinas e os carotenoides, que além de poderosos antioxidantes são responsáveis pela cor dos vegetais.

Silva et al. (2005) e Noratto et al. (2011), mencionaram que é notável a presença de antocianinas nos frutos de tamarillo, devido à coloração característica na polpa do fruto. Osorio et al. (2012), afirmaram que os principais constituintes antocianicos da polpa do tamarillo são a delfinidina, a cianidina e a pelargonidina, representando 97,8% do total.

O consumo de alimentos que contenham antocianinas podem gerar benefícios à saúde como: ação antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena, prevenção de doenças coronárias e prevenção a doenças degenerativas, essas características se devem a estrutura química com presença de hidroxilas e metoxilas (WANG, CAO e PRIOR, 1997; KUSKOSKI et al. 2004).

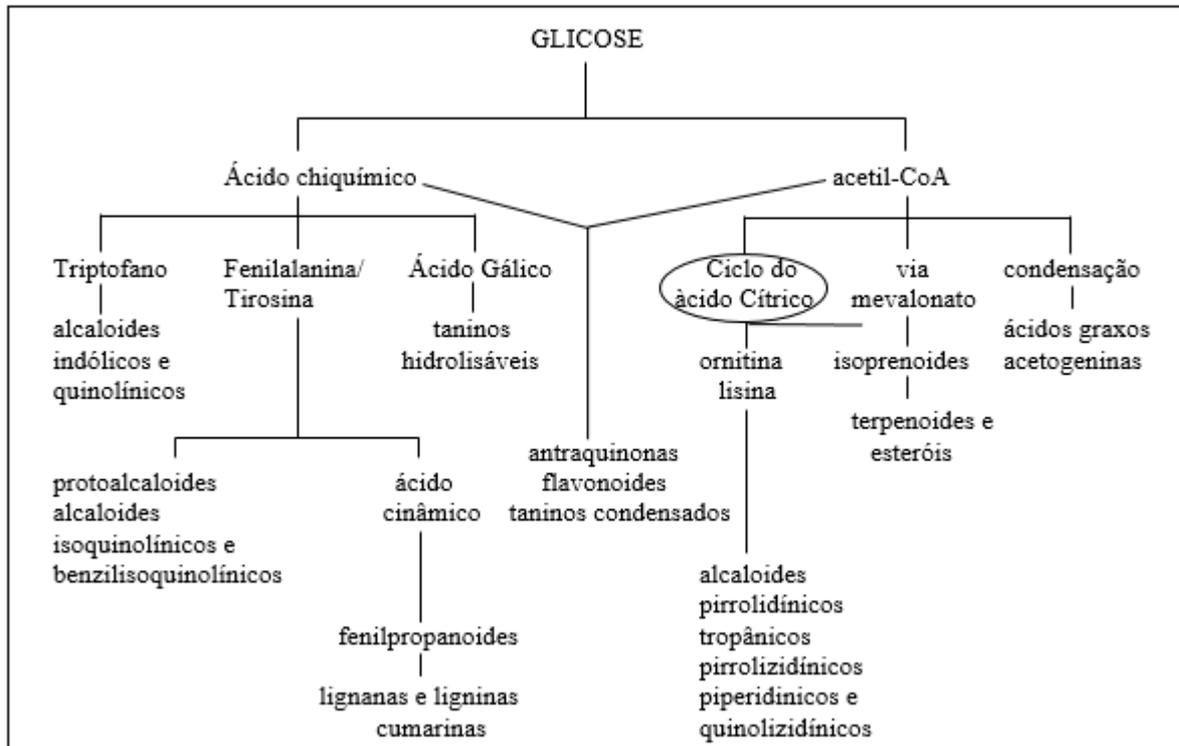
2.3 Rotas biossintéticas

Os metabólitos secundários são produzidos nos vegetais a partir dos metabólitos primários por diversas razões, por exemplo, aumentar a defesa contra materiais tóxicos e contra predadores, como atrativos voláteis para as mesmas ou outras espécies, ou como pigmento agindo para atrair ou alertar outras espécies, mas todos esses motivos desempenham um papel vital para o bem-estar do produtor. Nesse sentido, o metabolismo secundário fornece a maior parte dos compostos bioativos (CRAIK et al. 2002).

As rotas biossintéticas dos metabólitos secundários são provenientes do metabolismo primário, como indicado na Figura 9. Este esquema descreve como metabólitos dos processos fundamentais da fotossíntese, glicólise e o ciclo de Krebs transformados a partir de processos

de geração de energia para fornecer intermediários biossintéticos. Os compostos mais importantes gerados na biossíntese do metabolismo secundário são originários dos intermediários acetil-coenzima A (acetil-CoA), o ácido chiquímico, ácido mevalônico, e 1-Desoxi-D-xilulose 5-fosfato (GARCÍA e CARRI, 2011).

Figura 9 - Vias biossintéticas do metabolismo secundário.



Fonte: García e Carri, 2011.

O acetil-CoA é formado pela descarboxilação oxidativa do ácido pirúvico pela via glicolítica. Também é produzido pela β -oxidação de ácidos graxos, revertendo o processo pelos quais os ácidos graxos são sintetizados a partir do acetil-CoA. Metabólitos secundários importantes são formados a partir desta via, incluem os terpenos, fenóis, prostaglandinas, e antibióticos, juntamente com vários ácidos graxos e seus derivados (TAIZ e ZEIGER, 2009).

O ácido chiquímico é produzido a partir de uma combinação de fosfoenolpiruvato, na via glicolítica intermediária, e eritrose 4-fosfato a partir da pentose fosfatada. As reações do ciclo da pentose fosfatada podem ser utilizadas para a degradação de glicose, entretanto, também fazem parte da síntese de açúcares por fotossíntese. A via chiquimato conduz a uma diversidade de fenóis, cinâmico derivados de ácido, lignanos, e alcaloides (DEWICK, 2002).

2.4 Radicais livres e estresse oxidativo

Os radicais livres são reconhecidos como mediadores para a transferência de elétrons em diversas reações bioquímicas, fazendo parte do processo fisiológico humano. Portanto, o radical livre é qualquer átomo ou molécula extremamente reativo, que não apresenta estabilidade na sua última camada eletrônica, com um elétron desemparelhado conferindo a este a alta reatividade. Entretanto, o excesso na produção desses radicais, podem desencadear danos oxidativos e, como resposta, o corpo produz mecanismos de defesa antioxidante (CADENAS e DAVIES, 2000; YIN, XU e PORTER, 2011).

Por meio da cadeia transportadora de elétrons, a mitocôndria, é a principal fonte geradora de radicais livres. No sistema biológico os radicais livres são derivados de moléculas de oxigênio, nitrogênio e enxofre (GREEN, BRAND e MURPHY, 2004).

Na mitocôndria, o O_2 sofre redução tetravalente, com aceitação de quatro elétrons, resultando na formação de água Figura 10. A enzima catalisadora dessa reação é a citocromo oxidase. Na parte terminal da cadeia transportadora de elétrons, a referida enzima oxida quatro moléculas de citocromo c removendo um elétron de cada uma delas. Esses elétrons são adicionados ao O_2 para formar H_2O . A ação da citocromo oxidase controla a geração de radicais livres, impedindo sua geração excessiva na mitocôndria. No entanto, cerca de 2% a 5% do oxigênio metabolizado nas mitocôndrias são desviados para outra via metabólica, e reduzidos de forma univalente, dando origem aos radicais livres (FERREIRA, MATSUBARA, 1997; KOURY e DONANGELO, 2003; SCHNEIDER, OLIVEIRA, 2004).

Essas moléculas originarão intermediários reativos, partes ou grupos de moléculas denominadas espécies reativas de oxigênio (ROS – reactive oxygen species), espécies reativas de nitrogênio (RNS – reactive nitrogen species) e espécies reativas de enxofre (RSS – reactive sulphur species). As ROS incluem os radicais livres como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o radical hidroperóxil (HO_2^{\cdot}), o radical hidroxil (OH^{\cdot}), o óxido nítrico e outras espécies reativas como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio singlet (1O_2), ácido hipocloroso (HOCl) e o peróxido nitrito ($ONOO^-$). Espécies reativas de nitrogênio são derivadas do óxido nítrico através da reação do ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) para formar peróxido nitrito ($ONOO^-$). As RSS são formadas a partir de tiols em reação com ROS (LÜ et al. 2010).

Figura 10 – Formação mitocondrial de radicais livres via cadeia transportadora de elétrons.

- 1) $O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2H_2O + \text{energia}$
- 2) $O_2 + e^- \rightarrow O_2^\bullet$
- 3) $2O_2^\bullet + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$
- 4) $Fe^{2+}/Cu^+ + H_2O_2 \rightarrow OH^\bullet + OH^- + Fe^{2+}/Cu^{2+}$
- 5) $H_2O_2 + O_2 \rightarrow OH^\bullet + OH^- + O_2$
- 6) $O_2^\bullet + NO^\bullet \rightarrow ONOO^-$

Fonte: Barbosa, 2010.

Em regras gerais, a redução completa do O_2 acontece nas estruturas celulares mitocondriais e a reatividade das ROS será neutralizada com a inserção dos quatro elétrons (COHEN, 1989).

O estresse oxidativo, é resultante da ação de radicais livres das chamadas espécies reativas, ou seja, ocorre o desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, isso se deve à produção exagerada de radicais ou à velocidade reduzida de sua remoção. A oxidação de biomoléculas causa perda de suas funções biológicas e danos potenciais em células e tecidos (BRAY, BAILEY-SERRES e WERETILNYK, 2000). Esse tipo de estresse afeta os seres aeróbios, sendo estimulado por vários fatores, como ações antrópicas (poluição do ar, uso de herbicidas), fatores ambientais extremos (metais pesados, radiação ultravioleta, condições de alta luminosidade), senescência (nos vegetais), apoptose (nos animais), respostas a organismos patogênicos, além de outros estresses predecessores (estresse hídrico, estresse pelo calor, estresse salino, dentre outros.) (SCOTTI et al. 2007).

Algumas biomoléculas como os lipídios, são alvos principais do ataque por radicais livres de oxigênio. O processo recorrente de oxidação lipídica pode provocar um aumento do risco no desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (YIN; XU e PORTER, 2011; GIL-CHÁVEZ et al. 2013).

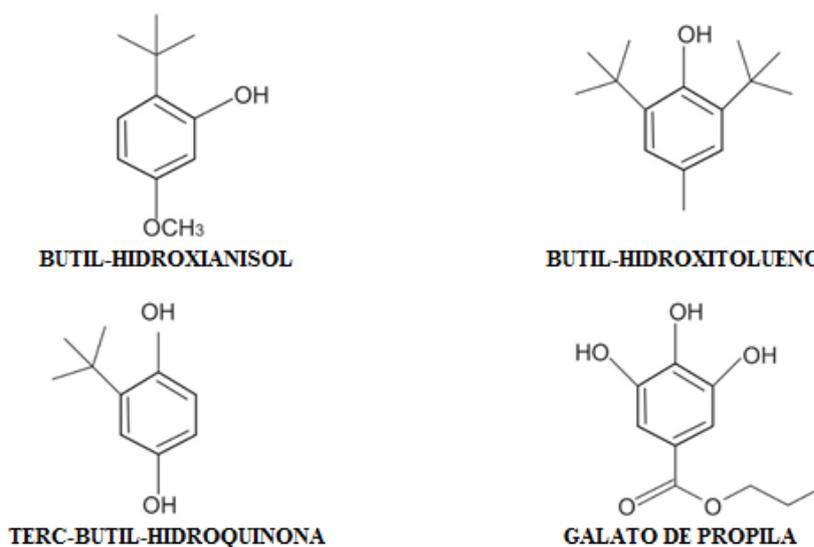
Visando combater essas moléculas oxidativas, ocorre a produção de antioxidante, substâncias que retardam ou inibem a oxidação de maneira eficaz, mesmo estando em menores concentrações que as do substrato oxidável, para inibir ou reduzir os danos gerados devido à ação dos radicais livres. Os agentes antioxidantes podem agir de maneira preventiva, ou seja, impedindo a formação dos radicais livres; por varredura, impedindo sua ação; ou por reparo, reconstituindo as estruturas que já sofreram lesões (RODRIGO, MIRANDA e VERGARA, 2011).

2.5 Antioxidantes

O termo antioxidante é utilizado de forma multiconceitual, porém de maneira geral pode ser definido como uma família heterogênea de moléculas naturais ou sintéticas, que quando presentes em baixas concentrações em relação às biomoléculas que supostamente protegeriam, podem prevenir ou reduzir a extensão do dano oxidativo (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007).

O complexo de defesa antioxidante é dividido em enzimático e não enzimático. Os principais antioxidantes enzimáticos são os superóxido dismutases (SODs), a catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GSH-Px). O não enzimático pode ter origem endógena ou exógena e é constituído por uma infinidade de substâncias antioxidantes naturais, tais como as vitaminas C e E, terpenoides, fenóis, ácido úrico e antioxidantes sintéticos, como o butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e o galato de propila (PG), largamente utilizados pela indústria de alimentos Figura 11 (RODRIGO; MIRANDA e VERGARA, 2011; BIRBEN et al. 2012).

Figura 11 – Estruturas de compostos fenólicos sintéticos.

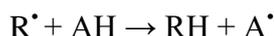
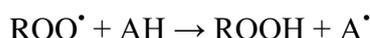


Fonte: Ramalho e Jorge, 2006.

Os antioxidantes sintéticos são substâncias com núcleo fenólico, com várias substituições no anel e atuam diretamente sobre os radicais livres. Por serem melhores doadores de hidrogênio que as moléculas lipídicas insaturadas, os antioxidantes primários doam átomos de hidrogênio aos radicais livres tornando-os indisponíveis para a propagação da reação em cadeia Figura 12. Desse modo, os derivados fenólicos transformam-se em

radicais livres que possuem baixa reatividade graças à estabilização que a ressonância do anel aromático proporciona, não propagando ou promovendo as reações de oxidação (RAMALHO e JORGE, 2006; AKOH e MIN, 2008).

Figura 12 – Mecanismo de ação de antioxidantes primários.



Fonte: Antioxidantes, 2009.

Onde: ROO^\bullet e R^\bullet são radicais livres; AH antioxidantes com 1 átomo de Hidrogênio; A^\bullet Radical inerente.

Devido aos efeitos danosos dos antioxidantes sintéticos, muitos países limitaram o seu uso. No Brasil, a concentração máxima permitida é 0,01 a 0,02g.100g⁻¹ do uso para o BHA, BHT, TBHQ e PG, variando de acordo com o tipo de produto em que será utilizado (BRASIL, 2007).

Pelo fato dos efeitos colaterais no uso de antioxidantes sintéticos apresentados em muitos estudos, a partir da década de 1980, pesquisas foram desenvolvidas em busca da obtenção de antioxidante de fontes naturais, que fossem eficientes ao combater a deterioração oxidativa dos alimentos e dessa forma limitar o uso dos antioxidantes sintéticos (DURAN e PADILLA, 1993).

Devido ao modo de ação dos antioxidantes e sua relação com a proteção no corpo humano contra os danos causados pelo estresse oxidativo, é crescente o interesse em fontes naturais destes compostos (GULÇIN, 2012). Os antioxidantes nos organismos vivos agem por mecanismos distintos, podendo ser pela captura de radicais livres, pelo método da complexação de íons metálicos, pela inibição de enzimas que poderão gerar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e pela decomposição de peróxidos (VASCONCELOS, SILVA e GOULART, 2006).

Diversos estudos relatam a influência das propriedades funcionais dos compostos antioxidantes naturais na prevenção e tratamento de uma série de enfermidades a partir de uma dieta rica em alimentos fontes de compostos antioxidantes. Dentre os benefícios relacionados com o consumo regular destes alimentos podem ser citados a redução do índice de doenças cardiovasculares (COVAS, 2007), doenças crônico degenerativas (PIMENTEL,

MAGNONI e COSTA, 2007), índice glicêmico (MACIEL et al. 2013) e a aterosclerose (BONDIA-PONS et al. 2007).

2.6 Proteção antioxidante endógeno e exógeno

Os seres humanos tem seu sistema antioxidante dividido em dois mecanismos: antioxidantes enzimáticos e antioxidantes não enzimáticos. Os antioxidantes enzimáticos são subdivididos em defesas primárias e secundárias. As defesas primárias são compostas por três importantes enzimas que evitam a formação dos radicais livres ou inibem a sua ação, são elas: glutathione peroxidase, que fornece dois elétrons para reduzir a peroxidase, formando selenóis e eliminando as peroxidases como potencial substrato para a reação de Fenton. A enzima catalase, que converte peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e uma molécula de oxigênio; e a superóxido dismutase que converte ânions superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em peróxido de hidrogênio, como substrato para a catalase (RAHMAN, 2007).

