



**ANA CLARA GARCIA GUIMARÃES**

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE TREZE  
FRUTOS DE ESPÉCIES DE OCORRÊNCIA NO  
CERRADO POR DIFERENTES  
METODOLOGIAS**

**LAVRAS – MG**

**2016**

**ANA CLARA GARCIA GUIMARÃES**

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE TREZE FRUTOS DE ESPÉCIES DE  
OCORRÊNCIA NO CERRADO POR DIFERENTES METODOLOGIAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de  
Lavras, como parte das exigências do Programa  
de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos,  
para a obtenção do título de Doutor.

Orientador  
Dr. Eduardo Valério de Barros Vilas Boas

**LAVRAS – MG**

**2016**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Guimarães, Ana Clara Garcia.

Potencial antioxidante de treze frutos de espécies de ocorrência  
no cerrado por diferentes metodologias / Ana Clara Garcia  
Guimarães. – 2016.

99 p.

Orientador: Eduardo Valério de Barros Vilas Boas.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2016.  
Bibliografia.

1. Fruto do Cerrado. 2. Compostos Bioativos. 3. Atividade  
Antioxidante. I. Vilas Boas, Eduardo Valério de Barros. II. Título.

**ANA CLARA GARCIA GUIMARÃES**

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE TREZE FRUTOS DE ESPÉCIES DE  
OCORRÊNCIA NO CERRADO POR DIFERENTES METODOLOGIAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 02 de dezembro de 2016.

Dr. Eduardo Valério de Barros Vilas Boas	UFLA
Dra. Elisângela Elena Nunes Carvalho	UFLA
Dra. Ellen Cristina de Souza	UFLA
Dr. Michel Cardoso de Angelis Pereira	UFLA
Dra. Ester Alice Ferreira	EPAMIG

Dr. Eduardo Valério de Barros Vilas Boas  
Orientador

**LAVRAS – MG**

**2016**

**DEDICO**

*Aos meus pais, Lúcia e César, que nunca mediram esforços  
para que eu realizasse meus sonhos.*

## **AGRADECIMENTOS**

*A Deus, pelas oportunidades que me concedeu e por ser minha fortaleza nos momentos difíceis.*

*Aos meus amados pais, Lúcia e César, pelo amor, por sempre acreditarem em mim e me incentivarem a realizar meus sonhos, oferecendo-me todas as oportunidades e ensinando-me o valor do estudo.*

*À minha irmã, Júlia, pela amizade e cumplicidade, por vibrar comigo em cada vitória e sempre me incentivar a seguir adiante.*

*Ao meu marido, Marcos, pelo amor, por sempre confiar no meu potencial e me incentivar a buscar meus sonhos. E por ser meu companheiro durante todo o percurso, essencial para o sucesso desta jornada.*

*Aos queridos Rosânia e Luíz, por serem sempre tão carinhosos e presentes, por me ajudaram de todas as formas para que este sonho pudesse se concretizar.*

*Aos meus queridos cunhados Dani, Natan, Júlia, Gustavo, Carol e Matheus, pela amizade, pelo carinho e pelo apoio durante esta jornada.*

*Ao meu orientador Eduardo, muito obrigada por tantos ensinamentos, pela orientação, por me apoiar nos diversos momentos em que precisei e pela confiança que sempre depositou em mim, permitindo que mais um passo pudesse ser dado na minha carreira acadêmica.*

*Às amigas Heloísa e Tina, que me acolheram e se dedicaram a me auxiliar com tanto carinho, desde o mestrado e durante todo o doutorado.*

*Às amigas Lidiany e Priscila, pela amizade, pela paciência e pela dedicação para a realização deste trabalho. A ajuda e a competência de vocês foram essenciais para conclusão desta etapa.*

*Aos queridos amigos do Laboratório de Pós-Colheita de Frutos e Hortaliças, Paulo, Mariana, Carol, Rita, Rafaela, Nathane, Paola, Ariela,*

*Carol, Ariela, Juliana, Isabela, Patrícia, Elídio, por compartilharem comigo as alegrias e angústias de ser um pós-graduando, pela ajuda nos momentos de trabalho e pelas risadas que tornavam tudo mais fácil.*

*À professora Elisângela, pela disponibilidade em me aconselhar e compartilhar comigo seus conhecimentos.*

*Ao professor Luíz José Rodrigues, por disponibilizar os frutos para a realização deste experimento.*

*Às professoras Dulce e Graça, e às amigas Adriana e Custódia, da Universidade do Algarve, que tornaram possível o sonho de realizar o doutorado sanduíche, compartilhando tantos conhecimentos comigo de forma tão generosa e amiga.*

*À colega Aline, pela ajuda na execução das análises cromatográficas.*

*À Central de Análises e Prospecção Química (CAPQ)/DQI, pela realização das análises cromatográficas.*

*À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.*

*À Universidade Federal de Lavras, pela acolhida e por disponibilizar a sua infraestrutura na realização deste trabalho.*

*E a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para execução do trabalho.*

## RESUMO GERAL

Os frutos do Cerrado vêm ganhando espaço no mercado nacional e internacional por serem potenciais fontes de antioxidantes. Atualmente, muitas técnicas têm sido propostas para avaliar a atividade antioxidante dos frutos, in vitro. Devido à complexidade química dos extratos das frutas, constituídos por compostos com diferentes grupos funcionais, polaridade e comportamento químico, recomenda-se a adoção de mais de um ensaio para determinar a atividade antioxidante. Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar detalhadamente o potencial antioxidante dos frutos do Cerrado, utilizando diferentes metodologias. Para isso 13 frutos do Cerrado brasileiro foram escolhidos: araçá-boi, bacaba, curriola, gabirola, mangaba, marmelada bola, marmelada espinho, marolo, murici, pequi, puçá amarelo, puçá preto e saborosa. A atividade antioxidante destes frutos foi determinada utilizando-se 6 diferentes métodos: DPPH, ABTS,  $\beta$ -caroteno / ácido linoléico, TBARS, Poder Redutor e Método Fosfomolibidênio. Os teores de compostos fenólicos e vitamina C foram determinados, bem como a identificação e quantificação de 12 compostos fenólicos. Os resultados revelaram que os frutos do Cerrado estudados são importantes veículos de vitamina C e compostos fenólicos. A gabirola destacou-se apresentando os maiores teores de fenólicos e vitamina C e também a maior atividade antioxidante para a maioria dos métodos. As metodologias puderam ser agrupadas de acordo a semelhança em seus princípios de avaliação da atividade antioxidante, formando os seguintes grupos: DPPH e ABTS,  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico e TBARS, Poder Redutor e Fosfomolibidênio. Os métodos antioxidantes utilizados revelaram a gabirola, a mangaba e o marolo como os frutos com maior potencial antioxidante.

Palavras-chave: frutos do Cerrado; metodologias antioxidantes; compostos fenólicos; vitamina C

## GENERAL ABSTRACT

The fruits of the Cerrado have been gaining ground in the national and international market because they are potential sources of antioxidant. Currently, many techniques have been proposed to evaluate the antioxidant activity of the fruits, in vitro. Due to the chemical complexity of fruit extracts, composed of compounds with different functional groups, polarity and chemical behavior, it is recommended to adopt more than one test to determine the antioxidant activity. Thus, the objective of this work was to characterize in detail the antioxidant potential of the fruits of the Cerrado, using different methodologies. This study used 13 fruits of the Cerrado brasileiro: araçá-boi, bacaba, curriola, gabirola, mangaba, marmelada bola, marmelada espinho, marolo, murici, peki, yellow puça, black puça and saborosa. The antioxidant activity of these fruits was determined using 6 different methods: DPPH, ABTS,  $\beta$ -carotene / linoleic acid, TBARS, Reducer Power and Fosfomolybdenum Method. The contents of phenol compounds and vitamin C were determined, as well as the identification and quantification of the 12 phenolic compounds. The analysis showed that the fruits of the Cerrado are important vehicles of vitamin C and phenolic compounds. The gabirola highlighted, displaying the highest levels of total phenolics and vitamin C, as well as antioxidant activity for most methods. The methods could be grouped according to similar principles in its assessment of antioxidant activity, forming the following groups: DPPH and ABTS,  $\beta$ -carotene / linoleic acid and TBARS, Reducing Power and Fosfomolybdenum Method. Antioxidants methods revealed gabirola, mangaba and marolo as the fruits with the highest potential to inhibit the action of free radicals.

Keywords: Cerrado fruits; antioxidant methodologies; phenolic compounds; vitamin C

## LISTA DE FIGURAS

### PRIMEIRA PARTE

Figura 1	(a) Reação de Haber-Weiss (b) Reação de Fenton (cobre ou ferro).....	32
Figura 2	Representação das etapas da peroxidação lipídica.....	33
Figura 3	Mecanismo de ataque das espécies reativas de oxigênio (EROs) a partir da redução do monoeletrônica do O <sub>2</sub> e os sistemas de defesa antioxidante.....	35
Figura 4	Transferência de átomos de hidrogênio.....	39
Figura 5	Transferência de elétrons.....	39
Figura 6	Reação do malonaldeído com o ácido tiobarbitúrico.....	40
Figura 7	Estrutura do β-caroteno (a) e do ácido linoleico (b).....	41
Figura 8	Estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.....	42
Figura 9	Estabilização do radical DPPH• por um antioxidante.....	43

### ARTIGO 1

Figura 1	Chromatogram of the standart phenolic compounds. Identification of the peaks: (1) gallic acid; (2) catechin; (3) chlorogenic acid; (4) caffeic acid; (5) vanillin; (6) p-coumaric acid; (7) ferulic acid; (8) trans-cinnamic acid; (9) m-coumaric acid; (10) o-coumaric acid; (11) quercetin; (12) rutin.....	71
Figura 2	Antioxidant activity using DPPH method.....	81
Figura 3	Antioxidant activity using ABTS method.....	83
Figura 4	Antioxidant activity using β-carotene/linoleic acid methd.....	84
Figura 5	Antioxidante activity by TBARs method.....	86
Figura 6	Antioxidant activity using Reducing Power method.....	88
Figura 7	Antioxidant activity by Fosfomolybdenum method.....	89
Figura 8	Graph biplot PC1xPC2: antioxidant activities equivalent to the BHT standard regarding the antioxidant methodologies employed (DPPH, ABTS, β-carotene, TBARs, Reducing Power and Fosfomolybdenum Method).....	90
Figura 9	Dendogram of antioxidant activity equivalent to the standard BHT of the 13 Cerrado fruits, for the employed methodologies antioxidant (DPPH, ABTS, β-carotene, TBARs, Reducing Power and Fosfomolybdenum Method).....	91
Figura 10	Dendogram of antioxidant methodologies employed	92

(DPPH, ABTS,  $\beta$ -carotene, TBARs, Reducing Power and Fosfomolybdenum Method) in relation the antioxidant activity equivalent to the standard BHT of 13 Cerrado fruits.....

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

Table 1	Identification and quantification of phenolic compounds of different fruits of the Cerrado.....	73
Table 2	Total phenolic contents found in thirteen Cerrado's fruits and comparison with the literature (mg.100g <sup>-1</sup> f.w.).....	75
Table 3	Quantification of ascorbic acid compounds of the thirteen cerrado fruits and comparison with the literature (mg. 100g <sup>-1</sup> f.w.).....	77
Table 4	Antioxidant activity of 13 fruits from Brazilian Cerrado using 6 methodologies: DPPH, ABTS, $\beta$ -caroten, TBARs, Reducing Power, Fosfomolybdenum Method (mg BHTEq.g <sup>-1</sup> f.w.).....	80

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE.....</b>	<b>14</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b>Os frutos do cerrado.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1.1</b>	<b>Araçá boi (<i>Eugenia stipitata</i>).....</b>	<b>17</b>
<b>2.1.2</b>	<b>Bacaba (<i>Oenocarpus bacaba</i> Mart.).....</b>	<b>19</b>
<b>2.1.3</b>	<b>Curriola [<i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radlk.].....</b>	<b>20</b>
<b>2.1.4</b>	<b>Gabiroba (<i>Campomanesia pubescens</i>).....</b>	<b>20</b>
<b>2.1.5</b>	<b>Mangaba (<i>Hanconia speciosa</i> Gomes).....</b>	<b>21</b>
<b>2.1.6</b>	<b>Marmelada bola (<i>Alibertia edulis</i>).....</b>	<b>22</b>
<b>2.1.7</b>	<b>Marmelada espinho (<i>Alibertia verrucosa</i>).....</b>	<b>23</b>
<b>2.1.8</b>	<b>Marolo (<i>Annona crassiflora</i> Mart.).....</b>	<b>23</b>
<b>2.1.9</b>	<b>Murici (<i>Byrsonima crassiflora</i> L.).....</b>	<b>25</b>
<b>2.1.10</b>	<b>Pequi (<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.).....</b>	<b>26</b>
<b>2.1.11</b>	<b>Puçá amarelo (<i>Mouriri elliptica</i> Mart.).....</b>	<b>27</b>
<b>2.1.12</b>	<b>Puçá preto (<i>Mouriri pusa</i> Gardner).....</b>	<b>28</b>
<b>2.1.13</b>	<b>Saborosa (<i>Selenicereus setaceus</i> Rizz.).....</b>	<b>29</b>
<b>2.3</b>	<b>Antioxidantes.....</b>	<b>30</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Radicais livres.....</b>	<b>30</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Antioxidantes Naturais.....</b>	<b>35</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Métodos de Análise Antioxidante.....</b>	<b>38</b>
<b>2.3.3.1</b>	<b>TBARS.....</b>	<b>40</b>
<b>2.3.3.2</b>	<b><math>\beta</math>-caroteno / Ácido linoleico.....</b>	<b>41</b>
<b>2.3.3.3</b>	<b>ABTS.....</b>	<b>41</b>
<b>2.3.3.4</b>	<b>DPPH.....</b>	<b>43</b>
<b>2.3.3.5</b>	<b>Fosfomolibdênio.....</b>	<b>44</b>

2.3.3.6	<b>Poder Redutor.....</b>	44
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	45
	<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGO.....</b>	60
	<b>ARTIGO 1 : Antioxidant potencial and bioactive compounds</b>	61
	<b>of thirteen species of exotic fruits from brazilian cerrado.....</b>	
1	<b>INTRODUCTION.....</b>	63
2	<b>MATERIALS AND METHODS.....</b>	65
2.1	<b>Fruit material and experimentation.....</b>	65
2.2	<b>Analytical procedure.....</b>	66
2.2.1	<b>Identification of phenolic compounds.....</b>	66
2.2.2	<b>Total phenolic compounds.....</b>	66
2.2.3	<b>Ascorbic acid.....</b>	66
2.2.4	<b>Antioxidant capacity (AOC).....</b>	67
2.2.4.1	<b>DPPH (free radical-scavenging) assay.....</b>	67
2.2.4.2	<b>β-Carotene/Linoleic Acid Bleaching Method.....</b>	67
2.2.4.3	<b>ABTS.....</b>	68
2.2.4.4	<b>TBARS.....</b>	69
2.2.4.5	<b>Fosfomolybdenum complex formation assay.....</b>	69
2.2.4.6	<b>Reducing power.....</b>	70
2.3.5	<b>Statistical analysis.....</b>	70
3	<b>RESULTS AND DISCUSSIONS.....</b>	71
4	<b>CONCLUSIONS.....</b>	93
	<b>REFERENCES.....</b>	94

**PRIMEIRA PARTE**

## 1 INTRODUÇÃO

Vivemos hoje em uma sociedade que busca a cada dia uma vida mais saudável, com mais exercício físico e hábitos alimentares que possam promover a saúde. A adoção de uma nova alimentação visa ao consumo de alimentos que, além de nutrir, possuem em sua constituição substâncias que apresentem potencial funcional.

As frutas são alimentos que desempenham esse papel funcional, pois são ricas em compostos bioativos, como as vitaminas C e E, os fenólicos e o  $\beta$ -caroteno. Tais substâncias atuam como potentes antioxidantes, minimizando os efeitos dos radicais livres e protegendo o organismo de processos oxidativos que desencadeiam diversas doenças crônicas não transmissíveis, como câncer, diabetes, doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, entre outras que acometem a nossa sociedade.

O Brasil possui uma ampla variedade de frutas nativas e selvagens, não cultivadas comercialmente, que são excelentes fontes de compostos bioativos. A flora do Cerrado tem diversas espécies frutíferas com grande potencial de utilização agrícola, que são tradicionalmente utilizadas pela população local. Os frutos do Cerrado apresentam sabores exóticos e peculiares, de grande aceitação regional, o que confere a eles um grande potencial econômico, no mercado nacional e internacional. Estudos já realizados revelam que esses frutos têm grande potencial nutricional e funcional; entretanto, estudos mais profundos ainda são necessários para melhor caracterização e elucidação dos seus benefícios à saúde.

Entre as diversas espécies frutíferas nativas do Cerrado, foram selecionadas para este trabalho as seguintes, visando-se seus frutos: arará-boi (*Eugenia stipitata*), bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.), curriola [*Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk.], gabioba (*Campomanesia pubescens*), mangaba

(*Harconia speciosa* Gomes), marmelada-bola (*Alibertia edulis*), marmelada-espino (*Alibertia verrucosa*), marolo (*Annona crassiflora* Mart.), murici (*Byrsonima crassiflora* L. Rich), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), puçá-amarelo (*Mouriri elliptica* Gardner), puçá-preto (*Mouriri pusa* Gardner) e saborosa (*Selenicereus setaceus* Rizz.).

Atualmente, muitas técnicas têm sido propostas para avaliar a atividade antioxidante dos frutos, *in vitro*. Devido à complexidade química dos extratos das frutas, constituídos por compostos com diferentes grupos funcionais, polaridade e comportamento químico, recomenda-se a adoção de mais de um ensaio para determinar a atividade antioxidante. Assim, objetivou-se, no presente trabalho, determinar a atividade antioxidante de frutos de 13 espécies de ocorrência no cerrado, por meio de seis diferentes técnicas (ABTS, DPPH,  $\beta$ -caroteno Ácido Linoleico, TBARs, Poder Redutor, Fosfomolibdênio), bem como fenólicos e vitamina C.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Os frutos do cerrado**

O Cerrado abrange mais de 204 milhões de hectares na parte central do Brasil, sendo a mais rica savana tropical do mundo em termos de biodiversidade e o segundo bioma mais extenso da América do Sul (SANO et al., 2010) .

A flora do Cerrado possui diversas espécies frutíferas com grande potencial de utilização agrícola, que são tradicionalmente utilizadas pela população local através do consumo *in natura* ou processadas na forma de sucos, licores, sorvetes, geleias e doces (SILVA et al., 2008). Entretanto, tais frutos vêm ganhando popularidade nos supermercados devido ao seu valor nutricional e terapêutico, e também devido aos seus sabores peculiares e cores variadas (CLERICI & CARVALHO-SILVA, 2011; OLIVEIRA et al., 2006; RUFINO et al., 2010).

Embora a flora do Cerrado seja rica em espécies que contêm vários compostos químicos com atividade biológica, em geral, ele ainda é subutilizado e sua área diminuiu ao longo do tempo (BAILÃO et al., 2015). Diante disso, fazem-se necessárias pesquisas que identifiquem de forma detalhada os compostos presentes nesses alimentos, fornecendo dados que permitam a valorização desses frutos e sua melhor utilização.

A seguir, serão apresentados, em ordem alfabética, os frutos do cerrado que foram alvos do presente estudo.

#### **2.1.1 Araçá-boi (*Eugenia stipitata*)**

O araçá-boi é um fruto da Amazônia Ocidental, também encontrada no cerrado brasileiro, e usualmente cultivado no Brasil, Peru e Bolívia.

Esse fruto pertencente à família das Mirtaceas, tem formato arredondado, com aproximadamente 12 cm de diâmetro e casca amarela. A porção comestível é uma polpa branca cremosa que apresenta sabor ácido e devido à sua alta porcentagem de polpa e às suas características de aroma e sabor, o araçá-boi pode ser utilizado para produção de sucos, sorvetes e sobremesas (FRANCO & SHIBAMOTO, 2000).

A espécie apresenta potencial para conquistar um lugar de destaque no mercado nacional e internacional, principalmente como refresco natural, podendo ainda ser comercializada como polpa congelada ou suco engarrafado (INPA, 2015).

