

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Nutrição

Polyana Campos Nunes

**Caracterização física, química e avaliação da capacidade
antioxidante do fruto jambo vermelho (*Syzygium malaccense*)**

**Recife - PE
2015**

Polyana Campos Nunes

**Caracterização física, química e avaliação da capacidade
antioxidante do fruto jambo vermelho (*Syzygium malaccense*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade
Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre
em Nutrição (Área Ciência dos Alimentos).

Orientadora: Prof. Dra. Tânia Lúcia Montenegro Stamford

Coorientador: Prof. Dr. Ismael Ivan Rockenbach

**Recife - PE
2015**

Catálogo na fonte
Bibliotecária: Gláucia Cândida, CRB4-1662

N972c Nunes, Polyana Campos.
Caracterização física, química e avaliação da capacidade antioxidante do fruto jamba vermelho (*Syzygium malaccense*) / Polyana Campos Nunes. – Recife: O autor, 2015.
100 folhas : il. ; 30 cm.

Orientador: Tânia Lúcia Montenegro Stanford.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2015.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Nutrição. 2. Antioxidantes. 3. Plantas Compostos bioativos. I. Stanford, Tânia Lúcia Montenegro (Orientador). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2015-221)

Polyana Campos Nunes

**Caracterização física, química e avaliação da capacidade
antioxidante do fruto jambo vermelho (*Syzygium malaccense*)**

Dissertação aprovada em: 23/02/2015

Prof. Dr. Ismael Ivan Rockenbach
Universidade Federal da Paraíba

Prof.^a Dr.^a Jailane de Souza Aquino
Universidade Federal da Paraíba

Prof.^a Dr.^a Thayza Christina Montenegro Stamford
Universidade Federal de Pernambuco

Recife - PE
2015

AGRADECIMENTOS

A Deus e a todos os que intercedem por mim junto a Ele, nos quais creio e a quem entrego todos os momentos vividos.

Aos meus pais e as minhas irmãs, sobretudo, pelo amor incondicional em todas as etapas da minha vida e por acreditarem em mim, principalmente nos momentos que eu estava desacreditada.

À professora Tânia, por ter sido mais que orientadora e professora, por ter se tornado uma inspiração profissional e de ser humano raro de bondade e compaixão. Agradeço profundamente o apoio, a paciência, a compreensão, a calma e a enorme confiança depositada.

Ao professor Ismael. A ele eu devo a realização de boa parte dessa pesquisa. Ninguém me ajudou e me transmitiu tanta força para continuar. As lições que aprendi vendo a sua maneira de trabalhar e o seu empenho e garra para fazer sempre o melhor, inspiraram-me e me fizeram concluir esse trabalho apesar de todas as dificuldades. Não tenho palavras para expressar quão valiosa foi a sua orientação.

À amiga Ana Júlia. Sem ela nada teria a mesma graça, o seu companheirismo fez toda a diferença nessa caminhada.

Às professoras Jailane, Adriana e Ângela, cujas contribuições e suporte estrutural fizeram possível a realização da minha dissertação de mestrado.

Aos amigos do Laboratório de Química de Alimentos da FEA/UNICAMP, que tanto me ensinaram e aos quais levarei para sempre comigo.

Aos membros, titulares e suplentes, da banca da minha dissertação de mestrado pelas valiosas contribuições, críticas e sugestões científicas que certamente elevaram a qualidade do trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da UFPE e a todos os funcionários e colegas com quem trabalhei ou que tive a felicidade de conhecer durante esse período. Agradeço em especial aos amigos Marcela, Rafa e Taci que, junto comigo e Ana, formaram a turma de Mestrado em Ciência dos Alimentos do ano de 2013, deles eu levarei algumas das melhores lembranças e alegrias dessa etapa.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento e Pesquisa) pelo apoio financeiro.

A todos que ao longo desses dois anos de Mestrado, dedicaram a mim atenção, apoio e ensinamentos.

Muito obrigada!

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

(Marthin Luther King)

Caracterização física, química e avaliação da capacidade antioxidante do fruto jambo vermelho (*Syzygium malaccense*)

RESUMO

Os produtos de origem vegetal, como o jambo vermelho (*Syzygium malaccense*), apresentam grande importância nutricional e presença de compostos que podem desempenhar diversos efeitos benéficos para a saúde. Pesquisas recentes têm demonstrado o enorme potencial das substâncias presentes nesses alimentos, como os compostos fenólicos, que se destacam por sua elevada atividade antioxidante e influência na promoção da saúde. Nesse contexto, o presente estudo avaliou características físicas (diâmetro, peso e rendimento), químicas (composição centesimal, açúcares redutores, fibras, sólidos solúveis totais e pH.) e fitoquímicas (presença ou ausência de alcaloides, esteroides, taninos, flavonoides e saponinas); a capacidade antioxidante e a presença de compostos bioativos encontrados na casca e na polpa do jambo vermelho (*S. malaccense*), utilizando técnicas titulométricas, espectrofotométricas e cromatográficas. As análises foram realizadas, separadamente, para as porções da casca e da polpa, em amostras do fruto provenientes de regiões geográficas diferentes do Estado da Paraíba. As amostras da casca apresentaram significativa presença de fitoquímico flavonoide e elevada presença de ácido ascórbico (321,27 mg/100g), de compostos fenólicos (1293 mg GAE/100 g) e de antocianinas (1045 mg/100 g). A identificação por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-PDA-EM/EM) das antocianinas revelou a presença de cianidina 3,5-diglucosídeo, peonidina 3-glucosídeo e cianidina 3-glucosídeo, sendo esta última o constituinte majoritário. A atividade antirradical livre dos extratos de jambo vermelho foi determinada frente ao radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) e aos ensaios FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) e co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico. Foi observada uma correlação positiva ($p < 0,01$) entre as quantidades de compostos fenólicos (CFs) e a atividade antioxidante frente ao radical DPPH ($r = 0.9424$) e entre os CFs e o ensaio FRAP ($r = 0.9667$). Todos os extratos testados apresentaram habilidade de inibir a oxidação em meio lipídico. Assim, considerando a composição química e a ação antioxidante, o fruto jambo vermelho surge como uma fonte potencial de antioxidante natural.

Palavras-chave: Atividade antioxidante. Compostos bioativos. *Syzygium malaccense*.

Physico-chemical characterization and antioxidant activity of Malay apple (*Syzygium malaccense*)

ABSTRACT

Vegetable products, such as Malay apple (*Syzygium malaccense*), have a great nutritional potential and presence of bioactive compounds. Recently, many epidemiological studies have suggested that the consumption of natural antioxidants such as polyphenol-rich food, fresh fruits, vegetables or teas has protective effects against many diseases and this protection has been partly ascribed to the presence of several components, such as vitamins, flavonoids, anthocyanins and other phenolic compounds. Considering these characteristics, there is great interest in the characterization and exploitation of these food matrices. Malay apple (*Syzygium malaccense*) falls into this category and is presented as a potential source of natural antioxidants and bioactive substances that has not been widely explored. Thus, the purpose of this study was to evaluate physico-chemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of Malay apple fruit (*S. malaccense*). Fractions of peel and edible portion analyzed separately for samples from two different geographical origins. Physical characteristics (diameter, weight and yield) chemical characteristics (proximate composition, ascorbic acid, reductive sugars, total soluble solids, pH and fiber), phytochemicals (presence or absence of alkaloids, steroids, tannins, flavonoids and saponins), antioxidant activity and bioactive compounds were analyzed. Phytochemical analysis showed weak presence of steroids and strong presence of flavonoids. Ascorbic Acid (321,27 mg/100g), total phenolics (1293 mg GAE/100 g) and total monomeric anthocyanins (1045 mg/100 g) contents were higher in peel, with the major anthocyanin identified by HPLC-DAD-MS/MS as cyanidin 3-glucoside. Positive correlations ($p < 0.01$) between the total phenolic content (TPC) and DPPH antioxidant activity ($r = 0.9424$) and between TPC and FRAP ($r = 0.9667$) were observed. All extracts tested showed the ability to inhibit oxidation in the β -carotene/linoleic acid system. In this context, Malay apple fruit can be considered as a good source of antioxidant compounds with potential benefits to the human health.

Keywords: Antioxidant activity. Bioactive compounds. *Syzygium malaccense*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Revisão de Literatura

Figura 1	Jambo vermelho	19
Figura 2	Principais substâncias apontadas como compostos bioativos presentes em alimentos de origem vegetal	23
Figura 3	Estrutura benzênica (fenólica) C6 com grupamento hidroxila OH	25
Figura 4	Rota biossintética dos principais compostos fenólicos a partir da fenilalanina	26
Figura 5	Representação química dos principais flavonoides	28
Figura 6	Estrutura química das antocianinas. Presença de um núcleo benzopirílio e um anel fenólico ligados, formando o íon flavílio. R1 e R3 são H, OH ou OCH ₃ ; R4 é um glicosil ou H; e R5, R6, R7, R2 são OH ou um glicosil.	31

Artigo - Physico-chemical characterization, bioactive compounds and antioxidant activity of Malay apple [*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry]

Figure 1	Oxidation inhibition power of <i>Syzygium malaccense</i> from L1 (A) and L2 (B) extracts and BHT in β -carotene/linoleic acid system. P100 = 100 μ L of peel extract; P400 = 400 μ L of peel extract; EP100 = 100 μ L of edible portion extract; EP400 = 400 μ L of edible portion extract; P + BHT = 50 μ L of peel extract + 50 μ L of BHT; EP + BHT = 50 μ L of edible portion + 50 μ L of BHT	98
Figure S1	Chromatogram, obtained by HPLC–PDA–MS/MS, of the anthocyanins from <i>Syzygium malaccense</i>	100

LISTA DE TABELAS

Revisão de Literatura

Tabela 1	Principais características botânicas do <i>Syzygium malaccense</i> (L.) Merr & Perry	19
Tabela 2	Composição química e nutricional das frações da casca e da polpa do jambo vermelho	20
Tabela 3	Classes dos compostos fenólicos em plantas.	27
Tabela 4	Características de algumas classes de flavonoides	28
Tabela 5	Distribuição das classes dos flavonoides de acordo com os grupos alimentares	30

Artigo - Physico-chemical characterization, bioactive compounds and antioxidant activity of Malay apple [*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry]

Table 1	Physical characteristics of <i>Syzygium malaccense</i> obtained from different geographical origins (L1 and L2).	92
Table 2	Physico-chemical characterization of <i>Syzygium malaccense</i> obtained from different geographical origins (L1 and L2)	93
Table 3	Phytochemical screening of <i>Syzygium malaccense</i>	94
Table 4	Characteristics of Anthocyanins from <i>Syzygium malaccense</i>	95
Table 5	Total Phenolic Compounds (TPC) and Antioxidant Activity (DPPH and FRAP) of extracts of peel and edible portion from <i>S. malaccense</i> obtained from different geographical origins (L1 and L2).	96

LISTA DE ABREVIações

Abs	Absorbância
ANOVA	Análise de Variância
BHT	Butil Hidroxitolueno
CBAs	Compostos Bioativos
CFs	Compostos fenólicos
CLAE-PDA-EM/EM	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção por arranjos de diodo, acoplada à espectrometria de massas
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DPPH	2,2-difenil-1picril-hidrazila
EAG	Equivalente de ácido gálico
ERO	Espécies Reativas do Oxigênio
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
HCl	Ácido Clorídrico
JV	Jambo vermelho
L1	Amostras de origem geográfica no município do Conde, região Nordeste do Brasil.
L2	Amostras de origem geográfica no município de Sapé, região Nordeste do Brasil.
MeOH	Metanol
pH	Potencial Hidrogeniônico
TEAC	<i>Ttrolox Equivalent Antioxidant Capacity</i>
TPTZ	2,4,6 – Tri (2-piridil) – 1,3,5 – triozina
TROLOX	6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico
UV-vis	Ultravioleta visível

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO	14
2. OBJETIVOS	16
2.1.OBJETIVOS GERAIS	16
2.2.OBJETIVOS GERAIS	16
3. REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1.JAMBO VERMELHO (<i>Syzygium malaccense</i>)	18
3.2.COMPOSTOS BIOATIVOS EM ALIMENTOS	22
3.2.1. Compostos Fenólicos	24
3.2.2. Flavonoides	27
3.2.2.1. Antocianinas	31
3.3.ANTIOXIDANTES	32
4. MÉTODOS	36
4.1.MATÉRIA-PRIMA	38
4.2.ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS	39
4.3.SCREENING FITOQUÍMICO	39
4.4.ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS	40
4.5.IDENTIFICAÇÃO DAS ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS POR CLAE-PDA-EM/EM	42
4.6.COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	42
4.7.CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	43
4.7.1. Determinação da Capacidade Antioxidante de Desativação do Radical DPPH·	43
4.7.2. Determinação da Poder Antioxidante de Redução do Ferro - FRAP	44
4.7.3. Determinação do Poder de Inibição da Oxidação pelo Método de Co-oxidação do Sistema β -caroteno/ácido linoleico	45
4.8.ANÁLISES ESTATÍSTICAS	46

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
REFERÊNCIAS	51
ANEXOS	61
APÊNDICE	69

1. APRESENTAÇÃO

O Brasil, em função de sua vasta extensão territorial e ampla variação climática, possui uma das maiores diversidades de espécies frutíferas do mundo. As regiões Norte e Nordeste, em especial, produzem grande variedade de frutos tropicais, nativos e exóticos com boas perspectivas para exploração econômica (SACRAMENTO; SOUZA, 2000).