A segunda defesa antioxidante inclui a glutathione reductase e glicose-6-fosfato desidrogenase. A glutathione reductase reduz a glutathione da sua forma oxidada para a forma reduzida, portanto, reciclando e continuando a neutralizar mais radicais livres. A glicose-6-fosfato regenera a NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatase), criando um ambiente reduzido (GAMBLE e BURKE, 1984; RAHMAN, KODE e BISWAS, 2006). Essas duas enzimas não neutralizam os radicais livres diretamente, mas tem papel importante em outros antioxidantes endógenos.

Considerando os antioxidantes não enzimáticos, podemos citar as vitaminas, cofatores enzimáticos, compostos de nitrogênio e peptídeos. A vitamina A ou retinol apresenta capacidade antioxidante através da combinação com o radical peroxil, antes de iniciar a peroxidação lipídica (PALACE et al. 1999).

Apesar da alta eficiência do sistema antioxidante endógeno, o organismo humano necessita de diversos outros tipos de antioxidantes exógenos, como: vitamina C, vitamina E, ácidos fenólicos, carotenoides, flavonoides, dentre outros que devem estar presente na dieta para manter os radicais livres em baixas concentrações, pois cada agente antioxidante tem um mecanismo de ação diferente (PIETTA, 2000).

Os constituintes ácido L-ascórbico e ácido L-dehidroascórbico, apresentam capacidade antioxidante, estes são absorvidos pelo trato gastrointestinal e agem fazendo a varredura do

ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxil ($\bullet OH$), oxigênio singlet (1O_2) e óxido de nitrogênio reativo (BARROS et al. 2011).

O tocoferol e o tocotrienol, (vitamina E) agem doando o hidrogênio fenólico para o radical peroxil, dessa forma interrompe a peroxidação lipídica, (LOOH), formando o radical tocoferoxil, que apesar de ser um radical, não é reativo (BURTON e TRABER, 1990).

Ácidos fenólicos apresentam capacidade antioxidante como agentes quelantes de metais e removedor de radicais livres com especial impacto nos radicais hidroxil ($\bullet OH$), peroxil (LOOH), ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e peróxido nitrito ($ONOO^{\cdot}$) (KRIMMEL et al. 2010).

O principal modo de ação antioxidante dos carotenoides é a neutralização do oxigênio singlet. Os únicos radicais livres que podem oxidar os carotenoides são os radicais peroxil. Os carotenoides apresentam baixa reatividade, mas também podem decompor-se e formar compostos não radicais, determinando o ataque aos radicais livres e unindo-se a esses radicais (PAIVA e RUSSELL, 1999).

Os flavonoides agem como doadores de hidrogênio, agentes redutores, extinção do oxigênio singlet, varredor de radical superóxido e agente quelante de metais. Podem também atuar na ativação de enzimas antioxidantes, que reduzem os radicais, inibem as oxidases, atenuam o estresse de nitrosaminas e aumentam os níveis de ácido úrico e moléculas de baixo peso molecular (RICE-EVANS, MILLER e PAGANGA, 1996; PROCHÁZKOVÁ, BOUŠOVÁ e WILHELMOVÁ, 2011).

2.7 Quantificação de carotenoides

Os carotenoides obedecem a lei de Beer-Lambert, sua absorvância é diretamente proporcional a concentração. Dessa maneira, os carotenoides podem ser quantificados espectrofotometricamente. Esta quantificação depende da disponibilidade de coeficientes de absorção. O procedimento normalmente envolve a pesagem de uma pequena porção de carotenoide, 1 a 2 mg (BRITTON, 1995).

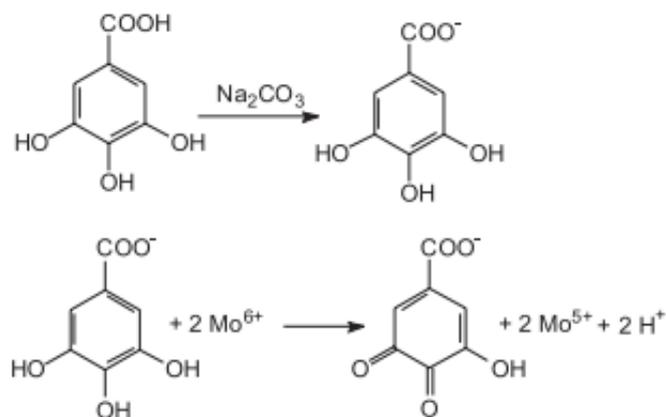
O método de quantificação consiste na leitura direta em espectrofotômetro no comprimento de onda de 450 nm, ou seja, a amostra previamente preparada é solubilizada, normalmente utiliza-se éter de petróleo, retirada uma alíquota e feita a leitura. O resultado é expressado em $\mu g g^{-1}$ de β -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

2.8 Quantificação de fenólicos totais

O método de Folin-Ciocalteu mede a quantificação de fenóis em uma amostra, portanto é também conhecido como ensaio de fenóis totais. Foi desenvolvido, delineado e padronizado inicialmente por Singleton e colaboradores no ano de 1965 e 1999 para a quantificação de fenóis totais (SINGLETON, ORTHOFER e LAMUELA-RAVENTOS, 1999).

O método consiste na mistura de ácidos fosfotungstúico e fosfomolibdídico (coloração amarelada) em um meio básico. Os fenóis contidos nas amostras são energeticamente oxidados em meio básico, resultando na formação do O_2^- , o qual reage com o complexo tungstênio-molibdênio, alterando seu estado de oxidação causando mudança de cor, que pode ser monitorada na região visível no espectro Figura 13 (HAMINIUK et al. 2012).

Figura 13 – Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.

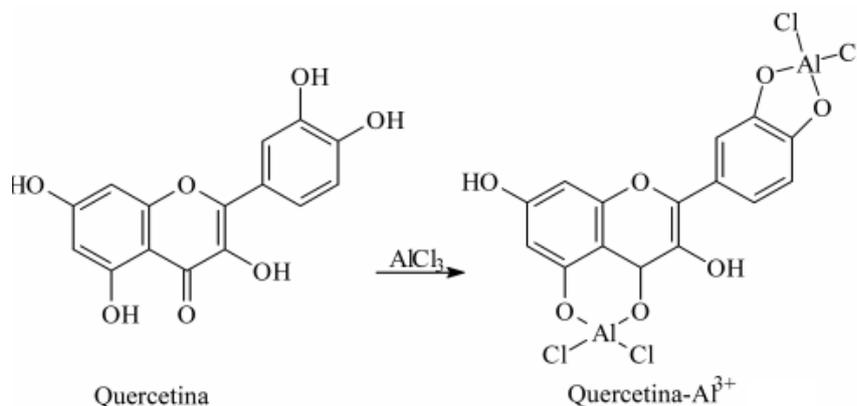


Fonte: Oliveira et al. 2009.

2.9 Quantificação de flavonoides

É um método colorimétrico que mede o teor de flavonoides em uma amostra, ou seja, o ensaio consiste na complexação do cloreto de alumínio $AlCl_3$ com as moléculas de flavonoides que gera uma alteração na coloração da mistura que pode ser observada por meio de espectrofotômetro, conforme Figura 14 (ZHISHEN, MENGCHENG e JIANMING, 1999).

Figura 14 – Complexação da quercetina com o cloreto de Alumínio.



Fonte: Mabry, Markham e Thomas, 2012.

2.10 Quantificação de antocianinas totais método pH único

O método consiste na leitura da absorbância em espectrofotômetro no comprimento de onda 535 nm, em pH único 2,0. Sendo utilizado o coeficiente de extinção molar (E) da antocianina majoritária para o cálculo das antocianinas totais. É um método bastante empregado devido a sua simplicidade e reprodutibilidade, por empregar leitura da absorbância em um único comprimento de onda, o de máxima absorbância para as antocianinas, não havendo diferença na eficiência da quantificação quando comparado a outros métodos, como o método do pH diferencial (FULEKI e FRANCIS, 1968; TEIXEIRA, STRINGHETA e OLIVEIRA, 2008).

2.11 Ensaios de avaliação da capacidade antioxidante

Os radicais de oxigênio (radicais hidroxila e peroxila) e o ânion superóxido têm um papel importante nas reações fisiológicas do corpo humano. No entanto, se houver produção excessiva de radicais de oxigênio durante os processos patofisiológicos ou devido a fatores ambientais adversos e não existirem antioxidantes disponíveis in vivo, podem ocorrer doenças e danos profundos em tecidos (HUANG, OU e PRIOR, 2005).

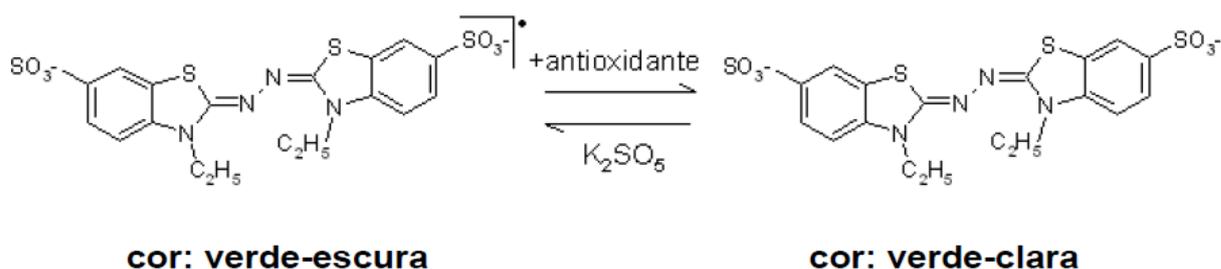
Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar o potencial de inativação dos radicais livres analisando a capacidade antioxidante in vitro, de forma a permitir uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessantes. É necessária a utilização de mais de uma técnica de determinação para medir a ação do antioxidante no combate a

diferentes radicais, dessa maneira é possível ter uma maior ideia do poder antioxidante da substancia testada (DUARTE-ALMEIDA et al. 2006).

2.11.1 Método de ensaio do radical $ABTS^{\bullet+}$ (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolona-6-ácido sulfônico))

No método do $ABTS^{\bullet+}$, o radical verde azulado é formado por meio da oxidação do $ABTS^{\bullet+}$ pelo ânion persulfato formando $ABTS^{\bullet+}$. A inclusão de um agente antioxidante ao meio faz com que o radical retorne a $ABTS^{\bullet+}$, promovendo a descoloração da solução. Essa redução na coloração verde azulada é usada para medir e quantificar a capacidade oxidante de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica Figura 15 (KUSKOSKI et al. 2005).

Figura 15 – Estabilização do radical $ABTS^{\bullet+}$ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.



Fonte: Rufino et al. 2007.

A capacidade antioxidante é determinada com o auxílio do espectrofotômetro onde é possível medir a absorbância a 734 nm na medida em que ocorre a redução do radical (BIGLARI, ALKARKHI e EASA, 2008).

Uma vantagem em relação ao DPPH[•] é que o radical $ABTS^{\bullet+}$ pode ser solubilizado tanto em meios aquosos quanto, orgânicos o que facilita a análise da capacidade de antioxidante em sistemas lipofílicos e hidrofílicos (ARNAO, 2000). Assim, este método tem sido amplamente utilizado para a avaliação da capacidade antioxidante em alimentos e bebidas (MOON e SHIBAMOTO, 2009).

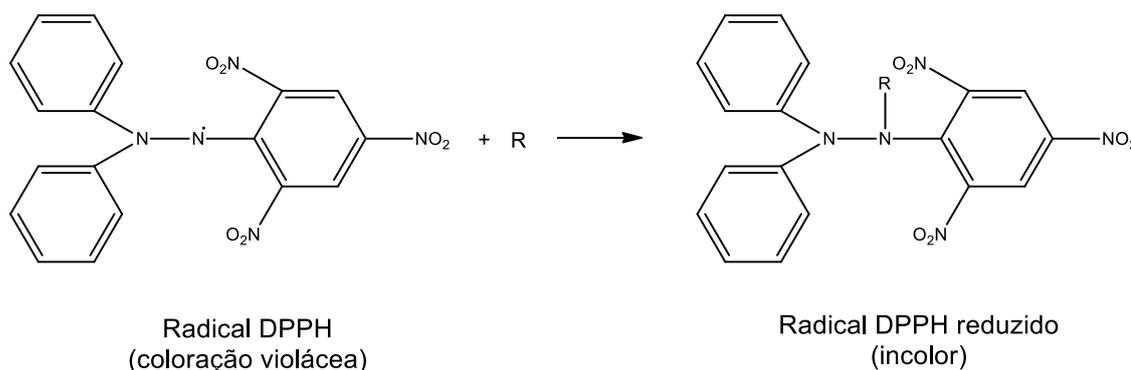
A capacidade antioxidante total pode ser expressa em $mg.100g^{-1}$ e $\mu mol.g^{-1}$ de TEAC (capacidade antioxidante equivalente ao trolox) (SANTOS et al. 2010). E capacidade antioxidante equivalente à vitamina C (KIM, JEONG e LEE, 2003).

2.11.2 Método do ensaio do sequestro do radical livre DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)

DPPH[•] é caracterizado como um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron livre durante a molécula como um todo, de forma que as moléculas não dimerisem, como a maioria dos outros radicais livres. É um dos métodos mais utilizados para avaliar a capacidade antioxidante em vegetais. A forma radicalar de DPPH[•] possui uma coloração violeta e absorve radiação ultravioleta em 515 nm (RUFINO, et al. 2007)

O ensaio radical DPPH[•] é tecnicamente simples, necessitando somente de um espectrofotômetro para a sua realização. Neste ensaio, a absorvância de uma solução contendo o radical DPPH[•] é reduzida na presença de um antioxidante, promovendo uma descoloração da solução. Quanto maior a efetividade do composto antioxidante mais rápida será a descoloração, bem como, a redução da absorvância Figura 16.

Figura 16 – Mecanismo de ação do método de ensaio do radical DPPH[•].



Fonte: Brand-Williams, Cuvelier e Berset, 1995.

Após a realização do ensaio, determina-se a porcentagem de capacidade antioxidante (%CA) ou sequestradora de radicais livres. A porcentagem de capacidade antioxidante da amostra corresponde à quantidade de DPPH[•] consumida, entretanto o antioxidante deve degradar no mínimo 50% da concentração inicial de DPPH[•], denominado *effective concentration* (EC₅₀), ou seja, quanto maior o consumo de DPPH[•] por uma amostra, menor será a sua EC₅₀ e maior a sua capacidade antioxidante. A determinação da capacidade antioxidante de vários tipos de alimentos usando DPPH[•] é comparável a outros métodos (KEDARE e SINGH, 2011; GULÇIN, 2012).

Embora o método de ensaio do radical DPPH[•] seja relativamente de fácil execução, uma das principais limitações do método deve-se à dificuldade na comparação dos dados com os trabalhos disponíveis na literatura. Scherer e Godoy (2009), propuseram uma forma de expressar a capacidade antioxidante, considerando a massa do DPPH[•] (µg.ml⁻¹) e a massa do composto testado, resultando em uma constante para cada composto, independente da concentração da amostra ou do radical DPPH[•] utilizado. O resultado é expresso como o índice de atividade antioxidante (IAA) e pode ser calculado a partir da Equação 1:

$$IAA = \frac{[DPPH^{\bullet}]}{EC_{50}} \quad (1)$$

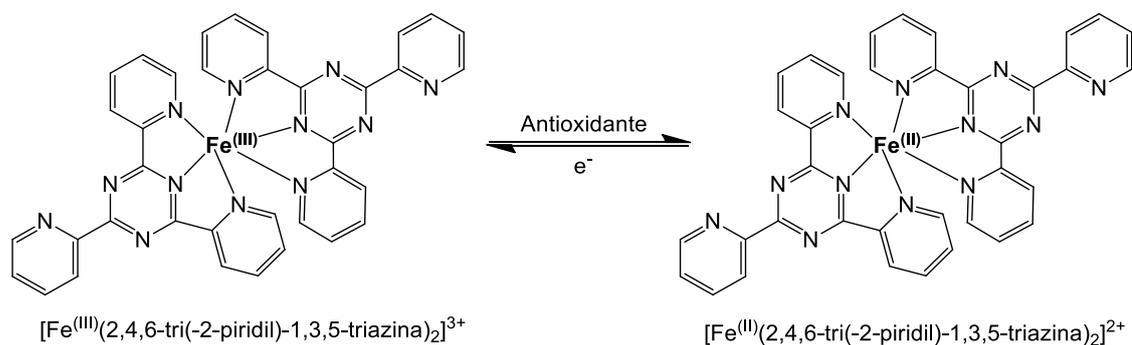
Onde: IAA – índice de atividade antioxidante; [DPPH[•]] – concentração da solução de DPPH[•] em µg.ml⁻¹; EC₅₀ – concentração µg.ml⁻¹ de substrato necessária para reduzir 50% do radical DPPH[•].