Canuto et al. (2010), caracterizando o araçá-boi, observaram que essa fruta apresenta 90% de umidade, 0,3% de lipídio, 4,5°Brix, 4 pH, acidez titulável de 1,8 mg de ácido cítrico/ 100g de polpa e teor de vitamina C de 0,2 mg/ 100g f.w. Em estudos realizados por Rogez et al. (2004), observou-se que a polpa apresenta apenas 4% de matéria seca, sendo portanto muito succulenta. O araçá-boi apresentou 11,9% de proteína e perfil de aminoácidos relativamente próximo ao perfil ideal de proteínas para humanos. O teor de lipídios esteve abaixo do limite de detecção e o total de açúcares solúveis representou cerca de 50% da massa seca, sendo a frutose o açúcar que prevaleceu.

Segundo estudos realizados por Genovese et al. (2008), o araçá-boi apresenta teor de vitamina C de 9,5 mg/ 100g f.w., total de fenólicos de 87 mg/ 100g f.w. e atividade antioxidante de 1,80  $\mu\text{mol}$  Trolox eq. /g f.w. pelo método DPPH e de 0,31  $\mu\text{mol}$  Trolox eq. /g f.w. pelo método  $\beta$ -caroteno/ác. linoléico.

### **2.1.2 Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.)**

A bacabeira é uma palmeira encontrada nos biomas Amazônia e Cerrado (BRUM et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2009), conhecida por produzir mais frutos que as outras palmeiras da Amazônia.

O fruto é uma baga globosa, fibrosa, com até 2,5 cm de diâmetro, de cor vermelho-acinzentada ou azul-acinzentada, contendo uma polpa delgada, oleaginosa e comestível, com cerca de 14% de óleo, rico em alfatocoferol e beta-sitosterol; a semente possui o endocarpo duro e fibroso (LUBRANO et al., 1994; POZO-INSFRAN et al., 2004; NASCIMENTO et al., 2009). Geralmente é consumido como suco natural ou processado em polpas, geleias, sorvetes e bebidas fermentadas (BERNAL et al., 1991; FINCO et al., 2012).

Canuto et al. (2010), estudando a caracterização físico-química da bacaba, identificaram que ela apresenta 87,6% de umidade, 7,4% de lipídios, 2 °Brix, 5,3 pH, acidez titulável de 0,1mg ácido cítrico/100g de polpa e 0,9 mg de ácido ascórbico/ 100g f.w.

Finco et al. (2012) identificaram que a bacaba contém compostos fenólicos (1759,27 mg GAE/100g), flavonoides (1134,32 CTE/100g) e antocianinas (34,69 mg cyn-3-glc/100g), apresentando atividade antioxidante considerável, se comparada ao açaí, amora-preta, mirtilo, cranberry, tâmaras, goiaba, framboesa, ginja e nozes.

Dos Santos et al. (2015) encontraram na polpa da bacaba um teor de umidade de 42%, 30 mg/100g de ácido ascórbico, 81 mg/100g de antocianinas, 36 mg/100g de flavonóides amarelos e 0,7 mg/100g de carotenóides.

### 2.1.3 Curriola [*Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk.]

A *Pouteria ramiflora* está entre as principais espécies do Cerrado do Centro-Oeste brasileiro, ocorrendo também no sul do Brasil, estendendo ao norte e oeste da Amazônia à Bolívia (VIEIRA et al., 2006; GAMA et al., 2011). Pertencente à família Sapotaceae, sua árvore mede cerca de 10 metros de altura e produz cerca de 10 a 400 frutos (SILVA et al., 2001).

Os frutos de curriola são do tipo baga, com casca de coloração verde, mesmo quando madura, envolvendo uma polpa branca. Geralmente apresentam formato piriforme e uma semente única envolvida por uma polpa doce, mas podem apresentar de 1 a 3 sementes (SILVA JÚNIOR., 2005).

Morzelle et al. (2015) identificaram que a casca e a semente corresponderam a 56,68% do peso total do fruto, sendo a porção comestível, constituída pela polpa do fruto, apresentou peso médio de 13,59 g, totalizando rendimento de 43,32%.

A curriola apresenta pH próximo do neutro (5,93), 11,83 °Brix, 0,12% de acidez titulável, 50,99 mg/100g de vitamina C e atividade antioxidante pelo método do DPPH, de 13,69 mg DPPH/g de fruto (MORZELLE et al., 2015).

### 2.1.4 Gabiroba (*Campomanesia pubescens*)

A espécie *Campomanesia pubescens* é conhecida popularmente como gabirobeira, embora seus frutos possam receber diversos nomes populares como: gabiroba, guabiroba-do-mato, guabiroba-miuda, gabirova e guavira (UNIVERSIDADE DO ESTADO DE GOIÁS, 2010).

A gabiroba, pertencente à família Myrtaceae, é uma espécie nativa do Brasil, encontrada amplamente no Cerrado das regiões Sudeste e Centro-Oeste, bem como em outros países da América do Sul, como Argentina, Uruguai e

Paraguai. É um arbusto que pode atingir 60-80 cm de altura e normalmente ocorre em moitas e sua frutificação ocorre de setembro a outubro. O fruto apresenta sabor adocicado e é apreciado *in natura*, com propriedades levemente laxativas, podendo ser utilizado para a confecção de geleias, sorvetes, sucos, doces, pudins, licores, batidas ou curtidos na cachaça. As folhas e cascas do caule são utilizadas na medicina popular na forma de decocto ou infusão, no combate a afecções do aparelho urinário e na diarreia, sendo conferida ação adstringente (ALMEIDA et al., 1998; RODRIGUES & CARVALHO, 2001; SILVA et al., 2009; DOUSSEAU et al., 2011).

Os frutos são bagas, de cor verde-amarelada ou branco-amarelada, 10-20 mm de diâmetro. As sementes, 1-5 reniformes, alaranjadas, verrugosas, com 5 x 5 mm (UEG, 2010; USP, 2005). Segundo Silva et al. (2009), as gabirobas apresentaram um comportamento respiratório típico de frutos climatéricos.

Morzelle et al. (2015) confirmaram a gabiroba como uma excelente fonte de vitamina C (383,33 mg/100g), assim como já tinha relatado Silva et al. (2009). A gabiroba também apresentou elevado potencial antioxidante (49,00 mg DPPH/ g fruto), que pode estar relacionado ao seu elevado teor de vitamina C, além de outros compostos antioxidantes como os compostos fenólicos.

### **2.1.5 Mangaba (*Hanconia speciosa* Gomes)**

A mangabeira é uma planta perenifólia de clima tropical, ocorrendo, sobretudo, em áreas de vegetação aberta. Sua inflorescência possui de 1 a 7 flores perfumadas e de coloração branca (SOARES et al., 2006). Na região dos cerrados, a mangabeira normalmente floresce durante o período de agosto a novembro, com pico em outubro (DOS SANTOS et al., 2007).

A palavra mangaba é de origem tupi-guarani e significa “coisa boa de comer” (EPSTEIN, 2004; SILVA JÚNIOR, 2004). Algumas variantes do nome

mangaba são também usadas no Brasil, como mangariba, mangareíba, mangava, mangaúva e manguba.

A fruta é muito aromática, macia e doce, com uma polpa ácida. Além disso, ela tem um formato pequeno e variável, e é geralmente elipsoidal ou arredondada, pesando em torno de 25g. O exocarpo é amarelo ou verde, com ou sem pigmentos vermelhos (BARROS et al., 2006; CLERICI & CARVALHO-SILVA, 2011; DE LIMA et al., 2015a).

A mangaba é um fruto climatérico (DE LIMA, 2015c), rica em ácido ascórbico, 96,3 mg/100 g.f.w. (ALMEIDA et al., 2011), e em outros elementos essenciais da dieta, como cálcio, zinco e ferro (SILVA et al., 2008) e carotenoides (RUFINO et al., 2010).

Alguns estudos mostraram também que a mangaba se destaca devido ao seu alto teor de compostos fenólicos, 169 mg GAE/100 g fresh weight (f.w.) (RUFINO et al., 2010) e 172 mg GAE/100 g f.w. (RUFINO et al., 2009). Quanto ao perfil de voláteis, em estudos realizados por De Lima et al. (2015b), foi possível identificar 36 compostos, sendo 25% álcoois, 25% aldeídos, 19% terpenos, 9% ésteres e 3% cetonas.

De Lima et al. (2015a), avaliando o efeito antimutagênico da mangaba *in vivo*, fornecem evidências científicas para o potencial antimutagênico dessa fruta e enfatiza seu potencial como alimento funcional com aplicabilidade generalizada na indústria de alimentos.

#### **2.1.6 Marmelada-bola (*Alibertia edulis*)**

A marmelada-bola é um fruto nativo do cerrado, pertencente à família Rubiaceae. É uma planta com copa irregular, fruto baga de polpa carnosa e apresenta grande quantidade de sementes (LORENZI, 2009).

*Alibertia edulis* é uma espécie com características alimentícia e medicinal, muito frequente também na região amazônica (RODRIGUES; CARVALHO, 2001), comumente relatada em sub-bosque de florestas ciliares das Regiões Sudeste e Centro-Oeste (RODRIGUES et al., 2010). É utilizada como antisséptica, anti nociceptiva, antiviral, anti-inflamatória, adstringente e diurética, possuindo compostos triterpenos e alcaloides (SANTOS et al., 2015).

Esse fruto do cerrado é encontrado, principalmente, no Mato Grosso, onde é consumido normalmente *in natura*, principalmente no período da seca (LOUREIRO & MACEDO, 2000).

#### **2.1.7 Marmelada-espinho (*Alibertia verrucosa*)**

*Alibertia verrucosa* é uma planta nativa do cerrado, pertencente à família Rubiaceae, encontrada principalmente no Mato Grosso, onde é muito consumida, normalmente, *in natura*, no período chuvoso (LOUREIRO & MACEDO, 2000).

Os frutos são globulosos, com mesocarpo carnoso e muitas sementes e casca com protuberâncias.

Embora com grande potencial nutricional, funcional e sensorial, a marmelada espinho ainda não foi explorada cientificamente, fazendo-se necessários novos estudos, a fim de caracterizá-la.

#### **2.1.8 Marolo (*Annona crassiflora* Mart.)**

O marolo (*Annona crassiflora* Mart) é uma fruta típica dos Cerrados, Cerradões, Cerrado Denso, Cerrado Ralo e Campo Rupestre, possuindo ocorrência nos estados da Bahia, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Geais, Pará, São Paulo e Tocantins

(ALMEIDA, 1998). Pertencente à família Anonaceae, seus frutos são muito apreciados pelo aroma peculiar e sabor intenso.

A planta é arbórea, com altura de 4 a 8m e diâmetro de até 4m. O tronco é tortuoso, revestido por uma casca áspera, resistente ao fogo. Floresce, geralmente, entre os meses de outubro a novembro, e as flores são solitárias ou agrupadas, com pétalas engrossadas e carnosas de coloração verde-amarelada e sedosas (SILVA et al., 1994).

O fruto, popularmente conhecido como marolo, araticum e cabeça-de-negro, é do tipo baga subglobosa, de cor verde quando a fruta está em desenvolvimento e marrom quando maduro (LORENZI, 2002). A polpa é levemente adocicada e de aroma agradável, podendo variar sua cor de branco ao amarelo. O fruto pesa de 0,5kg a 5kg, contendo de 60 a 190 gomos, em forma de cone, podendo possuir, em seu interior uma semente.

A frutificação tem início em novembro, no entanto, o amadurecimento pleno ocorre entre janeiro e abril. Em média, a produção é de 5 a 20 frutos por planta, podendo alcançar até 40 frutos, que despulpados rendem de 50 a 60% de polpa. Essa pode ser consumida *in natura*, ou utilizada para produção de doces e bebidas, que possuem o sabor característico da polpa (DAMIANI, 2009). Alguns estudos já têm apontado o sucesso da utilização do marolo em geleias (DAMIANI et al., 2012) e iogurtes (DELLA LUCIA et al., 2013) e barras alimentícias (SILVA et al., 2016).

O marolo apresenta níveis elevados de vitamina C e beta-caroteno, substâncias que atuam como poderosos antioxidantes (SILVA et al., 2013). Segundo estudo realizados por Damiani et al. (2011), o marolo tem 1,99% de proteína, 2,36% de lipídio e 24,55% de carboidratos totais. Seu mineral predominante é o magnésio ( $350 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e o ácido Málico é o ácido orgânico predominante ( $76.68 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$ ).

### 2.1.9 Murici (*Byrsonima crassiflora* L.)

O muricizeiro (*Byrsonima crassiflora* L.) é uma árvore tropical da família das Malpighiaceae comumente distribuída em várias regiões da América Central e do Sul (MARTINEZ-VÁSQUEZ, 1999). No Brasil, o murici é encontrado, principalmente, nas Regiões Norte e Nordeste. Devido ao seu sabor e aroma, seus frutos são muito apreciados pelas populações locais, sendo consumidos ao natural e na forma de sucos, sorvetes, vinhos, doces e licores (FRANCO & JANZANTTI, 2003). Suas folhas e cascas têm sido usadas na medicina popular desde o período pré-colombiano por vários grupos étnicos para o tratamento de tosse, doenças gastrointestinais, infecções na pele e picada de cobra (MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, 1999).

O murici é um fruto do tipo drupa, com mesocarpo carnoso e fino. Apresenta a casca e a polpa suculenta, com uma coloração amarela intensa e sabor adocicado quando maduro (ALMEIDA et al., 1998; LORENZI, 2009). O fruto apresenta elevado rendimento, como mostram os estudos realizados por Morzelle et al.(2015), sendo o rendimento da polpa comestível do fruto, que corresponde à casca e à polpa, de aproximadamente 75,99%. Gusmão et al. (2006) encontraram valores semelhantes (73,63%).

Morzele et al.(2015) relataram também que o murici apresentou uma quantidade considerável de pectina (746,81 mg/100g), lipídeos (2,31%) e um expressivo teor de vitamina C ( 92,59 mg/100g .w.) e potencial antioxidante (56 mg DPPH/g fruto). Entre os frutos analisados, o murici apresentou o maior teor de pectina, sendo em sua maioria pectina insolúvel. Esses dados indicam sua potencial aplicabilidade na elaboração de geleias e sucos. Rufino et al. (2009) descrevem teores altos de ácido ascórbico para murici (148 mg/100 g, respectivamente).

Entretanto, Canuto et al. (2010) identificaram que o murici apresenta elevada umidade (92,8%), baixo teor de lipídios (0,6%), baixos teores de vitamina C (0,3mg/100g f.w.) e de compostos fenólicos (0,6 mmol/L de ác. gálico) e baixa atividade antioxidante pelo método de TEAC (1,5  $\mu$ mol/L de trolox). Barreto et al. (2009) também relataram teores de ácido ascórbico para polpa de murici inferior a 1mg/100g (0,4 mg/100g).

#### **2.1.10 Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**

O pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) é uma espécie arbórea pertencente à família Caryocaraceae, que pode alcançar 10 metros de altura (BARRADAS, 1972; ARAÚJO, 1994). Essa espécie é amplamente difundida no cerrado brasileiro. É encontrado em uma vasta área que inclui os estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Tocantins, Bahia, Pará, Piauí e Ceará (ALMEIDA & SILVA, 1994). Ela desempenha um papel importante na vida das pessoas daquela região, tanto economicamente, com a venda de frutas frescas, como para o consumo local (RODRIGUES et al., 2015).

O fruto, o pequi, é globoso, tipo drupa, formado pelo epicarpo verde e mesocarpo externo, de coloração esbranquiçada, que cobrem de um a quatro pirênios, conhecidos como caroços. O mesocarpo interno, a porção mais comumente utilizada como alimento, é amarelada e rica em óleos, beta-caroteno, vitamina C e fibras, e se confunde, especialmente, com o endocarpo espinhoso. No interior de cada pirênio, encontra-se uma semente, que pode ser consumida como as castanhas e amêndoas (ALMEIDA et al., 1998, VILAS BOAS, 2004; RODRIGUES et al., 2012).

O pequi é um fruto não climatérico (RODRIGUES et al., 2015) e se destaca por sua cor, aroma e sabor, e por conter diversos nutrientes,

principalmente em seu mesocarpo, que é rico em lipídios, vitaminas e proteínas (VIEIRA & MARTINS, 2000). Segundo estudos realizados por Rodrigues et al. (2009), o pequi é rico em energia, proteínas, fibras, minerais e vitaminas, especialmente vitamina C (105mg /100g f.w.) e  $\beta$ -caroteno (2000 I.U.).

Roesler et al. (2008), utilizando electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS), identificaram potentes antioxidantes na polpa de pequi, como ácido gálico, ácido quínico, quercetina e quercetina 3-O-arabinose.

O pequi tem um sabor característico, tornando-se uma especiaria valorizada na cozinha regional. O sabor de alguns frutos do Cerrado é devido a uma combinação das moléculas voláteis presentes nos óleos essenciais desses frutos, como hidrocarbonetos, ácidos orgânicos e terpenoides, que foram identificados no óleo essencial de pequi (GEÖCZE et al., 2013).

#### **2.1.11 Puçá-amarelo (*Mouriri elliptica* Mart.)**

*Mouriri elliptica* Mart é uma espécie pertencente à família Melastomataceae, encontrada nos estados de Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Essa planta é característica do Cerrado e Cerradão, atinge de 4 a 6 m de altura e sua frutificação ocorre entre setembro e dezembro (DA SILVA et al., 2001).

O puçá-amarelo também é popularmente conhecido como coroa-de-frade, croadinha ou apenas puçá. A fruta madura é doce e rica em diversos compostos antioxidantes, como antocianinas, carotenoides, flavonoides e vitamina C. É geralmente consumida *in natura* ou na forma de geleias. (DA SILVA et al., 2001; RUFINO et al., 2010; RUFINO et al., 2011)

Os extratos do puçá-amarelo apresentaram efeito protetor contra a *Helicobacter pylori*, microrganismo que causa sérios problemas gastrontestinais. Os efeitos têm sido atribuídos aos compostos fenólicos nas formas de

flavonoides e taninos identificados nas folhas dessa planta (MOLEIRO et al., 2009; VASCONCELOS et al., 2010).

#### **2.1.12 Puçá-preto (*Mouriri pusa* Gardner)**

*Mouriri Pusa* é uma pequena árvore (5-7 m) da região Cerrado brasileiro, e seu fruto é popularmente conhecido como "jabuticaba do mato", "manapuça" ou "moroso-cigano". O chá feito usando suas folhas é comumente usado na medicina popular para o tratamento de gastrite e úlceras (TAYLOR e BLASER, 1991; GROB, 2003).

Borges (2011) caracterizou o puçá preto, ao longo de seu desenvolvimento, que foi marcado pela degradação de clorofila, com consequente perda da coloração verde, aumento do teor de carotenoides, com aparecimento da coloração amarela na polpa, escurecimento da casca, aumento dos açúcares e amaciamento do fruto, sendo o amadurecimento a fase de modificações mais intensas. Também foi observada a redução nos compostos centesimais, vitamina C, fenólicos e minerais, exceto potássio e enxofre. O puçá-preto pode ser considerado, de acordo com Borges (2011), uma fonte potencial de vitamina C e fenólicos, podendo contribuir para a ingestão diária de minerais, principalmente magnésio.

Silva et al. (2008) caracterizaram o puçá-preto e identificaram que esse fruto apresenta 34,15 kcal/100g, 85,13% de umidade, 1,02% de proteína, 0,31% de lipídio, 6,64% de carboidratos, 6,05% de fibra alimentar.

Rufino et al. (2010) identificaram que o puçá-amarelo apresenta 28,9 mg/100g f.w. de vitamina C e 103 mg/100g f. w. de antocianinas totais.

Ensaio biológicos feitos em ratos com extratos dessas folhas demonstraram atividade antiúlceras gástrica, sendo esse efeito relacionado com o aumento do mecanismo de defesa da mucosa gastrointestinal contra fatores

agressivos e os principais compostos envolvidos foram taninos, catequinas e flavonoides, indicando a necessidade de mais estudos do potencial para utilização fitoterápica (VASCONCELOS et al., 2008; ANDREO et al., 2006).