Estudos epidemiológicos indicam que a ingestão de frutos encontra-se associada a redução do risco na ocorrência de doenças crônicas como aterosclerose e câncer, efeito particularmente atribuído aos compostos que possuem atividade antioxidante: vitaminas C e E, substâncias fenólicas, especialmente, os flavonoides, e os carotenoides (SILVA et al., 2010, FERREIRA et al., 2010). A propriedade antioxidante dos compostos presentes em frutos e vegetais é importante, pois está relacionada à proteção contra os efeitos danosos de radicais livres e espécies reativas do oxigênio a nível celular, que ocorrem como consequência inevitável da atividade aeróbica (BREWER, 2011).

Por ser uma espécie frutífera, o jambo vermelho (JV) (*Syzygium malaccense*) é uma possível fonte natural de antioxidantes. Somando ao fato de ser um produto com origem vegetal, a característica da cor da pele do fruto, rica em uma pigmentação vermelha escura, também sugere a presença significativa de compostos responsáveis pela atividade antioxidante, pois indica a presença de antocianinas, que são compostos pertencentes ao grupo dos flavonoides responsáveis por uma grande variedade de cores de frutas, flores e folhas que vão do vermelho-alaranjado ao roxo ou azul.

Vale ressaltar que algumas frutas podem conter maior teor de compostos antioxidantes nas sementes e cascas quando comparados com a polpa, pois o perfil das substâncias fitoquímicas e antioxidantes é diferenciado nas diversas partes do vegetal (GUO et al., 2003). Como consequência, a ação antioxidante das diferentes partes dos frutos é, muitas vezes, superior à exibida pela porção comestível da fruta, como evidenciado por Soong e Barlow (2004) ao estudarem a ação antioxidante das sementes e porção comestível de diferentes frutos.

O JV apresenta-se como uma potencial fonte natural de antioxidantes. Diante dessa perspectiva e das escassas informações presentes na literatura científica acerca das suas características, o presente estudo tem o objetivo de caracterizar o fruto do jambo vermelho quanto as suas características físicas, químicas e a presença de compostos bioativos e avaliar a capacidade antioxidante dos compostos extraídos das frações da casca e da casca e polpa do fruto.

2.OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar o fruto do jambo vermelho quanto as suas características físicas, químicas e a presença de compostos bioativos e avaliar a capacidade antioxidante dos compostos extraídos das frações da casca e da casca e polpa do fruto.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar físico-quimicamente as frações da casca e da casca e polpa de jambo vermelho;
- Quantificar e identificar alguns dos principais compostos bioativos presentes no jambo vermelho;
- Analisar a capacidade antioxidante dos compostos bioativos presentes nas frações da casca e da casca e polpa do jambo vermelho.

3.REVISÃO DE LITERATURA

3.1 JAMBO-VERMELHO (*Syzygium malaccense*)

Em todo o mundo, tem ocorrido o aumento no consumo de frutas devido aos bons resultados obtidos em estudos epidemiológicos e nutricionais que demonstram uma relação entre a maior ingestão desses alimentos e a diminuição na incidência de doenças crônicas e degenerativas como doenças coronarianas, mal de Alzheimer, e câncer (TERRY, TERRY, WOLK, 2001). Algumas das substâncias que parecem estar relacionadas a essa propriedade dos frutos são a vitamina C, os carotenoides e as estruturas fenólicas (flavonoides, entre eles as antocianinas, e outros compostos), que são capazes de neutralizar os efeitos negativos da oxidação lipídica ou dos causados por radicais livres às moléculas de DNA (SANTACRUZ et al., 2012).

Apesar do desenvolvimento e do grande interesse de pesquisas nesta área, muitos produtos de origem vegetal ainda são subaproveitados, recebendo pouca importância comercial e que ainda não foram explorados em estudos científicos. O JV encaixa-se nesse grupo de alimentos cujas informações em relação à composição e às propriedades nutricionais são escassas, entretanto, em seu estudo sobre o fruto, Augusta et al. (2010) concluíram que o fruto possui potencial para o seu aproveitamento pela indústria de alimentos e para o consumo natural, contendo alto teor de carboidratos, baixo valor energético, elevada acidez e altas concentrações de ácido ascórbico, antocianinas e fibras.

O JV é um fruto pertencente ao gênero *Syzygium* da família Myrtaceae (Fig. 1). Trata-se de um fruto que é cultivado há muitas décadas em regiões tropicais, e cujas primeiras espécies nativas parecem ter surgido entre o Sudeste Asiático e a Oceania. No Brasil, é encontrado nos estados da região Norte, Nordeste e nas regiões quentes do Sudeste. O epicarpo é delgado, liso e de coloração variando com o estágio de maturação (rosa, vermelho, vermelho-escuro a vermelho bem escuro); o mesocarpo e o endocarpo são esbranquiçados e suculentos, constituindo a polpa (AZEVEDO et al., 2010). Atualmente, a maioria das árvores desse fruto é encontrada em jardins domésticos e algumas pequenas plantações.



Figura 1- Jambo vermelho

Fonte: <http://joaosilvio.blogspot.com.br/2013/07/vem-ai-o-tempo-do-jambo.html>

Algumas das principais características botânicas do JV estão descritas na Tabela 1. O jambeiro alcança de 12 a 15 m de altura, apresentando tronco reto e copa piramidal; as folhas são verde escuras e brilhantes na parte superior e verde opaca na parte inferior, medindo de 20 a 22 cm de comprimento por 6 a 9 cm de largura (WHISTLER, ELEVITCH, 2006).

Tabela 1- Principais características botânicas do *Syzygium malaccense* (L.) Merr & Perry

Principal nome científico	<i>Syzygium malaccense</i> (L.) Merr & Perry
Outros nomes científicos	<i>Eugenia malaccense</i> L. <i>Jambosa malaccense</i> (L.) DC.
Família	Myrtaceae
Solo	Desenvolve-se em vários tipos de solo, desde solos arenosos a solos argilosos, desde que permeáveis e profundos
Distribuição	Regiões tropicais
Fruto	Jambo vermelho
Características do fruto	Piriformes, carnosos, indeiscentes, do tipo bacóide; epicarpo é delgado, liso; mesocarpo e o endocarpo (polpa) esbranquiçado, suculento, e um pouco adocicado; pesam em média, 36g, com

	massa da polpa de 28g, comprimento e largura médios de 7 e 5 cm, respectivamente; exala aroma forte de maçã e fragrância de rosas
Árvore	Até 15 metros de altura, copa de forma cônica, densa, ramificação abundante e as folha verde-brilhantes.
Florescência	Geralmente há dois períodos de maior produção, dos meses de Abril a Maio e de Setembro a Janeiro.

Fonte: Whistler, Elevitch (2006)

Assim como outros produtos de origem vegetal, a composição do JV também pode variar em função de condições climáticas, tipo de solo, manuseio no pós-colheita entre outros aspectos.

Na Tabela 2 encontram-se os resultados obtidos por Augusta et al. (2010) e Cardoso (1994) em relação a caracterização química e nutricional do JV, em estudos que avaliaram a casca e da polpa, respectivamente, utilizando amostras obtidas na região Sudeste do Brasil.

Tabela 2-Composição química e nutricional das frações da casca e da polpa do jambo vermelho (JV).

Características	Valores médios para 100g de casca do JV (AUGUSTA et al., 2010)	Valores médios para 100g de polpa do JV (CARDOSO, 1994)
Umidade (g)	14,11 ± 0,4	87
Sólidos solúveis totais (°BRIX)	3,00 ± 0,01	6,5 – 8,61
Acidez	0,60 ± 0,11	0,56 – 0,80
Cinzas	4,17 ± 0,35	0,13-0,35
pH	3,50 ± 0,02	3,38
Carboidratos totais (g)	59,25 ± 0,15	ND
Glicídeos (g)	ND	12,80
Frutose (g)	ND	1,43

Glicose (g)	ND	1,6
Proteínas (g)	8,62 ± 0,23	0,80 - 1
Lipídeos (g)	4,51 ± 0,10	0,20
Tiamina (mg)	ND	0,02 - 20
Vitamina A (UI)	ND	400
Riboflavina (mg)	ND	0,04 - 30
Niacina	ND	0,9
Ácido ascórbico (mg)	292,59 ± 0,80	34,26 - 69
Retinol (mg)	ND	25
Cálcio (mg)	0,36 ± 0,72	26 – 29
Fósforo (mg)	ND	13 - 37
Ferro (mg)	ND	0,07 – 1,4
Fibras (g)	9,34 ± 0,16	ND
Açúcares redutores (g)	3,04 ± 0,4	ND
Antocianina (mg)	300,54 ± 0,45	ND
Valor calórico total (kcal)	312,07 ± 0,90	ND

ND = Não determinado

Outros estudos com o JV detectaram a presença de outros compostos químicos como minerais e vitaminas, a exemplo do Ferro, Fósforo, Niacina, Riboflavina, Vitamina A e Timina (MORTON, 1987; FALCÃO et al, 2002).

Apesar da sua baixa popularidade, os frutos da árvore do jambo podem ser consumidos frescos ou utilizados como matéria-prima para vários outros produtos como doces, geleias, polpa congelada, sucos, néctares e sorvetes, podendo ainda haver aproveitamento das cascas para obtenção de farinhas utilizadas no enriquecimento da alimentação ou na obtenção de corantes naturais. Trata-se de uma opção de fruto para o consumo regional, constituindo uma alternativa de produto a ser comercializado em mercados locais (AUGUSTA, 2011). Entretanto, é importante ressaltar que devido à sazonalidade e a curta vida de prateleira, o cultivo de grandes plantações do JV para fins de exportação não é uma boa opção.

Outra característica do JV é que se trata de um fruto tradicionalmente utilizado por vários povos e culturas para fins medicinais, auxiliando no tratamento de diferentes doenças. Há relatos do seu uso como laxativo e purgativo, no tratamento de dor de garganta, cortes,

aftas, doenças venéreas, tuberculose e distúrbios do trato digestivo (KAAIKAMANU, AKINA, 1922; NAGATA, 1971). Em estudos mais recentes, outros autores observaram em um potencial do uso do JV ou seus extratos como parte do tratamento contra a *Diabetes mellitus*, funcionando como um adjuvante natural no controle da doença (BAIRY, SHARMA e SHAILINI 2005; ARUMUGAM et al., 2014).

3.2 COMPOSTOS BIOATIVOS EM ALIMENTOS

Os alimentos que consumimos são formados por uma mistura de compostos que fornecem diversas substâncias importantes, funcionando como elementos indispensáveis para todos os processos de desenvolvimento e manutenção do corpo humano e, consequentemente, seu equilíbrio. Pesquisas recentes têm associados compostos bioativos (CBAs) como substâncias presentes em alimentos responsáveis direta ou indiretamente pela redução do risco ou prevenção do desenvolvimento de doenças (BARRETO, 2011; JUDPRASONG et al. 2013; PAZ et al., 2015).

As principais substâncias apontadas como CBAs e responsáveis pelo efeito benéfico à saúde estão apresentadas na Figura 2.

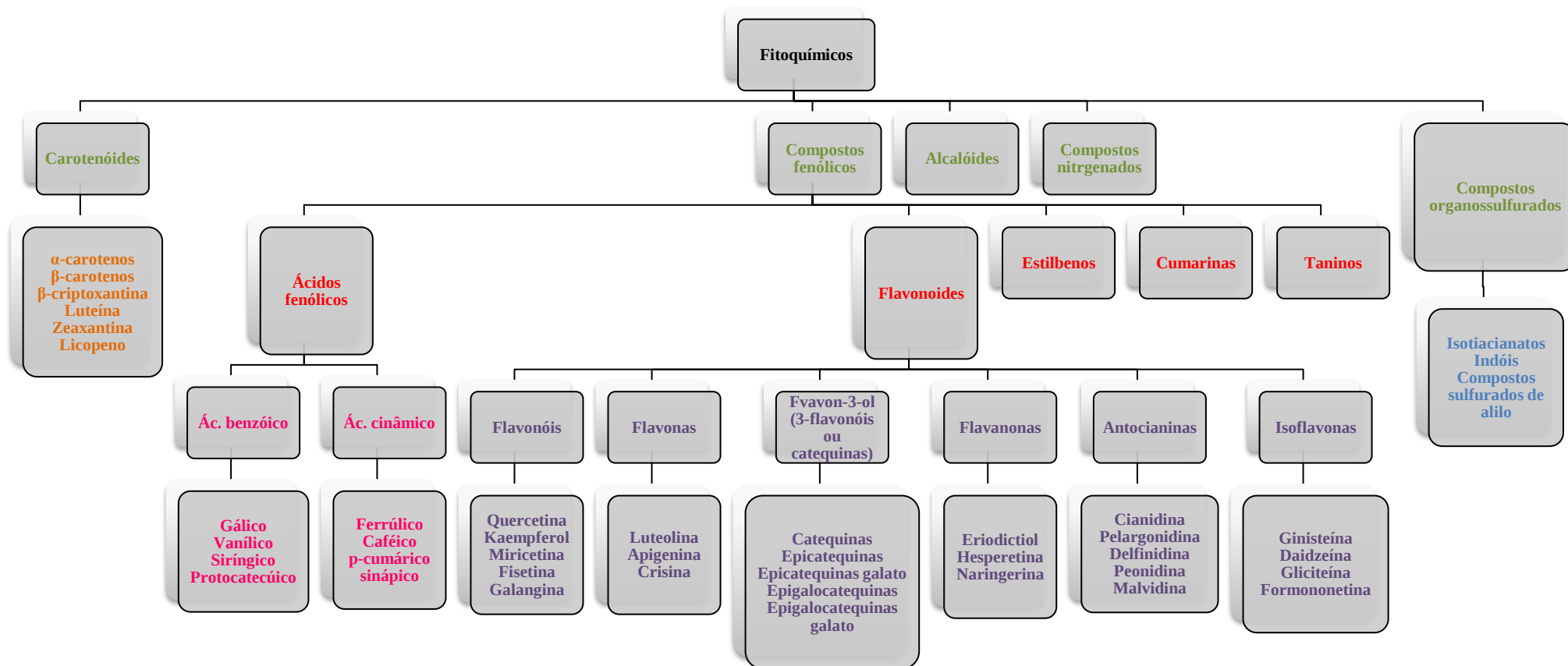


Figura 2- Principais substâncias apontadas como compostos bioativos presentes em alimentos de origem vegetal.