2.11.3 Método do ensaio FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

O método FRAP, (Poder Antioxidante de Redução do Ferro) é uma alternativa desenvolvida para determinar a redução do ferro em fluidos biológicos e soluções aquosas de compostos puros. Esta técnica é capaz de detectar a capacidade antioxidante não enzimática do plasma, a partir da habilidade plasmática em reduzir o Fe (III) → Fe (II), gerando cor (SZETO, KWOK e BENZIE, 2004).

O método pode ser aplicado não somente para estudos da capacidade antioxidante em extratos de alimentos e bebidas, mas, também, para o estudo da eficiência antioxidante de substâncias puras (PULIDO, BRAVO e SAURA-CALIXTO, 2000). Consiste na capacidade de redução do ferro, ou seja, quando em meio ácido e na presença de um antioxidante, o complexo férrico tripiridiltriazina é reduzido a um complexo ferroso, mudando sua coloração para um azul escuro Figura 17 (MORGADO et. al. 2010).

Figura 17 – Mecanismo de redução do composto férrico para ferroso.



Fonte: Huang, Ou e Prior 2005.

Uma das principais limitações do método deve-se ao fato de que qualquer composto com potencial redox inferior ao composto férrico, pode levar à reação de redução para o composto férrico, influenciando na superestimação dos resultados observados no ensaio FRAP (APAK et al. 2016).

II – OBJETIVOS

1 – Objetivo geral

Determinar as características físico-químicas, quantificar a capacidade antioxidante e os metabólitos secundários a partir de diferentes frações obtidas por partição sólido líquido dos frutos de tamarilleiro, em quatro safras diferentes provenientes da região da Chapada Diamantina – Bahia.

2 – Objetivos específicos

- Caracterizar o fruto quanto a acidez total, sólidos solúveis, pH, açúcar total, açúcar redutor, proteínas, lipídios, cinzas, umidade, carboidratos e valor energético;
- Preparar extratos dos frutos utilizando uma solução hidroetanólica (pH 2.0) como solvente extrator;
- Preparar extratos dos frutos utilizando acetona como solvente extrator;
- Quantificar os teores de constituintes fenólicos totais, flavonoides totais e antocianinas totais a partir da fração hidroetanólica;
- Quantificar os teores de carotenoides totais a partir da fração acetônica;
- Quantificar a capacidade antioxidante da fração hidroetanólica pelos métodos DPPH e FRAP e da fração acetônica pelo ensaio ABTS.

III MATERIAL E MÉTODOS

1 Material

1.1 Local do experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Vegetal (LTPOV) e no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LAPRON) da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus* Juvino Oliveira, Itapetinga – Bahia.

1.2 Aquisição dos frutos

Os tamarillos foram oriundos do município de Rio de Contas – Bahia, localizado a 13°34'44'' sul e 41°48'39'' oeste, à altitude média de 1.050 metros. Todos os frutos foram colhidos manualmente e no mesmo estágio de maturação, por produtores ligados à agricultura familiar. Os frutos foram coletados em quatro períodos distintos, caracterizando-se 4 safras, denominadas A, B, C e D conforme Tabela 1.

Tabela 1 – Safras e datas do fruto tamarillo

SAFRA	DATA
A	Março de 2015
B	Outubro de 2015
C	Março de 2016
D	Outubro de 2016

Fonte: Dados da pesquisa.

2 Recepção e seleção dos frutos

Para garantir a sanidade dos frutos, a área de processamento foi higienizada previamente com álcool 70%, bem como todos os utensílios e equipamentos, seguindo as Boas Práticas de Fabricação (BPF). Para minimizar os danos naturalmente causados, devido

ao metabolismo do vegetal, o laboratório foi mantido em temperatura controlada de 18°C durante o manuseio (MORETTI, 2007).

A seleção dos frutos foi realizada manualmente, escolhendo frutos que não apresentaram injúrias física ou biológica (fungos). Após a seleção, os frutos foram lavados em água corrente para eliminação do excesso de matéria orgânica e transferidos para tanques, contendo água clorada com 150 mg.L⁻¹ de cloro residual livre, que foi preparado a partir de hipoclorito de sódio, ajustando o valor do pH para 7,0 com ácido clorídrico (HCl) P.A. Os frutos ficaram imersos por 20 minutos, sendo em seguida lavados em água de enxague contendo 5 mg.L⁻¹ de cloro livre.

3 Acondicionamento e armazenamento

Após a etapa de recepção e seleção, a matéria prima foi acondicionada em embalagens plásticas de polietileno, pesadas e armazenadas em freezer doméstico à $-18,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ até o momento das análises.

4 Composição centesimal do fruto tamarillo

A partir dos frutos de tamarillo in natura, foram realizadas análises de acidez total titulável, pH, sólidos solúveis, umidade, cinzas, proteínas e lipídeos, seguindo metodologias descritas por (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 2010). O valor energético foi calculado, utilizando-se dos fatores de conversão: 9 Kcal por g de lipídios, 4 kcal por g de proteínas e 4 Kcal por g de carboidratos (ANVISA, 2003). Os carboidratos totais foram determinados pela diferença entre o total da amostra (100 gramas) e os teores de umidade, cinzas, proteína bruta e lipídios totais. Também foram determinados os teores de açúcares totais e redutores seguindo metodologias descritas por Dische (1962) e Miller (1959).

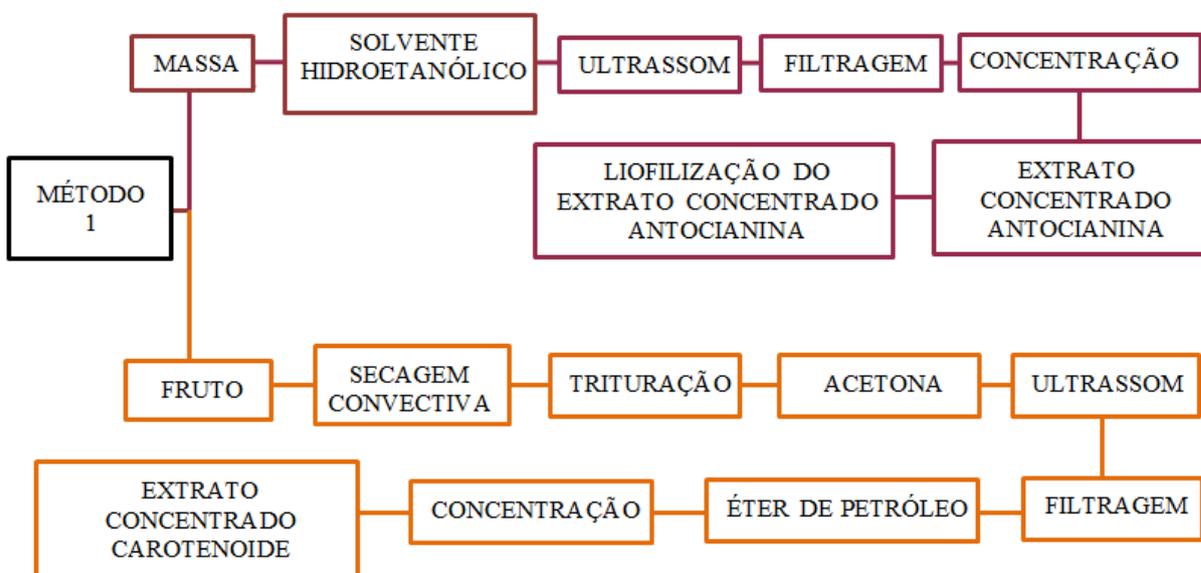
5 Obtenção dos extratos

Para a obtenção dos extratos de antocianinas e de carotenoides, foram utilizados três métodos de extração

5.1 Método de extração 1

Após a seleção, os frutos in natura, foram triturados (polpa e caroços) com auxílio de processador doméstico, resultando na massa de tamarillo. A massa foi macerada num sistema extrator contendo uma solução hidroetanólica (70% de álcool etílico P.A. e 30% de água deionizada) com o pH ajustado para 2,0 com ácido clorídrico P.A. e levado ao banho de ultrassom (Marca Eco-Sonics, 40 kHz) por 15 minutos e, em seguida, filtrado. Esse processo foi repetido com o resíduo obtido do mesmo sistema extrator por quatro vezes, até que a biomassa não apresentasse coloração característica das antocianinas. Após todas as extrações e filtrações, foi realizada a concentração em evaporador rotativo (RVC 2-18 CDplus, Marca Christ), sob vácuo (7,0 mbar, 1300 rpm), à temperatura de $40,0 \pm 2^\circ\text{C}$, até eliminação completa do solvente. Os extratos concentrados foram congelados em ultrafreezer, durante 72 h, à $-80,0 \pm 2^\circ\text{C}$. Posteriormente, os extratos foram desidratados em liofilizador (Freeze-dryer ALPHA 1-2 LDplus, Marca Christ) a -38°C , e pressão de vácuo a 0,12 mbar Figura 18. Os extratos liofilizados foram transferidos para frascos âmbar até o momento das análises.

Figura 18 – Método de extração 1, antocianinas e carotenoides.



Fonte: Próprio autor.

Para a extração dos carotenoides, os frutos in natura, (polpa e caroços) foram cortados transversalmente e submetidos à secagem em estufa com circulação e renovação de ar (Marca Solab Científica, SL 102, Brasil), à temperatura de $45,0 \pm 2^\circ\text{C}$, até atingir massa constante,

em torno de 24 horas. Em seguida, com auxílio de processador doméstico, o fruto desidratado foi triturado, na sequência, 2 g do desidratado foi macerado em acetona e celite e levado ao banho de ultrassom (Marca Eco-Sonics, 40 kHz) por 15 minutos e, em seguida, filtrado. Para extração total dos pigmentos, esse processo foi repetido até descoloração total da massa. Após quatro extrações, o extrato foi transferido para o funil de separação e adicionado éter de petróleo, a mistura foi lavada com água destilada e para evitar formação de emulsão, foi adicionado sulfato de sódio anidro, até que a solução se mantivesse límpida. O extrato etéreo foi concentrado em evaporador rotativo (RVC 2-18 CDplus, Marca Christ), sob vácuo (7,0 mbar, 1300 rpm) à temperatura de $40 \pm 2^\circ\text{C}$, até a eliminação total do solvente. O extrato concentrado obtido foi armazenado ao abrigo da luz para posterior utilização.

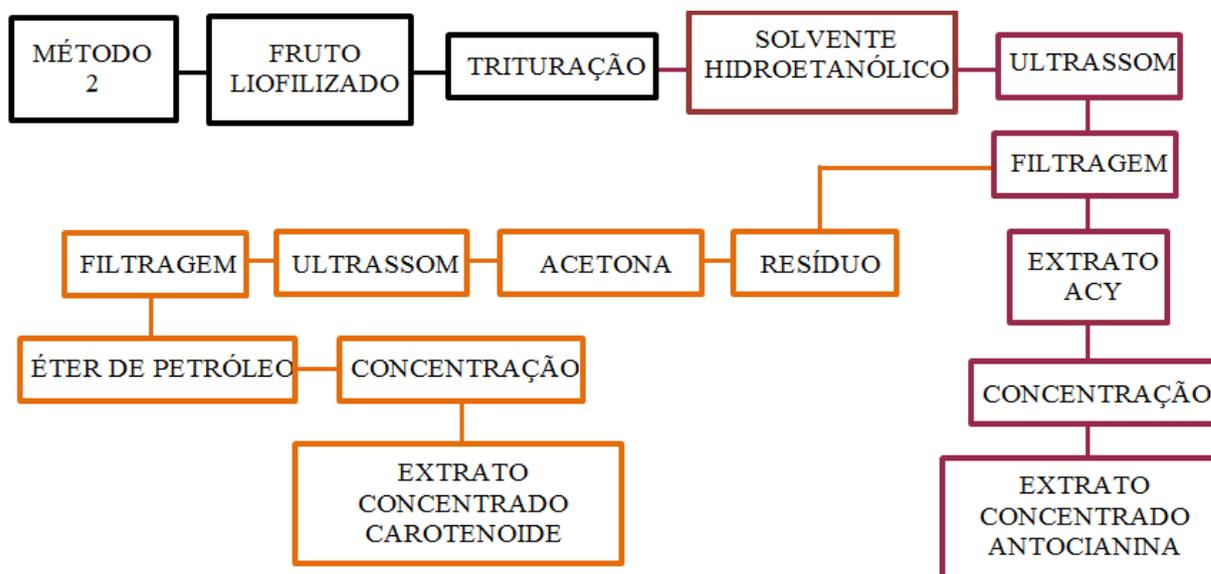
5.2 Método de extração 2

Após a seleção, os frutos descascados foram cortados transversalmente e congelados em ultrafreezer, durante 72 h, à $-80 \pm 2^\circ\text{C}$ e, em seguida foram desidratados em liofilizador (Freeze-dryer ALPHA 1-2 LDplus, Marca Christ) a $-38,0^\circ\text{C}$, e pressão de vácuo a 0,12 mbar por 24 horas, resultando no tamarillo liofilizado. Os frutos liofilizados foram triturados, obtendo o tamarillo liofilizado em pó. Os extratos hidroetanólicos foram obtidos a partir da maceração de uma alíquota do material liofilizado em um sistema extrator contendo solução hidroetanólica (70% de álcool etílico P.A. e 30% de água deionizada) com o pH ajustado para 2,0 com ácido clorídrico P.A. e levado ao banho de ultrassom (Marca Eco-Sonics, 40 kHz) por 15 minutos e, em seguida filtrado. Esse processo foi repetido com o resíduo obtido do mesmo sistema extrator por quatro vezes, até que a biomassa não apresentasse coloração característica das antocianinas. Após todas as extrações, foi realizada a etapa de concentração utilizando evaporador rotativo (RVC 2-18 CDplus, Marca Christ), sob vácuo (7,0 mbar, 1300 rpm), a temperatura de $40,0 \pm 2^\circ\text{C}$, até eliminação completa do solvente Figura 19. O concentrado foi armazenado em vidro âmbar sob refrigeração até o momento das análises.

Após extração das antocianinas, novas extrações foram procedidas utilizando, 2 g da massa anterior. Entretanto, foi utilizado acetona como solvente, para extração dos carotenoides. Esse processo foi repetido até descoloração total do resíduo. Após quatro extrações, o extrato foi transferido para o funil de separação e adicionado éter de petróleo, a mistura foi lavada com água destilada e para evitar formação de emulsão, foi adicionado sulfato de sódio anidro, até que a solução se mantivesse límpida. O extrato etéreo foi concentrado em evaporador rotativo (RVC 2-18 CDplus, Marca Christ), sob vácuo (7,0 mbar,

1300 rpm) a temperatura de $40,0 \pm 2^\circ\text{C}$, até eliminação completa do solvente. O concentrado foi armazenado em vidro âmbar sob refrigeração até o momento das análises.

Figura 19 – Método de extração 2, antocianinas e carotenoides.