### **2.2.13 Saborosa (*Selenicereus setaceus* Rizz.)**

A saborosa, também chamada de pitaya, é uma fruta pertencente à família Cactaceae, sendo conhecida mundialmente como “Fruta-do-Dragão”. Há várias espécies denominadas “pitayas”, entre as quais podem ser citadas *Hylocereus undatus* (pitaya-vermelha-de-polpa-branca), *H. costaricensis* (pitaya-vermelha-de-polpa-vermelha), *Selenicereus megalanthus* (pitaya-amarela) e *S. setaceus* (pitaya-do-cerrado). De acordo com a espécie, seus frutos podem apresentar características diversificadas, como diferentes formatos, presença de espinhos, cor da casca e da polpa refletindo alta variabilidade genética (JUNQUEIRA et al., 2010).

As pitayas do Cerrado, também conhecidas como Saborosa, vegetam naturalmente sobre maciços rochosos de arenito ou quartzito, troncos de árvores e em solos arenosos de campos rupestres dos Cerrados de Minas Gerais, Bahia, Goiás, Distrito Federal e Tocantins. Há relatos de sua ocorrência também em áreas de restinga na Bahia e Rio de Janeiro (JUNQUEIRA et al., 2002).

A planta é uma espécie epífita, com raízes aéreas, fibrosas e abundantes, com capacidade de desenvolver numerosas raízes adventícias que ajudam na fixação e na obtenção dos nutrientes (RODRIGUES, 2010). O fruto é avermelhado, tendendo para o roxo (vermelho rubi), com polpa branca, succulenta, e com pequenas sementes negras comestíveis. A polpa da saborosa apresenta quantidade considerável de vitamina C e compostos fenólicos, entretanto, mais estudos devem ser realizados. A acidez da polpa de pitaya nativa é baixa, sendo o ácido málico o ácido orgânico majoritário (RODRIGUES,

2010; TORRES et al., 2009). As sementes são negras, obovadas, de 2-3 mm de largura, em grande quantidade e com elevada capacidade de germinação (ORTIZ, 2000).

As pitayas vêm se destacando no mercado de frutas exóticas, por seu sabor doce e suave, sua polpa firme e repleta de sementes e suas propriedades nutricionais e funcionais, tornando-se um fruto de grande aceitação e valorização nos mercados consumidores, o que tem despertado o interesse dos produtores. O alto valor pago pela fruta, dependendo da espécie, época do ano e da demanda, constitui um grande atrativo para o cultivo comercial dessa frutífera (JUNQUEIRA et al., 2002)

Essa fruta é nutritiva e com grande variedade de uso, com a polpa constituindo 70-80% do fruto. Pode ser consumida *in natura*, ou na forma de produtos industrializados, como sorvetes, geleias, sucos, caldas e doces (GUNASENA et al., 2007). A casca do fruto pode ser utilizada como agente espessante em cremes hidratantes ou como corante natural em bebidas (HARIVAINDARAM et al., 2008; STINTZING et al., 2002).

Atualmente, a Região Sudeste do Brasil é a principal produtora do país, onde a cultura da pitáia se aclimatou muito bem, com produção de frutos nos meses de dezembro a maio, e produtividade média anual de 14 toneladas de frutos por hectare (BASTOS et al., 2006).

## **2.3 Antioxidantes**

### **2.3.1 Radicais livres**

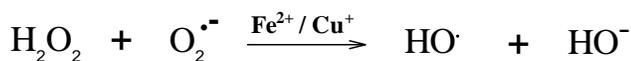
O interesse pelo estudo das substâncias antioxidantes e por radicais livres tem se intensificado a cada dia, principalmente após as descobertas dos efeitos benéficos dessas substâncias no organismo. Desde o surgimento das

primeiras formas de vida no planeta, a toxicidade do oxigênio atmosférico tem sido um dos principais desafios para a sobrevivência desses organismos vivos. No metabolismo normal dos mamíferos, o oxigênio participa das reações de oxirredução e é aceptor final de  $H^+$ , formando uma molécula de água, no final da cadeia respiratória, ao se combinar com os dois prótons  $H^+$ . Apesar de a maior parte do oxigênio do ar que respiramos se converter em água, uma pequena quantidade (1% a 2%) do oxigênio consumido pela mitocôndria sofre redução univalente, produzindo o ânion superóxido ( $O_2^-$ ) em nível da coenzima Q e do complexo NADH-CoQ redutase (CARDOSO, 2002). Com isso, as oxidações biológicas geram espécies reativas de oxigênio (ERO's) e radicais livres que podem provocar lesões celulares, muitas vezes irreparáveis (CARVALHO, 2004).

De forma genérica, as ERO's, são também frequentemente chamadas de agente oxidante, radical livre, espécie radicalar, espécie ativada e espécie reativa; entretanto, nem sempre são utilizados adequadamente, uma vez que apresentam diferentes características químicas. O radical livre compreende toda estrutura química capaz de apresentar orbitais contendo um ou mais elétrons desemparelhados, os quais conferem ao radical livre uma grande capacidade de reagir com moléculas-alvo (EVANS, 2000). Essa configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas.

Os radicais hidroxila ( $OH^\bullet$ ) podem potencialmente reagir com todas as moléculas biológicas, como DNA, proteínas, lipídios, e quase qualquer constituinte de células e, devido à ausência de qualquer mecanismo enzimático para a eliminação dessa ERO, o excesso de produção de  $OH^\bullet$  em última análise, leva à morte celular (GILL & TUTEJA, 2010). Por ser extremamente instável, ele reage rapidamente com inúmeras biomoléculas, danificando o alvo mais próximo do local onde foi gerado, formando outras espécies de reatividade

variada. Esse radical pode ser formado pelas reações de Haber-Weiss ou de Fenton demonstradas nas figuras 1 e 2 (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999).



(a)



(b)

Figura 1 (a) Reação de Haber-Weiss (b) Reação de Fenton (cobre ou ferro)

A formação das ERO's ocorre como parte normal do metabolismo celular, fontes endógenas, ou por exposição a fatores ambientais, fontes exógenas. A primeira origina-se de processos biológicos que normalmente ocorrem no organismo, principalmente na organela mitocôndria. Já as fontes exógenas formadoras dos radicais livres incluem as drogas, radiação solar, tabaco, poluição do ar, solventes orgânicos, pesticidas, entre outros (SMITH, MARKS, LIEBERMAM, 2007).

O organismo humano sofre ação constante dos radicais livres e quando o mecanismo antioxidante não consegue manter o equilíbrio desses radicais nas células, ocorre o estresse oxidativo. Esse é, portanto, um distúrbio no balanço entre pró-oxidantes e antioxidantes, em favor do primeiro, gerando um dano em potencial (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007). Como consequência, os constituintes celulares são rompidos e os radicais livres desencadeiam uma série de reações de forma descontrolada, atacando componentes celulares como DNA e RNA, membrana celular, enzimas entre outras biomoléculas, estando esses acontecimentos envolvidos em diversas patologias, como isquemia, trauma

encefálico, artrite, arterosclerose, doença de Parkinson, Alzheimer, diabetes, envelhecimento, câncer, entre outras (TAKUMA et al., 2004).

Desses componentes celulares suscetíveis à ação das ERO's a membrana é a mais atingida pela peroxidação lipídica, pois acarreta alterações na sua integridade estrutural e funcional, alterando sua fluidez e permeabilidade, levando à perda da seletividade na troca iônica e liberação do conteúdo de organelas, formando produtos citotóxicos, culminando na morte celular. A lipoperoxidação é uma reação em cadeia representada pelas etapas de iniciação, propagação e terminação. Essas etapas estão apresentadas nas reações seguintes, em que R representa o lipídio (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

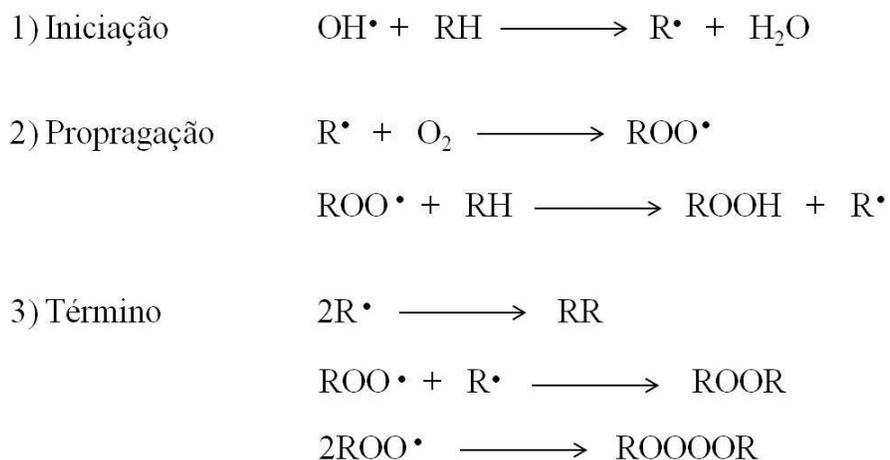


Figura 2 Representação das etapas da peroxidação lipídica

Na etapa de iniciação, o radical hidroxila (OH<sup>•</sup>) é capaz de retirar um átomo de hidrogênio de um grupo metileno. A formação desse radical dá início à etapa de propagação, por combinar-se com o O<sub>2</sub>, formando radicais peróxidos. Esse, por sua vez, é capaz de retirar um hidrogênio de uma molécula de lipídio, dando continuidade à reação em cadeia. O término da liperoxidação ocorre

quando os radicais  $R\cdot$  e  $ROO\cdot$  produzidos nas etapas anteriores se propagam até destruírem a si próprios (MELO e GUERRA, 2002). Uma maneira então de combater o estresse oxidativo consiste na utilização de antioxidantes presentes em alimentos com a propriedade de impedir ou diminuir o desencadeamento das reações oxidativas (HALLIWELL et al. 1995).

A palavra “antioxidante” significa uma molécula capaz de inibir a oxidação de outras moléculas. Os antioxidantes são substâncias formadas por vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros compostos vegetais e, ainda, enzimas que bloqueiam o efeito danoso dos radicais livres. Eles podem ser divididos de diversas formas, enzimáticos e não enzimáticos, endógenos e exógenos e os hidrofílicos e lipofílicos. A primeira forma de divisão citada estão os compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. Incluem-se neste grupo as enzimas superóxido dismutase, a catalase e a glutathione peroxidase (HUANG; PRIOR, 2005).

Além dessas defesas enzimáticas, existem ainda antioxidantes não enzimáticos, como a própria glutathione na forma reduzida (GSH), endógena, como o ácido úrico e o estradiol, outras que são exógenas ou nutricionais, como o  $\alpha$ -tocoferol, principal componente da vitamina E, ácido ascórbico (vitamina C), o  $\beta$ -caroteno, o licopeno, flavonoides, entre outros (RITTER et al., 2004). O sistema antioxidante não enzimático é constituído principalmente pelos antioxidantes de baixo peso molecular (ABPM). Eles estão presentes nos organismos em número e concentração muito maior que os antioxidantes enzimáticos, podendo ser hidrofílicos ou lipofílicos, exercendo, dessa forma, um papel fundamental para a capacidade antioxidante total de sistemas biológicos. A glutathione reduzida, o ácido úrico e a vitamina C são exemplos de antioxidantes de baixo peso molecular hidrofílicos e o  $\beta$ - caroteno e a vitamina E

são exemplos de antioxidantes de baixo peso molecular lipofílicos (GANDRA et al. 2004).

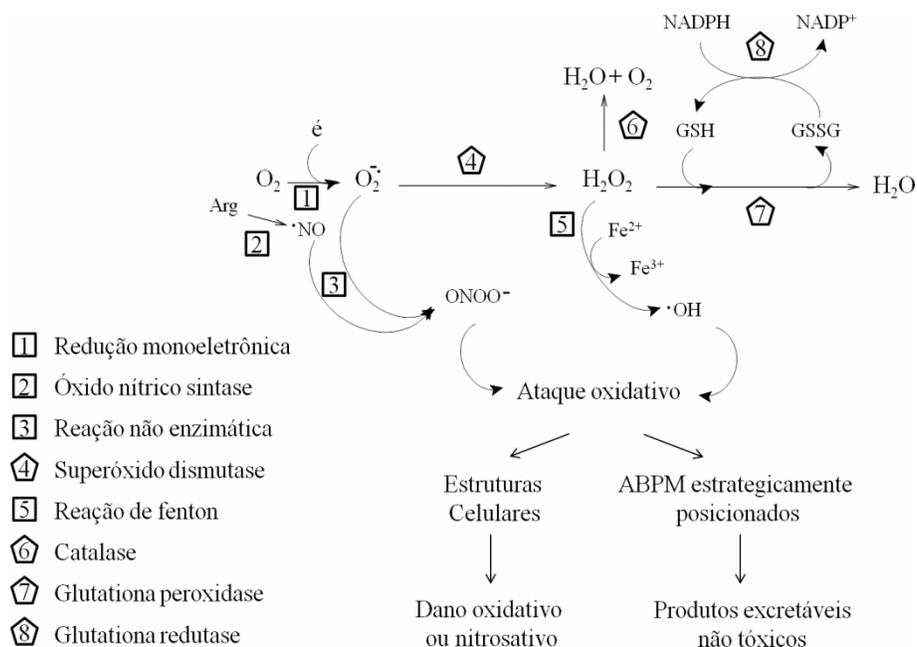


Figura 3 Mecanismo de ataque das espécies reativas de oxigênio (EROs) a partir da redução do monoelétrica do  $O_2$  e os sistemas de defesa antioxidante.

Legenda: □ Mecanismos de produção das EROs

⬡ Principais enzimas da defesa antioxidante

Fonte: Gandra et al. (2004).

### 2.3.2 Antioxidantes Naturais

Devido à necessidade de proteção contra os radicais livres, gerados pela exposição aos raios solares e ao oxigênio, as plantas concentram uma grande diversidade de antioxidantes, podendo ser consideradas fontes de novos compostos que apresentem essa atividade. Nas indústrias de alimentos, de

cosméticos e farmacêuticos, o interesse pela pesquisa sobre novos antioxidantes naturais tem aumentado nos últimos anos. Os compostos antioxidantes naturais têm sido isolados de diferentes partes de plantas, tais como sementes, frutos, folhas e raízes, e nas especiarias.

A partir da década de 80, o interesse pelos antioxidantes naturais se intensificou devido à comprovação de efeitos maléficos causados por doses elevadas de BHT (butilhidroxitolueno), BHA (butilhidroxianisol) e TBHQ (butilhidroquinona terciária) sobre o peso do fígado e marcado aumento do retículo endoplasmático, entre outras (DURÁN; PADILLA, 1993). Diante disso, estudos recentes têm demonstrado que extratos de diversos frutos têm apresentado um grande potencial antioxidante, demonstrando resultados promissores (FU et al., 2011; HAMINIUK et al., 2012. KUSKOSKI et al., 2006; ROESLER et al., 2007; ROESLER et al., 2006; GENOVESE et al., 2008; SOUZA et al., 2012).

A vitamina C e compostos fenólicos são antioxidantes naturais que atuam reduzindo o estresse oxidativo do metabolismo celular, o que pode diminuir a incidência de algumas doenças cardiovasculares, certos tipos de câncer, artrite e inflamações (POLINATI; FALLER; FIALHO, 2010).

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, além disso, se formam em condições de estresse, como infecções, ferimentos, radiações UV, entre outros (NACZK & SHAHIDI, 2004). Esses compostos 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).

Os compostos fenólicos estão relacionados, principalmente, com a proteção, atribuindo alta resistência a microrganismos e pragas. Nos alimentos,

esses compostos podem influenciar o valor nutricional e a qualidade sensorial, conferindo atributos como cor, textura, amargor e adstringência. Na maioria dos vegetais, os compostos fenólicos constituem os antioxidantes mais abundantes (EVERETTE et al., 2010).

Os compostos fenólicos têm um amplo espectro de propriedades medicinais devido à sua atividade anti-inflamatória e antimicrobiana, vasodilatação e efeito cardioprotetor (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAR, 2006). Esta atividade antioxidante deve-se principalmente às propriedades redutoras e à estrutura química dos fenóis, desempenhando um papel importante na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (BASILE et al., 2005).

A análise de compostos fenólicos é influenciada pela natureza do composto, o método de extração empregado, o tamanho da amostra, o tempo e as condições de estocagem, o padrão utilizado e a presença de interferentes, tais como ceras, gorduras, terpenos e clorofilas (SHAHIDI & NACZK, 1995). A solubilidade dos fenólicos varia de acordo com a polaridade do solvente utilizado, o grau de polimerização dos fenólicos e suas interações com outros constituintes dos alimentos. Os solventes mais utilizados para a extração desses compostos são metanol, etanol, acetona, água, acetato de etila, propanol, dimetilformaldeído e suas combinações (NACZK & SHAHIDI, 2004).

A vitamina C na forma reduzida é conhecida como ácido ascórbico ou ácido L-ascórbico e, na forma oxidada, como ácido L-dehidroascórbico. O ácido L-ascórbico é um composto biologicamente ativo, instável e facilmente oxidado a ácido L-dehidroascórbico (TEIXEIRA & MONTEIRO, 2006). Essa substância é considerada um dos mais importantes antioxidantes solúveis em água para o corpo humano. Ela possui a capacidade de remover diferentes espécies de radicais livres, tais como radicais superóxido e hidroxil (NAIDU, 2003).

Entre suas múltiplas funções, o ácido ascórbico tem a capacidade de ceder e receber elétrons, o que lhe confere um papel essencial como antioxidante. Nesse sentido, a vitamina C participa do sistema de proteção antioxidante, como, por exemplo, regenerando a forma ativada da vitamina E (TEIXEIRA & MONTEIRO, 2006).

Acredita-se que o ácido ascórbico proteja contra a peroxidação lipídica de duas formas: diretamente, eliminando os radicais peróxido antes que eles iniciem a peroxidação lipídica e, indiretamente, regenerando a forma ativa da vitamina E e outros antioxidantes, como os flavonoides e a glutathione (antioxidante celular primário), para que eles exerçam seu potencial antioxidante (RIQUE et al., 2002).

Estudos epidemiológicos também revelaram que a ingestão frequente de alimentos ricos em compostos bioativos, como vitamina C e compostos polifenólicos, está associada à baixa incidência de diversas doenças degenerativas (HE et al., 2007).

### **2.3.3 Métodos de Análise Antioxidante**

Existem diversas metodologias analíticas disponíveis para detectar a capacidade antioxidante; contudo, todos esses ensaios baseados em reações químicas possuem uma forma de expressar o resultado. A existência de vários métodos gera algumas dificuldades de seleção da metodologia mais adequada para um determinado estudo. Da mesma forma, a diversidade das condições de ensaio (substratos lipídicos, concentrações, tempo de oxidação, temperaturas, oxigenação), e dos sistemas modelos utilizados dificulta à interpretação e comparação dos resultados obtidos através dessas metodologias. Existe também a diferença dos tipos de radicais livres, que variam a sua atuação nos organismos vivos, dificultando a existência de um método simples e universal para a

avaliação precisa da atividade antioxidante. Assim, a busca por testes mais rápidos e eficientes tem gerado um grande número de métodos para avaliar a atividade de antioxidantes naturais pelo uso de uma grande variedade de sistemas geradores de radicais livres (ALVES et al., 2010).

Existem dois mecanismos principais para a desativação dos radicais livres por antioxidantes: por transferências de átomos de hidrogênio e/ou por transferência de elétrons. No método que se baseia na transferência de átomos de hidrogênio, o antioxidante captura o radical, dando-lhe um átomo de hidrogênio (FIGUEIREDO, ARROSO, PEDRO, 2006).

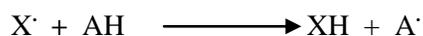


Figura 4 Transferência de átomos de hidrogênio

Esse mecanismo é independente do pH e do solvente, sendo geralmente um processo rápido e completo em poucos minutos. No método que se baseia na transferência de elétrons, verifica-se a formação de um cátion radical após a transferência de elétrons. Posteriormente, ocorre rapidamente uma desprotonação reversível. Esse método depende do pH do sistema e geralmente são reações lentas (FIGUEIREDO, ARROSO, PEDRO, 2006).