Fonte: Fenemma (2010)

As substâncias bioativas são classificadas como nutraceuticas. As substâncias nutraceuticas são compostos ativos e derivados naturais que promovem a saúde, previnem doenças, têm propriedades medicinais e causam impactos à saúde humana. Frutas, vegetais, bebidas comuns, grãos, frutas oleaginosas, produtos marinhos, plantas medicinais e produtos com ervas contêm essas substâncias nutraceuticas. Se a fonte específica apresenta grande quantidade de substâncias nutraceuticas, essa fonte tem o potencial necessário contra doenças crônicas. A maioria das frutas e vegetais consumidos encontra-se nessa categoria. (FENEMMA, 2010, p. 585).

Os CBAs ainda não classificados como nutrientes, entretanto, alguns autores defendem que, assim como os principais macronutrientes (carboidratos, proteínas, gorduras, vitaminas e minerais), os CBAs também são essenciais para a saúde do organismo, o desenvolvimento das funções vitais e longevidade, estando diretamente relacionadas ao surgimento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) (JACOBS, TAPSELL, 2007; HOLST, WILLIAMSON, 2008). De acordo com Bastos, Rogero, Arêas (2009), o baixo consumo de frutas e vegetais e consequentemente, a baixa ingestão de CBAs constitui um componente de risco para o desenvolvimento DCNT, uma vez que está relacionada ao consumo mais elevado de calorias e de gorduras totais e saturadas na dieta.

Nos CBAs, o efeito protetor e promotor da saúde está relacionado, principalmente, ao seu potencial como antioxidantes naturais, uma vez estão presentes nas frutas e vegetais (JUDPRASONG et al, 2013). Alguns dos CBAs que se destacam em relação a sua atividade antioxidante são as substâncias fenólicas, os flavonoides, entre eles as antocianinas, e os carotenoides.

3.2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos (CFs) são as substâncias fitoquímicas mais abundantes nas plantas e, talvez por essa razão, são também as estruturas mais estudadas. Algumas pesquisas têm demonstrado que eles são os principais responsáveis pela propriedade antioxidante desempenhada dos compostos de origem vegetal (BOUDET, 2007; CHANG et al., 2007; BREWER, 2011).

Os CFs podem ser definidos como estruturas químicas pertencentes a uma classe de compostos de estruturas simples ou complexas, com ao menos um grupo hidrocarboneto

aromático, no qual ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (OH). A Figura 3 mostra a estrutura química característica dos compostos fenólicos, que é a presença de um anel benzênico e um ou mais grupamentos de hidroxila na molécula benzênica, (podendo haver também um grupamento carboxílico –COOH. (BALASUNDRAM, SUNDRAM, SAMMAN, 2006).

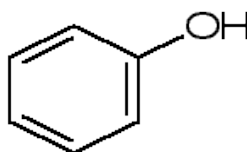


Figura 3- Estrutura benzênica (fenólica) C6 com grupamento hidroxila OH

Fonte: Balasundram, Sundram, Samman(2006)

De acordo com Lee e Shibamoto (2002), a atividade antioxidante dos compostos e ácidos fenólicos encontrados em produtos de origem vegetal têm seus efeitos atribuídos a sua estrutura química e à propriedade de oxi-redução. Esses compostos funcionam como sequestradores de radicais e, algumas vezes, como quelantes de metais, podendo agir tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários resultantes da ação destes antioxidantes são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático apresentada por estas substâncias (LEE, SHIBAMOTO, 2002; OLIVEIRA et al., 2009).

Além da sua atividade antioxidante, os compostos fenólicos possuem outras propriedades importantes. Estão envolvidos na determinação do sabor, do odor e da coloração de muitos vegetais, podendo ser usados como flavorizantes e corantes na indústria de alimentos ou na indústria de cosméticos (NOBERTA et al. 2013). Também podem apresentar atividade antibacteriana, antifúngica e antiviral (SIMÕES et al., 1999).

A origem biossintética dos compostos fenólicos em vegetais vasculares está relacionada às modificações ocorridas no processo evolutivo e adaptativo das plantas. O surgimento de novas etapas bioquímicas possibilitou a síntese de novas estruturas químicas pela desaminação dos aminoácidos fenilalanina e tirosina, originando os compostos C6-C3, os fenilpropanos e os seus polímeros, os polifenóis. A classe mais abundante de compostos fenólicos secundários em plantas é derivada da fenilalanina, por meio da eliminação de uma molécula de amônia para formar o ácido cinâmico (Figura 4). Os ácidos cinâmico e p-cumárico, obtidos respectivamente a partir de da fenilalanina e da tirosina, constituem o ponto

de partida para a via de síntese dos polifenóis, levando a formação de muitos compostos fenólicos vegetais, incluindo fenilpropenos simples, cumarinas, derivados do ácido benzoico, lignina, antocianinas, taninos condensados e outros flavonoides.

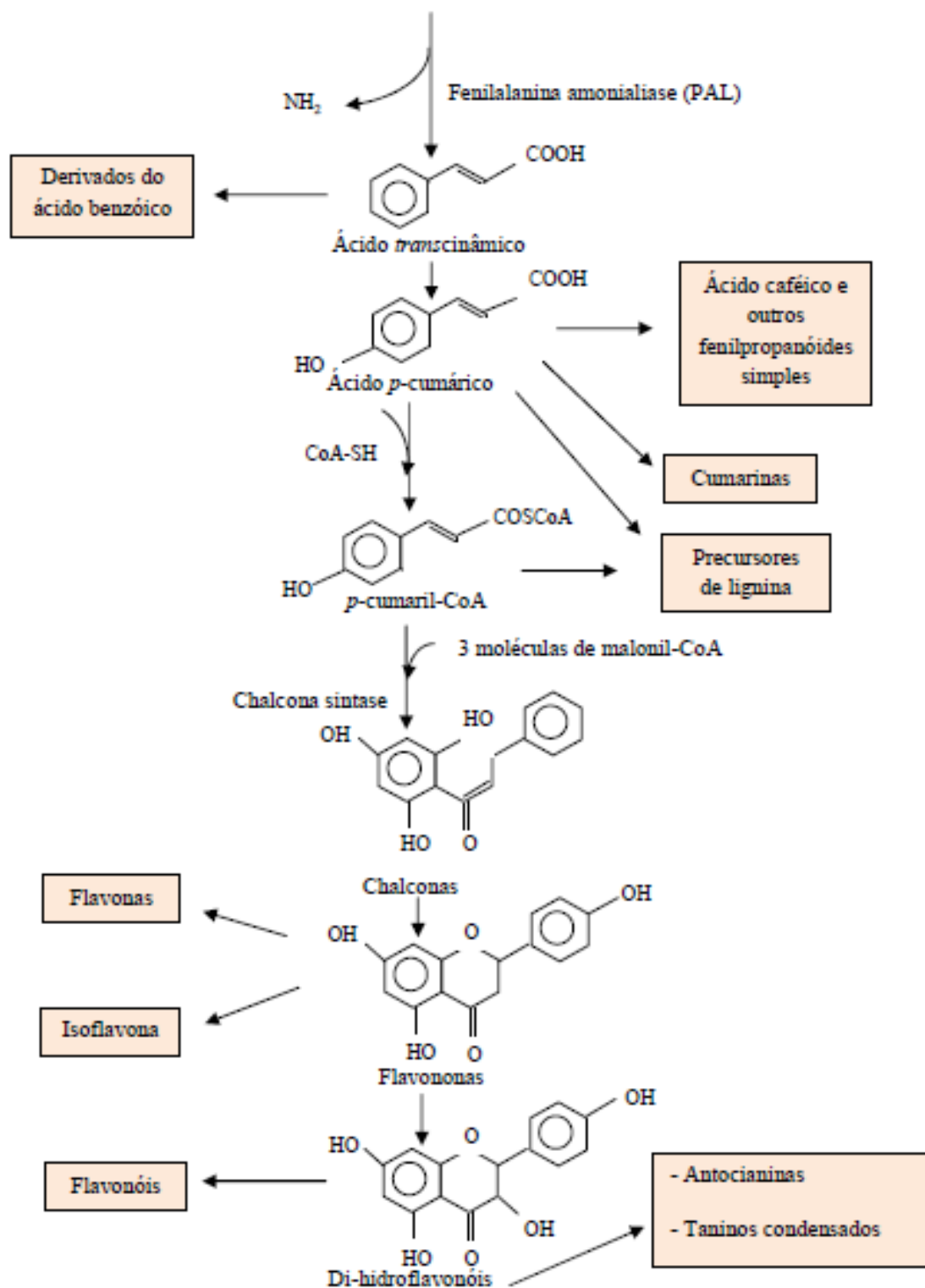


Figura 4- Rota biossintética dos principais compostos fenólicos a partir da fenilalanina

Fonte: Azevêdo (2010) adaptado de Taiz, Zeiger (2004).

É possível encontrar mais de um tipo de classificação para os CFs na literatura (SIMÕES et al., 1999; SOARES, 2002; SILVA et al., 2010). Considerando a sua estrutura química básica, eles podem ser divididos em até 10 classes diferentes de compostos, sendo as principais a dos ácidos fenólicos, dos flavonoides e dos taninos (NACZK, SHADDI, 2004; BALASUNDRAM, SUNDRAM, SAMMAN, 2006). Na Tabela 3 estão contadas as classes dos compostos fenólicos em plantas.

Tabela 3- Classes dos compostos fenólicos em plantas.

Classe	Estrutura básica
Fenólicos simples, benzoquinonas	C ₆
Ácidos fenólicos (hidroxibenzóicos)	C ₆ -C ₁
Acetofenonas e ácidos fenilacéticos	C ₆ -C ₂
Ácido hidroxicinâmicos, fenilpropanóides (cumarinas, isocumarinas, cromonas, cromenas)	C ₆ -C ₃
Naftoquinonas	C ₆ -C ₄
Xantonas	C ₆ -C ₁ -C ₆
Estilbenos, antraquinonas	C ₆ -C ₂ -C ₆
Flavonóides, isoflavonóides	C ₆ -C ₃ -C ₆
Ligninas, neoligninas	(C ₆ -C ₃) ₂
Biflavonóides	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂
Ligninas	(C ₆ -C ₃) _n
Taninos condensáveis (proantocianidinas ou flavonas)	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n

Fonte: Balasundram, Sundram, Samman (2006)

3.2.2 Flavonoides

Os flavonoides são uma classe de compostos fenólicos com significativa propriedade antioxidante. Trata-se de fitoquímicos secundários que não são sintetizados pelo corpo humano e, portanto, são adquiridos por meio da alimentação. Muitos deles, além de atuar como agentes antioxidantes, também são pigmentos de ocorrência natural (AGATI et al., 2007).

Os flavonoides (Figura 5) possuem 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas ($C_6-C_3-O_2-C_6$). Entretanto, eles possuem particularidades no que diz respeito aos tipos de ligações, às quantidades de grupos hidroxilas e à presença ou não de grupos cetonas e são essas diferenças estruturais que determinam a sua classificação.

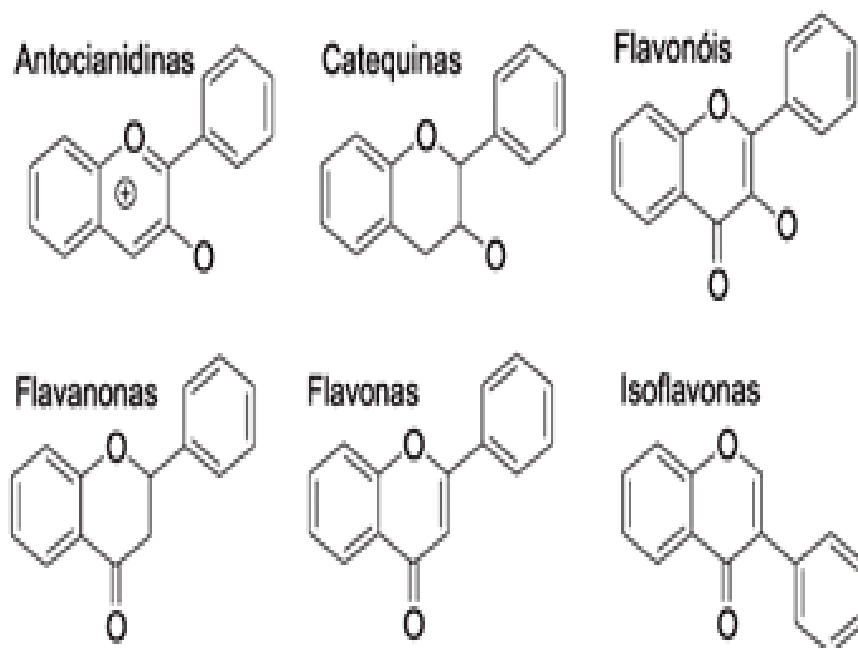


Figura 5- Representação química dos principais flavonoides

São o grupo mais importante entre os Cfs, sendo constituídos por mais de 5000 compostos e podendo ser subdivididos em 13 classes, entre elas as antocianinas, as flavonas, os flavonóis e as isoflavonas. As características de algumas classes dos flavonoides estão apresentadas na Tabela4.