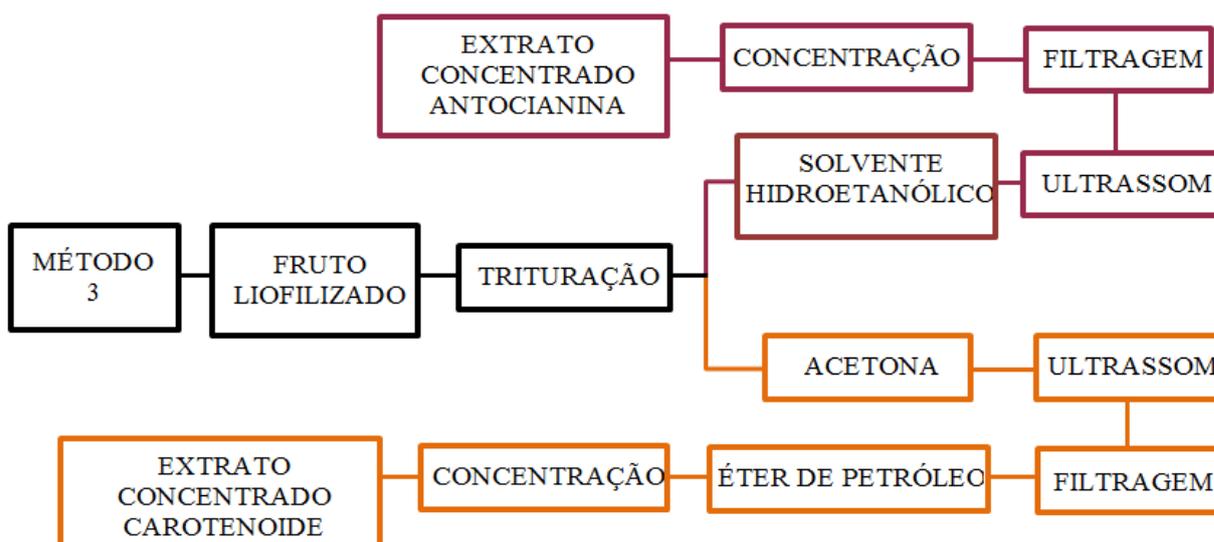
Fonte: Próprio autor.

5.3 Método de extração 3

Após a seleção, os frutos descascados foram cortados transversalmente e congelados em ultrafreezer, durante 72 h, à $-80,0 \pm 2^\circ\text{C}$ em seguida foram desidratados em liofilizador (Freeze-dryer ALPHA 1-2 LDplus, Marca Christ) a $-38,0^\circ\text{C}$, e pressão de vácuo a 0,12 mbar por 24 horas, resultando no tamarillo liofilizado. O fruto liofilizado foi triturado, obtendo o tamarillo liofilizado em pó. Os extratos hidroetanólicos foram obtidos a partir da maceração de uma alíquota do material liofilizado em um sistema extrator contendo solução hidroetanólica (70% de álcool etílico P.A. e 30% de água deionizada) com o pH ajustado para 2,0 com ácido clorídrico P.A. e levado ao banho de ultrassom (Marca Eco-Sonics, 40 kHz) por 15 minutos e em seguida filtrado. Esse processo foi repetido com o resíduo obtido do mesmo sistema extrator por quatro vezes, até que a biomassa não apresentasse coloração característica das antocianinas. Após todas as extrações, foi realizada a etapa de concentração utilizando evaporador rotativo (RVC 2-18 CDplus, Marca Christ), sob vácuo (7,0 mbar, 1300 rpm), a temperatura de $40,0 \pm 2^\circ\text{C}$, até eliminação completa do solvente Figura 20. O concentrado foi armazenado em vidro âmbar sob refrigeração até o momento das análises.

A partir de 2 g de outra porção do fruto liofilizado, sucedeu-se a extração dos carotenoides, onde fruto liofilizado foi triturado, obtendo o tamarillo liofilizado em pó. Os extratos acetônicos foram obtidos a partir da maceração de uma porção do material liofilizado em um sistema extrator contendo solução de acetona em seguida levado ao banho de ultrassom (Marca Eco-Sonics, 40 kHz) por 15 minutos e, posteriormente filtrado. Após quatro extrações, o extrato foi transferido para o funil de separação e adicionado éter de petróleo, a mistura foi lavada com água destilada e para evitar formação de emulsão, foi adicionado sulfato de sódio anidro, até que a solução se mantivesse límpida. O extrato etéreo foi concentrado em evaporador rotativo (RVC 2-18 CDplus, Marca Christ), sob vácuo (7,0 mbar, 1300 rpm) a temperatura de $40,0 \pm 2^\circ\text{C}$ até securo e armazenado ao abrigo da luz até o momento das análises.

Figura 20 – Método de extração 3, antocianinas e carotenoides.



Fonte: Próprio autor.

6 Quantificação de carotenoides

A partir dos extratos concentrados, obtidos da fração acetônica, foram quantificados os carotenoides totais presentes nos extratos de tamarillo. O extrato concentrado foi diluído em éter de petróleo, em balão volumétrico de 50 mL. Os carotenoides totais foram analisados em espectrofotômetro da Marca Shimadzu, Modelo UV-1800, na faixa do espectro visível, com leitura a 450 nm, utilizando o éter de petróleo como o branco. O cálculo do teor de β -caroteno

por gramas de extrato seco de tamarillo foi obtido de acordo com a Equação 2, seguindo métodos descritos por Rodriguez-Amaya (2001).

$$CT \left(\frac{\mu g}{100g} \right) = \left(\frac{AxVx10^4}{E_{1cm}^{1\%} \times M} \right) \quad (2)$$

Onde:

A: Absorbância a 450 nm

V: Volume final da amostra (mL)

M: Massa da amostra (g)

$E_{1cm}^{1\%}$: Coeficiente de extinção do β -caroteno = 2592

7 Quantificação de constituintes fenólicos totais

A quantificação dos constituintes fenólicos totais dos extratos hidroetanólicos liofilizados de tamarillo foi realizada segundo os métodos descritos no protocolo da ISO 14502-1 (2005), para a determinação dos teores de polifenóis totais pelo método colorimétrico com o reagente Folin-Ciocalteu.

Previamente, foram preparadas soluções dos extratos hidroetanólicos de tamarillo, em diferentes concentrações (100, 200, 300, 400 e 500 ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)), diluídas em álcool etílico. Adicionalmente, foram preparadas soluções em diferentes concentrações de ácido gálico (7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 e 70 ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)) diluídas em água deionizada.

Para a construção da curva analítica foram colocados, em tubos de ensaio, 5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu a 10% (v/v), 4 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5% (NaHCO_3), ambos diluídos em água deionizada e adicionados 1000 μL de cada uma das diferentes concentrações de ácido gálico (7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 e 70 ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)), constituindo o meio reacional. Os tubos foram agitados em vórtex, por 5 segundos e mantidos em repouso à temperatura ambiente ($25,0 \pm 2^\circ\text{C}$), durante 60 minutos. Da mesma forma, para avaliação do teor de fenólicos do extrato hidroetanólico liofilizado, foi utilizado o mesmo meio reacional substituindo o ácido gálico pelas diferentes concentrações dos extratos (100, 200, 300, 400 e 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

As leituras foram realizadas no comprimento de onda de máxima absorção a 773 nm, em espectrofotômetro da Marca Shimadzu, Modelo UV-1800. O branco foi elaborado nas

mesmas condições do meio reacional descrito, substituindo a amostra por água deionizada. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra (mg EAG.g⁻¹), obtidos por meio da equação gerada a partir da curva analítica do ácido gálico.

8 Quantificação de flavonoides totais

Os teores de flavonoides totais dos extratos hidroetanólicos de tamarillo foram avaliados pelo ensaio colorimétrico utilizando cloreto de alumínio, como descrito por Zhishen, Mengcheng e Jianming (1999).

Previamente, foram preparadas soluções em diferentes concentrações dos extratos hidroetanólicos (100, 200, 300, 400 e 500 (µg.mL⁻¹)), além da elaboração de curvas analíticas de quercetina e ácido cafeico, nas concentrações de 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 e 70 (µg.mL⁻¹). O meio reacional foi constituído por uma alíquota de 1000 µL nas diferentes concentrações, 4 mL de água deionizada, 0,3 mL de nitrito de sódio (NaNO₂) a 5% e 0,3 mL de cloreto de alumínio (AlCl₃) a 10%. Após 60 minutos, 2 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 1,0 M foram adicionados, e o volume completado para 10 ml, e, posteriormente, agitado em vórtex por 5 segundos.

As leituras foram realizadas no comprimento de onda de máxima absorção a 510 nm, em espectrofotômetro da Marca Shimadzu, Modelo UV-1800. O branco foi elaborado nas mesmas condições do meio reacional descrito, substituindo a amostra por água deionizada. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de quercetina/ácido cafeico por g de amostra, obtidos por meio da equação gerada a partir da curva analítica elaborada.

9 Quantificação de antocianinas

A quantificação de antocianinas totais foi realizada a partir do método espectrofotométrico proposto por Fuleki e Francis (1968). A partir deste método, as antocianinas presentes nos extratos hidroetanólicos de tamarillo foram extraídas com uma solução de álcool etílico P.A, acidificada até pH 2,0 com ácido clorídrico 1,5M. O extrato foi filtrado em papel Whatman nº.1, e o resíduo lavado com a mesma solução acidificada até a extração completa dos pigmentos. A solução resultante foi diluída a um volume de 100 mL em balão volumétrico e medida a absorbância no λ_{\max} a 535 nm. A concentração total da solução foi calculada utilizando o valor de absorvidade ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$) igual a 98,2. O cálculo do

teor de antocianinas totais (AT) por 100 gramas de extrato hidroetanólicos de tamarillo foi obtido de acordo com a Equação 3.

$$AT = \frac{\frac{DO_{535nm} \times V_{E2} \times V_{E2}}{V_{Alq} \times m}}{\frac{E_{1cm}^{1\%}}{10}} \times 100 = \frac{DO_{535nm} \times V_{E1} \times V_{E2} \times 1000}{V_{Alq} \times m \times E_{1cm}^{1\%}} \quad (3)$$

Onde:

DO₅₃₅: Medida direta da DO em 535 nm;

V_{E1}: Volume Total do Extrato Concentrado;

V_{E2}: Volume Total do Extrato Diluído;

V_{Alq}: Volume da Alíquota do Extrato Primário a ser diluída;

m: Massa de Amostra;

100: Fator de Correção para ser expresso em 100 gramas de amostra;

E_{1cm}^{1%}: Coeficiente de Absortividade Molar da cianidina.

10 Métodos de avaliação da capacidade antioxidante

10.1 Método do sequestro do radical ABTS^{•+}

A partir dos extratos acetônicos de tamarillo, obtidos pelos três métodos de extração, foram analisadas a capacidade antioxidante dos extratos, utilizando o método de captura do radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) ABTS^{•+}, de acordo com métodos descritos por Nenadis et al. (2004). O radical ABTS^{•+} foi preparado a partir da reação de 5 mL da solução estoque de ABTS^{•+} com 88,0 µL da solução de persulfato de potássio. A mistura foi mantida ao abrigo da luz, à temperatura ambiente, por 16 horas. Em seguida, 1 mL desta mistura foi diluída em álcool etílico até que obtivesse a absorbância de 0,70 nm ± 0,05 nm no comprimento de onda na faixa de 734 nm. Os extratos com diferentes concentrações (10,0 a 40,0 mg.mL⁻¹) foram adicionados à solução de radical ABTS^{•+} e a absorbância medida, após 6 minutos, em espectrofotômetro Shimadzu Modelo UV-1800. A capacidade antioxidante da amostra foi calculada em relação à atividade do padrão trolox, nas mesmas condições. Os resultados foram expressados em equivalentes micromoles de Trolox por gama de extrato (ET.g⁻¹), calculados a partir da equação de regressão linear da reta gerada na elaboração da curva analítica com Trolox.

10.2 Método do sequestro do radical livre DPPH[•]

A capacidade antioxidante dos extratos hidroetanólicos de tamarillo, obtidos pelos três métodos de extração, foi avaliada de acordo o método descrito por Brand-Williams, Cuvilier e Berset (1995) e adaptado por Rufino et al. (2007).

Previamente, foi preparada uma curva padrão de DPPH[•], a partir da preparação de soluções metanólicas em diferentes concentrações (0 a 60 µM). O meio reacional foi constituído por 100 µL das diferentes concentrações dos extratos hidroetanólicos liofilizados de tamarillo das diferentes safras (1,25 a 10 mg.mL⁻¹) e 3,9 mL de uma solução do radical DPPH[•] 0,06 mM. O tempo de reação foi determinado a partir da realização de testes preliminares, com o mesmo meio reacional, sendo observado o tempo de 50 minutos.

As leituras foram realizadas no comprimento de onda de máxima absorção a 515 nm, em espectrofotômetro da Marca Shimadzu, Modelo UV-1800, utilizando o metanol como o branco. Os resultados foram expressos em EC₅₀ (concentração mínima da amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH[•]), calculados a partir da regressão linear, (Equação 4), gerada na elaboração da curva analítica do DPPH[•] (Equação 5), onde o eixo das abscissas (x) representa a concentração dos extratos e o eixo das ordenadas (y) a capacidade antioxidante total.

$$(y = -ax + b) \tag{4}$$

$$Y_{/2} = -A \cdot EC_{50} + B \tag{5}$$

Onde:

$Y_{/2}$ = absorvância da amostra, dividido por 2;

A = coeficiente angular da reta;

B = coeficiente linear da reta;

EC₅₀ = concentração do extrato, necessária para reduzir 50% da concentração inicial do radical DPPH[•].

Os resultados também foram expressos na forma de índice de atividade antioxidante (IAA), segundo os métodos descritos por Scherer e Godoy (2009). Para isso, foi utilizada a (Equação 6) que considera a massa do DPPH[•] (µg.mL⁻¹) e a massa do composto testado.

Considera-se uma capacidade antioxidante baixa quando $IAA < 0,5$, moderada quando IAA está entre $0,5 - 1,0$, forte capacidade antioxidante quando IAA está entre $1,0 - 2,0$ e capacidade antioxidante muito forte quando $IAA > 2,0$.

$$IAA = \frac{[DPPH^*]}{EC_{50}} \quad (6)$$

Onde:

IAA = índice de atividade antioxidante;

$[DPPH^*]$ = concentração da solução de $DPPH^*$ em $\mu\text{g.mL}^{-1}$;

EC_{50} = concentração $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de substrato necessária para reduzir 50% do radical $DPPH^*$.

10.3 Método do ensaio FRAP

A capacidade antioxidante dos extratos hidroetanólicos de tamarillo, obtidos pelos três métodos de extração, foi avaliada pelo método FRAP, seguindo a metodologia descrita por Benzie e Strain (1996), com modificações.

Previamente, foi preparada uma curva analítica de sulfato ferroso em diferentes concentrações (500 a 2000 (μM)). O meio reacional foi constituído por 90 μL das diferentes concentrações dos extratos hidroetanólicos liofilizados (1,25 a 10 mg.mL^{-1}), 270 μL de água deionizada, e 2,7 mL do reagente FRAP. O reagente FRAP foi obtido a partir a combinação de 25 mL de tampão acetato 0,3 M (pH 3,6), 2,5 mL de solução TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) 10 mM e 2,5 mL de cloreto férrico 20 mM. Após preparado o meio reacional, a mistura foi agitada em vortex a 700 rpm, por 5 segundos. O tempo de reação foi verificado a partir da realização de testes preliminares, sendo determinado o tempo de 30 min.

As leituras foram realizadas no comprimento de máxima absorção a 595 nm em espectrofotômetro da Marca Shimadzu, Modelo UV-1800, utilizando o reagente FRAP como o branco. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de Fe^{2+} por g de amostra, calculados a partir da equação de regressão linear (7) da reta gerada na elaboração da curva analítica de sulfato ferroso, onde o eixo das abscissas (x) representa a concentração dos extratos e o eixo das ordenadas (y) a absorbância das amostras. Posteriormente, foi realizado um cálculo de conversão, possibilitando expressar os resultados em miligramas de equivalentes de Fe^{2+} por grama de amostra (mg FE.g^{-1}).

$$Y = A \cdot [\text{FeSO}_4] + B \quad (7)$$

Onde:

Y: absorvância da amostra;

A: coeficiente angular da reta;

B: coeficiente linear da reta;

[FeSO₄]: a concentração de sulfato ferroso encontrada.

11 Análise estatística

Os dados foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições e submetidos à análise de variância considerando 5% de significância. Para composição centesimal foi analisado o efeito da safra. Para antocianinas e carotenoides, foi realizado um esquema fatorial 4x3 considerando como fontes de variação a safra, método de extração e a interação safra x método de extração. A interação foi desdobrada, ou não, de acordo com a significância. Os resultados foram analisados no software Sistema para Análises Estatísticas (SAEG), onde foi realizado o teste de Tukey para a comparação entre médias ($\alpha = 0,05$).

IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 Caracterização dos frutos

Na Tabela 2 estão os resultados referentes à composição centesimal e caracterização físico-química dos tamarillos oriundos de quatro diferentes safras, denominadas Safra A, B, C e D.

Tabela 2 – Composição centesimal e caracterização físico-química dos tamarillos das safras 2015 e 2016.