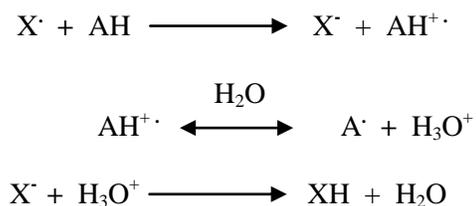


Figura 5 Transferência de elétrons

### 2.3.3.1 TBARS

O método TBARS trata-se de um teste baseado na reação do ácido tiobarbitúrico (TBA) com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos insaturados, resultantes da oxidação de um substrato lipídico com a adição de um íon metálico de transição ( $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$  ou uma fonte de radical livre como o AAPH) (ANTOLOVICH et al., 2002). O malonaldeído (MA), um aldeído com átomos de carbono, é um dos principais produtos formados. Nesse ensaio, uma molécula de MA reage com 2 moléculas de TBA, formando um complexo de cor vermelho/violeta (TBARS), que é medido espectrofotometricamente com uma absorvância máxima a 532-535 nm (Figura 6). A reação ocorre em meio ácido (pH 1,0-2,0) e a elevada temperatura ( $100^{\circ}\text{C}$ ) para aumentar a sua velocidade e sensibilidade. A adição de um antioxidante inibe a oxidação dos ácidos graxos, dessa forma, a formação do MA é reduzida. Os resultados são quantificados contra uma curva de calibração para o malonaldeído e expressos em valor TBA, em mg, por Kg de amostra (SILVA et al., 1999).

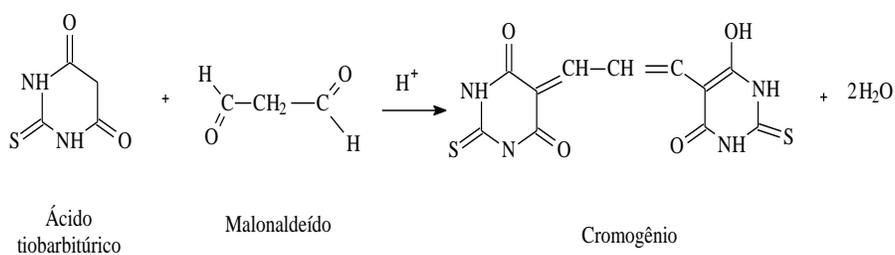


Figura 6 Reação do malonaldeído com o ácido tiobarbitúrico

### 2.3.3.2 $\beta$ -caroteno/Ácido linoleico

O método está fundamentado em avaliar a capacidade de um determinado composto em prevenir a oxidação do  $\beta$ -caroteno (Figura 7a). Essa substância antioxidante tem a função de retardar a oxidação do  $\beta$ -caroteno, protegendo-o dos radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico (Figura 7b). Neste método, os produtos gerados devido a diferentes indutores (oxigênio, luz, calor) são medidos indiretamente pela taxa de destruição oxidativa do  $\beta$ -caroteno, determinada espectrofotometricamente a 450-470nm. Isso ocorre devido às estruturas radiculares formadas atacarem as duplas ligações do  $\beta$ -caroteno, o qual perde seu cromóforo, resultando na perda da cor laranja, característica da solução (LOPEZ- LUTZ, 2008; DUARTE-ALMEIDA, 2006).

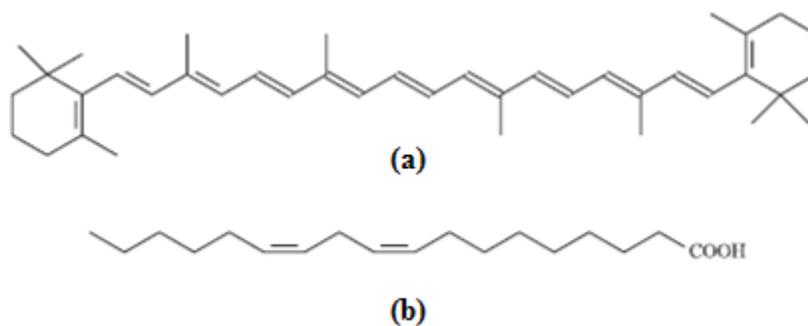


Figura 7 Estrutura do  $\beta$ -caroteno (a) e do ácido linoleico (b)

### 2.3.3.3 ABTS

O método ABTS é baseado na captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS.<sup>+</sup>) por um antioxidante e esse radical pode ser gerado através de uma reação química (dióxido de manganês,

AAPH (2,2'-azobis amidinopropano dihidroclorídrico) e persulfato de potássio ( $K_2S_2O_8$ )), eletroquímica ou enzimática (metamioglobina e peroxidase). Na presença de antioxidantes, pode-se medir a diminuição da formação desse radical, de cor verde-escura, por espectrofotometria, sendo convertido em uma forma não colorida ou verde mais claro de  $ABTS^{\bullet+}$ . Esse radical catiônico possui um grande espectro de absorção, com quatro comprimentos de onda de absorção máxima: 415, 660, 734 e 820 nm, mas devido à redução da influência de compostos interferentes, o comprimento de onda 734 nm é o preferido (MAGALHÃES et al., 2008).

Os resultados da atividade antioxidante são expressos como equivalentes a uma solução de TROLOX (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico), através da construção de uma curva de calibração com concentrações conhecidas de TROLOX. O valor da absorbância é proporcional à concentração do radical catiônico  $ABTS^{\bullet+}$  remanescente e é medida após um tempo de reação fixado, determinando assim a porcentagem de inibição do radical por um composto puro ou extrato (MAGALHÃES et al., 2008).

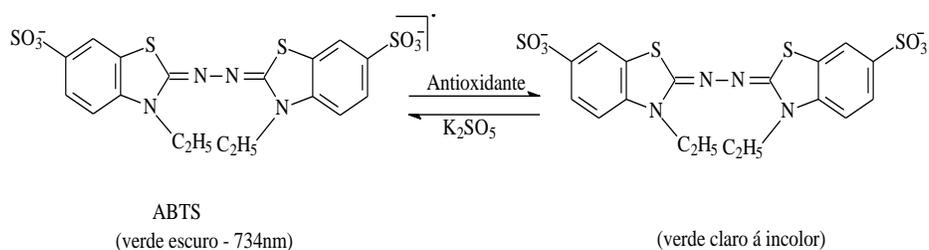


Figura 8 Estabilização do radical  $ABTS^{\bullet+}$  por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio

### 2.3.3.4 DPPH

Um dos métodos mais antigos utilizados para determinar a capacidade antioxidante consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila). Essa estabilidade do radical é devida à deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula, conferindo a essa molécula uma coloração violeta, caracterizada por uma banda de absorção em etanol ou metanol em cerca de 520 nm (ALVES, 2010). Nesse método, o radical cromógeno é reduzido por compostos antioxidantes para a correspondente hidrazina de cor amarela pálida (FIGURA 9) e esse grau de descoloração é medido espectrofotometricamente por um tempo determinado ou até permanecer constante (MAGALHÃES et al., 2008).

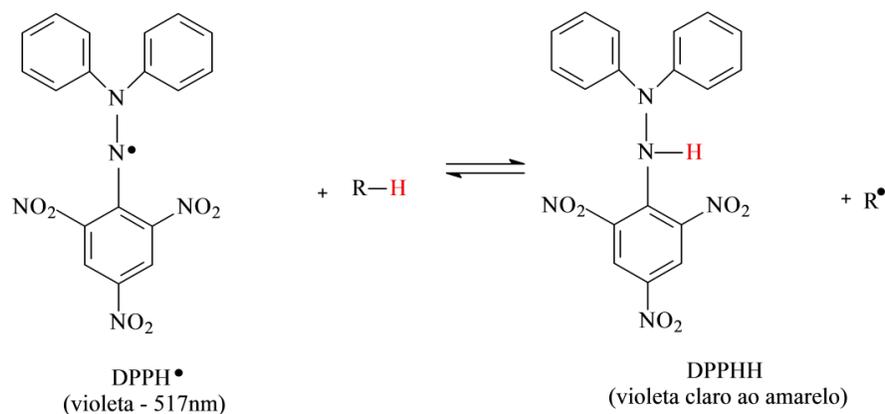


Figura 9 Estabilização do radical DPPH• por um antioxidante

O mecanismo de reação é baseado na transferência de elétrons, enquanto a abstração de átomo de hidrogênio é uma reação marginal, pois a mesma acontece lentamente em solventes que estabelecem fortes ligações de

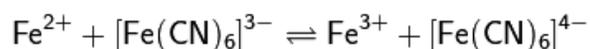
hidrogênio. O método é considerado fácil e útil para análise de substâncias puras e amostras complexas (OLIVEIRA et al., 2009).

### 2.3.3.5 Fosfomolibdênio

A avaliação da atividade antioxidante pelo método Fosfomolibdênio baseia-se na determinação espectrofotométrica da redução de Molibdênio (+6) para Molibdênio (+5) com a formação subsequente do fosfato de  $\text{Mo}^{+5}$ , complexo de cor verde (pH ácido). Esse método da complexação pelo fosfomolibdênio foi descrito por Prieto et al. (1999) e é uma maneira simples e barata de avaliar a capacidade antioxidante total de uma mistura complexa de compostos. A solução teste inicial possui coloração amarela, tornando-se verde à medida que a solução de fosfato de molibdênio se reduz através da oxidação do antioxidante. Esse método possui a vantagem de avaliar a capacidade antioxidante tanto de componentes lipofílicos quanto de hidrofílicos (PRIETO et al., 1999).

### 2.3.3.6 Poder Redutor

O método é baseado na redução do íon ferricianeto a ferrocianeto que, na presença do íon férrico (proveniente do  $\text{FeCl}_3$ ), forma uma solução colorida (azul esverdeado), determinando o poder redutor da amostra e conseqüentemente sua atividade antioxidante.



O antioxidante irá reduzir o ferro III  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  a ferro II  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ . A solução de  $\text{FeCl}_3$  ( $\text{Fe}^{3+}$ ) colocada no final irá mostrar a quantidade de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  presente na solução final, colorindo-a. Essa solução ficará mais colorida na medida em que tiver mais  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  (DOS SANTOS et al., 2007).

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, Barking, v.44, p.2155–2159, 2011.

ALMEIDA, S. P.; SILVA, J. A. **Piqui e buriti: Importância alimentar para a população dos Cerrados**. Planaltina: EMBRAPA/CPAC. 1994, v.38.

ALMEIDA, S.P. et al. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464p.

ALMEIDA, S. P. **Frutas nativas do cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes**. In: ALMEIDA, S. P. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. p. 247-281.

ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n.10, p.2202-2210, 2010.

ANDREO, M. A. et al. Effect of *Mouriri pusa* extracts on experimentally induced gastric lesions in rodents: Role of endogenous sulfhydryls compounds and nitric oxide in gastroprotection. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, n. 107, v. 3, p.431-441, 2006.

ANTOLOVICH, M. et al. Methods for testing antioxidant activity. **Analyst**, London, v.127, p.183-198, 2002.

ARAÚJO, F.D. de. **The ecology, ethnobotany and management of *Caryocar brasiliense* Camb. around Montes Claros, MG, Brasil**. 1994. 175p. Tese (Doutorado em Filosofia) – University of Oxford, Oxford, 1994.

BAILÃO, E. F. L. C. et al. Bioactive Compounds Found in Brazilian Cerrado Fruits. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 16, n. 10, p. 23760-23783, 2015.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAR, S. Phenolic compounds in plants and agro-industrial by-products. Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, London, v. 1, p. 191-203, 2006.

BARRADAS, M. M. Informações sobre floração, frutificação e dispersão do pequi *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae). **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 24, n. 11 p. 1063-1072, 1972.

BARRETO, G.P.M.; BENASSI, M.T.; MERCADANTE, A.Z. Bioactive compounds from several tropical fruits and correlation by multivariate analysis to free radical scavenger activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v.20, p.1856–1861, 2009.

BARROS, D.I. et al. Different extraction methods aiming mangaba seeds quality. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, p.25–27. 2006.

BASILE A. et al. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana* Mart. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v.102, p.32-36, 2005.

BASTOS, D. C. et al. Propagação da pitaya “vermelha” por estaquia. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, p.1106-1109, 2006.

BERNAL, G. R.; GALEANO, G.; HENDERSON, A. Notes on *Oneocarpus* (Palmae) in the Colombian Amazon. **Brittonia**, New York, v. 43, n. 3, p. 154-164, 1991.

BORGES, P.R.S. **Caracterização de puçá-preto (*Mouriri pusa* Gardner) ao longo do seu desenvolvimento**. 2011. 76p. Dissertação – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

BRUM, H. D. et al. Rainforest fragmentation and the demography of the economically important palm *Oenocaropus bacaba* in central Amazonia. **Plant Ecology**, Perth, v. 199, p. 209-215, 2008.

CANUTO, G. A. B. et al. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, p.1196-1205, 2010.

CARDOSO, M. L. C. **Desenvolvimento de metodologias analíticas e tecnológicas na obtenção de extratos secos nebulizados de *Heteropteris aphrodisiaca* O. Mach.** 2002. 114 p. Tese (Doutorado Faculdade de Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2002.

CARVALHO, J. C. T. **Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas.** 1. ed. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004, 480p.

CLERICI, M. T. P. S.; CARVALHO-SILVA, L. B. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. **Food Research International**, Barking, v.44, p.1658–1670, 2011.

DAMIANI, C. et al. Characterization of fruits from the savanna: Araça (*Psidium guineensis* Sw.) and Marolo (*Annona crassiflora* Mart.). **Food Science and Technology**, Campinas, v. 31, n. 3, p. 723-729, 2011.

DAMIANI, C. et al. Study of the shelf-life of a mixed araca (*Psidium guineensis* Sw.) and marolo (*Annona crassiflora* Mart.) jam. **Food Science and Technology** Campinas, v. 32, n. 2, p. 334-343, 2012.

DAMIANI, C. **Caracterização e agregação de valor aos frutos do cerrado: Araça (*Psidium guineensis* Sw) e Marolo (*Annona crassiflora* Mart.).** 2009. 171 p. Dissertação. (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

DA SILVA, D.B. et al. **Frutas do cerrado**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 179p.

DELLA LUCIA, F.. **Qualidade do marolo (*Annona crassiflora* Mart.) in natura e minimamente processado durante o armazenamento**. 2013. 155p. Tese (Doutorado na Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

DE LIMA, J. P. et al. First evaluation of the antimutagenic effect of mangaba fruit in vivo and its phenolic profile identification. **Food Research International**, Barking, v. 75, p. 216-224, 2015a.

DE LIMA, J. P. et al. The antioxidative potential and volatile constituents of mangaba fruit over the storage period. **Scientia Horticulturae**, British Columbia, v. 194, p. 1-6, 2015b.

DE LIMA, J. P. et al. Climacteric pattern of mangaba fruit (*Hancornia speciosa* Gomes) and its responses to temperature. **Scientia Horticulturae**, British Columbia, v.197, p.399-403, 2015c.

DOS SANTOS, M.F.G. et al. Amazonian Native Palm Fruits as Sources of Antioxidant Bioactive Compounds. **Antioxidants**, Basel, v. 4, n. 3, p. 591-602, 2015.

DOS SANTOS, M. H. et al. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 604, 2007.

DOUSSEAU, S. et al. Ecofisiologia da germinação de sementes de *Campomanesia pubescens*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 8, p. 1362-1368, 2011.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico e método de seqüestro de radicais

DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, jun. 2006.

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

EPSTEIN, L. Mangaba: “coisa boa de comer”. **Bahia Agrícola**, Salvador, v. 6, n. 2, p. 19-22, 2004.

EVANS, W. J. Vitamin E, vitamin C, and exercise. **The American journal of clinical nutrition**, Rockville, v. 72, p647S–52S, 2000.

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

FALEIRO, F. G.; FARIAS-NETO, A. L. (Ed.). Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais. **Planaltina: Embrapa Cerrados**, 2008. p. 32-46.

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

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G. **Plantas aromáticas e medicinais. Factores que afectam a produção. Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais.** Curso teórico-prático. 1. ed. Edição da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa–Centro de Biotecnologia Vegetal. Lisboa, p. 48-54, 2006.

FINCO, F. D. B. A. et al. Antioxidant activity and characterization of phenolic compounds from Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) fruit by HPLC-DAD-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 60, p.7665-7673, 2012.

FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. Aroma de Frutas Tropicais: Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor. In: FRANCO, M.R.B. **Aroma e sabor de alimentos: Temas atuais**. São Paulo, Editora Varela, 2003.

FRANCO, M. R. B.; SHIBAMOTO, T. Volatile composition of some Brazilian fruits: Umbu-caja (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araca-boi (*Eugenia stipitata*), and cupuacu (*Theobroma grandiflorum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 4, p. 1263-1265, 2000.

FU, Li et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, London, v. 129, n. 2, p. 345-350, 2011.

GAMA, L. U. et al. Sexual system and floral biology of *Pouteria ramiflora* and *Pouteria torta* (Sapotaceae). **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 375-387, 2011.

GANDRA, P.G. et al. Determinação eletroquímica da capacidade antioxidante para avaliação do exercício físico. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 6, p. 980-985, 2004.

GENOVESE, M. I. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology International**, Valencia, v. 14, n. 3, p. 207-214, 2008.

GEÓCZE, K.C. et al. Essential oils from pequi fruits from the Brazilian Cerrado ecosystem. **Food Research International**, Barking, v.54, p.1-8, 2013.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, Bari, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GROB, K.; ROMANN, A. Sample transfer in splitless injections in capillary gas chromatographic. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 214, p. 118-121, 1981

GUNASENA H.P.M.; PUSHPAKUMARA, D.K.N.G.; KARIYAWASAM, M. **Dragon Fruit *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton and Rose**. In: PUSHPAKUMARA, D.K.N.G.; GUNASENA H.P.M.; SINGH, V.P. (Eds.) Underutilized fruit trees in Sri Lanka. New Delhi, World Agroforestry Centre, p.110-142, 2007.

GUSMÃO, E; VIEIRA, F. A.; FONSECA, E.M. Biometria de frutos e endocarpos de murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. Ex A. Juss). **Cerne**, Lavras, v.12, n.1, p.84-91, 2006.

HALLIWELL, B. et al. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Amherst, v. 35, p.7-20, 1995.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Cellular responses to oxidative stress: adaptation, damage, repair, senescence and death. **Free radicals in biology and medicine**, New York, v. 4, p. 187-267, 2007.

HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in biology and medicine**. Oxford University Press Inc. New York, 3rd ed., 1999, 851p.

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

HARIVAINDRAM, K.V.; REBECCA, O.P.S.; CHANDRAN, S. Study of optimal temperature, pH and stability of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel for use as potential natural colorant. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Dubai, v.11, p.2259-2263, 2008.

HE, F. et al. Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: metaanalysis of cohort studies. **Journal of Human Hypertension**, Londres, v. 21, n. 9, p. 717-782, 2007.

HUANG, D. B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity Assays. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Munich, v. 53, p.1841-1856, 2005.

INPA. Cultivo do araçá boi. Disponível em:  
<<http://www.inpa.gov.br/cpca/areas/araca.html>>. Acesso em: 15 out. 2015.

JUNQUEIRA, K.P. et al. **Informações preliminares sobre uma espécie de pitaya do Cerrado**. Planaltina, Embrapa Cerrados. (Boletim técnico, 62), 2002, 18 p.

JUNQUEIRA, K.P. et al. Diversidade genética de pitayas nativas do cerrado com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 3, p. 819-824, 2010.

KUSKOSKI, E. M. et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

LOPES-LUTZ, D. et al. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. **Phytochemistry**, Nantes, v. 69, n. 8, p. 1732-1738, 2008.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 367 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 1.ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, , 2009, v. 3, 384 p.

LOUREIRO, R.N.O.; MACEDO, M. Um estudo de caso da utilização da flora nativa como banco alimentar em Baixio, Barra dos Bugres, Pantanal Mato-Grossense. In: III SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIO ECONÔMICOS DO PANTANAL: OS DESAFIOS DO NOVO MILÊNIO. p. 1-10, nov. 2000, Corumbá, **Anais...**, 2000.