Tabela 4- Características de algumas classes de flavonoides.

CLASSES	COLORAÇÃO	EXEMPLOS	COMENTÁRIOS
Antocianinas	Azul, vermelha e violeta	Cianidina; Delfinidina; Peonidina.	Antocianinas estão predominantemente em frutas e flores e provavelmente foram os primeiros flavonoides a serem isolados

– provenientes de pigmentos florais, conforme indica seu próprio nome. São usadas como corantes.			
Flavonas	Amarelo pálido	Apigenina; Luteolina; Diosmetina; Tangeretina; Nobiletina	Flavonas são encontradas quase que exclusivamente em frutas cítricas. Mas também em cereais, frutas, ervas e vegetais. Conferem o pigmento amarelo em flores. Os compostos mais comuns são a apigenina e a luteolina.
Flavonóis	Amarelo pálido	Quercetina; Rutina; Mircetina; Kaempherol	Os flavonóis estão presentes em diversas fontes, sendo predominantes em hortaliças e frutas. A quercetina é o principal representante da classe.
Isoflavonoides	Incolor	Daidzeína; Genisteína.	Isoflavonoides são encontrados quase que exclusivamente em legumes, particularmente na soja.
Catequinas (3-flavonóis ou flavon-3-ol)	Incolor	Catequina; Epicatequina Luteoforol; Procianidina. Theaflavina	Flavanas são encontradas em frutas e chás (verdes ou pretos). Biflavanos são encontradas em frutas, lúpulo, nozes e bebidas como chás e água de coco. O sabor peculiar de algumas bebidas, frutas, chás e vinhos é devido, principalmente, à presença das biflavanos.
Flavanonas	Incolor para um amarelo pálido.	Hesperidina; Naringenina.	Flavanonas são encontradas quase que exclusivamente em frutas cítricas.

Fonte: adaptado de Peterson e Dwyer (1998)

Os flavonoides estão mais presentes em produtos de origem vegetal como as frutas e as hortaliças, o cacau e algumas bebidas como vinhos e chá. (HEIM, TAGLIAFERRO, BOBILYA, 2002). A distribuição das principais classes desses compostos nos principais grupos alimentares da dieta humana está representada na Tabela 5. Flavanonas ocorrem

principalmente em frutas cítricas, flavonas em ervas, isoflavonas em legumes, antocianinas e catequinas em frutas e flavanóis em todas as frutas e vegetais. Qualquer bebida que contenha sabores e corantes naturais ou que sejam feitas a partir de produtos vegetais pode conter flavonoides. Alimentos de origem animal não constituem fonte desses compostos (PETERSON, DWYER, 1998).

Tabela 5-Distribuição das classes dos flavonoides de acordo com os grupos alimentares.

	Flavanonas	Flavonas	Flavanóis	Isoflavonóis	Antocianinas	Flavanas
Bebidas		P	P		P	P
Ovos e carnes						
Óleos e gorduras						
Frutas	P		P		P	P
Grãos		P	P		P	P
Ervas		P	P			
Legumes			P	P	P	
Leite						
Sementes		P		P		
Açúcares e doces						
Vegetais			P		P	

* **P** – Presente nos grupos de alimentos

Fonte: adaptado de Peterson e Dwyer (1998).

Em relação ao metabolismo dos flavonoides, sabe-se que são conjugados no fígado ou nos rins e excretados na bile ou na urina. Algumas bactérias colônicas degradam o anel heterocíclico desses compostos em ácidos fenólicos que serão absorvidos, conjugados e excretados ou metabolizados por outras bactérias. Ainda não há um consenso sobre a recomendação de ingestão diária, mas estima-se que deve variar entre 23 e 1000 mg/dia (PETERSON, DWYER, 1998).

Os flavonoides podem apresentar um efeito protetor para o organismo e muitos estudos têm investigado a relação entre o consumo desses compostos e a prevenção de doenças cardíacas (HUNTLEY, 2009; MLADĚNKA et al. 2010; MULVIHILL, HUFF,

2010), doenças vasculares (SCHRAMM, GERMAN, 1998), mal de Alzheimer (WILLIAMS, SPENCER, 2012), câncer (HUNTLEY, 2009) e diabetes tipo II (LIU et al., 2013).

3.2.2.1 Antocianinas

Antocianinas são compostos que ocorrem naturalmente e que são responsáveis pela coloração de frutas, vegetais e plantas. Junto com a clorofila, são, provavelmente, o grupo mais importante de pigmentos visíveis em plantas vasculares. São compostos que não apresentam toxicidade e são facilmente incorporados à água, tornando-os uma interessante alternativa para uso como corantes naturais solúveis em água (PAZMINO-DURAN, et al., 2001). Sua coloração é responsável por cores que variam entre o laranja, o róseo, o vermelho, o violeta e o azul presentes em flores e frutos de plantas.

As antocianinas pertencem ao enorme grupo dos compostos fenólicos, mais especificamente, à classe dos flavonoides. A estrutura química é constituída por um núcleo benzopirílio e um anel fenólico, os quais ligados formam o íon flavílio (Figura 6).

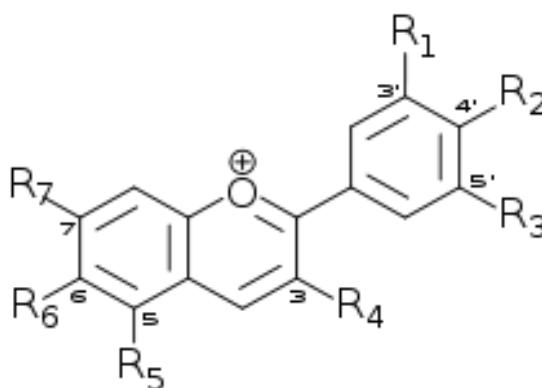


Figura 6-Estrutura química das antocianinas. Presença de um núcleo benzopirílio e um anel fenólico ligados, formando o íon flavílio. R1 e R3 são H, OH ou OCH₃; R4 é um glicosil ou H; e R5, R6, R7, R2 são OH ou um glicosil.

As antocianidinas são as estruturas básicas das antocianinas (KONCZAK, ZHANG, 2004). Quando a molécula de antocianidina (aglicona) é esterificada em uma ou mais

posições por açúcares (mono ou dissacarídeos) acilados ou não, elas são chamadas de antocianinas (gliconas) e os açúcares passam a conferir estabilidade e solubilidade à glicona, ou antocianinas.

As diferenças entre os tipos de antocianinas estão relacionadas ao número de grupos hidroxil, à natureza e ao número de açúcares ligados à molécula, à posição das ligações e à natureza e número de ácidos alifáticos e aromáticos ligados ao açúcar da molécula. Atualmente, há conhecimento de 17 antocianidinas (agliconas) de ocorrência natural, entretanto apenas seis delas são mais importantes e ocorrem com maior frequência em alimentos: pelargonidina, cianidina, peonidina, delphinidina, malvidina e petunidina (CLIFFORD, 2000).

Além de atuar como pigmentos em plantas, as antocianinas têm importância na promoção da saúde. Muitos estudos têm relacionado a esses compostos uma significativa propriedade antioxidante que ocorre por diversos mecanismos e que tem um grande impacto na prevenção de doenças neuronais e cardiovasculares, diabetes (KONCZAK, ZHANG, 2004) e no tratamento de outras como o câncer (LULE, XIA, 2005).

Entretanto, o uso desses compostos ainda é bastante limitado devido a sua relativa instabilidade e as baixas porcentagens de extração (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

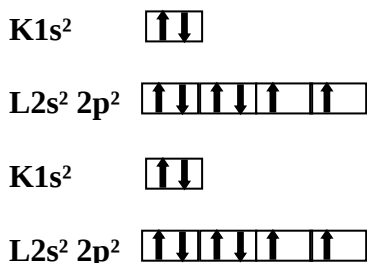
3.3 ANTIOXIDANTES

Compostos reativos são formados continuamente durante os processos metabólicos no nosso organismo, seja em estados de equilíbrio ou patogênicos. Eles podem ser absorvidos pelo corpo provenientes de fontes exógenas físicas e químicas (RAMALHO, JORGE, 2006). Tais compostos atuam como mediadores da transferência de elétrons e estão presentes em vários processos bioquímicos (HALLIWELL, 1995).

O termo radical livre define átomos ou moléculas que contêm número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica, são altamente instáveis, possuem meia-vida curta e são quimicamente muito reativos, podendo causar danos por reagir com quase todas as moléculas com que entram em contato (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1990).

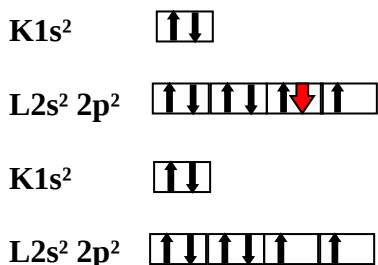
Ferreira e Matsubara (1997) apresentam de forma simplificada o processo de formação desses radicais. A explicação é baseada nas camadas eletrônicas de um elemento químico (denominadas K, L, M e N) e nos seus subníveis (denominados, s, p, d, f). Para formar o oxigênio molecular (O₂), por exemplo, dois elétrons solitários do subnível p de um elemento

oxigênio fazem intercâmbio com os dois elétrons de outro elemento oxigênio, formando um composto estável com 12 elétrons na última camada (L), podendo ser representado da seguinte maneira:



As reações de redução implicam em ganho de elétrons, e as reações de oxidação, em perda e que ambas ocorrem comumente em nosso organismo. Portanto, quando no metabolismo normal ocorrer uma redução ou oxidação do oxigênio molecular (O_2), haverá acréscimo ou perda de um elétron, formando um radical livre.

Já na formação de um radical livre, por exemplo, o radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), considerado instável por possuir número ímpar (13) de elétrons na última camada L, a configuração eletrônica fica com um elétron adicional e é representada da seguinte maneira:



É importante observar que nem todos os radicais livres apresentam elétrons desemparelhados na sua última camada, logo, muitos deles podem não designar os agentes reativos patogênicos.

Há um termo mais específico que é usado apenas para aqueles radicais que se apresentam como agentes oxidantes e/ou são facilmente convertidos em radicais (FERREIRA, MATSUBARA, 1997). Como em sua maioria eles são derivados do metabolismo do oxigênio molecular (O_2), o termo empregado é Espécies Reativas do Oxigênio (EROs).

Muitas EROs são formadas nos processos biológicos (ERENEL, ERBAS, ARICIOGLU, 1993). São elas:

- Radicais do oxigênio ou espécies reativas do oxigênio

- Íon superóxido ($O_2^{\cdot -}$)
- Hidroxila ($OH^{\cdot}$)
- Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)
- Alcoxila ($RO^{\cdot}$)
- Peroxila ($ROO^{\cdot}$)
- Peridroxila ($HOO^{\cdot}$)
- Oxigênio singlete (1O_2)
- Complexos de Metais de Transição
 - Fe^{+3}/Fe^{+2}
 - Cu^{+2}/Cu^{+}
- Radicais de Carbono
 - Triclorometil ($CCl_3^{\cdot}$)
 - Radicais de Enxofre
 - Tiol ($RS^{\cdot}$)
- Radicais de Nitrogênio
 - Fenildiazina ($C_6H_5N=N^{\cdot}$)
 - Óxido nítrico ($NO^{\cdot}$)

AsEROs eram consideradas produtos do metabolismo aeróbico potencialmente tóxicos que, se não fossem eliminados, poderiam gerar danos estruturais a várias macromoléculas consideradas críticas, que inclui proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos, além de espécies envolvidas na expressão gênica e em respostas inflamatórias. O acúmulo de tais danos durante o passar do tempo foi dito como o responsável pela deterioração fisiológica nos estágios mais avançados da vida e, eventualmente, pela morte de alguns organismos (SOHAL, ORR, 2011).

Atualmente, sabe-se que essas espécies participam na manutenção da homeostase celular ou regulação de reações de redução e oxidação (redox) em tecidos saudáveis (KONGA et al., 2003). Porém, quando estão presentes em quantidades que excedem o normal, as ERO podem causar alguns efeitos potencialmente danosos no organismo humano como os danos celulares ao atacar membranas, proteínas, polissacarídeos e ácidos nucleicos, com consequente alteração funcional e prejuízo das funções vitais em diversos tecidos do corpo como o adiposo, o vascular e o cerebral, e em diversos órgãos como os músculos e o fígado, ocasionando, eventualmente, algumas doenças (OLIVEIRA et al., 2009; MULLER et al. 2007) e ativação de caminhos de sinalização específicos (HANSEN et al., 2006).

Apesar da produção das EROs fazer parte do metabolismo natural do corpo e da manutenção das funções biológicas, é necessária uma regulação. Para controlar essa produção, o organismo necessita de um eficiente sistema antioxidante para restabelecer o equilíbrio. Esse controle chama-se balanço redox, e é determinado pela presença de pares de elétrons que sofrem frequentes mudanças entre o estado reduzido e o oxidado (VASCONCELOS et al., 2007). Qualquer alteração nesse balanço pode causar um estresse oxidativo (SCHAFER, BUETTNER, 2001), ou seja, um desequilíbrio dos sistemas pró e antioxidante.