Constituintes	Safra A	Safra B	Safra C	Safra D
Umidade (g.100g ⁻¹)	86,70 ± 0,61 ^C	88,68 ± 0,28 ^A	84,31 ± 0,41 ^D	87,01 ± 0,55 ^B
Proteínas (g.100g ⁻¹)	1,85 ± 0,19 ^C	1,56 ± 0,08 ^D	2,20 ± 0,08 ^A	2,00 ± 0,10 ^B
Lipídios (g.100g ⁻¹)	0,97 ± 0,04 ^B	0,97 ± 0,03 ^B	0,96 ± 0,04 ^C	1,03 ± 0,01 ^A
Cinzas (g.100g ⁻¹)	0,74 ± 0,03 ^B	0,63 ± 0,01 ^C	0,92 ± 0,02 ^A	0,62 ± 0,05 ^D
Carboidratos (g.100g ⁻¹)	9,74 ± 0,42 ^B	8,17 ± 0,33 ^D	11,61 ± 0,34 ^A	9,34 ± 0,43 ^C
Valor energético total (kcal)	55,14 ^C	47,65 ^D	63,83 ^A	60,42 ^B
Açúcares totais (g.100g ⁻¹)	5,76 ± 0,27 ^C	5,48 ± 0,09 ^D	6,10 ± 0,12 ^B	7,31 ± 0,39 ^A
Açúcares redutor (g.100g ⁻¹)	1,65 ± 0,04 ^A	1,46 ± 0,02 ^B	1,33 ± 0,03 ^C	1,21 ± 0,03 ^D
Sólidos solúveis (°Brix)	11,8 ± 0,01 ^A	11,8 ± 0,01 ^A	11,8 ± 0,01 ^A	10,1 ± 0,01 ^B
Acidez total (g.100g ⁻¹)	1,06 ± 0,03 ^B	0,95 ± 0,18 ^C	1,13 ± 0,04 ^A	0,91 ± 0,06 ^D
Ratio	11,13 ± 0,02 ^B	12,42 ± 0,09 ^A	10,44 ± 0,02 ^C	11,09 ± 0,03 ^B
pH	3,82 ± 0,01 ^C	3,87 ± 0,02 ^B	3,68 ± 0,02 ^D	3,92 ± 0,01 ^A

Os valores correspondem à média das repetições em triplicata; Valores seguidos por uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância (p<0,05).

Fonte: Dados da pesquisa.

Ao avaliar os resultados para cada determinação dos componentes centesimais dos tamarillos das diferentes safras estudadas, observa-se que houveram diferenças substanciais dos componentes para os tamarillos de diferentes safras. Mesmo sendo pequenas, foram observadas diferenças estatísticas em todos os componentes, sendo um possível efeito das diferentes condições climáticas, do solo e do grau de maturação.

O déficit hídrico obriga os vegetais a fazerem adaptações que resulta numa tolerância maior, conhecido como ajuste osmótico, isto é, a redução do potencial osmótico celular pelo

acúmulo de solutos compatíveis. Algumas moléculas estão associadas a este mecanismo, incluindo açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos, além de alguns íons (GRANT, 2012).

De acordo com o Instituto Nacional de Meteorologia, (2017), durante o período das safras A, B, C e D, houve uma precipitação média de 46,50, 6,75, 96,80 e 13,90 mm respectivamente e temperatura média de 25°C para todas as safras.

Os valores obtidos de umidade para os tamarillos mostram-se relativamente altos (84,31 a 88,68 g.100g⁻¹), uma característica importante para a indústria de alimentos, principalmente, quando se trata do processamento de sucos e bebidas em geral. Nota-se uma diferença entre os as safras, onde a safra B apresentou maior teor seguida pela safra D, estas safras correspondem aos mesmos períodos de anos diferentes. É possível verificar a coerência nos resultados de carboidratos e umidade, visto que as safras B e D apresentaram os piores resultados para esse constituinte. Pantoja et al. (2009), ao avaliarem a composição centesimal de tomates (*Lycopersicon* sp.), encontrando valores de 1,90 g.100g⁻¹ e 4,37 °Brix, para carboidratos e sólidos solúveis, respectivamente, valores inferiores aos observados na tabela 2.

Resultados semelhantes de umidade também foram observados por Acosta-Quezada et al. (2015), em tamarillos da variedade laranja (86,10 g.100g⁻¹) e da variedade vermelha (87,00 g.100g⁻¹) oriundos do Equador. Entretanto, os teores de proteínas mantiveram-se maiores aos observados neste trabalho, com valores de 7,13 e 6,70 mg.100g⁻¹ para os tamarillos das variedades laranja e vermelha, respectivamente. Enquanto os teores de carboidratos totais, estes foram próximos aos observados por Orqueda et al. (2017), ao avaliarem a composição centesimal de tamarillos oriundos da Argentina (7,20 g.100g⁻¹). A safra C apresentou os maiores teores para, proteínas, cinzas, carboidratos, sólidos solúveis e acidez total, quando comparada as demais safras, isso pode ter ocorrido, devido a maior precipitação no período. Parâmetros como umidade, ácidos orgânicos e sólidos solúveis influenciam no seu potencial tecnológico e suas características sensoriais. Para a obtenção de produtos concentrados, maiores teores de sólidos implicam diretamente em menores tempos de processamento, bem como, menores quantidades de açúcar empregados na linha de processamento. Segundo Silva et al. (2010), a presença de ácidos orgânicos, juntamente com os açúcares, são os principais parâmetros responsáveis pelas características sensoriais *sui generis*. Além disso, os valores calóricos de frutas podem ser creditados basicamente aos carboidratos (SILVA et al, 2010).

O pH do tamarillo apresenta-se numa categoria de alimento definida como muito ácido, fator importante que ajuda na inibição de micro-organismos, bem como na

determinação da intensidade do tratamento térmico. Pantoja et al. (2009), encontraram 3,84 e 4,39 para tamarillos vermelhos e tomate (*Lycopersicon* sp.), respectivamente.

Os valores das frações de proteínas e lipídios dos tamarillos das quatro safras analisadas apresentam-se reduzidos como na maioria dos vegetais. Este resultado era esperado, visto que, frutas geralmente apresentam pequenos valores destes constituintes. Entretanto, os valores de proteínas observados para os tamarillos no presente estudo foram maiores aos observados por Suárez, Rodriguez e Romero (2008), ao avaliarem a composição centesimal de tomates produzidos nas Ilhas Canárias. Vasco et al. (2009), encontraram valores semelhantes para os parâmetros de proteínas, lipídios, acidez total, sólidos totais e açúcares ao trabalharem com tamarillos oriundos da Espanha e Equador.

Para os teores de cinzas foram observados valores próximos entre as safras, sendo que os resultados foram próximos aos observados por Gannasin et al. (2015), ao avaliarem a composição centesimal de tamarillos oriundo de Camarões. A medida dos teores de cinzas ou resíduo mineral fixo é de importância no âmbito nutricional, visto que, representam as quantidades de macro e micro minerais presentes no fruto (SILVA et al. 2010).

2 Quantificação de carotenoides totais

Os resultados para as quantificações dos carotenoides totais dos extratos acetônicos de tamarillo estão mostrados na Tabela 3. Os valores apresentados estão expressos como miligramas de β -caroteno por grama de tamarillo ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$).

Pode ser observado na Tabela 3, que houve interação entre safra e método de extração ($P < 0,05$). Analisando os métodos, a safra A, apresentou os maiores teores de carotenoides quando extraído pelo método 1. Na safra B, não houve diferença entre os métodos de extração. Nas demais safras, os melhores resultados foram obtidos por meio do método de extração 3. É possível observar que o método de extração 2 foi o que apresentou menor eficiência na extração dos carotenoides, isso pode ter ocorrido devido ao sistema de extração sequencial.

Comparando as safras, utilizando o método de extração 1, as safras A e D obtiveram os melhores resultados, não diferindo entre si. Utilizando o método de extração 2 não houve diferença entre as safras. Já utilizando o método 3, a safra D apresentou o maior teor de carotenoides. Analisando os resultados obtidos na safra D, o teor de carotenoides pode estar associado aos baixos níveis de precipitação do período. Taiz e Zeiger, (2009) e Da Paixão et

al. (2014), relataram que em condições de déficit hídrico ocorre aumento nos teores de carotenoides, que é um pigmento envolvido na proteção da planta contra situações de estresse hídrico. Mafakheri et al. (2010), mencionaram que o aumento nos teores de pigmentos devido ao estresse hídrico implica em um aumento da predisposição para captar luz.

Tabela 3 – Teores de carotenoides totais dos extratos acetônicos de tamarillo obtidos por três métodos de extração, das safras de 2015 e 2016.

Safras	Método 1	Método 2	Método 3
	mg.g ⁻¹ *	mg.g ⁻¹ *	mg.g ⁻¹ *
Safra A	8,38 ± 0,09 ^{Aa}	3,26 ± 0,01 ^{Ba}	2,47 ± 0,02 ^{Bc}
Safra B	2,56 ± 0,02 ^{Ac}	3,36 ± 0,02 ^{Aa}	4,05 ± 0,09 ^{Ac}
Safra C	4,29 ± 0,08 ^{Bbc}	2,80 ± 0,05 ^{Ba}	6,60 ± 0,04 ^{Ab}
Safra D	6,44 ± 0,09 ^{Bab}	1,79 ± 0,08 ^{Ca}	9,40 ± 0,04 ^{Aa}

Os valores correspondem à média das repetições em triplicata; Valores seguidos por uma mesma letra minúscula de uma mesma coluna e valores seguidos por uma mesma letra maiúscula de uma mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância (p<0,05).

*Miligramas por grama de β-caroteno (mg.g⁻¹).

Fonte: Dados da pesquisa.

Mertz et al. (2009), relataram que o carotenoide principal presente no tamarillo é o β-caroteno, os autores trabalharam com a polpa de tamarillo liofilizada sem caroço e observaram valores de 4,6 mg.g⁻¹ e 5,1 mg.g⁻¹ de β-caroteno nos extratos de tamarillos amarelo e vermelho, respectivamente. Acosta-Quezada et al. (2015), ao quantificarem os teores de β-caroteno em extratos hidroacetônicos de tamarillos cultivados por irrigação e selvagem, encontraram valores entre 2,60 mg.g⁻¹ e 11,20 mg.g⁻¹ de β-caroteno. Rosso e Mercadante (2007), ao trabalharem com extratos acetônicos de tamarillo, encontraram uma média de 4,4 mg.g⁻¹ de β-caroteno nos extratos estudados. É possível atribuir a proximidade dos resultados encontrados à utilização de mecanismos de extração semelhantes, bem como, do preparo da amostra e das partes utilizadas do fruto. Orqueda et al. (2017), trabalharam com diversas partes do fruto, o qual constataram diferentes valores de β-caroteno para o fruto integral 1,41 g.100 g⁻¹, casca 1,37 g.100 g⁻¹, polpa 0,93 g.100 g⁻¹ e semente 0,53 g.100 g⁻¹.

3 Quantificação de constituintes fenólicos totais

Os teores de constituintes fenólicos nos extratos hidroetanólicos liofilizados de tamarillo foram avaliados e estão apresentados na Tabela 4, sendo expressos como mg de equivalentes de ácido gálico por g de amostra (mg EAG g⁻¹).

Tabela 4- Teores de constituintes fenólicos totais dos extratos hidroetanólicos de tamarillo liofilizados obtidos por três métodos de extração das safras de 2015 e 2016.

Safras	Método 1	Método 2	Método 3
	EAG*	EAG*	EAG*
Safra A	120,48 ± 0,52 ^{Ca}	167,88 ± 0,50 ^{Ba}	208,38 ± 0,97 ^{Aa}
Safra B	117,37 ± 0,51 ^{Ba}	141,62 ± 0,42 ^{Aa}	147,85 ± 0,27 ^{Ab}
Safra C	111,24 ± 0,61 ^{Ba}	154,75 ± 0,75 ^{Aa}	155,76 ± 0,71 ^{Ab}
Safra D	119,02 ± 0,48 ^{Ca}	161,89 ± 0,59 ^{Ba}	195,99 ± 0,58 ^{Aa}

Os valores correspondem à média das repetições em triplicata; Valores seguidos por uma mesma letra minúscula de uma mesma coluna e valores seguidos por uma mesma letra maiúscula de uma mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância ($p < 0,05$).

*Valor expresso em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra (mg.g^{-1}).

Fonte: Dados da pesquisa.

Houve interação entre safra e método de extração ($P < 0,05$). De acordo com os resultados apresentados, os extratos hidroetanólicos de tamarillo das safras A e D obtiveram melhores resultados de constituintes fenólicos quando extraídos pelo método 3. Para as safras B e C, os métodos 2 e 3 apresentaram-se estatisticamente iguais e superiores ao método de extração 1. Os resultados deixam claro que houve uma maior eficiência na extração dos polifenóis utilizando o método 2 e 3.

É possível observar que não houveram diferenças estatísticas entre as safras A, B, C e D utilizando os métodos de extração 1 e 2. Já no método 3, as safras A e D apresentaram os maiores teores de constituintes fenólicos não diferindo estatisticamente.

Navrot et al. (2007), mencionaram que os constituintes fenólicos são produzidos como forma de defesa de tecidos vegetais quando a planta é submetida a condições de estresse que favoreçam o aumento de radicais livres.

Estudos relatam que os teores de constituintes fenólicos são diretamente influenciados pelo padrão genético do vegetal, a fisiologia, o tipo de solvente extrator utilizado que podem agir como interferentes nos métodos utilizados para a mensuração dos compostos de interesse. Fato comprovado por Vasco et al. (2009), ao avaliarem os teores de constituintes fenólicos em tamarillos das variedades roxa 113 mg.g^{-1} EAG e vermelha 78 mg.g^{-1} EAG. Do mesmo modo, Kadir et al. (2014), verificaram a influência do solvente extrator nos teores de compostos fenólicos em extratos etanólicos 7,63 mg.g^{-1} EAG e aquosos 1,83 mg.g^{-1} EAG de tamarillo liofilizado, relatando que as atividades dos materiais vegetais são dependentes da natureza do solvente de extração, devido à presença de compostos antioxidantes diferentes, com diversas características e polaridades que podem ou não ser solúveis em um determinado solvente.

Mertz et al. (2009), utilizaram como solvente extrator acetona e constataram diferentes valores para variedade amarela 3,08 mg.g⁻¹ EAG e para variedade vermelha 5,7 mg.g⁻¹ EAG, resultados inferiores aos encontrados no presente trabalho. Estes resultados podem ser justificados pela interferência do solvente utilizado, pois os constituintes fenólicos são estruturas de caráter polar. Espin et al. (2016), encontraram valores entre 60,25 e 110,23 mg.100 g⁻¹ de polpa desidratada para a variedade amarela e valores entre 132,57 e 421,55 mg.100 g⁻¹ de polpa desidratada para variedade roxa. Valores próximos aos observados por Jáuregui et al. (2007), ao estudarem extratos hidroetanólicos de tamarillo integral, encontrando valores médios de 62,71 mg.100 g⁻¹ EAG. No trabalho mencionado, os autores atribuíram a capacidade antioxidante do fruto aos polifenóis presentes no fruto.

4 Quantificação de flavonoides totais

Os teores de flavonoides presente nos extratos hidroetanólicos liofilizados de tamarillos de quatro safras estão apresentados nas Tabelas 5 e 6. Não houve interação entre safra e método de extração (P>0,05). Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de quercetina (mg QE.g⁻¹) e ácido cafeico (mg AC.g⁻¹) por grama de amostra.

Tabela 5 – Teores de flavonoides totais dos extratos hidroetanólicos de tamarillo liofilizados obtidos por três métodos de extração, expressos em teores de quercetina, das safras de 2015 e 2016.

Safras	Método 1	Método 2	Método 3	Média
	QE*	QE*	QE*	
Safra A	29,94 ± 0,48	31,60 ± 0,83	48,52 ± 0,49	36,69a
Safra B	15,92 ± 0,49	25,43 ± 0,17	31,85 ± 0,49	24,40b
Safra C	13,48 ± 0,38	27,90 ± 0,66	33,70 ± 0,42	25,03b
Safra D	18,46 ± 0,60	29,47 ± 0,85	46,67 ± 0,11	31,53ab
Média	19,45C	28,60B	40,19A	29,41

Os valores correspondem à média das repetições em triplicata; Valores seguidos por uma mesma letra minúscula de uma mesma coluna e valores seguidos por uma mesma letra maiúscula de uma mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância (p<0,05).

*Miligramas equivalentes de quercetina por grama de amostra (mg QE.g⁻¹).

Fonte: Dados da pesquisa.