LUBRANO, C.; ROBIN, J. R.; KHAIAT, A. Fatty-acid, sterol and tocopherol composition of oil from the fruit mesocarp of six palms species in French-Guiana. **Oleagineux**, Paris, v. 49, p. 59-65, 1994.

MAGALHÃES, L. M. et al. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. **Analytica chimica acta**, Louisville, v. 613, n. 1, p. 1-19, 2008.

MARTINEZ-VASQUEZ, M. et al. Antimicrobial activity of *Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, 66, 79-82, 1999.

MELO, E. A; GUERRA, N. B. Ação antioxidantes de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 36, n.1, p. 1-11, 2002.

MOLEIRO, F. C. et al. *Mouriri elliptica* (Mart.): validation of gastroprotective, healing and anti-*Helicobacter pylori* effects. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v.3, p.359-368, 2009.

MORZELLE, M. C. et al. Chemical and physical characterization of fruits from cerrado: curriola, gabirola and murici. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 37, n. 1, p. 96-103, 2015.

NAIDU, K. A. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview, **Journal of Nutrition**, Rockville, v. 2, n. 7, p. 7-16, 2003.

NACZK M.; SHAHIDI F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1054, p. 95-111, 2004.

NASCIMENTO, A. R. T. et al. Comunidade de palmeiras no território Krahò, Tocantins, Brasil: Biodiversidade e aspectos etnobotânicos. **Interciência**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 3, p. 182-188, 2009.

OLIVEIRA, A. L. et al. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, London, v. 99, p. 1-5, 2006.

OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, p. 689-702, 2009.

ORTIZ, H.Y.D. **Hacia el conocimiento y conservación de la pitahaya (*Hylocereus* sp.)**. Oaxaca, IPN-CONACYT-SIBEJFMCN. 2000. 124p.

POZO-INSFRAN, D. D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of açai. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, p. 1539-1545, 2004.

POLINATI, M. R.; FALLER, A. L. K.; FIALHO, E. The effect of freezing at -18° C and -70°C with and without ascorbic acid on the stability of antioxidant in extracts on Apple and orange fruits. **International Journal of Food Science and Technology**, Lincoln, v. 45, p. 1814-1820, 2010.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E1. **Analytical Biochemistry**, Bethesda, v. 269, p. 337-341, 1999.

RIQUE, A. B. R. et al. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 8, n. 6, p. 244-54, 2002.

RITTER, C. et al. Treatment with n-acetylcysteine plus deferoxamine protects rats against oxidative stress and improves survival in sepsis. **Critical Care Medicine**, Mount Prospect, v. 32, n. 2, p. 342-349, 2004.

RODRIGUES, L. J. et al. Qualidade microbiológica de pequis comercializados no Norte de Minas Gerais. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 26, p. 26-31, 2012.

RODRIGUES, L. J. **Caracterização do desenvolvimento e processamento mínimo de pitaiá nativa (*Selenicereus setaceus* Rizz.) do cerrado brasileiro**. 2010. 155 p. (Doutorado em Ciência dos Alimentos) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

RODRIGUES, L. J.; Caracterização do desenvolvimento de pequi (*Caryocar brasiliense*) temporão do Sul de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.39, p.260-265, 2009.

RODRIGUES, L. J. et al. Growth and maturation of pequi fruit of the Brazilian cerrado. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 35, n. 1, p. 11-17, 2015.

RODRIGUES, V. H. P. et al. Composição, estrutura e aspectos ecológicos da floresta ciliar do rio Araguari no Triângulo Mineiro. **Hoehnea**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 87-105, 2010.

RODRIGUES, V.E.G.; CARVALHO, D.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio cerrado na Região do Alto Rio Grande. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, p. 102-123, 2001.

ROESLER, R. et al. Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, London, v. 110, n. 3, p. 711-717, 2008.

ROESLER, Roberta et al. Antioxidant activity of cerrado fruits. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

ROESLER, R. et al. Evaluation of the antioxidant properties of the Brazilian cerrado fruit *Annona crassiflora* (Araticum). **Journal of Food Science**, Urbana-Champaign, v. 71, n. 2, p. C102-C107, 2006

ROGEZ, H. et al. Chemical composition of the pulp of three typical Amazonian fruits: araçá-boi (*Eugenia stipitata*), bacuri (*Platonia insignis*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **European Food Research and Technology**, Munique, v. 218, n. 4, p. 380-384, 2004.

RUFINO, M.S.M. et al. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. **Food Chemistry**, London, v.114, p.693–695, 2009.

RUFINO, M. D. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, London, n. 121, v.4, p. 996-1002. 2010.

RUFINO, M.S.M. et al. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. **Food Research International**, Barking, v.44, p.2072-2075. 2011.

SANO, E.E. et al. Land cover mapping of the tropical savanna region in Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, Orono, v. 166, 113–124, 2010.

SANTOS, A. R. F. et al. **Situação atual e perspectivas para o cultivo da mangaba no estado de Sergipe**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO, 7., Fortaleza. Anais... Fortaleza: Sociedade Brasileira de Sistemas de Produção, p. 1-6, 2007.

SANTOS, C. C. et al. Avaliação de Substratos na Emergência e Crescimento Inicial de Marmelo do Cerrado (*Alibertia edulis* Rich.) em Bandejas. **Cadernos de Agroecologia**, Recife, v. 9, n. 4, 2015.

SILVA, E. P. et al. Caracterização física, química e fisiológica de gabioba (*Campomanesia pubescens*) durante o desenvolvimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 4, p. 803-809, 2009.

SILVA, E. P. et al. Characterization and development of marolo (*Annona crassiflora* Mart.). **Food Science and Technology**, Campinas, v. 33, n. 4, p. 666-675, 2013.

SILVA, E. P. et al. Effect of adding flours from marolo fruit (*Annona crassiflora* Mart) and jerivá fruit (*Syagrus romanzoffiana* Cham Glassm) on the physicals and sensory characteristics of food bars. **Food Science and Technology**, Campinas, p. 0-0, 2016.

SILVA, D. B. et al. Frutas do Cerrado. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**. 2001. 178 p.

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

SILVA, M. R. et al. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, p.1790–1793, 2008.

SILVA JUNIOR, J. F. A cultura da mangaba. **Revista brasileira de fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 0-0, 2004.

SILVA JÚNIOR, M.C. **100 árvores do cerrado: guia de campo**. Brasília: Editora Rede de Sementes do Cerrado, 2005. 278 p.

SHAHIDI F.; NACZK M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic, 1995. 331 p.

SMITH, C.; MARKS, A. D.; LIEBERMAN, M. **Bioquímica Médica Básica de Marks: Uma abordagem Clínica**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 992 p.

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

SOARES, F. P. et al. Cultura da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Boletim Agropecuário**, Universidade Federal de Lavras, n.º 67, p. 1-12, 2006.

SOUZA, V. R. et al. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food chemistry**, London, v. 134, n. 1, p. 381-386, 2012.

STINTZING, F.C. et al. Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton and Rose. **Food Chemistry**, London, v.77, p.101-106, 2002.

TAKUMA, K.; BABA, A.; MATSUDA, T. Astrocyte apoptosis: implications for neuroprotection. **Progress in neurobiology**, Pittsburgh, v. 72, p.111-127, 2004.

TAYLOR, D.N.; BLASER, M.J. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. **Epidemiologic Reviews**, Oxford, v.13, p.42-59, 1991.

TEIXEIRA, Mirella; MONTEIRO, Magali. Degradação da vitamina C em suco de fruta. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 2, p. 219-227, 2006.

TORRES, L.B.V.; SILVA, S.M.; FÉLIX, L.P. Fruit characterization of a *Selenicereus c.f. setaceus* native from brejo micro region, Paraíba, State, Brazil. Special Edition. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.811, p.149-154, 2009.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Frutas nativas do cerrado. 2005.  
Disponível em:  
<<http://www.bibvirt.futuro.usp.br/especiais/frutasnobrasil/gabiroba.html>>.  
Acesso em: 16 out. 2015.

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE GOIÁS. Frutas nativas do Cerrado.  
Disponível em: <<http://www.ueg.com.br>>. Acesso em: 16 out. 2015.

VASCONCELOS, P. C. P. et al. Effect of *Mouriri pusa* tannins and flavonoids on prevention and treatment against experimental gastric ulcer. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v.131, p.146–153, 2010.

VASCONCELOS, P. C. P. et al. Studies of gastric mucosa regeneration and safety promoted by *Mouriri pusa* treatment in acetic acid ulcer model. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 2, n. 115, p. 293-301, 2008.

VIEIRA, R.F.; MARTINS, M.V.M. Recursos genéticos de plantas medicinais de cerrado: Uma compilação de dados. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v.3, p.13–36, 2000.

VIEIRA, R. F.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R. **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília: Embrapa, 2006. 200 p.

VILAS BOAS, E. V. B. Frutas minimamente processadas: pequi.. In: **III Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**, Viçosa. p. 122-127, 2004.

**SEGUNDA PARTE - ARTIGO**

**ANTIOXIDANT POTENCIAL AND BIOACTIVE COMPOUNDS OF  
THIRTEEN SPECIES OF EXOTIC FRUITS FROM BRAZILIAN  
CERRADO**

**Artigo submetido:**

Artigo redigido conforme norma da revista Journal of the Science of Food and  
Agriculture

## ABSTRACT

The Cerrado's fruits are becoming more popular in domestic and international markets due to their functional and nutritional potential. In this study 13 Brazilian Cerrado's fruits were analyzed: araçá-boi, bacaba, curriola, gabioba, mangaba, marmelada bola, marmelada espinho, marolo, murici, peki, yellow puça, black puça and saborosa. The content of phenol compounds and vitamin C were determined as well as the identification and quantification of 12 phenolic compounds. The antioxidant activity of those fruits was determined using 6 different methods: DPPH, ABTS,  $\beta$ -carotene / linoleic acid, TBARS, Reducer Power and Fosfomolybdenum Method. The analysis displayed the Cerrado's fruits were important vehicles of vitamin C and phenolic compounds. The gabioba displayed the highest levels of total phenolics and vitamin C as well as antioxidant activity for most methods. The methods could be grouped according to similar principles in their assessment of antioxidant activity, forming the following groups: DPPH and ABTS,  $\beta$ -carotene / linoleic acid and TBARS, Reducing Power and Fosfomolybdenum Method. Antioxidants methods revealed gabioba, mangaba and marolo as the fruits with the highest potential to inhibit the action of free radicals.

Keywords: Cerrado fruits; antioxidant methodologies; phenolic compounds; vitamin C.

## 1 INTRODUCTION

The Cerrado is the second largest Brazilian biome, surpassed in area only by the Amazon. It occupies 21% of the Brazilian territory and has been considered the last agricultural frontier on the planet.<sup>1</sup> It is the richest tropical savanna in the world in biodiversity, concentrating a third of the Brazilian biodiversity and 5% of the flora and fauna of the world.<sup>2</sup> The cerrado flora is rich and has many species of fruits with high nutritional potential, which are traditionally used by local people. The fruits are usually consumed in raw form or juices, liquors, ice cream, jams and several candies.<sup>3</sup>

In recent years, there has been a greater awareness of health and a demand for high quality nutritious food as a consequence of the searching for a longer healthier life.<sup>4</sup> Thus, the consumption of tropical fruits has increased in the domestic and also in international markets due to the growing recognition of its nutritional potential and therapeutic value.<sup>5</sup> Brazil has a large number of underexploited native and exotic fruit species and these fruits represent an opportunity for local producers to gain access to special markets where consumers value exotic nature of these fruits and the presence of nutrients capable of preventing degenerative diseases.<sup>6</sup>

The functional properties of fruits are attributed to the presence of bioactive substances which even in small quantities, may exhibit additional physiological effects through their antioxidant action.<sup>7</sup> In general, antioxidants are substances present in low concentrations when compared to oxidizable substrate, like phenolic compounds and vitamin C, which are able to significantly retard or inhibit oxidation of the substrate through one or more mechanisms, such as inhibition of free radicals and metal complexation.<sup>8</sup>

For the determination of total antioxidant capacity it has been recommended to use at least two known assays such as DPPH, FRAP, TEAC,

TBARS and ORAC or even all these tests combined to provide a reliable result of antioxidant capacity, allowing the strengths, weaknesses and applicability of each type of test to be taken into consideration.<sup>9</sup>

Taking into account that many species of Cerrado produce fruits with interesting organoleptic characteristics and economic potential, possessing bioactive compounds which give them nutritional and therapeutic potential,<sup>10</sup> we realized the need for studies that expand the knowledge about these fruits. Therefore, this work brings an unprecedented evaluation of the antioxidant activity of some Cerrado fruits, a pioneer in the use of six different methodologies to identify in detail the antioxidant potential of these fruits. Thus, the aims of this study were to evaluate the *in vitro* antioxidant capacity in thirteen fruits of the Brazilian Cerrado using different methodologies and identify and quantify the key bioactive compounds.

## 2 MATERIALS AND METHODS

### *Fruit material and experimentation*

The Brazilian native fruits used were araçá-boi (*Eugenia stipitata* Mc. Vaugh), bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.), curriola [*Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk.], gabioba (*Campomanesia pubescens*), mangaba (*Hanconia speciosa* Gomes), marmelada bola (*Alibertia edulis*), marmelada espinho (*Alibertia verrucosa*), marolo (*Annona crassiflora* Mart.), murici (*Byrsonima crassiflora* L.), peki (*Caryocar brasiliense* Camb.), yellow puça (*Mouriri elliptica* Mart.), black puça (*Mouriri pusa* Gardner), saborosa (*Selenicereus setaceus* Rizz.).

The samples were obtained in Lavras, Minas Gerais, in Cuiabá, Mato Grosso, and in Gurupi, Tocantins, Brazil, during 2015. The fruits were collected at fully ripe, based on skin colour, firmness to touch and aroma.

After collecting, the fruits were immediately transported in cool boxes to the Postharvest Laboratory of Fruits and Vegetables in the Food Science Department of the Federal University of Lavras (UFLA) - Minas Gerais, Brazil, and Federal University of Mato Grosso (UFMT), Brazil, and selected for absence of visible damage and rot, standardized by size, epidermis colour and washed with water and sanitized in a 200 mg L<sup>-1</sup> sodium hypochlorite solution for 10 min. After that, the fruits were stored at -18°C until the time of analysis.

### *Analytical procedure*

#### *Identification of phenolic compounds*

The identification of phenolic compounds by HPLC was carried out following the methodology proposed by Ramaiya et al.,<sup>11</sup> as described by De Lima et al.<sup>12</sup>

The phenolic compounds were detected at 280 nm and identified by comparison of their retention times, UV–vis absorption spectra, and authentic standards (gallic acid, catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid, trans-cinnamic acid, vanillic acid, rutin, quercetin, m-coumaric acid, p-coumaric acid, and o-coumaric acid).

#### *Total phenolic compounds*

The total phenolic compounds were determined according to the method proposed by Waterhouse,<sup>13</sup> using the Folin–Ciocalteu reagent. The results were expressed as milligrams of gallic acid equivalent (GAE)/ 100g f.w.

#### *Ascorbic acid*

The ascorbic acid content was determined with a colorimetric method using 2,4-dinitrophenylhydrazine, according to the procedure of Strohecker and Henning.<sup>14</sup> The results were expressed as milligrams of ascorbic acid / 100 g f.w.

### *Antioxidant capacity (AOC)*

The extracts of the fruit were obtained using ethanol (5 g of fruit pulp in 50 mL ethanol (1: 10)). The mixture was homogenized for 1 hour in Erlenmeyer flasks using the magnetic stirrer and centrifuged at 3,000 rpm for 5 minutes, and the supernatant was stored in amber glass at -20 ° C until the time of analysis.

The antioxidant activity of fruit was compared with the activity of the antioxidant standard BHT.

### *DPPH (free radical-scavenging) assay*

Evaluation of antioxidant activity by the method of free radical-scavenging of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) was performed according to methodologies of Lopes-Lutz et al.,<sup>15</sup> followed by minor modifications. A methanolic solution of DPPH was prepared. For the evaluation, 2.7 mL of the DPPH solution (40  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) were added into test tubes, followed by addition of 0.3 mL of each dilution of the fruit extracts (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 and 1.563  $\text{mg mL}^{-1}$ ). The negative control was prepared containing all reagents except the fruit extract. To compare the antioxidant activity, the standard BHT was evaluated at various concentrations. After 60 minutes readings were performed using the spectrophotometer at 517 nm.

The equivalent antioxidant capacity to BHT (mg BHT equivalent/g of sample) was determined by regression equation.

### *$\beta$ -Carotene/Linoleic Acid Bleaching Method*

$\beta$ -Carotene / Linoleic Acid Bleaching Method was performed according to the methodologies presented by Lopes-Lutz et al.<sup>15</sup> with modifications.

Initially, there was prepared a solution containing 60  $\mu\text{L}$  of linoleic acid, 600 mg of Tween 20, 6 mg of  $\beta$ -carotene and 30 mL of chloroform. All the chloroform was removed, using a rotaevaporator, and thereafter, 150 mL of distilled water saturated with oxygen were added to the mixture under constant stirring. In the test tube, 2.7 mL of this solution were added to 0.3 mL of each dilution of the fruit extracts (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 and 1.563  $\text{mg mL}^{-1}$ ) and the negative control was added 0.3 mL of ethanol. To compare the activities, the standard BHT (positive control) was evaluated. Absorbance was measured immediately at 470 nm in a spectrophotometer. After the initial absorbance reading, the tubes were incubated in a water bath at 50 ° C under light for the oxidation reaction, and the second reading was taken after 60 minutes of incubation. All readings were performed in triplicate.

The equivalent antioxidant capacity to BHT (BHT mg equivalent / g of sample) was determined by regression equation.

### *ABTS*

The preformed radical monocation of 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) was generated according to the modified method of Re et al.<sup>16</sup>, as described in Gomes et al.<sup>17</sup> The fruit extract was analyzed in 6 different concentrations (400, 200, 100, 50, 25, 12.5  $\text{mg mL}^{-1}$ ). The absorbance was monitored spectrophotometrically at 735 nm (Shimadzu spectrophotometer 160-UV). The values were compared with the curve for several BHT concentrations and the values given as equivalent antioxidant capacity to BHT (BHT mg equivalent / g f.w.).

### *TBARS*

The antioxidant activity of fruits was determined by measuring the oxidation of the egg yolk lipids as described by Bounatirou et al.<sup>18</sup> The lipid material (egg yolk) was used at a concentration of 10% (w / v) and KCl (1.15% w / v). This solution was homogenised and then stored at 4° C. For the assay, 500 µL of lipid solution 10% (w / v) were added to 50 uL of diluted extracts of the fruit (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 and 1.563 mg mL<sup>-1</sup>).

Then they were added 400 uL of distilled water to complete the volume to 1 mL. Subsequently, was added 1.5 mL of 20% acetic acid (pH 3.5) and 1.5 ml of TBA (thiobarbituric acid) 0.8% (w / v) sodium dodecylsulfate 1.1% (w / v). For the negative control, they used 100 mL of ethanol, and to the positive control, used was BHT. This mixture was brought vortexed and heated for 1 h in a water bath at 95 ° C. After cooling the samples (at room temperature), the samples were measured at 532 nm using a spectrophotometer UV-160 Shimadzu. All values were expressed as percentage of antioxidant activity (% AA).

The equivalent antioxidant capacity to BHT (BHT mg equivalent / g of sample) was determined by regression equation.