A intensidade e a patogenicidade do estresse vai depender, naturalmente, das concentrações locais de espécies pró e antioxidantes, das constantes de velocidade de reação com moléculas-alvo e da compartimentalização celular destes processos, nos quais fatores de solubilidade e difusibilidade são determinantes (GOW, ISCHIROPOULOS, 2001). Nesse contexto, as substâncias antioxidantes podem desempenhar um papel muito importante para a manutenção do equilíbrio orgânico.

O termo antioxidante tem natureza multiconceitual, podendo apresentar mais de uma definição de acordo com o contexto no qual estiver envolvido. No entanto, de maneira geral e para este trabalho, ‘antioxidante’ pode ser definido como uma família heterogênea de moléculas químicas, que, quando presentes em baixas concentrações e comparadas a outras biomoléculas também ditas como protetoras, diminuem ou previnem oxidação do substrato e/ou a extensão do dano oxidativo (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1999).

Em relação a sua ação, os antioxidantes agem nos organismos vivos por meio de diferentes mecanismos. Dentre estes, podem ser citados: I. Complexação de íons metálicos pró-oxidantes; II. Captura de radicais livres; III. Decomposição de peróxidos; IV. Inibição de enzimas responsáveis pela geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e V. Modulação de vias sinalizadoras celulares (OLIVEIRA et al., 2009).

Os conhecimentos das propriedades antioxidantes de vários produtos sintéticos para prevenir reações indesejadas na indústria de alimentos já são longamente conhecidos e utilizados em matrizes alimentares. Uma das principais utilizações é na prevenção da oxidação lipídica, que pode ser responsável por várias alterações desagradáveis no alimento, causando mudanças que comprometem tanto a qualidade nutricional do produto como a integridade e segurança do mesmo através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (RAMALHO, JORGE, 2006).

Porém, há muitos anos são estudados os efeitos danosos que essas substâncias químicas sintéticas podem trazer à saúde humana. Estudos realizados *in vivo*, demonstraram que os antioxidantes sintéticos podem ser tóxicos ao organismo humano, inclusive, com potencial carcinogênico (FORD et al., 1980). Fatos como a indução de hiperplasia gastrintestinal em roedores por um mecanismo desconhecido, a redução do nível de hemoglobina, a hiperplasia de células basais e o desenvolvimento de câncer de estômago foram investigados e relacionados aos antioxidantes sintéticos (BOTTERWECK et al., 2000). Em razão desses riscos, o uso de antioxidantes sintéticos em alimentos pode ficar cada vez mais restrito e alguns deles já são proibidos no Canadá e na Comunidade Econômica Europeia (REISHE et al., 1997).

Nota-se também que na funcionalidade, os compostos naturais podem ser mais vantajosos, por exemplo, há uma maior solubilidade dos antioxidantes naturais tanto em água como em óleo, sendo útil na preparação de emulsões e outras formulações, como os hidrogéis (DORKO, 1994). Entretanto, as vantagens na substituição de antioxidantes sintéticos por naturais podem estar além das implicações funcionais. Diante do potencial tóxico dos antioxidantes sintéticos e do potencial benéfico da atividade antioxidante no organismo, os antioxidantes naturais provenientes de fontes vegetais como frutos, surgem como uma atrativa opção de uso e estudo por parte da indústria de alimentos, da comunidade científica e da população em geral, podendo ser uma alternativa de compostos a serem incorporados a outros alimentos ou consumidos diretamente de fontes vegetais para melhorar o perfil de saúde da população (GUIMARÃES et al., 2012).

4. MÉTODOS

4.1 MATÉRIA-PRIMA

Os frutos do jambo vermelho foram adquiridos no comércio local do município de João Pessoa - Paraíba, no mês de Fevereiro de 2013, referentes à safra de Janeiro e Fevereiro do mesmo ano. Os frutos foram selecionados no estágio maduro, considerando as seguintes características sensoriais de maturação: coloração da casca vermelha intensa e aroma. Foram acondicionados em contentores de plástico para evitar injúrias mecânicas durante o transporte para o laboratório de Bromatologia dos Alimentos da Universidade Federal da Paraíba. Os frutos foram selecionados, sanitizados com água clorada (200 mg L^{-1} de cloro) por 10 min, lavados em água corrente por 15 min e enxaguados e secos a temperatura ambiente.

Para a realização das análises foram adquiridos frutos de duas regiões geográficas diferentes do Estado da Paraíba (L1 e L2) e as análises foram realizadas, separadamente, para ambas as amostras. No total, foram adquiridos uma média de 20 kg de jambo vermelho, sendo 10 kg de origem L1 e 10 kg de origem L2.

- ❖ L1: Frutos produzidos no município do Conde, Estado da Paraíba, Brasil. Latitude: $7^{\circ} 15' 38''$ Sul e Longitude: $34^{\circ} 54' 30''$ Oeste
- ❖ L2: Frutos produzidos no município de Sapé, Estado da Paraíba, Brasil. Latitude: $7^{\circ} 5' 39''$ Sul e Longitude: $35^{\circ} 13' 58''$ Oeste

As porções de casca e casca e polpa foram analisadas separadamente porque a casca e polpa juntas constituem a porção comestível do fruto, sendo que as cascas apresentam maior concentração de compostos bioativos. Os frutos foram separados e descascados manualmente com auxílio de faca inox.

Foram utilizados frutos *in natura* para realização das análises físicas e químicas. Para os demais testes, as frações da casca e da casca e polpa do fruto foram liofilizadas (Liofilizador liotop modelo L101 – São Carlos, São Paulo, Brasil). As amostras foram congeladas em ultra-freezer na temperatura de -80°C por 24 h, e, em seguida, foram liofilizadas a uma temperatura de -68°C durante sete dias e sob pressão de 130 mm/Hg. Após a liofilização, as amostras foram trituradas, acondicionadas a vácuo e armazenadas sob congelamento (-30°C) sem contato com a luz, a fim de inibir a fotooxidação.

4.2 ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS

O diâmetro transversal (cm) (avaliado na parte mais larga do fruto) e o diâmetro longitudinal (cm) foram determinados com auxílio de um paquímetro manual e análise da massa dos frutos (g), massa do caroço (g) e massa das cascas e polpas (g) foi determinada por meio de pesagem em balança semianalítica digital modelo Master-Fisatom. O rendimento em polpa e em casca foi obtido pela relação percentual entre a massa do fruto inteiro e as suas respectivas estruturas.

As análises de umidade, lipídios, proteínas, cinzas, assim como açúcares redutores e ácido ascórbico, foram realizadas de acordo com o método descrito pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1998). Os resultados foram expressos em $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ para o ácido ascórbico e em $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ da amostra para as demais componentes.

O conteúdo de fibra bruta foi determinado submetendo as amostras à digestão ácida, com solução de ácido sulfúrico 1,25%, seguida por digestão alcalina com hidróxido de sódio 1,25% (BRASIL, 2005).

A quantidade de carboidratos foi calculada a partir da diferença ($100\text{g} - \text{gramas totais de umidade} + \text{fibras} + \text{proteínas} + \text{lipídios} + \text{cinzas}$) e os resultados foram expressos em $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ do fruto (MERRILL, WATT, 1973).

A mensuração do pH foi realizada com auxílio do pH-metro digital (Mettler Toledo MP 230, a temperatura de 20°C) após a diluição das amostras na proporção de 1:10 (p/v), em água destilada.

Os Sólidos Solúveis Totais foram obtidos com o uso do refratômetro (A. Krüss Optronic, Germany, a temperatura de 25°C), e os resultados foram expressos em $^\circ\text{BRIX}$.

O valor calórico foi calculado utilizando-se os seguintes fatores de conversão: 9 kcal por g de lipídios, 4 kcal por g de proteínas e 4 kcal por g de carboidratos (DE ANGELIS, 1977).

4.3 SCREENING FITOQUÍMICO

O *screening* fitoquímico das amostras foi realizado para detecção de flavonoides, saponinas, taninos, esteroides e alcaloides de acordo com a metodologia proposta por Matos (2009).

Para a detecção dos flavonoides, adicionou-se clorofórmio para separação das camadas. Em seguida, adicionou-se metanol e foi realizada a evaporação em rota-vapor. O

material dissolvido foi distribuído em dois tubos de ensaios, onde se adicionou solução de HCl a 10% e fita de magnésio, deixando reagir até desaparecer a fita e observando o aparecimento de coloração rósea (teste positivo). No segundo tubo foram adicionados acetona, ácido oxálico e ácido bórico. A mistura foi seca em banho-maria, adicionou-se éter etílico e observou-se a fluorescência em espectrofotômetro ultravioleta a um comprimento de onda de 510 nm (Biospectro, modelo SP-220 / Brasil).

A análise qualitativa de saponina foi realizada através do teste de espuma, que consistiu em dissolver a amostra em água em um tubo de ensaio, agitando por 1 minuto e deixando em repouso por 10 minutos. Após o repouso, observou-se se houve o desaparecimento da espuma, o que caracteriza teste negativo para este fitoquímico.

O teste de taninos foi realizado com a evaporação das amostras até secagem completa, filtrando em funil com algodão. O filtrado foi distribuído em seis tubos de ensaios, sendo os três primeiros testados com gelatina a 0,5% e os outros, com cloreto de ferro a 2% em diferentes concentrações (0,5, 1,0 e 2,0 mL), sendo observada se houve a formação de precipitados, o que indica a presença de taninos.

Para a análise de esteroides foi realizada a evaporação das amostras até secagem completa, adicionando clorofórmio para a dissolução. Em seguida, as amostras foram distribuídas em três tubos de ensaios com 0,12, 0,25 e 0,5 mL. Em cada tubo foi adicionado clorofórmio, anidrido acético e ácido sulfúrico concentrados. Os resultados foram observados de acordo com o padrão de coloração, onde a cor azul indicou a presença de esteroides.

A análise qualitativa de alcaloides foi realizada mediante a evaporação do extrato alcoólico até secagem completa, alcalinizando-se com hidróxido de sódio a 1%. Adicionou-se água destilada com clorofórmio, o sistema foi filtrado com algodão e o extrato foi separado da camada clorofórmica. Em seguida, foi adicionado ácido clorídrico a 1% à camada clorofórmica, agitando e deixando decantar até ficar límpido. Posteriormente, foi distribuído em quatro tubos de ensaios 1 mL da camada de HCl, seguindo-se de testes com os reagentes: Bouchardat, Mayer, Dragendorff e ácido sílico túngstico, sendo observada a formação de precipitado em caso positivo.

Os resultados foram mostrados de acordo com a seguinte escala de classificação: Ausente (-), Fracamente presente (+), Moderadamente presente (+ +) e Fortemente presente (+ + +).

4.4 ANTOCIANINAS MONOMÉRICASTOTAIS

A extração das antocianinas foi realizada de forma exaustiva, utilizando 2 g da amostra liofilizada, com uma solução metanólica de HCl 1% sob agitação. Em seguida a solução foi filtrada em papel de filtro Whatman nº 1 e o resíduo submetido à nova extração nas mesmas condições. O extrato foi concentrado a vácuo ($T < 38^{\circ} \text{C}$) até evaporação total do metanol, em seguida foi diluído com água destilada até um volume conhecido de 25 mL.

Duas alíquotas de 10 mL do extrato foram retiradas, sendo uma delas diluída com uma solução tampão em pH 4,5 e a outra com uma solução tampão em pH 1,0, até volume apropriado. Foi estabelecido o fator de diluição a partir da alíquota do extrato em tampão pH 1,0 em valor de absorbância em torno de 0,8 e então as duas alíquotas foram diluídas com o mesmo volume de tampão (pH 1,0 e pH 4,5). Em seguida foi realizada a leitura de absorbância a 520 e a 700 nm. O branco utilizado para zerar o espectrofotômetro UV-vis da Shimadzu, modelo UV-2550. foi água destilada.

O cálculo da diferença de absorbância (Abs) seguiu a seguinte equação:

$$A = (A_{\lambda \text{vis-max}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}1,0} - (A_{\lambda \text{vis-max}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}4,5}$$

Sendo:

$A_{\lambda \text{vis-max}}$ —Abs em pH 1,0 e 4,5 no comprimento máximo de onda no visível.

$A_{700 \text{ nm}}$ —Abs em pH 1,0 e 4,5 a 700 nm.

Para a concentração de antocianinas monoméricas, utilizou-se a seguinte equação:

$$AM = \frac{A \times PM \times FD \times 10^3}{\epsilon \times L}$$

Sendo:

AM – antocianinas monoméricas (mg/L)

A – diferença de absorbância calculado pela eq. 1

PM – peso molecular da cianidina-3-glucosídeo = 502,5 g/mol

FD – fator de diluição

ε – coeficiente de extinção molar = 34300 L/mol.cm (SWAIN, 1965)

L – caminho óptico=1,0 cm

Como a antocianina majoritária no jambo vermelho é a cianidina-3-glucosídeo, a determinação da concentração de antocianinas totais foi realizada utilizando os valores do peso molecular e do coeficiente de extinção para esta antocianina em meio aquoso ácido.

4.5 IDENTIFICAÇÃO DAS ANTOCIANINAS POR CLAE-PDA-EM/EM

A extração foi realizada com metanol contendo 1% ácido clorídrico em repouso sob refrigeração por dezesseis horas. O sobrenadante foi separado por filtração, e a amostra foi submetida à nova extração por 4 h (DEGENHARDT, KNAPP, WINTERHALTER, 2000).