Como observado na Tabela 5, as safras A e D, apresentaram os melhores resultados, sendo que, a safra D não diferiu estatisticamente das demais, independentemente do método

de extração utilizado. Quanto aos métodos de extração, o método 3 demonstrou, ser o mais eficiente independentemente da safra.

Tabela 6 – Teores de flavonoides totais dos extratos hidroetanólicos de tamarillo liofilizados obtidos por três métodos de extração, expressos em teores de ácido cafeico, das safras de 2015 e 2016.

Safras	Método 1	Método 2	Método 3	Média
	AC*	AC*	AC*	
Safra A	5,35 ± 0,34	13,40 ± 0,59	14,17 ± 0,77	10,97a
Safra B	3,82 ± 0,65	9,93 ± 0,60	4,79 ± 0,77	6,18b
Safra C	3,08 ± 0,64	10,97 ± 0,66	5,83 ± 0,61	6,62b
Safra D	4,58 ± 0,14	12,45 ± 0,59	13,13 ± 0,25	10,05ab
Média	4,20B	11,69A	9,48A	8,45

Os valores correspondem à média das repetições em triplicata; Valores seguidos por uma mesma letra minúscula de uma mesma coluna e valores seguidos por uma mesma letra maiúscula de uma mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância ($p < 0,05$).

*Miligramas equivalentes de ácido cafeico por grama de amostra (mg AC.g^{-1}).

Fonte: Dados da pesquisa.

Na tabela 6, as safras A e D, apresentaram maiores teores de flavonoides, sendo que, não houve diferença entre a safra D e as demais safras, independentemente do método de extração utilizado. Analisando os métodos de extração, os métodos 2 e 3 se mostraram mais eficientes, independentemente da safra.

Alvarenga et al. (2011), relataram em seu estudo que houve redução do teor flavonoides quando as plantas eram submetidas ao estresse hídrico. Observando os resultados das tabelas 5 e 6, as safras A e D que foram coletadas durante o período de chuva e seca respectivamente, apresentaram melhores resultados que as demais, corroborando com os resultados encontrados por Bortolo et al. (2009), que não observaram influência hídrica no teor de flavonoides.

De acordo com Mandal e Ghosal et al. (2012), a maior parte dos flavonoides do tamarillo estão presente na polpa, estes autores encontraram $0,9 \text{ mg.g}^{-1}$ de flavonoides no fruto in natura. Kadir et al. (2014), encontraram $6,44 \text{ mg.g}^{-1}$ e $2,22 \text{ mg.g}^{-1}$ nos extratos etanólicos e aquosos, respectivamente. Jáuregui et al. (2007), trabalharam com o tamarillo integral e utilizaram como solvente álcool etílico e água (60:40, v/v), encontrando $3,41 \text{ mg.kg}^{-1}$ de quercetina e $2,57 \text{ mg.kg}^{-1}$ de ácido cafeico.

Resultados também verificados por Ali-Hassan e Abu-Bakar (2013), ao avaliarem os teores de rutina em extratos metanólicos $2,41 \text{ mg.g}^{-1}$ e aquosos $1,15 \text{ mg.g}^{-1}$ de tamarillo.

Jáuregui et al. (2009), trabalharam com a casca desidratada do tamarillo, sendo observado valores iguais a 3,82 mg.kg⁻¹ e 20,26 mg.kg⁻¹ de quercetina e ácido cafeico, respectivamente. Esses resultados são superiores aos encontrados neste trabalho, isso pode ter ocorrido devido a maior quantidade de constituintes fenólicos presentes na casca do fruto, bem como, pela interferência dos solventes na extração e, conseqüentemente, na quantificação dos flavonoides totais.

5 Quantificação de antocianinas totais

Os resultados das quantificações dos teores de antocianinas totais pelo método de pH único dos extratos hidroetanólicos de tamarillos oriundos de quatro diferentes safras estão mostrados na Tabela 7. Houve interação entre safra e método de extração (P<0,05). Os valores estão expressos como miligramas de antocianinas por grama de extrato hidroetanólico de tamarillo liofilizado (mg.g⁻¹).

Tabela 7 – Teores de antocianinas totais dos extratos hidroetanólicos de tamarillo liofilizados obtidos por três métodos de extração, expressos em teores de antocianinas por grama de extrato, das safras de 2015 e 2016.

Safras	Método 1	Método 2	Método 3
	mg.g ⁻¹ *	mg.g ⁻¹ *	mg.g ⁻¹ *
Safra A	10,73 ± 0,13 ^{Bb}	6,86 ± 0,11 ^{Cc}	21,64 ± 0,55 ^{Ab}
Safra B	15,08 ± 0,65 ^{Ba}	14,41 ± 0,17 ^{Ba}	24,00 ± 0,22 ^{Aa}
Safra C	14,04 ± 0,51 ^{Aba}	12,09 ± 0,53 ^{Bb}	15,25 ± 0,82 ^{Ad}
Safra D	14,08 ± 0,46 ^{Ba}	15,61 ± 0,29 ^{Ba}	18,73 ± 0,52 ^{Ac}

Os valores correspondem à média das repetições em triplicata; Valores seguidos por uma mesma letra minúscula de uma mesma coluna e valores seguidos por uma mesma letra maiúscula de uma mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância (p<0,05).

*Miligramas por grama de amostra (mg.g⁻¹).

Fonte: Dados da pesquisa.

De acordo com os resultados exibidos na Tabela 7, o método de extração 3 apresentou os maiores teores de antocianinas totais para todas as safras, porém não diferiu estatisticamente do método 1 para a safra C. Com relação as safras, no método de extração 1, as safras B, C e D obtiveram os melhores resultados. No método de extração 2, as safras B e D apresentaram resultados superiores. Já no método de extração 3, o maior teor de antocianinas totais foi verificado na safra B.

Close e Beadle (2003), afirmam que dentre as funções fisiológicas das antocianinas está o ajustamento osmótico em condições de estresse hídrico corroborando com o visto neste trabalho onde as safras obtidas dos períodos com menores índices pluviométricos (B e D) apresentaram maiores teores de antocianinas quando comparadas as safras obtidas dos períodos de maiores índices pluviométricos (A e C). Ojeda et al. (2005), relataram que o balanço hídrico interfere diretamente sobre a composição de alguns constituintes, teor de açúcar, taninos, antocianinas, flavonoides.

Para Correia e Canhoto (2012), as antocianinas presentes no tamarillo possuem importantes propriedades biológicas, terapêuticas e preventivas o que as tornam um recurso alimentar valioso que merece ser estudado tanto como fruto ou como uma fonte de compostos que podem eventualmente melhorar a saúde humana.

A composição em antocianinas de extratos metanólicos de tamarillos cultivados na Colômbia foi avaliada por Osorio et al. (2012), encontrado valores variando de 22,76 a 49,34 mg.g⁻¹. Da mesma forma, Hurtado et al. (2009), ao avaliarem os teores de antocianinas totais em extratos metanólicos de tamarillos oriundos da Colômbia, observaram valores de 20,03 mg.g⁻¹. Estes resultados apresentam uma proximidade com os observados para os extratos hidroetanólicos obtidos pelo método 3 do presente estudo. Entretanto, os resultados observados para os extratos obtidos pelos métodos 1 e 2 apresentaram-se inferiores.

Resultados inferiores de antocianinas totais foram observados por Rosso e Mercadante (2007), ao avaliarem os teores de antocianinas em frutos in natura de tamarillo obtidos em Campinas-Brasil 0,42 mg.g⁻¹ e por Schotsmans (2011), em tamarillos obtidos na Espanha 1,63 mg.g⁻¹. Observa-se que os estudos relatados que utilizaram extratos concentrados apresentaram maiores teores de antocianinas, enquanto que nos estudos utilizando frutos in natura os resultados mantiveram-se inferiores.

6 Avaliação da capacidade antioxidante

6.1 Capacidade antioxidante pelo método do radical livre ABTS^{•+}

Os resultados dos ensaios da capacidade antioxidante dos extratos acetônicos de tamarillo de quatro diferentes safras, avaliada pelo método do ensaio do radical livre ABTS^{•+}, estão mostrados na Tabela 8. Verificou-se interação entre safra e método de extração

(P<0,05). Os resultados estão expressos como micromoles de equivalentes de Trolox por grama de extrato utilizado.

Tabela 8 – Resultados dos ensaios de avaliação da capacidade antioxidante pelo ensaio do radical livre ABTS^{•+}, dos extratos acetônicos de tamarillo obtidos por três métodos de extração, das safras de 2015 e 2016.

Safras	Método 1	Método 2	Método 3
	ET*	ET*	ET*
Safra A	1343,42 ± 0,51 ^{Aa}	1078,27 ± 1,35 ^{Bb}	1474,05 ± 1,96 ^{Aa}
Safra B	1452,03 ± 1,08 ^{Aa}	1319,63 ± 1,14 ^{Aa}	1399,44 ± 1,65 ^{Aa}
Safra C	962,22 ± 0,89 ^{Ab}	976,84 ± 1,62 ^{Ab}	770,65 ± 1,40 ^{Ab}
Safra D	948,35 ± 0,43 ^{Bb}	1318,73 ± 1,36 ^{Aa}	667,47 ± 1,88 ^{Bb}

Os valores correspondem à média das repetições em triplicata; Valores seguidos por uma mesma letra minúscula de uma mesma coluna e valores seguidos por uma mesma letra maiúscula de uma mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância (p<0,05).

*Micromoles de equivalentes de Trolox (ET) por grama de amostra ($\mu\text{mol.g}^{-1}$).

Fonte: Dados da pesquisa

Os valores de capacidade antioxidante dos extratos acetônicos de tamarillo apresentados na Tabela 8, mostram que na safra A os métodos de extração 1 e 3 foram mais eficientes. Não houve diferença significativa entre os métodos de extração nas safras B e C. Na safra D, é possível observar que o método de extração 2 apresentou melhor resultado.

Com relação as safras, nos métodos de extração 1 e 3, as safras A e B apresentaram maior capacidade antioxidante. No método de extração 2, as safras B e D foram as melhores. A capacidade antioxidante dos extratos acetônicos, está relacionada com o teor de carotenoides extraídos do tamarillo, no entanto devido a interação entre os fatores, a eficiência do método de extração varia de acordo com as safras e o mesmo ocorre com as safras.

Alguns estudos relatam a capacidade antioxidante de extratos elaborados com outros solventes extratores. Orqueda et al. (2017), relataram a capacidade antioxidante da casca, polpa e sementes de tamarillo liofilizado, eles encontraram 0,80, 1,09 e 1,38 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ EAG, respectivamente. Bravo, Alzate e Osorio (2016), estudaram a capacidade antioxidante de extratos metanólicos de tamarillo liofilizado de duas variedades distintas, os autores constataram os valores de 204,4 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ ET e 385,8 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ ET para os tamarillos das variedades amarela e vermelha, respectivamente. Da mesma forma, Espin et al. (2016), relataram os valores de 22,0-45,0 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ ET para variedade amarela e 70,0-89,0 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ ET para variedade roxa. Observa-se que além do solvente extrator utilizado, a variedade do fruto é um fator determinante na capacidade antioxidante. Os referidos autores também

relataram a ausência de antocianinas em frutos da variedade amarela e atribuíram a capacidade antioxidante aos constituintes fenólicos.

Nota-se que os valores encontrados na literatura disponível são inferiores aos encontrados no presente trabalho. Possivelmente, a natureza do solvente extrator utilizado levou aos maiores níveis de extração de constituintes bioativos, elevando assim a capacidade antioxidante do extrato estudado. O mesmo foi observado por Kou et al. (2009), ao constatarem diferentes valores de capacidade antioxidante para diferentes frações de extrato de tamarillo liofilizado, encontrando valores médios de 32,24, 56,73, 20,43 e 3,04 mg.g⁻¹ ET para extrato bruto de etanol, fração acetato de etila, fração *n*-butanol e fração água, respectivamente.

6.1.1 Capacidade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre DPPH[•]

Os valores da capacidade antioxidante dos extratos hidroetanólicos de tamarillo avaliada pelo método do sequestro do radical livre DPPH[•] estão apresentados nas Tabelas 9 e 10, expressos como EC₅₀ (mg.L⁻¹) e índice de atividade antioxidante (IAA), respectivamente. Foi observado interação entre os fatores (P<0,05).

Tabela 9 – Avaliação da capacidade antioxidante pelo ensaio do radical livre DPPH[•], dos extratos hidroetanólicos de tamarillo obtidos por três métodos de extração, expressos em EC₅₀ das safras de 2015 e 2016.

Safras	Método 1	Método 2	Método 3
	EC ₅₀ *	EC ₅₀ *	EC ₅₀ *
Safra A	14,78 ± 0,05 ^{Cb}	9,42 ± 0,40 ^{Bb}	8,74 ± 0,40 ^{Ab}
Safra B	15,86 ± 0,12 ^{Bc}	12,38 ± 0,11 ^{Ad}	12,25 ± 0,01 ^{Ad}
Safra C	17,33 ± 0,07 ^{Cd}	10,21 ± 0,04 ^{Bc}	9,64 ± 0,21 ^{Ac}
Safra D	15,22 ± 0,14 ^{Bb}	9,78 ± 0,20 ^{Abc}	9,50 ± 0,08 ^{Ac}
BHT		0,79 ± 0,05^a	

Os valores correspondem à média das repetições em triplicata; Valores seguidos por uma mesma letra minúscula de uma mesma coluna e valores seguidos por uma mesma letra maiúscula de uma mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância (p<0,05).

*Concentração da amostra necessária para inibir 50% da concentração inicial do radical livre DPPH[•] (mg.L⁻¹).

Fonte: Dados da pesquisa.

O termo EC₅₀ representa a concentração do extrato necessária para a redução de 50% da concentração inicial do radical DPPH[•]. Observando a Tabela 9, tanto na safra A, quanto na safra C, o método de extração 3 apresentou maior eficiência. Enquanto que nas safras B e D,

não houve diferença estatística entre os métodos de extração 2 e 3, que foram superiores ao método 1.

Nos métodos 1 e 2, as safras A e D, apresentaram melhores resultados. Já no método 3, a safra A apresentou melhor resultado entre as safras.

Tabela 10 – Avaliação da capacidade antioxidante pelo ensaio do radical livre DPPH^{*}, dos extratos hidroetanólicos de tamarillo obtidos por meio três métodos de extração, expressos em índice de atividade antioxidante (IAA), das safras de 2015 e 2016.

Safras	Método 1	Método 2	Método 3
	IAA*	IAA*	IAA*
Safra A	1,90 ± 0,01 ^{Cb}	2,55 ± 0,11 ^{Bb}	2,75 ± 0,13 ^{Ab}
Safra B	1,78 ± 0,02 ^{Bbc}	1,94 ± 0,02 ^{Ad}	1,96 ± 0,00 ^{Ad}
Safra C	1,65 ± 0,01 ^{Cc}	2,35 ± 0,01 ^{Bc}	2,49 ± 0,05 ^{Ac}
Safra D	1,85 ± 0,02 ^{Bb}	2,46 ± 0,05 ^{Abc}	2,53 ± 0,02 ^{Ac}
BHT	30,31 ± 2,10^a		

Os valores correspondem à média das repetições em triplicata; Valores seguidos por uma mesma letra minúscula de uma mesma coluna e valores seguidos por uma mesma letra maiúscula de uma mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância ($p < 0,05$).

*Índice de atividade antioxidante da amostra.

Fonte: Dados da pesquisa.

O IAA, expressa o índice de atividade antioxidante, baseando-se na concentração inicial do radical e o valor de EC₅₀. Observando a Tabela 10, o método de extração 3 apresentou maior eficiência nas safras A e C. Não houve diferença estatística entre os métodos de extração 2 e 3 nas safras B e D.

Analisando o método 1, verifica-se que as safras A, B e D não diferiram estatisticamente entre si, contudo, a safra B não diferiu da safra C. No método 2 as safras A e D apresentaram os melhores resultados entre as safras, porém a safra D não difere estatisticamente da safra C. Já no método 3, a safra A foi superior as demais safras.

Diversos fatores estão relacionados à redução da capacidade antioxidante de produtos alimentícios, tais como a temperatura de processamento, a formulação e o método de extração dos compostos antioxidantes (SULISTYOWATI e MISNAWI, 2008). Como observado por Belscak-Cvitanovic et al. (2012), ao mencionarem que a capacidade antioxidante é influenciada pelo método de extração, sendo o solvente um dos principais fatores, uma vez que água tende ser menos eficiente quando comparada com outros solventes, como etanol e metanol.