### *Fosfomolybdenum complex formation assay*

An aliquot of 0.3 mL of fruit extracts diluted in ethanol (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 and 1.563 mg mL<sup>-1</sup>) were added to a test tube with 3 mL of solution reagent (0.6 M sulfuric acid, 28 mM sodium phosphate, ammonium molybdate and 4 mM). The tubes were incubated in a water bath at 95 ° C for 60 min. After cooling the test tubes, there was read at 695 nm versus a control (solution containing 3 mL of the reagent solution and 0.3 mL ethanol). The

values of the antioxidant capacity of the fruit were compared BHT (positive control) and the results were expressed in mg BHT equivalent / g of sample.<sup>19</sup>

#### *Reducing power*

In a test tube was added an aliquot of 0.1 mL of fruit extracts diluted in ethanol (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 and 1.563 mg mL<sup>-1</sup>) along with 1 mL of phosphate buffer solution (pH = 7.4) and 1.0 mL of aqueous 1% potassium ferricyanide. After 30 minutes incubation at 50 ° C it were added 0.5 mL of 10% trichloroacetic acid, 1.5 mL of distilled water and 0.3 mL of ferric chloride. The reading was performed at 700 nm and values of the antioxidant activity of fruits were compared with a curve for various concentrations of BHT (31.25; 62.5; 125; 250; 500; 1000 and 2000 mg L<sup>-1</sup>). Results were expressed in mg BHT equivalent/g of sample.<sup>20</sup>

#### *Statistical analysis*

For evaluation of the antioxidant activity, quantification of ascorbic acid and phenolics compounds, the experiments were arranged in a completely randomized design (CRD). Data were submitted to analysis of variance (3 replicates) and the means compared by Scott-Knott test at 5% probability. Statistical analyzes were performed by using the Statistical Analysis System program of Variance for Balanced Data – Sisvar.<sup>21</sup>

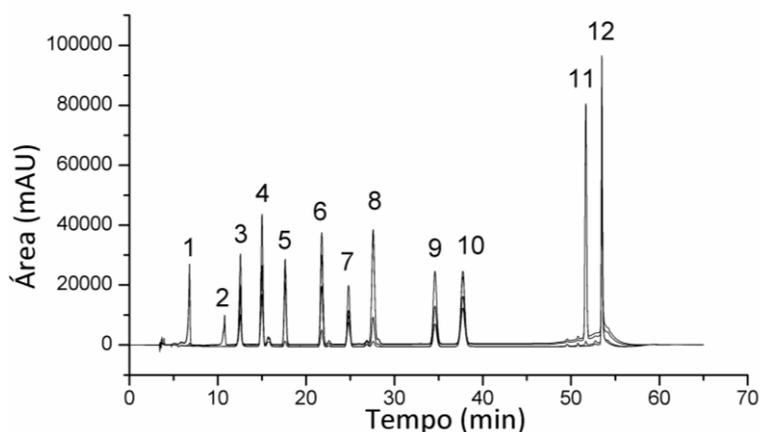
The Principal Components Analysis (PCA) and the Hierarchical Cluster Analysis (HCA) were used to comprehend the similarity among the antioxidant tests (DPPH, ABTS,  $\beta$ -Carotene/Linoleic Acid, TBARS, Reducing Power, Fosfomolybdenum Method) comparing the antioxidant activity presented by the 13 fruits of the cerrado analyzed. The analysis were performed by the program Chemoface.<sup>22</sup>

### 3 RESULTS AND DISCUSSIONS

The fruits have in their constitution several important compounds with antioxidant power such as ascorbic acid and phenolic compounds. However, the amount of these compounds varies among species, depending on the maturity stage and due to edaphoclimatic factors.

#### *Phenolics*

In Figure 1 we shown the chromatographic separation of 12 phenolic patterns used in this study.



**Figure 1** Chromatogram of the standart phenolic compounds. Identification of the peaks: (1) gallic acid; (2) catechin; (3) chlorogenic acid; (4) caffeic acid; (5) vanillin; (6) p-coumaric acid; (7) ferulic acid; (8) trans-cinnamic acid; (9) m-coumaric acid; (10) o-coumaric acid; (11) quercetin; (12) rutin

The phenolic compounds that have been identified in the Cerrado's fruits and the quantification of some of them are in table 1. The content of the 12 identified phenolic compounds varied among the fruits analyzed. The major phenolic in each fruit was the following: catechin (araçá-boi, gabirola, marolo,

yellow puça and black puça); ferulic acid (bacaba); gallic acid (curriola, mangaba, murici and peki); chlorogenic acid (marmelada bola and saborosa); p-coumaric acid (mermlada espinho). In general the most abundant compound was catechin, found in gabirola at a concentration of 85.84 mg 100 g<sup>-1</sup> fresh weight.

Lima et al.<sup>12</sup> identified in mangaba the following phenolic compounds: gallic acid (0.121 ± 0.08 mg 100g<sup>-1</sup>), catechin (0.785 ± 0.12 mg 100g<sup>-1</sup>), chlorogenic acid (18.091 ± 1.68 mg 100g<sup>-1</sup>), vanilínico acid (0.05 ± 0.430 mg 100g<sup>-1</sup>), o-coumaric acid (0.07 ± 0.183 mg 100g<sup>-1</sup>), rosmarinic acid (0.07 ± 0.129 mg 100g<sup>-1</sup>), rutin (10.260 ± 1.13 mg 100g<sup>-1</sup>). Such compounds have also been identified in mangaba in this study, with the exception of rosmarinic acid and vanilinico acid, although the latter is an oxidized form of vanillin, observed in this study. However, their concentrations differ, especially for chlorogenic acid, rutin and gallic acid. Gallic acid has been identified as the major phenolic in mangaba, however, according others authors chlorogenic acid<sup>12,23</sup> or rutin<sup>24</sup> were major phenolic indentified in this fruit.

Roesler et al.,<sup>25</sup> using electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS), found powerful antioxidants in peki pulp, such as quinic acid, quercetin, quercetin 3-O-arabinose and gallic acid, the peki major phenolic in this work.

In this study, the major phenolic compound of murici was gallic acid (10.25 mg 100g<sup>-1</sup>), and the concentration of this compound is about 8 times higher than the concentration of the major compound identified by Herrera-Ruiz et al.<sup>26</sup> That study showed quercetin-3-xyloside as the major phenolic compoundin murici (1.2 mg 100g<sup>-1</sup>), and also showed flavonoids such as rutin (0.44 mg 100g-1), quercetin (0.14 mg 100g<sup>-1</sup>), and hesperidin (0.07 mg 100g<sup>-1</sup>).<sup>27</sup>

**Table 1** Identification and quantification of phenolic compounds of different fruits of the Cerrado.

Fruits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	mg phenolic compound /100g f.w.											
<b>Araçá-boi</b>	0.12±0.02	3.86±1.83	0.47±0.09	0.031±0.02	0.000±0.00	0.02±0.01	0.96±0.44	0.30±0.08	0.00±0.00	0.01±0.01	0.67±0.19	0.40±0.230
<b>Bacaba</b>	0.17±0.00	1.67±0.05	0.51±0.07	0.116±0.03	0.087±0.01	0.02±0.01	1.76±0.05	0.37±0.02	0.00±0.00	0.01±0.01	1.06±0.02	0.40±0.230
<b>Curriola</b>	2.40±0.12	0.42±0.02	0.84±0.10	0.268±0.02	0.241±0.01	0.02±0.01	0.03±0.02	0.15±0.02	0.00±0.00	0.01±0.01	0.02±0.00	0.40±0.230
<b>Gabirola</b>	1.93±0.83	85.84±4.32	0.07±0.04	0.823±0.06	0.181±0.01	0.28±0.02	0.25±0.02	0.18±0.04	0.13±0.01	0.03±0.01	0.36±0.11	0.40±0.230
<b>Mangaba</b>	1.90±0.70	0.64±0.18	0.20±0.05	0.271±0.03	0.160±0.06	0.02±0.01	0.03±0.02	0.15±0.02	0.03±0.00	0.01±0.01	0.02±0.00	0.40±0.230
<b>Marmelada Bola</b>	2.12±0.06	6.03±0.09	10.75±0.29	0.105±0.02	0.000±0.00	0.02±0.01	0.11±0.03	0.03±0.02	0.00±0.00	0.01±0.01	0.02±0.00	0.40±0.230
<b>Marmelada Espinho</b>	0.02±0.00	0.02±0.01	0.39±0.11	0.269±0.03	0.029±0.00	0.41±0.10	0.08±0.03	0.03±0.02	0.00±0.00	0.01±0.01	0.02±0.00	0.40±0.230
<b>Marolo</b>	1.89±0.20	16.79±1.83	0.55±0.11	0.031±0.02	0.465±0.05	0.02±0.01	0.03±0.02	0.20±0.02	0.21±0.01	0.01±0.01	0.51±0.02	0.40±0.230
<b>Murici</b>	10.25±0.78	0.55±0.12	1.59±0.14	0.677±0.32	0.576±0.05	0.02±0.01	0.35±0.19	0.03±0.02	0.00±0.00	0.01±0.01	0.50±0.19	0.40±0.230
<b>Peki</b>	2.64±0.40	2.14±0.79	0.15±0.06	0.080±0.03	0.018±0.01	0.10±0.02	0.09±0.03	0.03±0.02	0.00±0.00	0.07±0.03	1.18±0.42	0.40±0.230
<b>Yellow puça</b>	0.62±0.02	3.24±0.20	0.89±0.07	0.031±0.02	0.025±0.00	1.16±0.09	0.07±0.02	0.03±0.02	0.00±0.00	0.01±0.01	0.05±0.00	0.71±0.250
<b>Black puça</b>	1.10±0.04	6.32±0.38	3.99±0.20	0.099±0.02	0.027±0.01	0.12±0.01	0.03±0.02	0.04±0.02	0.00±0.00	0.01±0.01	0.02±0.00	0.48±0.230
<b>Saborosa</b>	0.05±0.02	0.28±0.04	1.37±0.07	0.285±0.03	0.288±0.00	0.02±0.01	0.11±0.02	0.03±0.02	0.00±0.00	0.01±0.01	0.59±0.010	0.40±0.230

**Legend:** 1 = galic acid; 2 = catechin; 3 = chlorogenic acid; 4 = caffeic acid; 5 = vanillin; 6 = p-coumaric acid; 7 = ferulic acid; 8 = trans-cinnamic acid; 9 = m-coumaric acid; 10 = o-coumaric acid; 11 = quercetin; 12 = rut

The total phenolic content of thirteen Brazilian Cerrado's fruits analyzed and their comparison with the literature<sup>27-34,5</sup> are shown in Table 2.

Gabiroba and peki stood out as the fruits with the highest content of total phenolics, 1134.07 mg GAE 100g<sup>-1</sup> and 1089,33 mg GAE 100g<sup>-1</sup>, respectively. According to the scale proposed by Vasco et al.<sup>35</sup>, the fruits that have values > 500 mg GAE 100g<sup>-1</sup> are considered with high levels of phenolic compounds. Thus, gabiroba, peki and yellow puça can be considered an excellent source of phenolic compounds, which may be compared to fruits such as acerola and camu-camu.<sup>5</sup>

Phenolic compounds are responsible for most of the antioxidant activity of fruits.<sup>36</sup> They excellent antioxidant activity it's mainly because of their reducing properties and chemical structure, which play an important role in neutralizing or kidnapping free radicals and transition metal chelation, acting both at the initiation and propagation stages of the oxidative process.<sup>37</sup>

Although the concentration of phenolic compounds greatly contribute to the antioxidant activity, differences in the characteristics of polyphenols, can determine a different antioxidant capacity. It is difficult to characterize what substance of the extracts is acting as an antioxidant due to the diversity and complexity of mixtures of natural substances present in the matrix.<sup>38</sup> The antioxidant action depends also on many factors such as the physical structure of the test system, the nature of the substrate to oxidation, the interaction between the compounds employed, the mode of starting the oxidation, among others. Therefore, an approach to multiple testing is highly advisable, thus ensuring better comparison of the results and covering a wide range of possible applications.<sup>39</sup>

**Table 2** Total phenolic contents found in thirteen Cerrado's fruits and comparison with the literature (mg.100g<sup>-1</sup> f.w.)

<b>Fruit</b>	<b>TPh</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
<b>Araçá-boi</b>	146,43 G					143.6	87		184.1	
<b>Bacaba</b>	97,01 H	1759.3			941.56					
<b>Curriola</b>	87,12 H									
<b>Gabioba</b>	1134,07 A									
<b>Mangaba</b>	120,28 G		98.8	490.74						169
<b>Marmelada Bola</b>	132,34 G									
<b>Marmelada Espinho</b>	101,25 H									
<b>Marolo</b>	290,14 F									
<b>Murici</b>	429,60 D							254.7		
<b>Peki</b>	1089,33 B									
<b>Yellow puça</b>	564,27 C									
<b>Black puça</b>	325,47 E									868
<b>Saborosa</b>	29,89 I									

Means followed by the same letter in the column do not differ significantly at 5% probability, by the Scott-Knott test.

**Legend:** TPh - Total phenolic compounds ; **1-** Abadio Finco et al. (2012); **2-** Almeida et al. (2011); **3-** De Lima et al. (2015a); **4-** Dos Santos et al. (2015); **5-** Garzón, et al. (2012); **6-** Genovese et al. (2008); **7-** Gordon et al. (2011); **8-** Neri-Numa et al. (2013); **9-** Rufino et al. (2010).

### *Ascorbic Acid*

The vitamin C content of fruits analyzed ranged from 20.97 mg 100g<sup>-1</sup>, curriola, to 1621.37 mg 100g<sup>-1</sup>, gabirola, and this vitamin was not detected in bacaba (Table 3).

The content of vitamin C found in araçá-boi (65.11 mg 100g<sup>-1</sup>) was higher than that found by Canuto et al.<sup>41</sup> and Genovese et al.,<sup>32</sup> 0.2 and 9.5 mg 100g<sup>-1</sup>, respectively. The vitamin C content observed in curriola (20.97 mg 100g<sup>-1</sup>) accounted for about 50% of that observed in the same fruit per Morzelle et al.<sup>44</sup>

Gabirola was noted for its high content of vitamin C, with values similar to acerola, camu-camu and mirindiba, which are fruits considered rich sources of vitamin C (1357 mg 100g<sup>-1</sup>, 1882 mg 100g<sup>-1</sup> e 2018,4 mg 100g<sup>-1</sup>, respectivamente).<sup>48,5,49</sup>

It was found 119.63 mg 100g<sup>-1</sup> vitamin C in mangaba, concentration similar to those observed by Almeida et al.<sup>28</sup>, Cardoso et al.<sup>42</sup> and Lima et al.,<sup>12</sup> ranging from 96 to 180 mg 100g<sup>-1</sup>. The vitamin C content observed in marolo (99.34 mg 100g<sup>-1</sup>) was very similar to that found by Della Lucia.<sup>43</sup> The murici showed vitamin C content very similar to that found by Morzele et al.,<sup>44</sup> 95.24 and 92.59 mg 100 g<sup>-1</sup>, respectively.

The vitamin C content found in peki, 172 mg 100g<sup>-1</sup> was higher than that observed by Rodrigues et al.<sup>46</sup>, 98.84 mg 100g<sup>-1</sup>. The black puça showed vitamin C content very similar to that found by Borges,<sup>40</sup> 75,72 and 77 mg 100g<sup>-1</sup>, respectively. The vitamin C content observed in saborosa (48 mg 100g<sup>-1</sup>) was higher than that found by Rodrigues<sup>45</sup> (6.08 mg 100g<sup>-1</sup>).

Ascorbic acid levels are responsive to a wide variety of factors such as light, temperature, salt, water stress, presence of atmospheric pollutants, metals

and herbicides, maturity stage, soil and weather conditions, sun exposure and location fruit on the plant and further processing of the pulp.<sup>50,47,51,12</sup>

Thus, these many factors may explain the variation found between the results presented in this study and the data published in the literature.

**Table 3** Quantification of ascorbic acid compounds of the thirteen cerrado fruits and comparison with the literature (mg. 100g<sup>-1</sup> f.w.)

Fruits	VitC	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Araçá-boi	65,1 D			0,2				9,5					
Bacaba	ND E			0,9									
Curriola	21,0 E								51,0				
Gabiroba	1621,4 A								383,3				800
Mangaba	119,6 C	96,3			102,8		180						
Marmelada Bola	57,6 D												
Marmelada Espinho	59,3 D												
Marolo	99,3 C					100,8							
Murici	95,2 C	11,8		0,3					92,6			148	
Peki	172,0 B										98,8		
Yellow puça	102,2 C												
Black puça	75,7 D		77										
Saborosa	48,0 D									6,1			

Means followed by the same letter in the column do not differ significantly at 5% probability, by the Scott-Knott test.

**Legend:** VitC – Vitamin C; **1-** Almeida et al. (2011); **2-** Borges (2011); **3-** Canuto et al. (2010); **4-** Cardoso et al. (2014); **5-** Della Lúcia (2013); **6-** De Lima et al. (2015); **7-** Genovese et al. (2008); **8-** Morzelle et al. (2015); **9-** Rodrigues et al. (2010); **10-** Rodrigues et al. (2015); **11-** Rufino et al. (2009); **12-** Silva et al. (2009).

### *Antioxidant activity*

There are several methods for determining antioxidant activity. The chemical complexity of the fruits, consisting of compounds with different functional groups, polarity and chemical behavior, can lead to contradictory results, depending on the test performed. Therefore, the adoption of more than one trial to evaluate the potential antioxidants of the extracts has been widely recommended.<sup>52</sup>

All 13 fruits studied showed antioxidant activity, in spite of the test performed (DPPH, ABTS,  $\beta$ -carotene, TBARS, Reducing Power and Fosfomolybdenum Method).

Gabiroba was the fruit with the highest antioxidant activity in five of the six methods analyzed. This fact is probably related to the high content of phenolic compounds and vitamin C in this fruit.

By the DPPH method, gabiroba, marolo and bacaba showed the higher antioxidant activity, with values of 19.65, 19.51 and 18.87 mg BHTeq.g<sup>-1</sup> fw mg, respectively (Table 4).

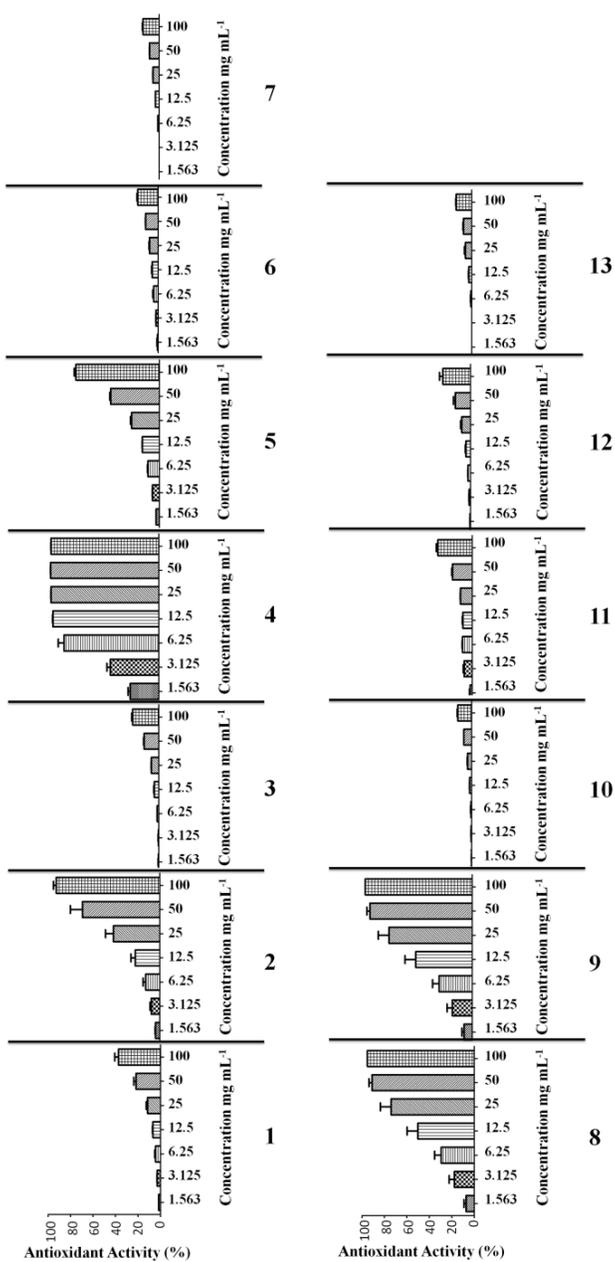
There was a gradual increase in antioxidant activity (DPPH) due to the increased concentrations of all ethanol extracts of the fruits used, revealing a dose-dependent effect (Figure 2), more pronounced in gabiroba, fruit with the highest activity antioxidant and reached maximum antioxidant activity already at a concentration of 125 mg mL<sup>-1</sup> and remained constant up to the highest concentration studied.