A análise de antocianinas foi realizada em um cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado aos detectores de arranjo de diodos (modelo LC-20AD, Shimadzu, Japão) e ao espectrômetro de massas equipado com analisador de massa/carga ion trap (Bruker Daltonics, amaZon speed EDT, Alemanha), segundo descrito por Faria et al. (2011). As antocianinas do extrato da casca foram separadas na coluna C18 Shim-pack CLC-ODS (5 μ m, 250 $\times$ 4.6 mm i.d.) (Shimadzu, Canby, USA), usando como fase móvel o gradiente linear água/metanol, ambos com 5%v/v de ácido fórmico, nas concentrações de 90:10 a 60:40 por 20 min, passando para 20:80 por 15 min e mantendo a proporção por 5 min.

Após a passagem pelo detector PDA, o fluxo foi dividido de forma que apenas 0,15 mL/min entrassem na fonte de ionização. A ionização foi realizada por eletrospray (ESI) no modo positivo e os parâmetros foram ajustados em: voltagem no capilar de 2,5 kV; voltagem de saída no capilar de 95,2 kV; energia de fragmentação de 1,2 V; temperatura do gás secante (N₂) foi de 350 °C, com fluxo de 8 L/min; nebulizador a 30 psi; endplate offset -500 V. Os espectros de massas foram adquiridos na faixa de valores de m/z entre 100 e 1000 e o EM/EM foi adquirido no modo automático com energia de fragmentação EM/EM de 1,2 V.

A identificação das antocianinas foi realizada com base na combinação dos seguintes parâmetros: ordem de eluição em coluna de fase reversa e características dos espectros de UV-vis e de massas e comparação com padrão. A quantificação foi realizada utilizando curva analítica de cianidina 3-glucosídeo (Extrasynthèse, Genay, France).

4.6 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Os extratos obtidos para as análises de determinação dos compostos fenólicos totais foram os mesmos utilizados para os ensaios de capacidade antioxidante.

A extração foi realizada a partir de 5 g da amostra liofilizada, usando 100 mL de metanol 80% aquoso sob agitação em homogeneizador por 5 minutos. A mistura foi filtrada em filtro de papel Whatman nº 2 em funil de Büchner e o resíduo foi lavado com metanol, e em seguida submetido à nova extração nas mesmas condições. Os filtrados foram misturados e o solvente evaporado em evaporador rotatório ($T < 40\text{ }^{\circ}\text{C}$). Em seguida, o concentrado foi dissolvido em 50 mL de metanol transferido para um balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com água destilada.

O conteúdo total de polifenóis em cada extrato foi determinado espectrofotometricamente, em triplicata, de acordo com o método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON, ROSSI, 1965), com modificações. Inicialmente, uma alíquota de 90 μL de cada extrato metanólico foi transferida para tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 60 μL do reagente Folin-Ciocalteu juntamente com uma alíquota de 2670 μL de água destilada e agitada por 60 segundos. Em seguida, foi adicionada uma alíquota de 180 μL de solução de Na_2CO_3 a 15% e agitada novamente por mais 30 segundos. A mistura foi deixada em repouso por 120 minutos, à temperatura ambiente, na ausência de luz. A leitura da absorbância a 760 nm foi registrada empregando-se um espectrofotômetro UV-vis da Shimadzu, modelo UV-2550. Uma curva padrão com ácido gálico (de 1 a 20 mg/L) foi obtida nas mesmas condições. Os resultados foram expressos em mg de equivalente a ácido gálico por g do extrato (mg EAG/g).

4.7 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

4.7.1 Determinação da capacidade antioxidante de desativação de radicais DPPH•

Desenvolvido por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), o método DPPH tem como base a redução da absorbância na região visível de comprimento de onda de 515 nm do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) por antioxidantes.

A atividade antioxidante foi determinada através da capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em desativar o radical estável DPPH•, de acordo com Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com modificações de Silva et al. (2006). Em triplicata, alíquotas de 100 μL da amostra foram misturadas com 200 μL de etanol e 2.700 μL da solução de

DPPH•(23,6 µg/mL em MeOH). Após 30 minutos, foi efetuada a leitura a 517 nm, em espectrofotômetro UV-vis da Shimadzu, modelo UV-2550. Os resultados foram obtidos a partir da seguinte fórmula:

$$\% \text{ inibição do DPPH} = 1 - \left(\frac{A_{517(f)}}{A_{517(i)}} \right) \times 100$$

Sendo:

$A_{517(i)}$ a absorbância inicial a 517 nm

$A_{517(f)}$ a absorbância final a 517 nm

Uma curva controle utilizando solução de Trolox em diferentes concentrações(0,5 a 5 µg/mL) foi preparada. Os resultados foram expressos em µmoles equivalentes de Trolox/g amostra, em base seca.

4.7.2 Determinação do Poder Antioxidante de Redução do Ferro – FRAP

O ensaio do FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power, em português significa Poder do Antioxidante em Reduzir o Ferro) é baseado na capacidade de um antioxidante em reduzir o Fe^{3+} para Fe^{2+} . Seguindo a metodologia de Benzie e Strain (1996), com algumas modificações, preparou-se a solução do reagente FRAP, combinando-se 25 mL de tampão acetato 0,3 M, uma alíquota de 2,5 mL da solução TPTZ a 10 mM e 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico 20 mM. Em ambiente escuro, adicionou-se 90 µL de amostra (na diluição previamente testada) em tubo de ensaio e acrescentou-se 270 µL de água destilada. Em seguida adicionou-se 2,7 mL do reagente FRAP. Após homogeneização, os tubos foram mantidos em banho-maria a 37 °C. O espectrofotômetro foi calibrado com o reagente FRAP e as leituras da absorbância foram realizadas a 595 nm, após 30 minutos da reação. Uma curva controle utilizando sulfato ferroso foi preparada (500 a 2000 µM).

A partir da equação da reta do gráfico concentração (mg/L) versus absorbância, pode-se calcular a atividade antioxidante total (AAT), substituindo-se na equação da reta a absorbância equivalente a 1000 µM do padrão sulfato ferroso. O resultado foi expresso em mM de sulfato ferroso/g de amostra.

4.7.3 Determinação do Poder de inibição da oxidação pelo método de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico

O poder de inibição da oxidação foi avaliado pelo método de descolorimento do sistema β -caroteno/ácido linoleico descrito por Marco (1968). O mecanismo de descolorimento do β -caroteno é um fenômeno mediado por radicais livres resultantes da presença de hidroperóxidos formados a partir do ácido linoleico. Neste sistema modelo, o β -caroteno sofre rápida descoloração na ausência de um antioxidante. O radical livre do ácido linoleico, formado a partir da abstração de um átomo de hidrogênio de um de seus grupos metileno dialílicos, ataca as moléculas altamente insaturadas do β -caroteno. Como as moléculas de β -caroteno perdem suas duplas ligações por oxidação, o composto perde seu cromóforo e a cor alaranjada característica, o que pode ser monitorado espectrofotometricamente a 470 nm.

Uma alíquota de 20 μ L da solução de β -caroteno (20 mg/mL em clorofórmio) foi colocada em um frasco erlenmeyer de 250 mL com 40 μ L de ácido linoleico, 1 mL de clorofórmio e 20 mg de Tween 40. O clorofórmio foi completamente evaporado. Ao erlenmeyer foram adicionados 150 mL de água deionizada (previamente submetida a tratamento com atmosfera de oxigênio, durante 30 minutos). A emulsão apresentou-se límpida e sua absorbância a 470 nm foi ajustada para 0,6 a 0,7. Diferentes alíquotas (100 e 400 μ L) dos extratos foram comparadas ao controle (sem antioxidante), ao antioxidante padrão BHT (butil hidroxitolueno, 100 μ L) e a uma mistura de extrato + BHT (50 μ L + 50 μ L). Uma leitura inicial da absorbância foi feita imediatamente após a adição das amostras e do padrão ao sistema visando à determinação do tempo zero. Posteriormente, a absorbância foi monitorada a cada 15 min, durante o período de 2 h. O sistema foi mantido em banho-maria a 40 °C durante o ensaio. A capacidade antioxidante foi calculada em termos de percentual de inibição, relativo ao controle, de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ inibição} = 100 - \left(\frac{A_i - A_f}{C_i - C_f} \times 100 \right)$$

Sendo:

A_i = Absorbância inicial do extrato

A_f = Absorbância final do extrato

C_i = Absorbância inicial do controle

C_f = Absorbância final do controle

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a diferença das médias entre as frações da casca e da casca e polpa e para a comparação em ter os dois lotes do fruto, aplicou-se o teste t de Student ($p \leq 0,01$).

Os dados foram submetidos a ANOVA (análise de variância) e os resultados foram analisados utilizando o *software Statisticat*® 7.0.

5. RESULTADOS

Os resultados e discussão estão apresentados na forma de artigo científico (APÊNDICE), submetido ao periódico *Food Chemistry*.

A composição do jambo vermelho demonstrou sua importância nutricional. Pode-se perceber de acordo com os resultados apresentados no artigo (APÊNDICE), que os frutos das diferentes regiões geográficas apresentaram diferença estatisticamente diferente ($p < 0,01$) em relação às características físicas e químicas analisadas.

Os extratos da casca do fruto obtiveram um conteúdo maior dos compostos bioativos avaliados e também uma maior atividade antioxidante.

Em sistema lipídico, os extratos da casca demonstraram maior capacidade antioxidante comparado aos extratos feitos a partir da polpa e casca do fruto, apresentando também uma ação sinérgica positiva quando avaliados em uso simultâneo com o antioxidante sintético BHT.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apartir das características físicas, os frutos do jambo vermelho (*Syzygium malaccense*) podem ser caracterizados como carnosos e suculentos, sendo interessantes para o consumo e também para utilização como matéria-prima de produtos industrializados. O JV apresenta quantidades relevantes dos seguintes compostos bioativos: ácido ascórbico e flavonoides, bem como alto teor antocianinas e fenólicos totais, estando presentes, predominantemente, na fração das cascas. Os extratos analisados do fruto exibiram capacidade antioxidante significativa frente ao radical livre DPPH e aos ensaios de redução do ferro (FRAP) e em meio lipídico. De maneira geral, o estudo da caracterização do JV e da sua capacidade antioxidante apresentou dados que evidenciaram sua importância nutricional, evidenciando a importância do seu consumo e aproveitamento pela população e pela indústria de alimentos, assim como o seu potencial como objeto de estudo para a realização de outras pesquisas científicas.

REFERÊNCIAS

A.O.A.C. Association Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association Chemists**. 20 ed. Washington: AOAC, 1998.

AGATI, G.; MATTEINI, P.; GOTI, A.; TATTINI, M. Chloroplast-located flavonoids can scavenge singlet oxygen. **New Phytologist**. v. 174, n. 1, p. 77–81, 2007.

ARUMUGAM, B.; MANAHARAN, T.; HENG, C. K.; KUPPUSAMY, U. R.; PALANISAMY, U. D. Antioxidant and antiglycemic potentials of a standardized extract of *Syzygium malaccense*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, p. 707-712, 2014.

AUGUSTA, I. M. **Extração e secagem da casca de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) merryl et perry) para obtenção de corante**. 2011. 137 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2011.

AUGUSTA, I. M.; RESENDE, J. M.; BORGES, S. V.; MAIA, M. C. A.; COUTO, M. A. P. G. Caracterização física e química da casca e polpa de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl & Perry). **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. v. 30, n. 4, p. 928-932, 2010.

BAIRY, K. L.; SHARMA, A.; SHALINI, A. Evaluation of the hypoglycemic, hypolipidemic and hepatic glycogen raising effects of *Syzygium malaccense* upon streptozotocin induced diabetic rats. **Journal of Natural Remedies**, v. 5, n. 1, p. 46-51, 2005.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BARRETO, N. D. S. **Qualidade, compostos bioativos e capacidade antioxidante de frutos de híbridos comerciais de meloeiro cultivados no CE e RN**. 2011. 184 f. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical) - Universidade Federal Rural do Semiárido, 2011.

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 646-656, 2009.

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

BOTTERWECK, A. A.; VERHAGEN, H.; GOLDBOHN, R. A.; KLEINJANS, J.; VAN DEN BRANDT, P. A. Intake of butylated hydroxyanisole and BHA. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 38, n. 7, p. 599-605, 2000.

BOUDET, A-M. Evaluation and current status of research in phenolic compounds. **Phytochemistry**, v. 68, n. 22-24, p. 2722-2735, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 22, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. Diário Oficial da União Brasília: Ministério da Saúde. 1018p, 2005.

BREWER, M. S. Natural antioxidants: Sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n.4, p. 221–247, 2011.

CARDOSO, R. L. **Estabilidade de geleia de jambo vermelho (*Eugenia malaccensis* L.) em copo de vidro**. 1994. 157 f. Tese(Doutorado em Tecnologia de Alimentos)– Universidade Estadual de Campinas, Campinas,1994.

CHANG, H.; HUANG, G.; AGRAWAL, D. C.; KUO, C.; TSAY, W. H. Antioxidant activities and polyphenol contents of six folk medicinal ferns used as “Gusuibu”. **Botanical Studies**, v. 48, n.4, p. 397–406, 2007.

CLIFFORD, M. N. Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 1063–1072, 2000.

DE ANGELIS, R. C. **Fisiologia da nutrição: fundamentos para nutrição e desnutrição**. São Paulo: EDART/EDUSP, 1977. v. 1, p. 44. 1977.

DE AZEVÊDO, J. C. S. **Estratégias de obtenção do corante do jambo vermelho (*Syzygium malaccense*) e avaliação de sua funcionalidade**. 2010. 101f. Dissertação (Mestre em Pesquisa e Desenvolvimento de Tecnologia Regional) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2010.

DEGENHARDT, A.; KNAPP, H.; WINTERHALTER, P. Separation and purification of anthocyanins by high-speedcountercurrent chromatography and screening for antioxidant activity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**,v. 48, n. 2, p. 338 -343,2000.