Comparando com o antioxidante sintético BHT, seria necessário uma concentração maior do extrato de tamarillo para se obter o mesmo efeito antioxidante do sintético. A capacidade antioxidante dos extratos hidroetanólicos foi menor que o observado por Ali-Hassan e Abu-Bakar (2013), ao encontrarem para os solventes metanol e água os valores de EC₅₀ iguais a 31,82 mg.L⁻¹ e 29,04 mg.L⁻¹, respectivamente. Isso pode ser creditado ao mecanismo de extração e aos solventes utilizados, visto que não houve separação de constituintes o que pode ter contribuído para o aumento da capacidade antioxidante.

Em outro estudo, Kumar, Sivakumar e Ruckmani (2016), utilizaram como solvente extrator álcool etílico, os autores observaram que concentrações acima de 2,0 mg.L⁻¹ apresentam melhores resultados para a capacidade antioxidante dos extratos de tamarillo. Os valores de IAA encontrados para os extratos hidroetanólicos de tamarillo qualificam a capacidade antioxidante dos tamarillos em estudo entre forte (1,0 – 2,0) e muito forte (>2,0), segundo metodologia descrita por Scherer e Godoy (2009). A capacidade antioxidante apresentada pelos extratos podem estar relacionados com os compostos fenólicos presentes nos mesmos (VASCO et al. 2009).

6.1.2 Capacidade antioxidante pelo método do ensaio FRAP

Os valores da capacidade antioxidante dos extratos hidroetanólicos liofilizados de tamarillo estão apresentados na Tabela 11. Os resultados estão expressos como mg equivalentes de Fe²⁺ por grama de amostra (FE mg.g⁻¹). Verificou-se interação entre os fatores (P<0,05).

Tabela 11 – Avaliação da capacidade antioxidante pelo método do ensaio FRAP, dos extratos hidroetanólicos de tamarillo obtidos por meio de três métodos de extração, nas safras de 2015 e 2016.

Safras	Método 1	Método 2	Método 3
	FE*	FE*	FE*
Safra A	2,24 ± 0,01 ^{Cb}	3,56 ± 0,08 ^{Bb}	4,41 ± 0,07 ^{Aa}
Safra B	1,74 ± 0,06 ^{Cc}	2,27 ± 0,09 ^{Ad}	2,02 ± 0,09 ^{Bc}
Safra C	1,80 ± 0,19 ^{Cc}	2,90 ± 0,07 ^{Bc}	3,91 ± 0,07 ^{Ab}
Safra D	2,07 ± 0,02 ^{Cb}	3,55 ± 0,08 ^{Bb}	4,23 ± 0,06 ^{Aa}
BHT	4,17 ± 0,40^a		

Os valores correspondem à média das repetições em triplicata; Valores seguidos por uma mesma letra minúscula de uma mesma coluna e valores seguidos por uma mesma letra maiúscula de uma mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância (p<0,05).

*Miligramas de equivalentes de Fe²⁺ por grama de amostra (mg.g⁻¹).

Fonte: Dados da pesquisa.

De acordo com os valores de capacidade antioxidante dos extratos hidroetanólicos de tamarillo apresentados na Tabela 11, o método 3 de extração foi o mais eficiente nas safras A, C e D, na safra B, o melhor método de extração foi o 2.

Observa-se que os valores de capacidade antioxidante dos extratos hidroetanólicos dos tamarillos provenientes das safras A e D, foram melhores em todos os métodos de extração, contudo, quando submetidos ao método de extração 3, apresentaram valores estatisticamente semelhantes ao padrão BHT.

Os valores de capacidade antioxidante dos extratos obtidos do método de extração 3 foram próximos aos encontrados por Kadir et al. (2014), ao avaliarem a capacidade antioxidante de extratos aquosos de tamarillo, encontrando valores iguais a $3,72 \text{ mg.g}^{-1}$ de Fe^{2+} . Valores menores foram observados por Ali-Hassan e Abu-Bakar (2013), em extratos hidrometanólicos $1,95 \text{ mg.g}^{-1}$ e aquosos $0,67 \text{ mg.g}^{-1}$ de tamarillo. Resultados semelhante aos observados por Halvorsen et al. (2002), ao avaliarem a capacidade antioxidante de extratos hidrometanólicos de tamarillo, encontrando valores médios de $1,62 \text{ mg.g}^{-1}$ de Fe^{2+} .

Diversos fatores podem afetar os resultados da capacidade antioxidante apresentada pelos extratos dos tamarillos pelo método do ensaio FRAP. O solvente extrator pode ter influenciado nos resultados observados nos ensaios, como relatado por Othman et al. (2007), ao observarem que o solvente extrator afetou significativamente a capacidade antioxidante.

V – CONCLUSÕES

A composição centesimal dos tamarillos apresenta-se com alto potencial tecnológico, com teores de constituintes ideais para a elaboração diversos produtos. No geral, os extratos hidroetanólicos de tamarillo obtidos pelo método de extração 3 apresentam valores superiores de constituintes fenólicos totais, flavonoides totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante em relação aos extratos obtidos pelos métodos de extração 1 e 2. O método de extração 3 apresentou melhores resultados, na quantificação de carotenoides das safras B, C e D. O extrato acetônico apresentou capacidade antioxidante para o ensaio ABTS^{•+}, sendo que a safra A apresentou os melhores valores de capacidade antioxidante, independentemente do método de extração utilizado.

VI – REFERÊNCIAS

ACOSTA-QUEZADA, Pablo G. et al. Diversity for chemical composition in a collection of different varietal types of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.), an Andean exotic fruit. **Food chemistry**, v. 169, p. 327-335, 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC nº360, de 23 de dezembro de 2003 complementada pela Resolução RDC nº 163, de 17 de agosto de 2006. Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 dez. 2003.

AKOH, Casimir C.; MIN, David B. **Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology**. CRC press, 2008.

ALBARICI, Tatiane Regina; PESSOA, José Dalton Cruz; FORIM, Moacir Rossi. Efeito das variações de pH e temperatura sobre as antocianinas na polpa de açaí: estudos espectrofotométricos e cromatográficos. **Embrapa Instrumentação Agropecuária. Comunicado Técnico**, 2006.

ALI-HASSAN, S. H.; ABU-BAKAR, M. F. Antioxidative and anticholinesterase activity of *Cyphomandra betacea* fruit. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.

ALVARENGA, I. C. A. et al. Prolina livre em alecrim-pimenta sob estresse hídrico antes da colheita. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 539-541, 2011.

ANTIOXIDANTES, Dossiê. Food Ingredients Brasil. **São Paulo**, n. 6, p. 16-30, 2009.

APAK, R.; OZYUREK, M.; GUCLU, K.; CAPANOGLU, E. Antioxidant activity/capacity measurement: I. Classification, physicochemical principles, mechanisms and electron transfer (ET)-based assays, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 10, p. 997-1027, 2016.

ARANZAZU, L. F.; RONDÓN, J. G. **Manejo productivo del cultivo del tomate de arbol (solanum betacea) y de la antracnosis (Colletotrichum gloeosporioides (PENZ), PENZ & SACC)**. Corporacion Colombiana de Investigacion Agropecuaria, Bogota (Colombia). 2001.

ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, p. 419-421, 2001.

ARRANZ, S.; VALDERAS-MARTINEZ, P.; CHIVA-BLANCH, G.; CASAS, R.; URPI-SARDA, M; LAMUELA-RAVENTOS, R. M.; ESTRUCH, R. Cardioprotective effects of cocoa: Clinical evidence from randomized clinical intervention trials in humans. **Journal of Nutrition and Food Science**, v. 57. p. 936–947, 2013.

ARTS, Ilja CW; HOLLMAN, Peter CH. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **The American journal of clinical nutrition**, v. 81, n. 1, p. 317S-325S, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18.ed. Arlington: Washington, 2010. 1115p.

BARBOSA, Kiriaque Barra Ferreira et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química nova**, v. 29, n. 1, p. 113, 2006.

BARRETO, G.P. de M. **Carotenóides e compostos bioativos: Relação com propriedades antirradical livre e corante em frutas tropicais**. 2008. 98f. Tese (Doutorado em ciência de alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

BARROS, Ana IRNA et al. Effect of cooking on total vitamin C contents and antioxidant activity of sweet chestnuts (*Castanea sativa* Mill.). **Food chemistry**, v. 128, n. 1, p. 165-172, 2011.

BELSCAK-CVITANOVIC, A., DURGO, K., GACINA, T., HORZIC, D., FRANKELIC, J., KOMES, D. Comparative study of cytotoxic and cytoprotective activities of cocoa products affected by their cocoa solids content and bioactive composition. **European Food Research and Technology**, v. 234, p. 173–186, 2012.

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

BIGLARI, Foroogh; ALKARKHI, Abbas FM; EASA, Azhar Mat. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. **Food chemistry**, v. 107, n. 4, p. 1636-1641, 2008.

BIRBEN, Esra et al. Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organization Journal**, v. 5, n. 1, p. 1, 2012.

BONDIA-PONS, Isabel et al. Moderate consumption of olive oil by healthy European men reduces systolic blood pressure in non-Mediterranean participants. **The Journal of nutrition**, v. 137, n. 1, p. 84-87, 2007.

BORTOLO, Daniela Perez Guerrero et al. Teor e rendimento de flavonoides em calêndula (*Calendula officinalis* L.) cultivada com diferentes lâminas de irrigação. **Revista brasileira de plantas medicinais**. vol.11 no.4 Botucatu 2009.

BRAND-WILLIAMS, M. E.; CUVELIER; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebensm Wiss U Technology Journal**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **RDC nº 3, de 15 de janeiro de 2007**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, de 15 de janeiro de 2007.

BRAVO, Laura. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BRAVO, Karent; ALZATE, Fernando; OSORIO, Edison. Fruits of selected wild and cultivated Andean plants as sources of potential compounds with antioxidant and anti-aging activity. **Industrial Crops and Products**, v. 85, p. 341-352, 2016.

BRAY, Elizabeth A.; BAILEY-SERRES, Julia; WERETILNYK, Elizabeth. Responses to abiotic stresses. **Biochemistry and molecular biology of plants**, v. 11581249, 2000.

BRITTON, George. Structure and properties of carotenoids in relation to function. **The FASEB Journal**, v. 9, n. 15, p. 1551-1558, 1995.

BURTON, Graham W.; TRABER, Maret G. Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. **Annual review of nutrition**, v. 10, n. 1, p. 357-382, 1990.

CADENAS, Enrique; DAVIES, Kelvin JA. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 29, n. 3, p. 222-230, 2000.

CARDOSO, Sergio Luis. Fotofísica de carotenoides e o papel antioxidante de B-caroteno. **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 535-540, 1997.

CARIS-VEYRAT, Catherine. Antioxidant and Prooxidant Actions and Stabilities of Carotenoids In Vitro and in Vivo and Carotenoid Oxidation Products. In: SOCACIU, Carmen (Ed.). **Food Colorants: Chemical and Functional Properties**. CRC Press, 2007. p. 127-192.

CASTANEDA-OVANDO, Araceli et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859-871, 2009.

CLOSE, Dugald C.; BEADLE, Christopher L. The ecophysiology of foliar anthocyanin. **The Botanical Review**, v. 69, n. 2, p. 149-161, 2003.

COHEN, Michael V. Free radicals in ischemic and reperfusion myocardial injury: is this the time for clinical trials?. **Annals of internal medicine**, v. 111, n. 11, p. 918-931, 1989.

COOK, N. C.; SAMMAN, St. Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 7, n. 2, p. 66-76, 1996.

CORREIA, Sandra I.; CANHOTO, Jorge M. Biotechnology of tamarillo (*Cyphomandra betacea*): From in vitro cloning to genetic transformation. **Scientia Horticulturae**, v. 148, p. 161-168, 2012.

COSTA, André Gustavo Vasconcelos et al. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red–black berries. **Journal of functional foods**, v. 5, n. 2, p. 539-549, 2013.

COSTA, Tainara; JORGE, Neuza. Compostos Bioativos Benéficos Presentes em Castanhas e Nozes. **Journal of Health Sciences**, v. 13, n. 3, 2015.

COVAS, María-Isabel. Olive oil and the cardiovascular system. **Pharmacological Research**, v. 55, n. 3, p. 175-186, 2007.

CRAIK, David J. et al. Structure and function of plant toxins (with emphasis on cystine knot toxins). **Journal of Toxicology: Toxin Reviews**, v. 21, n. 3, p. 229-271, 2002.

DA PAIXÃO, Clemliton Lima et al. Caracterização fisiológica e bioquímica de genótipos de girassol com tolerância diferenciada ao estresse hídrico. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 19, p. 2011-2022, 2014.

DEWICK, Paul M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. John Wiley e Sons, 2002.

DI MASCIO, Paolo; KAISER, Stephan; SIES, Helmut. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 274, n. 2, p. 532-538, 1989.

DISCHE, Zacharias. General color reactions. **Methods in carbohydrate chemistry**, v. 1, p. 478-512, 1962.

DUARTE-ALMEIDA, Joaquim Maurício et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

DURÁN, M. G.; MORENO ALVAREZ, M. J. Evaluación de algunas mezclas de solventes en la extracción de carotenoides del pericarpio de tamarillo (*Cyphomandra betacea* Sendt). **Cienc. Tecnol. Aliment.** Vol. 3, No. 1, pp. 34-38, 2000.

DURÁN, R. M.; PADILLA, R. Borja. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, v. 44, n. 2, p. 101-106, 1993.

DUTTA, Debjani; CHAUDHURI, Utpal Ray; CHAKRABORTY, Runu. Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 13, 2005.

EFRAIM, P.; ALVES, A. B.; JARDIM, D. C. P. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, p. 181-201, 2011.

EL-ABHAR, Hanan S.; SCHAALAN, Mona F. Phytotherapy in diabetes: review on potential mechanistic perspectives. **World J Diabetes**, v. 5, n. 2, p. 176-197, 2014.

ESPIN, Susana et al. Phenolic composition and antioxidant capacity of yellow and purple-red Ecuadorian cultivars of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.). **Food chemistry**, v. 194, p. 1073-1080, 2016.

EVERETTE, Jace D. et al. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin–Ciocalteu reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 14, p. 8139-8144, 2010.

FALCO, Anna De et al. ALZHEIMER'S DISEASE: ETIOLOGICAL HYPOTHESES AND TREATMENT PERSPECTIVES. Revista **Química Nova**, v. 39, n. 1, p. 63-80, 2016.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, Elisabet et al. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 438-450, 2012.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FONTANA, José D. et al. Carotenoides. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 13, p. 40-5, 2000.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. **Food Science**, v. 33, n. 1, p. 78-83, 1968.

GARCÍA, Adolfo Ávalos; CARRIL, Elena Pérez-Urria. Metabolismo secundario de plantas. **Reduca (Biología)**, v. 2, n. 3, 2011.

GAMBLE, Patricia E.; BURKE, John J. Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system I. Alterations in glutathione reductase activity. **Plant Physiology**, v. 76, n. 3, p. 615-621, 1984.

GANNASIN, S. P.; ADZAHA, N. M.; HAMZAH, M. Y.; MUSTAFA, S.; MUHAMMAD, K. Physicochemical properties of tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) hydrocolloid fractions. **Journal of Food Chemistry**, v. 182, p. 292-301, 2015.

GIL-CHÁVEZ, JG. et al. Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 1, p. 5-23, 2013.

GRAF, Brigitte A.; MILBURY, Paul E.; BLUMBERG, Jeffrey B. Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence. **Journal of medicinal food**, v. 8, n. 3, p. 281-290, 2005.

GRANT, Olga M. Understanding and Exploiting the Impact of Drought Stress on Plant Physiology. **Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability**, p. 89, 2012.

GREEN, Katherine; BRAND, Martin D.; MURPHY, Michael P. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. **Diabetes**, v. 53, n. suppl 1, p. S110-S118, 2004.

GÜLÇİN, İlhami. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of toxicology**, v. 86, n. 3, p. 345-391, 2012.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The chemistry of free radicals and related 'reactive species'. **Free radicals in biology and medicine**, v. 3, p. 1-7, 1999.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J. M. C. In: **Reactive species can be poisonous, in Free Radicals in Biology and Medicine**. 4th ed.. Oxford University Press; New York: 2007. p. 440-487.

HALVORSEN, Bente L. et al. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. **The Journal of nutrition**, v. 132, n. 3, p. 461-471, 2002.

HAMINIUK, Charles WI et al. Phenolic compounds in fruits—an overview. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 10, p. 2023-2044, 2012.

HE, J.; GIUSTI, M. M. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. **Annual Reviews Food Science and Technology**, v. 1, p. 163-187, 2010.