DPPH method evaluated the ability of the substances to donate hydrogen to this radical. It is based on a bleaching solution composed of DPPH radicals, violet color, into a solution composed of DPPH compound, yellow color.

**Table 4.** Antioxidant activity of 13 fruits from Brazilian Cerrado using 6 methodologies: DPPH, ABTS,  $\beta$ -carotene, TBARs, Reducing Power, Fosfomolybdenum Method (mg BHT eq.g<sup>-1</sup> f.w.)

Fruit	DPPH		ABTS		$\beta$ -carotene		TBARs		Reducing Power		Fosfo-molybdenum	
<b>Araçá-boi</b>	5,84	D	4,52	E	2,94	B	0,038	C	8,09	D	7,81	E
<b>Bacaba</b>	18,87	A	8,94	B	1,82	D	0,027	D	8,15	D	3,15	F
<b>Curriola</b>	2,49	F	3,20	F	2,44	C	0,020	D	4,24	E	7,06	E
<b>Gabiroba</b>	19,65	A	10,67	A	2,83	B	0,199	A	56,96	A	42,32	A
<b>Mangaba</b>	14,57	B	7,39	C	2,96	B	0,043	C	37,56	B	13,48	D
<b>Marmelada Bola</b>	1,28	G	2,23	F	2,82	B	0,023	D	5,41	E	11,13	D
<b>Marmelada Espinho</b>	0,38	G	2,52	F	2,71	C	0,016	E	4,47	E	6,92	E
<b>Marolo</b>	19,51	A	10,65	A	2,91	B	0,040	C	39,04	B	17,77	C
<b>Murici</b>	13,02	C	9,20	B	3,75	A	0,071	B	11,10	C	16,62	C
<b>Peki</b>	0,01	G	2,91	F	3,09	B	0,023	D	4,70	E	6,12	E
<b>Y.puçã</b>	4,22	E	5,84	D	2,59	C	0,025	D	11,04	C	40,36	A
<b>B.puçã</b>	2,79	F	4,94	E	3,00	B	0,042	C	8,44	D	30,52	B
<b>Saborosa</b>	0,24	G	1,91	F	1,65	D	0,007	E	3,40	E	6,94	E

Means followed by the same letter in the column do not differ significantly at 5% probability, by the Scott-Knott test.



**Figure 2** Antioxidant activity using DPPH method

**Legend:** Fruits: 1-Araçá boi 2-Bacaba 3-Curriola 4-Gabirola 5-Mangaba 6-Marmelada bola 7-Marmelada espinho 8-Marolo 9-Murici 10-Peki 11- Yellow puçá 12- Black puçá 13-Saborosa

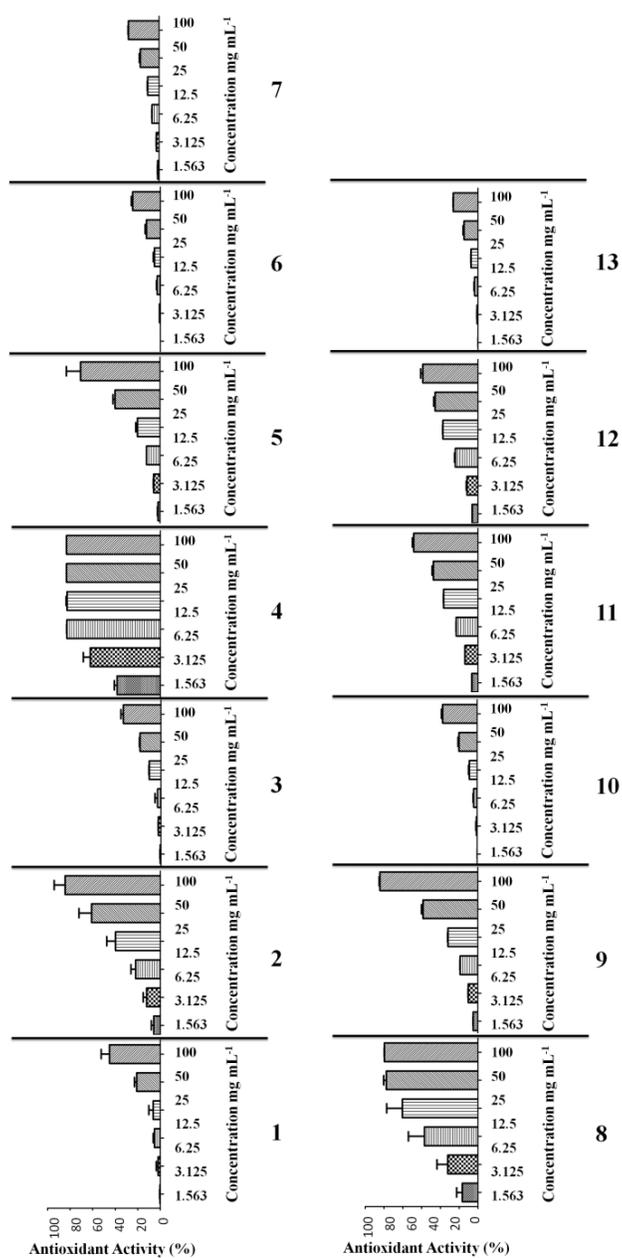
Gabiroba and marolo were the fruits with the highest antioxidant activity by ABTS method, as observed for the DPPH method (Table 4). The dose-dependent response was also observed for all fruits and gabiroba showed the maximum antioxidant activity, using low concentrations of fruit (Figure 3).

The ABTS assay is based on the capture of the radical 2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline sulfonic acid-6) (ABTS.<sup>+</sup>) by an antioxidant. In the presence of antioxidants it is possible to measure, by spectrophotometry, the decrease in the content of the radical dark green being converted into a non-colored medium or lighter green ABTS<sup>+</sup>.

Although the DPPH and ABTS tests are based on the ability to capture free radicals, the specific antioxidant compounds present in each fruit may respond differently to various sources of radicals, generating different results of antioxidant activity according to the methodology employed. Studies have shown that DPPH is more sensitive to hydrophilic compounds, whereas ABTS is sensitive to lipophilic and hydrophilic compounds.<sup>52</sup> These may explain the numerical difference between the antioxidant activity found for the same fruit when comparing the results of the DPPH and ABTS tests (Table 4).

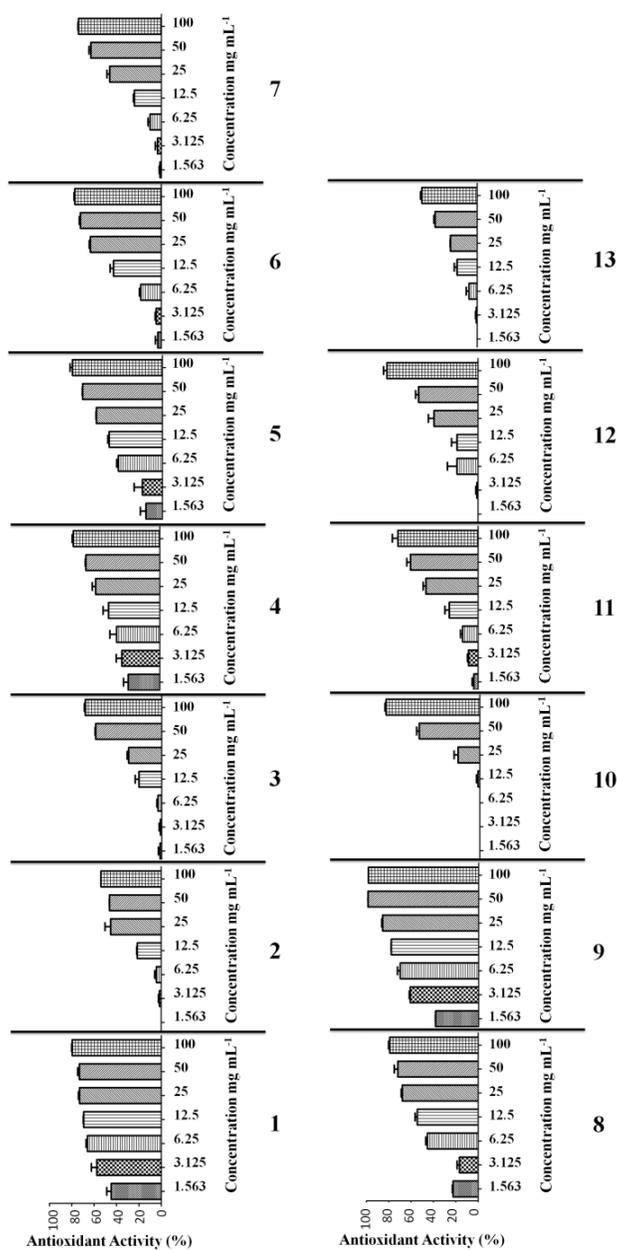
Souza et al.<sup>53</sup>, determining the antioxidant activity in fruits of the Brazilian cerrado (marolo, murici, jenipapo, soursop and sweet passion fruit), observed by the ABTS method, the murici fruits and marolo showed the greatest values of antioxidant activity. Our results corroborate those of Souza et al.<sup>53</sup>

Murici showed the highest antioxidant activity by method  $\beta$ -carotene/linoleic acid (3.75 mg g<sup>-1</sup>), followed by peki, black puça, mangaba, marolo, araçá-boi, gabiroba and marmelada bola. The increase in antioxidant activity due to the increased concentration result was observed for all the fruits (Figure 4).



**Figure 3** Antioxidant activity using ABTS method

**Legend:** Fruits: 1-Araçá boi 2-Bacaba 3-Curriola 4-Gabirola 5-Mangaba 6-Marmelada bola 7-Marmelada espinho 8-Marolo 9-Murici 10-Peki 11- Yellow puça 12- Black puça 13-Saborosa

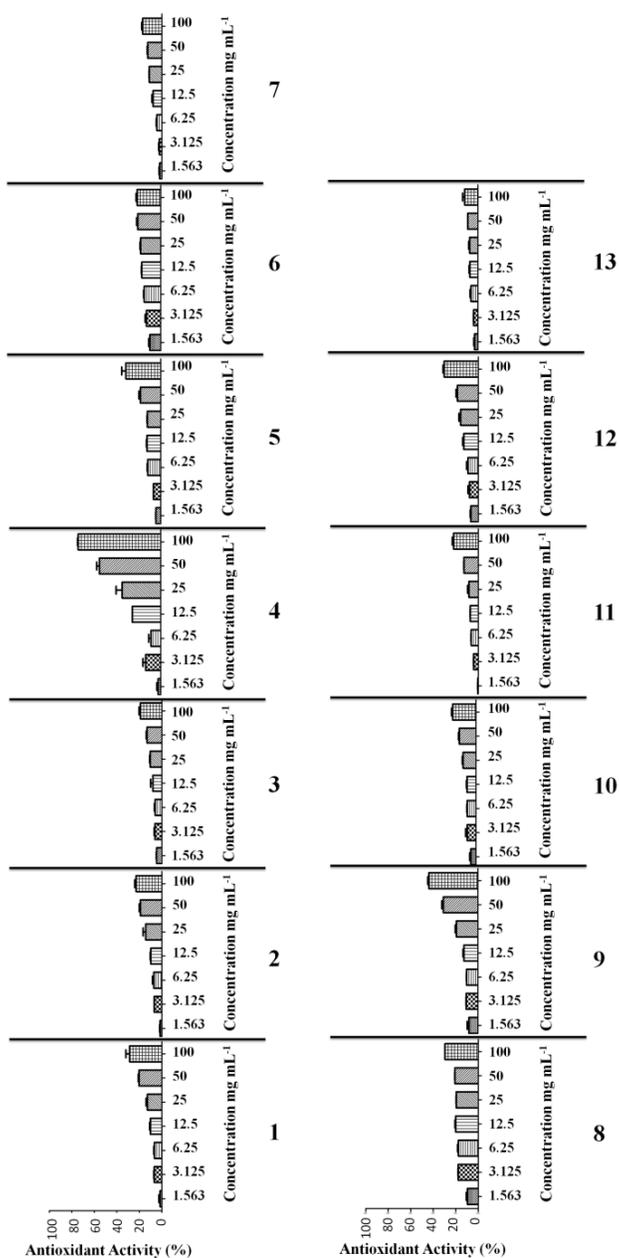


**Figure 4** Antioxidant activity using  $\beta$ -carotene/linoleic acid method  
**Legend:** Fruits: 1-Araçá boi 2-Bacaba 3-Curriola 4-Gabirola 5-Mangaba 6-Marmelada bola 7-Marmelada espinho 8-Marolo 9-Murici 10-Peki 11- Yellow puça 12- Black puça 13-Saborosa

According to Huang et al.,<sup>54</sup> the  $\beta$ -carotene/linoleic acid method is based on spectrophotometric measurements discoloration (rust) of  $\beta$ -carotene. This is caused by the attack of free radicals resulting from the oxidation of linoleic acid by reactive oxygen species present in the medium. If there is an action of an antioxidant substance promoting the transfer of one hydrogen atom for peroxy radical, this radical is then converted to a hydroperoxide, thus protecting the molecule of  $\beta$ -carotene, with no discoloration of  $\beta$ -carotene solution.

Although the gabiroba showed high content of vitamin C and phenolic compounds, it presented low antioxidant activity by the  $\beta$ -carotene / linoleic acid method. One of the factors that may have influenced this result is that ascorbic acid has pro-oxidant activity in this method. Pro-oxidant activity has previously been reported for ascorbic acid when using  $\beta$ -carotene/linoleic acid method or the liposome method,<sup>55</sup> and appears to be due to the formation of ascorbyl radicals during oxidation.<sup>5</sup> This can also be explained by the fact that this method has antioxidant activity values more pronounced for samples that have substances with intermediate polarities. Thus, if the antioxidant substance is highly polar, as is the case of phenolic compounds, it will remain in the aqueous phase of the emulsion and will not be diluted in the lipid phase, thus being less effective in protecting linoleic acid.<sup>56</sup>

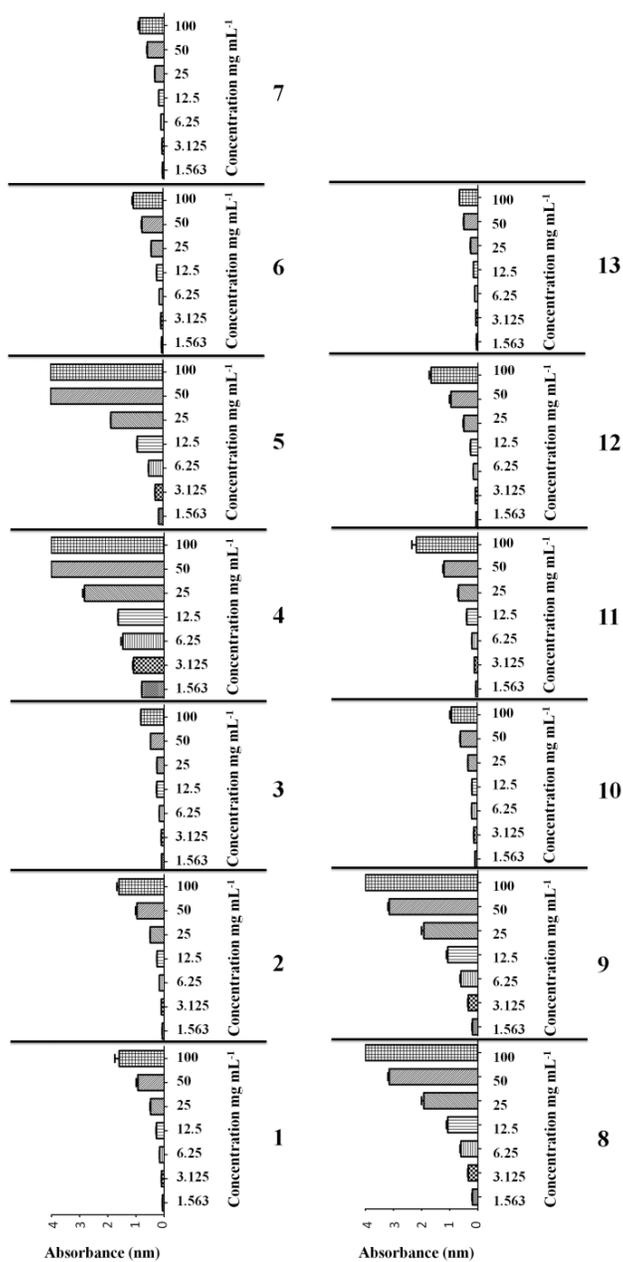
In TBARS method, all the fruits had low antioxidant activity (Figure 5), not showing thus very significant numerical differences between fruits analyzed. The highest antioxidant activity was observed in gabiroba, only 0.199 mg BHT g<sup>-1</sup>.



**Figure 5** Antioxidante activity by TBARs method

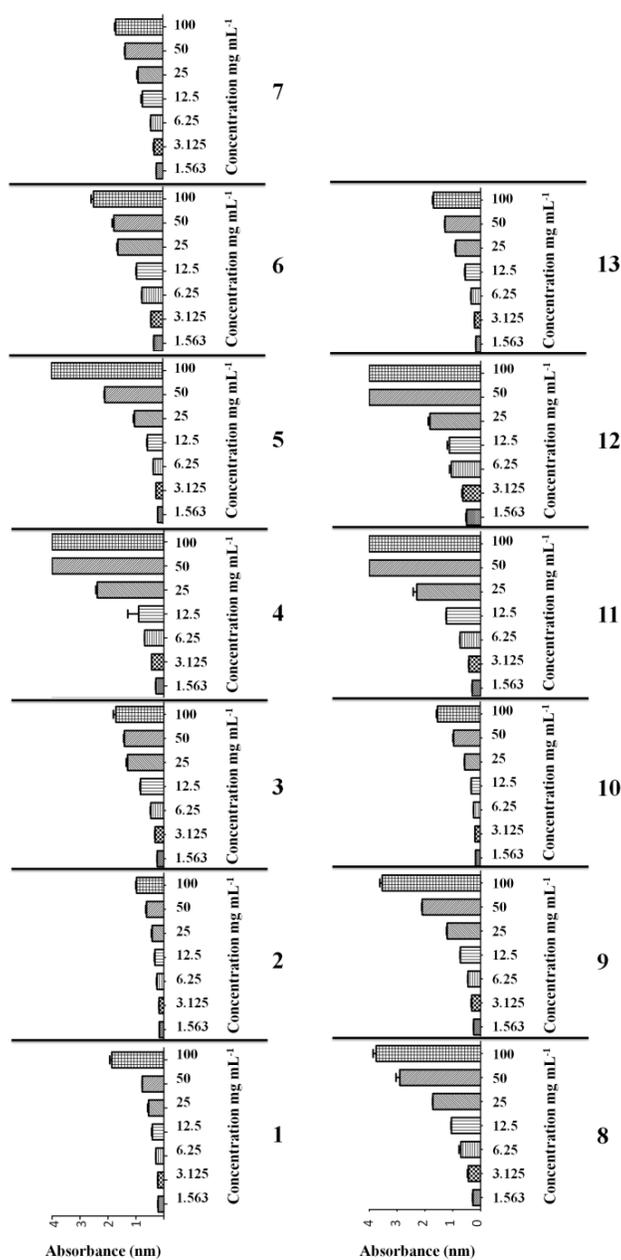
**Legend:** Fruits: 1-Araçá boi 2-Bacaba 3-Curriola 4-Gabiroba 5-Mangaba 6-Marmelada bola 7-Marmelada espinho 8-Marolo 9-Murici 10-Peki 11- Yellow puça 12- Black puça 13-Saborosa

For Reducing Power Method, gabirola showed the highest antioxidant activity. In Fofomolybdenum Method, gabirola e peki showed the highest antioxidant activity (Table 4). The increase in antioxidant activity in both methods was positively dependent on the concentration of fruit in the alcoholic extract, and 50 mg of gabirola per mL of extract were sufficient to reached the maximum antioxidant activity (Figure 6 and 7). This result is due probably to the fact that gabirola have more phenolic compounds and vitamin C than other fruits, thus contributing to a greater antioxidant effect.