DORKO, C. Antioxidants used in foods. **Food Technology**, v. 48, n. 4, p. 33-38, 1994.

ERENEL, G.; ERBAS, D.; ARICIOGLU, A. Free radicals and antioxidant systems. **Materia Medica Polona**, v.1, n.85, p.37-43, 1993.

FALCÃO, M. A.; PARALUPP, N. D.; CLEMENT, C. R. Fenologia e produtividade do jambo (*Syzygium malaccensis*) na Amazônia Central. **Acta Amazônica**, v. 32, n. 1, p. 3-8, 2002.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolao (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1571-1578, 2011.

FENEMMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010.

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

FERREIRA, D. S.; ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Compostos bioativos presentes em amora-preta (*Rubus* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 32, n. 3, p. 664-674, 2010.

FORD, S. M.; HOOK, J. B.; BOND, J. T. The effects of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on renal function in the rat. I. Effects on fluid and electrolyte excretion. **Food and Cosmetics Toxicology**, v. 18, n.1, p. 15-20,1980.

GOW, A. J.; ISCHIROPOULOS, H. J. Nitric oxide chemistry and cellular signaling. **Journal of Cell Physiology**, v. 187, n. 2, p. 277-282, 2001.

GUIMARÃES, M. M.; FIGUEIREDO, T. V. B.; MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I. Utilização de chocolates ricos em polifenóis e com ação antioxidante: busca em bases de patentes. **Cadernos de Prospecção**, v. 5, n. 3, p. 168-177, 2012.

GUO, C.; YANG, J.; WEI, J.; LI, Y.; XU, J.; JIANG, Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**, v.23, n.12, p.1719-1726, 2003.

HALLIWELL, B. Antioxidant characterization, methodology and mechanism. **Biochemistry Pharmacology**, v. 49, n. 10, p. 1341-1348, 1995.

HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. Oxford: Oxford University Press, 1999.

HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J.M.C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods Enzymology**, v. 186, n. x, p. 1-85, 1990.

HANSEN, J. M.; GO, Y. M.; JONES, D. P. Nuclear and mitochondrial compartmentation of oxidative stress and redox signaling. **Annual Review Pharmacology Toxicology**, v. 46, n. x, p. 215-234, 2006.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure–activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 10, p. 572–584, 2002.

HOLST, B.; WILLIAMSON, G. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 19, n. 2, p. 73-82, 2008.

HUNTLEY, A. L. The health benefits of berry flavonoids for menopausal women: Cardiovascular disease, cancer and cognition. **Maturitas**, v. 63, n. 4, p. 297-301, 2009.

JACOBS, D. R.; TAPSELL, L. C. Food, not nutrients, is the fundamental unit in nutrition. **Nutrition Review**, v. 65, n. 10, p. 439-450, 2007.

JUDPRASONG, K.; CHAROENKIATKUL, S.; THIYAJAI, P.; SUKPRASANSAP, M. Nutrients and bioactive compounds of Thai indigenous fruits. **Food Chemistry**, v. 140, n. 3, p. 507- 512, 2013.

KAAIKAMANU, D.K.; AKINA, J.K. Hawaiian herbs of medicinal value found among the mountains and elsewhere in the Hawaiian Islands, and known to the Hawaiians to possess curative and palliative properties most effective in removing physical ailments. **Territorial Board of Health**, Honolulu, Hawaii, 1922.

KONCZAK, I.; ZHANG, W. Anthocyanins - More Than Nature's Colours. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 5, n. x, p. 239-240, 2004.

KONGA, J-M.; CHIAA, L-S.; GOHA, N-K.; CHIAA, T-F.; BROUILLARDB, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, n. x, p. 923-933, 2003.

LEE, K.G.; SHIBAMOTO, T.; Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 17, p. 4947-4952, 2002.

LIU, Y-J; ZHAN, J.; LIU, X-L.; WANG, Y.; JI, J.; HE, Q-Q. Dietary flavonoids intake and risk of type 2 diabetes: A meta-analysis of prospective cohort studies. **Clinical Nutrition**, v. x, n. x, p. 1-5, 2013.

LULE, S. U.; XIA, W. Food phenolics, pros and cons: A review. **Food Review International**, v. 21, n. 4, p. 367–388, 2005.

MARCO, G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 45, p. 594-598, 1968.

MATOS, F. J. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 150 p.

MERRILL, A. L.; WATT, B. K. Energy Value of Foods: Basis and Derivation, Revised U.S. Department of Agriculture, Retrieved November, 15, 2008 from the Department of Agriculture. **Agriculture Handbook**, v. 74, 1973.

MLADĚNKA, P.; ZATLOUKALOVÁ, L.; FILIPSKÝ, T.; HRDINA, R. Cardiovasculareffects of flavonoids are not caused only by direct antioxidant activity. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 6, p. 963-975, 2010.

MORTON, J. **Fruits of warm climates**. Maplay Apple. Julia F. Morton, Miami, FL. p. 378-381.1987.

MULLER, F. L.; LUSTGARTEN, M.; JANG, Y.; RICHARDSON, A.; VAN REMMEN, H. Trends in oxidative aging theories. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 43, n. 4, p. 477-503, 2007.

MULVIHILL, E. E.; HUFF, M. W. Antiatherogenic properties of flavonoids: Implications for cardiovascular health. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 26, supplement A, p. 17A-21A, 2010.

NAGATA, K. M. Hawaiian medicinal plants. **Society for Economic Botany**, v.25, n. x, p. 245-254, 1971.

NOBERTA, S.; SILVA, S.; MEIRELES, M.; FARIA, A.; PINTADO, M.; CALHAU, C. Blueberry anthocyanins in health promotion: A metabolic overview. **Journal of Functional Foods**, v. 5 n. 4, p. 1518-1528, 2013.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes Vegetais Naturais de Antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

PAZ, M.; GÚLLON, P.; BARROSO, M. F.; CARVALHO, A. P.; DOMINGUES, V. F.; GOMES, A. M.; BECKER, H.; LONGHINOTTI, E.; DELERUE-MATOS, C. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 172, p.462–468, 2015.

PAZMINO-DURAN, A. E.; GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E.; GLORIA, B. A. Anthocyanins from oxalis triangularis as potential food colorants. **Food Chemistry**. v. 75, n. 2, p. 211–216, 2001.

PETERSON, J.; DWYER, J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**. v. 18, n. 12, p. 1995-2018, 1998.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**. v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

REISHE, D. W.; LILLIARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. **Antioxidants**. Dekker: New York, 1997. 423 p.

SACRAMENTO, C.K.; SOUZA, F.X. **Cajá (*Spondias mombin* L.)**. Jaboticabal: Funep, 2000. 42p. (Funep.Série Frutas Nativas, 4).

SANTACRUZ, L.; CARRIAZO, J.G.; ALMANZA, O.; OSORIO, C. Anthocyanin Composition of Wild Colombian Fruits and Antioxidant Capacity Measurement by Electron

Paramagnetic Resonance Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 6, p. 1397–1404, 2012.

SCHAFER, F. Q.; BUETTNER, G. R. Redox state as viewed through the glutathione isulfide/glutathione couple. **Free Radicals in Biology and Medicine**. v.30, n. 11, p. 1191-1212, 2001.

SCHRAMM, D. D.; GERMAN, J.B.; Potential effects of flavonoids on the etiology of vascular disease. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 9, n. 10, p. 560-566, 1998.

SILVA, M. L.C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SIMÕES, C. O; SCHENKEL, E. P.; GOSMÃO, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 1999.

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

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOHAL, S. R.; ORR, W.C. The redox stress hypothesis of aging. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 52, n. 25, p. 539–555, 2012.

SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lourr.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity. **Food Chemistry**, v.97, n.3, p.524-530, 2006.

SWAIN, T. **Analytical methods for flavonoids**. In Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments; Goodwin, T. W., Ed., Academic Press: London, Chapter 19, 1965.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad.: Eliane Romanato Santarém et al. 3ª. edição. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TERRY, P.; TERRY, J. B.; WOLK, A. Fruit and vegetable consumption in the prevention of cancer an update. **Journal of Internal Medicine**, v.250, n. 4, p. 280-290, 2001.

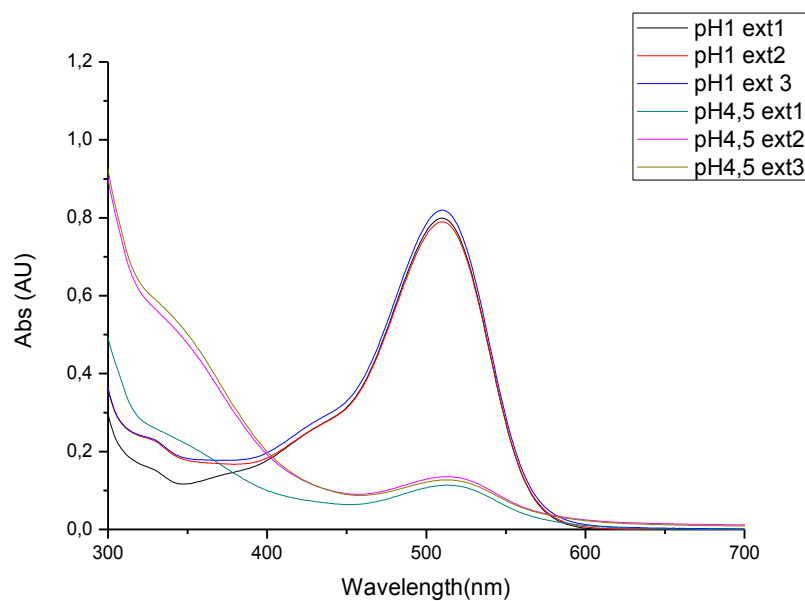
VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. de F.; BENFATO, V. M. e M. da S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de Oxigênio e de Nitrogênio, antioxidants e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

WHISTLER, W. A.; ELEVITCH, C. R. *Syzygium malaccense* (Malay apple). **Traditional Tree Initiative-Species Profiles for Pacific Island Agroforest**, v.1, p.1-13, 2006.

WILLIAMS, R. J.; SPENCER, J. P. Flavonoids, cognition, and dementia:actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for Alzheimer disease. **Free Radical Bioogy & Medicine**, v. 52, p. 35–45, 2012.

ANEXOS

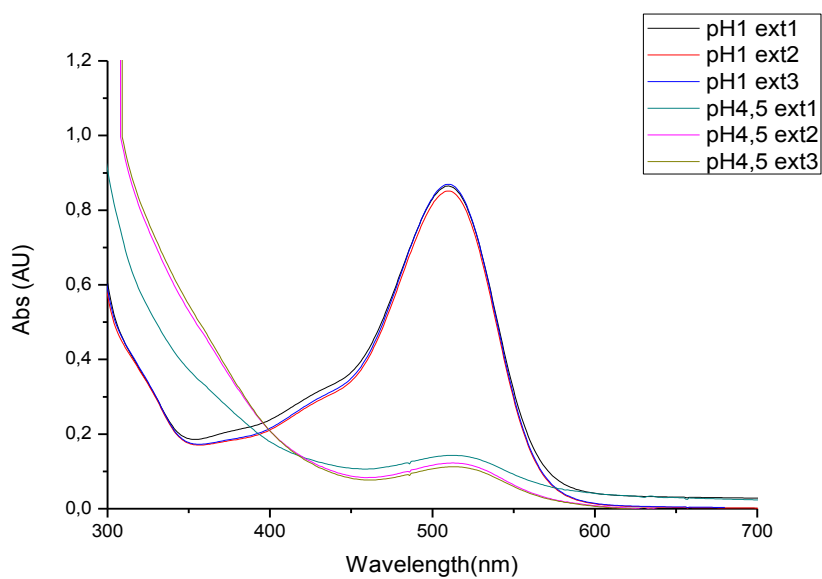
ANEXO A– Espectros UV-Vispara as antocianinas monoméricas.