HUANG, Dejian; OU, Boxin; PRIOR, Ronald L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

HURTADO, Nelson H. et al. Colour, pH stability and antioxidant activity of anthocyanin rutinosides isolated from tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). **Food Chemistry**, v. 117, n. 1, p. 88-93, 2009.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Pesquisa a base de dados do INMET**. Disponível em: http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home/page&page=rede_estacoes_auto_graf> Acesso em 05 de janeiro de 2017.

IOANNONE, F. et al. Flavanols, proanthocyanidins and antioxidant activity changes during cocoa (*Theobroma cacao* L.) roasting as affected by temperature and time of processing. **Food chemistry**, v. 174, p. 256-262, 2015.

ISO 14502-1. Content of total polyphenols in tea – Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent. ISO: January, 2005. Disponível em: <http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=31356>. Acesso em 13 junho. 2016.

JACKMAN, ROBERT L.; YADA, RICKEY Y.; TUNG, MARVIN A. A review: separation and chemical properties of anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis. **Journal of Food Biochemistry**, v. 11, n. 4, p. 279-308, 1987.

JÁUREGUI, Ana María Muñoz et al. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. **Revista de la Sociedad Química del Perú**, v. 73, n. 3, p. 142-149, 2007.

JÁUREGUI, Ana María Muñoz et al. Evaluación de compuestos con actividad biológica en cáscara de camu camu (*Myrciaria dubia*), guinda (*Prunus serotina*), tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y carambola (*Averrhoa carambola* L.) cultivadas en Perú. **SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ**, v. 75, p. 431, 2009.

KADIR, Abdul et al. Comparison of antioxidant properties of tamarillo (*Cyphomandra betacea*), cherry tomato (*Solanumly copersicum* var. *cerasiform*) and tomato (*Lyopersicon esulentum*). **International Food Research Journal**, v. 21, n. 6, p. 2355-2362, 2014.

KAN, Tuncay et al. Phenolic compounds and vitamins in wild and cultivated apricot (*Prunus armeniaca* L.) fruits grown in irrigated and dry farming conditions. **Biological research**, v. 47, n. 1, p. 1, 2014.

KANG, Jie et al. Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. **Food Chemistry**, v. 128, n. 1, p. 152-157, 2011.

KARAKAYA, Sibel. Bioavailability of phenolic compounds. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 44, n. 6, p. 453-464, 2004.

KEDARE, Sagar B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of food science and technology**, v. 48, n. 4, p. 412-422, 2011.

KIM, Dae-Ok; JEONG, Seung Weon; LEE, Chang Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food chemistry**, v. 81, n. 3, p. 321-326, 2003.

KIM, Yuri A. et al. Lipophilicity of flavonoid complexes with iron (II) and their interaction with liposomes. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 431, n. 4, p. 680-685, 2013.

KONCZAK, Izabela; ZHANG, Wei. Anthocyanins—more than nature's colours. **BioMed Research International**, v. 2004, n. 5, p. 239-240, 2004.

KONDRATYUK, Tamara P.; PEZZUTO, John M. Natural product polyphenols of relevance to human health. **Pharmaceutical biology**, v. 42, n. sup1, p. 46-63, 2004.

KOU, Mei-Chun et al. Cythomandra betacea Sendt. phenolics protect LDL from oxidation and PC12 cells from oxidative stress. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 458-463, 2009.

KOURY, Josely Correa; DONANGELO, Carmen Marino. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 4, p. 433-441, 2003.

KRIMMEL, Birgit et al. OH-radical induced degradation of hydroxybenzoic-and hydroxycinnamic acids and formation of aromatic products—a gamma radiolysis study. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 79, n. 12, p. 1247-1254, 2010.

KUMAR, Senthil; SIVAKUMAR, M.; RUCKMANI, K. Microwave-assisted extraction of polysaccharides from Cythomandra betacea and its biological activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 682-693, 2016.

KUSKOSKI, E. Marta et al. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 24, n. 4, p. 691-693, 2004.

KUSKOSKI, E. Marta et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LESLIE, K. et al. Clinical and experimental aspects of viral myocarditis. **Clinical microbiology reviews**, v. 2, n. 2, p. 191-203, 1989.

LESSCHAEVE, I.; NOBLE, A. C. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 330-335, 2005.

LISTER, C. E. et al. The nutritional composition and health benefits of New Zealand tamarillos. **Crop e Food Research Confidential Report**, n. 1281, p. 29, 2005.

LÜ, Jian-Ming et al. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 14, n. 4, p. 840-860, 2010.

MABRY, Tom; MARKHAM, Kenneth R.; THOMAS, Michael Barrie. **The systematic identification of flavonoids**. Springer Science & Business Media, 2012.

MACIEL, M. A. M. et al. Estudo fitoquímico de folhas de Croton cajucara Benth e determinação da sua propriedade antioxidante. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 4, n. 02, p. 71-89, 2013.

MAFAKHERI, A. et al. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. **Australian journal of crop science**, v. 4, n. 8, p. 580, 2010.

MANDAL, Palash; GHOSAL, Mitali. Antioxidant Activities of Different Parts of Tree Tomato Fruit. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**. v. 13. n. 2. p. 39-47. 2012.

MARTIN, A. A.; GOYA, L.; RAMOS, S. Potential for preventive effects of cocoa and cocoa polyphenols in câncer. **Food and Chemical Toxicology**, v. 56, p. 336-351, 2013.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S. et al. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición hospitalaria**, v. 17, n. n06, 2002.

MERTZ, Christian et al. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 5, p. 381-387, 2009.

MERTZ, C. et al. Characterization and thermal lability of carotenoids and vitamin C of tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). **Food chemistry**, v. 119, n. 2, p. 653-659, 2010.

MILLER, Gail Lorenz. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MOON, Joon-Kwan; SHIBAMOTO, Takayuki. Antioxidant assays for plant and food components. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 5, p. 1655-1666, 2009.

MORETTI, Celso Luiz (Ed.). **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Embrapa Hortaliças, 2007.

MORGADO, Cristiane Maria Ascari et al. Conservação pós-colheita de goiabas' Kumagai': efeito do estágio de maturação e da temperatura de armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 1001-1008, 2010.

MORTON, J. Tree tomato: *Cyphomandra betacea* Sendt.; *Cyphomandra hartwegi* Sendt; *Solanum betaceum* Cav. **Fruits of warm climates**, Julia F. Morton, Miami, FL, p. 437-440, 1987.

MURTHY, KN Chidambara et al. Differential inhibition of human colon cancer cells by structurally similar flavonoids of citrus. **Food chemistry**, v. 132, n. 1, p. 27-34, 2012.

NAVROT, Nicolas et al. Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. **Physiologia Plantarum**, v. 129, n. 1, p. 185-195, 2007.

NENADIS, Nikolaos et al. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS+ assay. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 15, p. 4669-4674, 2004.

NORATTO, Giuliana D. et al. Polyphenolics from açai (*Euterpe oleracea* Mart.) and red muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) protect human umbilical vascular Endothelial cells

(HUVEC) from glucose-and lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and target microRNA-126. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 14, p. 7999-8012, 2011.

OJEDA, H. et al. Viticulture de précision et état hydrique. II: Comportement quantitatif et qualitatif de zones intraparcélaires définies à partir de la cartographie des potentiels hydriques. **Journées GESCO**, v. 24, p. 741-748, 2005.

OLIVEIRA, Alane Cabral de et al. Vegetals as natural sources of antioxidants. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

ORQUEDA, María Eugenia et al. Chemical and functional characterization of seed, pulp and skin powder from chilito (*Solanum betaceum*), an Argentine native fruit. Phenolic fractions affect key enzymes involved in metabolic syndrome and oxidative stress. **Food Chemistry**, v. 216, p. 70-79, 2017.

OSORIO, Coralía et al. Chemical characterisation of anthocyanins in tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) and Andes berry (*Rubus glaucus* Benth.) fruits. **Journal of Food chemistry**, v. 132, n. 4, p. 1915-1921, 2012.

OTHMAN, A.; ISMAIL, A.; GHANI, N. A.; ADENAN, I. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. **Journal of Food Chemistry**, v. 100, p. 1523-1530, 2007.

PAIVA, Sergio AR; RUSSELL, Robert M. β -Carotene and other carotenoids as antioxidants. **Journal of the American college of nutrition**, v. 18, n. 5, p. 426-433, 1999.

PALACE, Vince P. et al. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 5, p. 746-761, 1999.

PANDEY, Kanti Bhooshan; RIZVI, Syed Ibrahim. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2, n. 5, p. 270-278, 2009.

PANTOJA, LÍlian et al. Caracterização física e físico-química de frutos de duas variedades de tamarilho oriundas do Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 3, p. 916-919, 2009.

PERES, L.E.P. **Metabolismo Secundário**, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, v.1, p. 26, 2010.

PIETTA, Pier-Giorgio. Flavonoids as antioxidants. **Journal of natural products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.

PIMENTEL, Isabela Cardoso; MAGNONI, Carlos Daniel; COSTA, Rosana Perim. Utilização do azeite de oliva na prevenção e no tratamento das doenças cardiovasculares. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, v. 17, n. supl. A, p. 9-14, 2007.

PROCHÁZKOVÁ, D.; BOUŠOVÁ, I.; WILHELMOVÁ, N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. **Fitoterapia**, v. 82, n. 4, p. 513-523, 2011.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. S. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

RAHMAN, Khalid. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. **Clinical interventions in aging**, v. 2, n. 2, p. 219, 2007.

RAHMAN, Irfan; KODE, Aruna; BISWAS, Saibal K. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. **Nature protocols**, v. 1, n. 6, p. 3159-3165, 2006.

RAMALHO, Valéria Cristina; JORGE, Neuza. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755, 2006.

REIS, Luzia Caroline Ramos et al. Análise da composição nutricional e estabilidade de compostos fenólicos e antocianinas totais do guabijú. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 7, n. 1, p. 89-104, 2016.

RICE-EVANS, Catherine A.; MILLER, Nicholas J.; PAGANGA, George. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free radical biology and medicine**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

RODRIGO, Ramón; MIRANDA, Andrés; VERGARA, Leonardo. Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. **Clinica Chimica Acta**, v. 412, n. 5, p. 410-424, 2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, Delia B. et al. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington, DC: ILSI press, 2001.

ROSSO, Veridiana Vera; MERCADANTE, Adriana Z. HPLC–PDA–MS/MS of anthocyanins and carotenoids from dovyalis and tamarillo fruits. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 22, p. 9135-9141, 2007.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre (DPPH). **Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico**, 2007.

SAMMAN, S. et al. The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals. **Biological trace element research**, v. 66, n. 1-3, p. 227-235, 1998.

SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1094-1117, 2000.

SANTOS, Gerusa Matias et al. Atividade antioxidante e correlações com componentes bioativos de produtos comerciais de cupuaçu. **Ciência Rural**, v. 40, n. 7, p. 1636-1642, 2010.

SCHAFFER, Freya Q. et al. Comparing β -carotene, vitamin E and nitric oxide as membrane antioxidants. **Biological chemistry**, v. 383, n. 3-4, p. 671-681, 2002.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Journal of Food Chemistry**, v. 112, p. 654-658, 2009.

SCHNEIDER, Cláudia Dornelles; OLIVEIRA, Alvaro Reischak de. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista brasileira de medicina do esporte**, v. 10, n. 4, p. 308-313, 2004.

SCHOTSMANS, W. C. et al. Tamarillo (*Solanum betaceum* (Cav.)). **Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits. Volume 4: mangosteen to white sapote**, p. 427-441, 2011.

SCOTTI, Luciana et al. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n. 2, p. 3-12, 2007.

SENÔ, Kenji Claudio Augusto et al. DANOS CAUSADOS POR Meloidogyne javânica (TREUB 1885) Chitwood. **Nucleus**, v. 6, n. 2, 2010.

SHASHIREKHA, M. N.; MALLIKARJUNA, S. E.; RAJARATHNAM, S. Status of bioactive compounds in foods, with focus on fruits and vegetables. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 55, n. 10, p. 1324-1339, 2015.

SILVA, S. et al. Identification of flavonol glycosides in winemaking by-products by HPLC with different detectors and hyphenated with mass spectrometry. **Ciência e técnica vitivinícola**, v. 20, n. 1, p. 17-33, 2005.

SILVA, Andréa. Gomes da et al. Potencial nutritivo de polpa de mangostão (*Garcinia mangostana* L.) cultivado nos estados do Pará e Bahia, **Revista Magistra**, v. 22, n. 3-4, p. 178-184, 2010.

SILVA, Larissa Morais Ribeiro da et al. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, p. 398-404, 2014.

SINGLETON, Vernon L.; ROSSI, Joseph J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SINGLETON, Vernon L.; ORTHOFER, Rudolf R.; LAMUELA-RAVENTOS, Rosa R. M. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SMITH, D. F. Benefits of flavanol-rich cocoa-derived products for mental well-being: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 10-15, 2013.

SOARES, Marcia et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 59-64, 2008.

STALIKAS, C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. **Journal of Separation Science**, v. 30, p. 3268-3295, 2007.

STRINGHETA, P. C. **Identificação da estrutura estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beaw)**. Campinas, UNICAMP, 1991.138p. Tese (Doutorado em ciência de alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, 1991.

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

SUAREZ, M. H.; RODRIGUEZ, E. M. R.; ROMERO, C. D. Chemical composition of tomato (*Lycopersicon esculentum*) from Tenerife, the Canary Islands. **Journal of Food Chemistry**, v. 106, p. 1046-1056, 2008.

SULISTYOWATI; MISNAWI. Effects of alkali concentration and conching temperature on antioxidant activity and physical properties of chocolate. **International Food Research Journal**, v. 15, p. 297-304, 2008.

SZETO, Y. T.; KWOK, Timothy CY; BENZIE, Iris FF. Effects of a long-term vegetarian diet on biomarkers of antioxidant status and cardiovascular disease risk. **Nutrition**, v. 20, n. 10, p. 863-866, 2004.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. Fisiologia vegetal. In: **Fisiologia vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TANWAR, Beenu; MODGIL, Rajni. Flavonoids: Dietary occurrence and health benefits. **Spatula DD-Peer Reviewed Journal on Complementary Medicine and Drug Discovery**, v. 2, n. 1, p. 59-68, 2012.

TAPIERO, H. et al. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies?. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, n. 4, p. 200-207, 2002.

TEIXEIRA, Luciana Nascimento; STRINGHETA, Paulo César; OLIVEIRA, FA de. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, n. 4, p. 297-304, 2008.

TERCI, Daniela Brotto Lopes; ROSSI, Adriana Vitorino. Indicadores naturais de pH: Usar papel ou solução?. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 684-688, 2002.

UENOJO, Mariana; MAROSTICA, M. R.; PASTORE, Gláucia Maria. Carotenoides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 616, 2007.

VALLS, J.; MILLAN, S.; MARTI, M. P.; BORRAS, E.; AROLA, L. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. **Journal of Chromatography**, v. 1216, p. 7143-7172, 2009.

VAN DAM, Rob M.; NAIDOO, Nasheen; LANDBERG, Rikard. Dietary flavonoids and the development of type 2 diabetes and cardiovascular diseases: review of recent findings. **Current opinion in lipidology**, v. 24, n. 1, p. 25-33, 2013.

VASCO, Catalina et al. Physical and chemical characteristics of golden-yellow and purple-red varieties of tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. sup7, p. 278-288, 2009.

VASCONCELOS, Sandra Mary Lima; SILVA, Maria Alayde Mendonça da; GOULART, Marília Oliveira Fonseca. Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos

da dieta: estrutura e função. **Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr**, v. 31, n. 3, p. 95-118, 2006.

VERONEZI, Carolina Médici; JORGE, Neuza. Carotenoides em abóboras. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, p. 9-20, 2011.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, ACR; WEBER, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Embrapa Clima Temperado. Documentos**, 2010.

WANG, Hong; CAO, Guohua; PRIOR, Ronald L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 45, n. 2, p. 304-309, 1997.

WROLSTAD, Ronald E.; HEATHERBELL, David A. Identification of anthocyanins and distribution of flavonoids in tamarillo fruit (*Cyphomandra betaceae* (Cav.) Sendt.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 25, n. 10, p. 1221-1228, 1974.

YIN, Huiyong; XU, Libin; PORTER, Ned A. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. **Chemical reviews**, v. 111, n. 10, p. 5944-5972, 2011.

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

ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A. Flavonoides, In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosman, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6a ed., Porto Alegre/Florianópolis, RS/SC, Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 577-614.