**Figure 6** Antioxidant activity using Reducing Power method

**Legend:** Fruits: 1-Araçá boi 2-Bacaba 3-Curriola 4-Gabirola 5-Mangaba 6-Marmelada bola 7-Marmelada espinho 8-Marolo 9-Murici 10-Peki 11- Yellow puça 12- Black puça 13-Saborosa

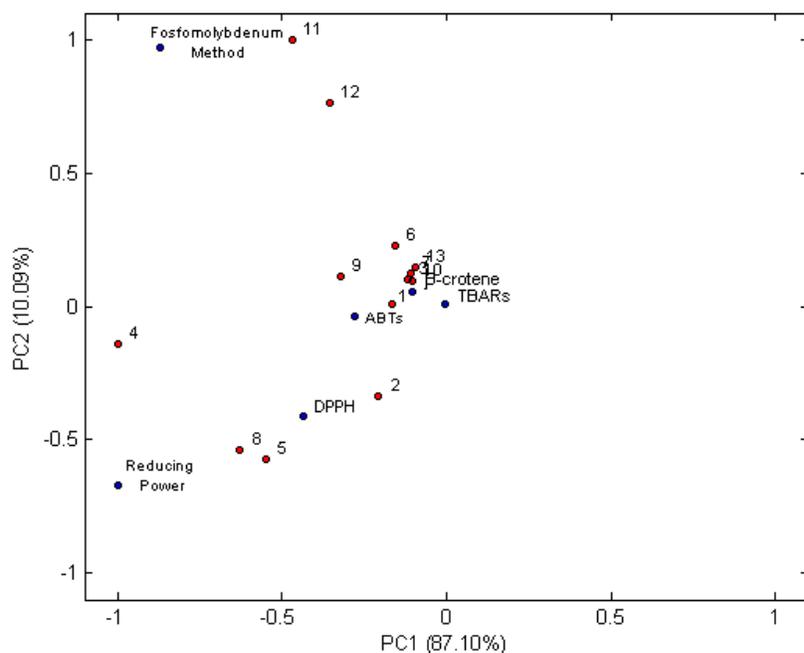


**Figure 7** Antioxidant activity by Fosfomolybdenum Method method

**Legend:** Fruits: 1-Araçá boi 2-Bacaba 3-Curriola 4-Gabiroba 5-Mangaba 6-Marmelada bola 7-Marmelada espinho 8-Marolo 9-Murici 10-Peki 11- Yellow puça 12- Black puça 13-Saborosa

The principal component analysis showed that with the first principal component was possible to describe 87.1% of the total variance. Adding to it the second leading component and the third principal component, it was possible to describe 99.95% of the data.

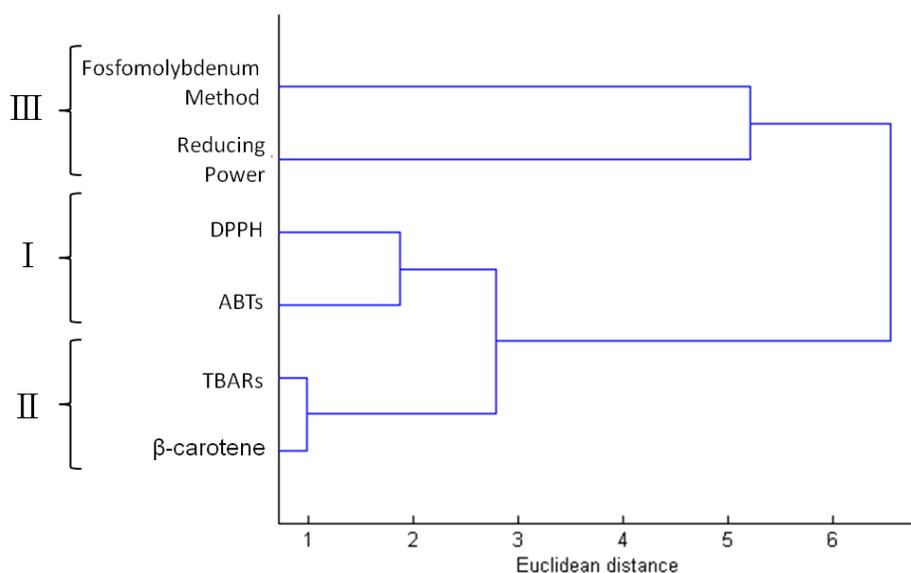
Data analysis of antioxidants equivalent to BHT levels of the six methods used (DPPH, ABTS,  $\beta$ -carotene, TBARs, Reducing Power and Fosfomolybdenum Method) by principal component analysis allowed grouping the samples in order to express and show their similarities and differences (Figure 8).



**Figure 8** Graph biplot PC1xPC2: antioxidant activities equivalent to the BHT standard regarding the antioxidant methodologies employed (DPPH, ABTS,  $\beta$ -carotene, TBARs, Reducing Power and Fosfomolybdenum Method).

**Legend:** Fruits: 1-Araçá boi 2-Bacaba 3-Curriola 4-Gabiroba 5-Mangaba 6-Marmelada bola 7-Marmelada espinho 8-Marolo 9-Murici 10-Peki 11- Yellow puça 12- Black puça 13-Saborosa

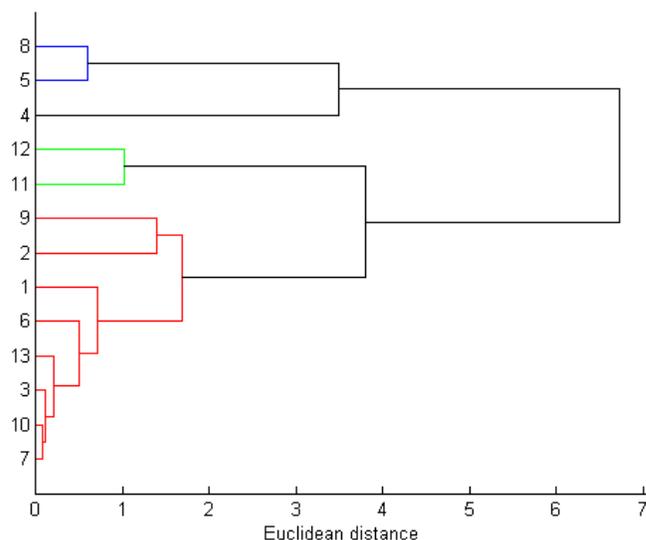
The similarity of the methods was assessed using the analysis and hierarchical clustering dendrogram (Figure 9). It was evident the grouping between DPPH and ABTS methods (Group I), TBARs and  $\beta$ -carotene (Group II) and Fosfomolybdenum Method and Reducing Power (Group III).



**Figure 9** Dendrogram of antioxidant activity equivalent to the standard BHT of the 13 Cerrado fruits, for the employed methodologies antioxidant (DPPH, ABTS,  $\beta$ -carotene, TBARs, Reducing Power and Fosfomolybdenum Method).

By Figure 8 and 9 it can be observed that DPPH and ABTS methods are grouped, probably due to these methods to evaluate antioxidant activity by capturing the DPPH and ABTS radical. Already TBARs methods and  $\beta$ -carotene were grouped because of the similarity in the antioxidant evaluation that measures the ability to prevent lipid peroxidation. Finally, the methods of Fosfomolybdenum Method and Power Reducer bunched due to the similarity in the determination of antioxidant activity that occurs by reducing capacity of the molybdenum complex and reduction of ferricyanide ion to ferrocyanate.

The similarity of the 13 Cerrado fruits was assessed using the analysis and hierarchical clustering dendrogram (Figure 10).



**Figure 10** Dendrogram of antioxidant methodologies employed (DPPH, ABTS,  $\beta$ -carotene, TBARs, Reducing Power and Fosfomolybdenum Method) in relation the antioxidant activity equivalent to the standard BHT of 13 Cerrado fruits.

**Legend:** Fruits: 1-Araçá boi 2-Bacaba 3-Curriola 4-Gabiroba 5-Mangaba 6-Marmelada bola 7-Marmelada espinho 8-Marolo 9-Murici 10-Peki 11- Yellow puça 12- Black puça 13-Saborosa

Through this Dendrogram (Figure 10) was possible to observe the formation of two groups, one composed of the fruits that highlighted because they have higher antioxidant activity, taking into account all methods - gabiroba, mangaba and marolo - and the other consisting of the remaining fruit, from the fruits that had lower antioxidant activity - yellow puça e black puça.

According Zielinski et al.,<sup>57</sup> exploratory methods such as principal component analysis and analysis of hierarchical clustering can be efficient chemometric tools to distinguish the differences or similarities between samples, depending on the different parameters used.

#### **4 CONCLUSIONS**

Gabiroba and peki stood out as the fruits with the highest content of total phenolics, comparable to acerola and camu-camu. Gabiroba also excelled because of its high vitamin C content, with values similar to acerola, camu-camu and mirindiba, which are fruits considered rich sources of vitamin C. The application of different antioxidant methods allowed the identification of gabiroba, mangaba and marolo as the fruits with the highest antioxidant potential. Therefore, due to the nutrient content found in the Brazilian Cerrado fruits, the inclusion of these in the diet can be recommended as a considerable source of bioactive compounds, capable of protecting the organism from oxidative stress, preventing the occurrence of several diseases.

## REFERENCES

- 1 Borlaug, N. E. Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. In: R. Bailey (ed.). Global warming and other eco-myths. *Comp Ent Ins* 29-60 (2002).
- 2 Faleiro FG and Farias-Neto AL, Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais, in ed. by Planaltina: Embrapa Cerrados, Planaltina, pp. 32-46 (2008).
- 3 Cavalcante MRSDB, Santos, LLGG and Oliveira M, Caracterização química de frutos nativos do cerrado. *Ciência Rural* **38**: 1.790-1.793 (2008).
- 4 Neves LC, Tosin JM, Benedette RM and Cisneros-Zevallos L, Post-harvest nutraceutical behaviour during ripening and senescence of 8 highly perishable fruit species from the Northern Brazilian Amazon region. *Food chem* **174**: 188-196 (2015).
- 5 Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F and Mancini-Filho J, RUFINO, M.S.M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food chem* **121**: 996-1002 (2010).
- 6 Alves RE, Brito ES, Rufino MSM and Sampaio CG, Antioxidant activity measurement in tropical fruits: A case study with acerola. *Acta Hort* **773**:299–305 (2008).
- 7 Melo, EA, Maciel MIS, Lima VLAG and Nascimento RJ, Capacidade antioxidante de frutas. *Braz J Pharm Sci* **44**:193-201 (2008).
- 8 Duarte-Almeida JM, Santos RD, Genovese MI and Lajolo FM, Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH. *Rev Cien Tecnol Alim* **26**: 446-452 (2006).
- 9 Pérez-Jiménez J, Arranz S, Taberner M, Díaz-Rubio ME, Serrano J, Goñi I and Saura-Calixto F, Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Res Int* **41**:274-285 (2008).
- 10 Costa AGV, Garcia-Diaz DF, Jimenez P and Silva PI, Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. *J Funct Food* **5**:539–549 (2013).

- 11** Ramaiya, SD, Bujang JS, Zakaria MH, King WS, Sahrir S and Arif M, Sugars, ascorbic acid, total phenolic content and total antioxidant activity in passion fruit (*Passiflora*) cultivars. *J Sci Food Agric* **93**:1198–1205 (2013).
- 12** De Lima JP, Azevedo L, Souza NJ, Nunes EE and Vilas Boas EVB, First evaluation of the antimutagenic effect of mangaba fruit in vivo and its phenolic profile identification. *Food Res Int* **75**: 216-224 (2015b).
- 13** Waterhouse AL, Polyphenolics: determination of total phenolics. In: Wrolstad, R.E. (Ed.), Current protocols in food analytical chemistry. John Wiley, New York, pp. 1111–1118 (2002).
- 14** Strohecker RL, HENNING, H.M. **Análisis de vitaminas: métodos comprobados**. Paz Montalvo, Madri. 1967.
- 15** Lopes-Lutz D, Alviano DS, Alviano CS and Kolodziejczyk PP, Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry* **69**:1732-1738, 2008.
- 16** Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad Biol Med* **26**: 1231-1237 (1999).
- 17** Gomes, MDS, Cardoso MG, Guimarães ACG, Guerreiro AC, Gago CML, Vilas Boas EVB, Dias CMB, Manhita ACC, Faleiro ML, Miguel MGC and Antunes MDC, Effect of edible coatings with essential oils on the quality of red raspberries over shelf-life. *J Sci Food Agric* **97**: 929-938 (2017).
- 18** Bounatirou S, Smiti S, Miguel MG, Faleiro L, Rejeb MN, Neffati M and Pedro, LG, Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chem* **105**:146-155 (2007).
- 19** Prieto P, Pineda M and Aguilar M, Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem* **269**:337-341 (1999).
- 20** Dos Santos MH, Batista BL, Duarte SM, Abreu CMP and Gouvêa CMCP, Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). *Química Nova* **30**: 604 (2007).

- 21** Ferreira DF, Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* **35**: 1039-1042 (2011).
- 22** Nunes CA, Freitas MP, Pinheiro ACM, Bastos SC, Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. *J Braz Chem Soc* **23**: 2003-2010 (2012).
- 23** Gomes EDB, Ramalho AS and Gualberto NC, A rapid method for determination of some phenolic acids in Brazilian tropical fruits of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) and umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Camara) by UPLC. *J Anal Sci, Methods Instrum* **3**:1-10 (2013).
- 24** Ferreira HC, Serra CP, Endringer DC, Lemos VS, Braga FC and Côrtes SDF, Endothelium-dependent vasodilation induced by *Hancornia speciosa* in rat superior mesenteric artery. *Phytomedicine* **14**:473-478 (2007).
- 25** Roesler R, Catharino RR, Malta LG, Eberlin MN and Pastore G, Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chem* **110**:711-717 (2008).
- 26** Herrera-Ruiz M, Zamilpa A, González-Cortazar M, Reyes-Chilpa R, León E, García MP and Huerta-Reyes M, Antidepressant effect and pharmacological evaluation of standardized extract of flavonoids from *Byrsonima crassifolia*. *Phytomedicine* **18**:1255-1261 (2011).
- 27** Abadio Finco FD, Kammerer DR, Carle R, Tseng WH, Böser S and Graeve L, Antioxidant Activity and Characterization of Phenolic Compounds from Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) Fruit by HPLC-DAD-MS n. *J Agric Food Chem* **60**:7665-7673 (2012).
- 28** Almeida MMB, Sousa PHM, Arriaga AMC, Prado GM, Carvalho Magalhães CE, Maia GA and Lemos TLG, Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Res Int* **44**: 2155-2159 (2011).
- 29** De Lima JP, Fante CA, Pires CRF, Nunes EE, Alves RR, Siqueira Elias HH and Vilas Boas EVB, The antioxidative potential and volatile constituents of mangaba fruit over the storage period. *Sci Hortic* **194**:1-6 (2015a).
- 30** Dos Santos MDFG, Mamede RVS, Rufino MDSM, De Brito ES and Alves RE, Amazonian Native Palm Fruits as Sources of Antioxidant Bioactive Compounds. *Antioxidants* **4**:591-602 (2015).

- 31** Garzón GA, Narváez-Cuenca CE, Kopec RE, Barry AM, Riedl KM and Schwartz SJ, Determination of carotenoids, total phenolic content, and antioxidant activity of Arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh), an Amazonian fruit. *J Agric Food Chem* **60**:4709-4717 (2012).
- 32** Genovese MI, Pinto MDS, Gonçalves ADSS and Lajolo FM, Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. *Food Sci Technol Int* **14**:207-214 (2008).
- 33** Gordon A, Jungfer E, Silva BA, Maia JGS and Marx F, Phenolic constituents and antioxidant capacity of four underutilized fruits from the Amazon region. *J Agric Food Chem* **59**:7688-7699 (2011).
- 34** Neri-Numa IA, Carvalho-Silva LB, Morales JP, Malta LG, Muramoto MT, Ferreira JEM and Pastore GM, Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh—Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. *Food Res Int* **50**:70-76 (2013).
- 35** Vasco C, Ruales J, Kamal-Eldin A, Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chem* **111**:816-823 (2008).
- 36** Everette JD, Bryant QM, Green AM, Abbey YA, Wangila GW and Walker RB, Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteou reagent. *J Agric Food Chem* **58**: 8.139-8.144 (2010).
- 37** Sousa CDM, Silva HR, Vieira-Jr GM, Ayres MCC, Costa CD, Araújo DS, Chaves MH, Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova* **30**: 351–355 (2007).
- 38** Zheng W and Wang SY, Antioxidant activity and phenolics compounds in selected herbs. *J Agric Food Chem* **49**:5165-5170 (2001).
- 39** Birch AE, Fenner GP, Watkins R and Boyd LC, Antioxidant properties of evening primrose seed extracts. *J Agric Food Chem*, v. 49, n. 9, p. 4502-4507, 2001.
- 40** Borges PRS, Caracterização de puçá-preto (*Mouriri pusa* Gardner) ao longo do seu desenvolvimento. 2011. 76p. Dissertação – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

- 41** Canuto GAB, Xavier AAO, Neves LC and Benassi MDT, Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. *Revista Brasileira de Fruticultura* **32**: 1196-1205 (2010).
- 42** Cardoso ML, Reis, BL, Oliveira, DS and Pinheiro-Sant'Ana, HM, Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) from the Brazilian Cerrado: nutritional value, carotenoids and antioxidants vitamins. *Fruits*, v.69, p.89–99, 2014.
- 43** Della Lucia F, Qualidade do marolo (*Annona crassiflora* Mart.) in natura e minimamente processado durante o armazenamento. 2013. 128p. Tese – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.
- 44** Morzelle MC, Bachiega P, Souza ECD, Boas V, Barros EV and Lamounier ML, Chemical and physical characterization of fruits from cerrado: curriola, gabirola and murici. *Revista Brasileira de Fruticultura* **37**: 96-103 (2015).
- 45** Rodrigues LJ, Desenvolvimento e processamento mínimo de pitaiá nativa (*Selenicereus setaceus* Rizz.) do cerrado brasileiro. 2010. 164 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.
- 46** Rodrigues LJ, Paula F, Ranieli N, Pinto DM, Boas V and Barros EV, Growth and maturation of pequi fruit of the Brazilian cerrado. *Food Sci Technol* **35**:11-17, 2015.
- 47** Rufino MS, Fernandes FA, Alves RE and Brito ES, Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. *Food Chem* **114**, n.2, p.693-695, 2009.
- 48** Gonçalves AESS, Lajolo FM and Genovese MI, Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of Brazilian native fruits and commercial frozen pulps. *J Agric Food Chem* **58**:4666-4674, 2010.
- 49** Borges PRS, The bioactive constituents and antioxidant activities of ten selected Brazilian cerrado fruits. 2016. 60p. Tese – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- 50** Davey MW, Montagu MV, Inzé D, Sanmartin M, Kanellis A, Smirnoff N and Fletcher J, Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J Sci Food Agric* **80**: 825–860 (2000).

**51** Faniadis D, Drogoudi PD and Vasilakakis M, Effects of cultivar, orchard elevation, and storage on fruit quality characters of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Sci Hort* **125**: 301–304 (2010).

**52** Bachiega P, Salgado JM, Carvalho JE, Ruiz ALT, Schwarz K, Tezotto T and Morzelle MC, Antioxidant and antiproliferative activities in different maturation stages of broccoli (*Brassica oleracea* Italica) biofortified with selenium. *Food Chem* **190**: 771-776 (2016).

**53** Souza VR, Pereira PAP, Queiroz F, Borges SV and Carneiro JDDS, Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. *Food Chem* **134**: 381-386 (2012).

**54** Huang D, Ou B and Prior RL, The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* **53**:1841-1856 (2005).

**55** Hassimotto NMA, Genovese MI and Lajolo FM, Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *J Agric Food Chem* **53**: 2928-2935 (2005).

**56** Kulisic T, Radonic A, Katalinic V and Milos M, Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chem* **85**: 633-640 (2004).

**57** Zielinski AAF, Ávila S, Ito V, Nogueira A, Wosiacki G and Haminiuk CWI, The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and in vitro antioxidant activity of frozen fruit pulp in Brazil: an application of chemometrics. *J Food Sci* **79**: C510-C516 (2014).