Amostra: Jambo Vermelho

Fração: Casca

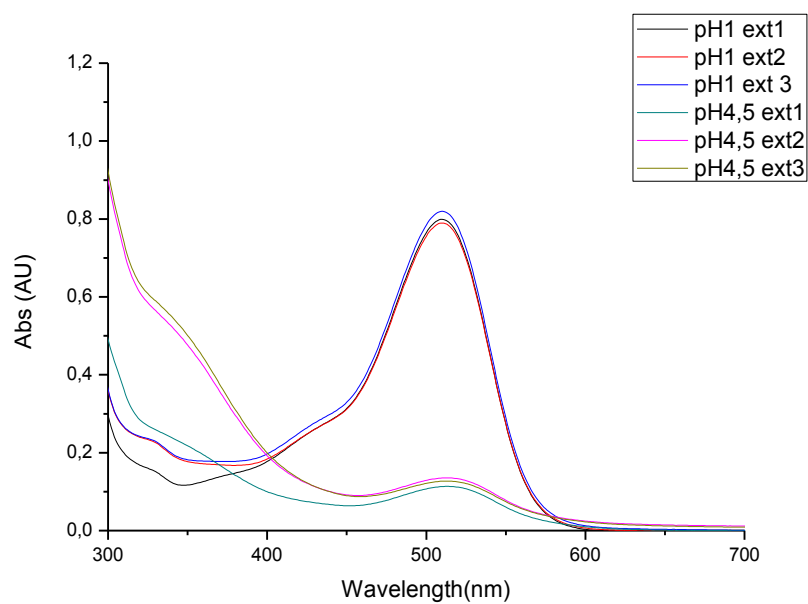
Origem geográfica: L1



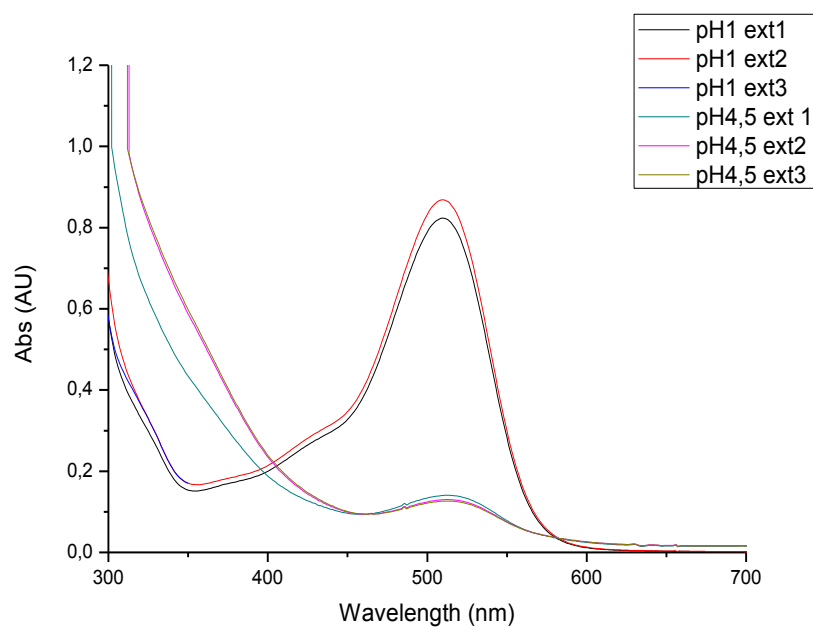
Amostra: Jambo Vermelho

Fração: Casca e polpa

Origem geográfica: L1



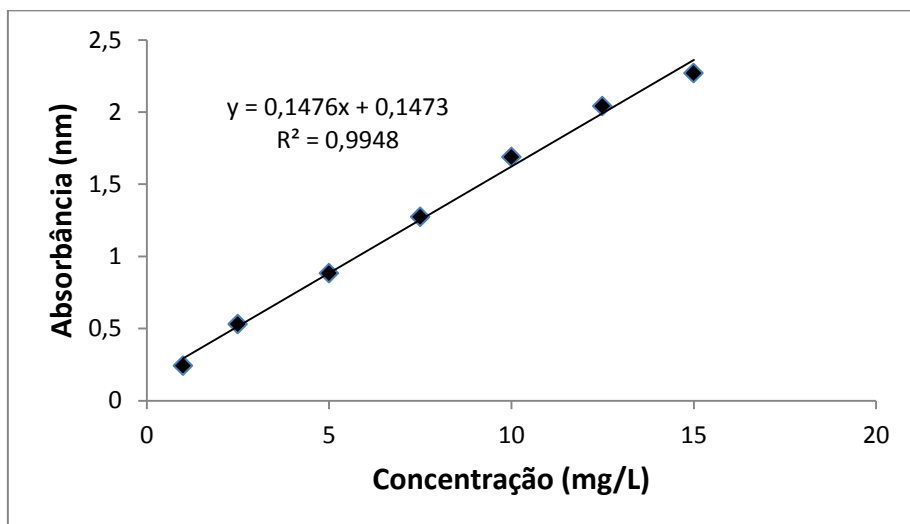
Amostra: Jambo Vermelho
 Fração: Casca
 Origem geográfica: L2



Amostra: Jambo Vermelho
 Fração: Casca e polpa
 Origem geográfica: L2

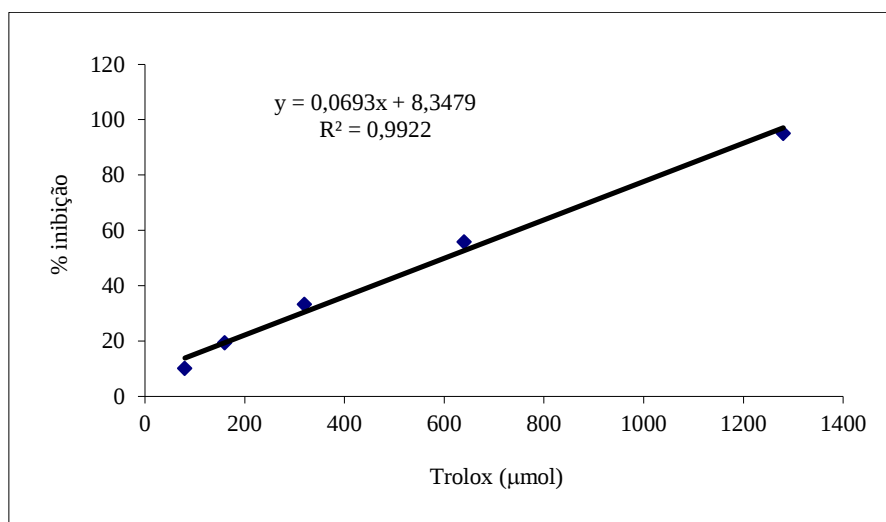
ANEXO B– Curva padrão Ácido Gálico.

Ácido Gálico



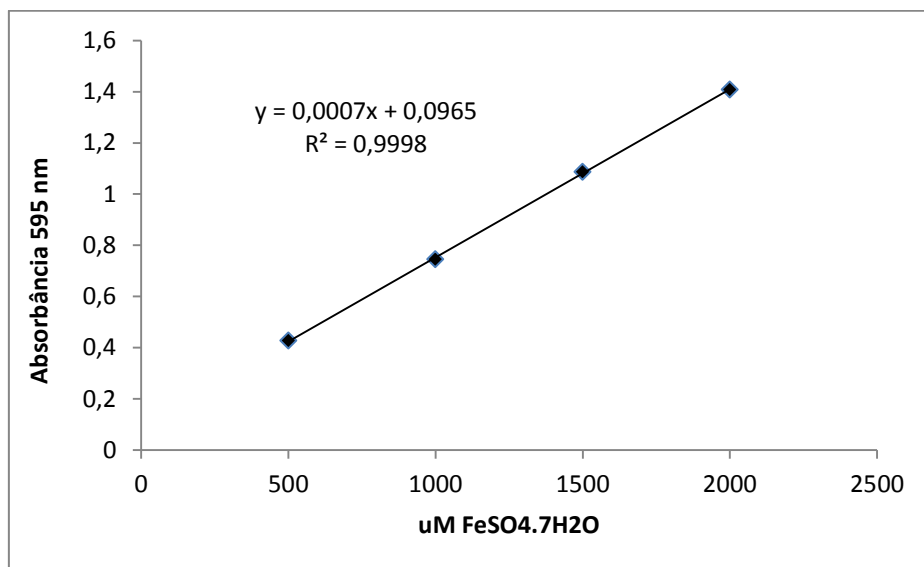
ANEXO C– Curva padrão Trolox.

Trolox



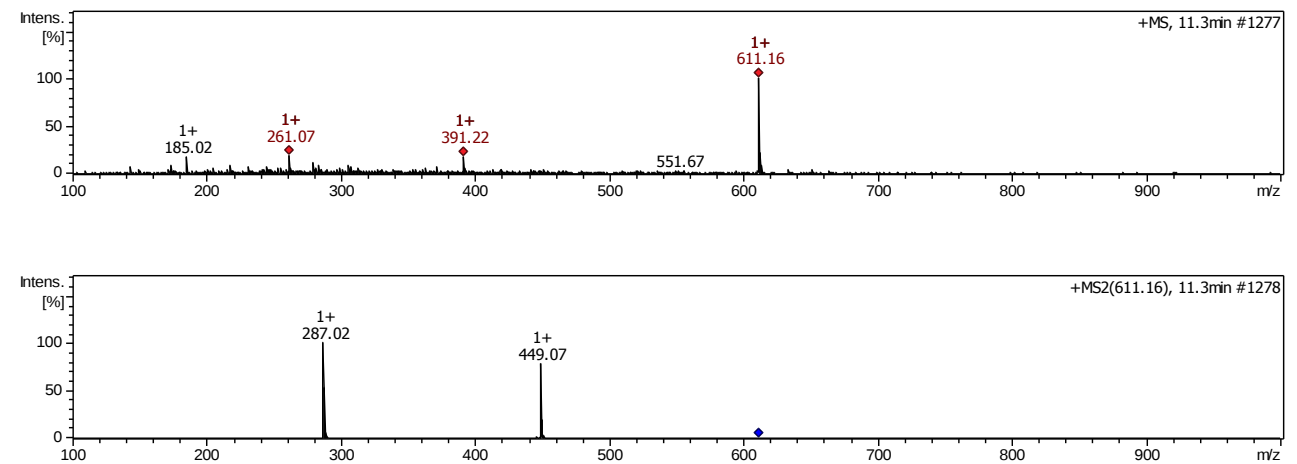
ANEXO D – Curva padrão Sulfato Ferroso.

Sulfato Ferroso

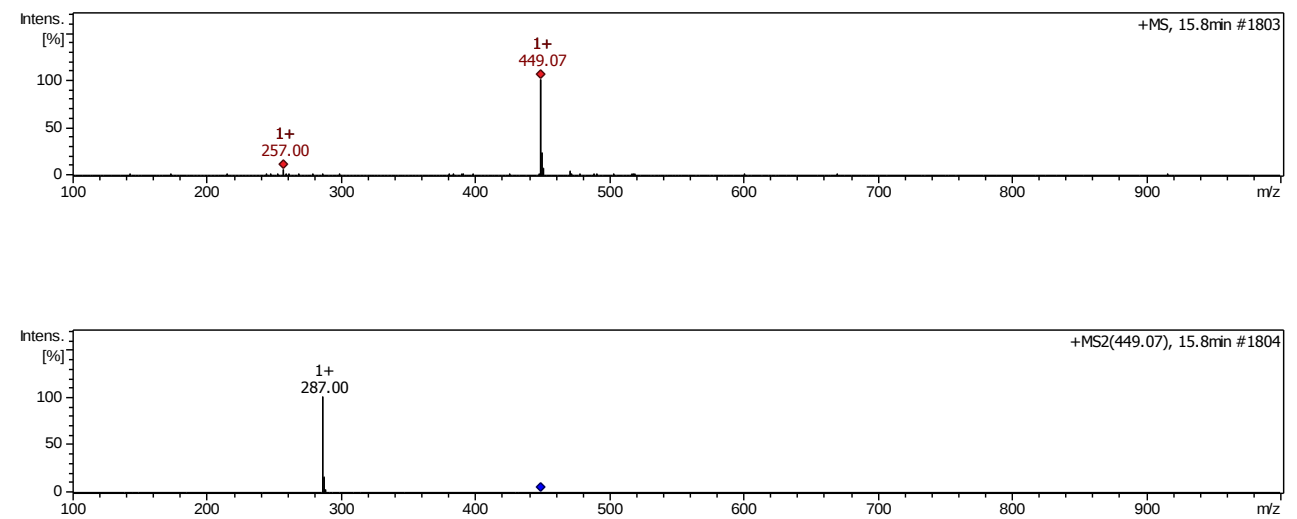


ANEXO E - Espectros de massas.

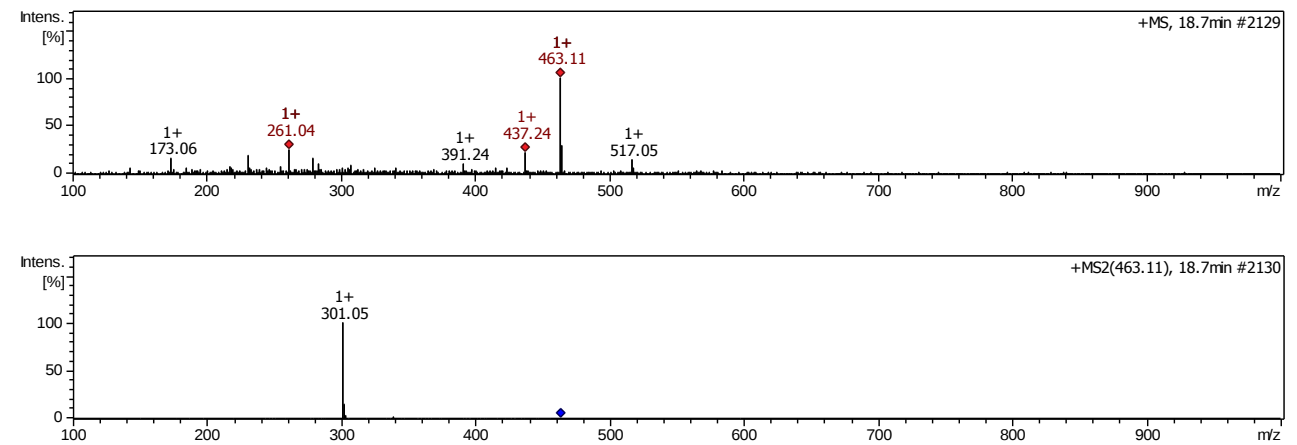
Pico1



Pico 2



Pico 3



APÊNDICE

Artigo - “Physico-chemical characterization, bioactive compounds and antioxidant activity of Malay apple [*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry]”

Polyana Campos Nunes ^a; Jailane de Souza Aquino ^b; Ângela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro ^c; Ismael Ivan Rockenbach ^{c*}; Tânia Lúcia Montenegro Stamford ^a

O artigo submetido em 10/03/2015 para o periódico *Food Chemistry*. Qualis A1.

**Physico-chemical characterization, bioactive compounds and antioxidant activity of
Malay apple [*Syzygium malaccense* (L.)Merr. & L.M. Perry]**

Polyana Campos Nunes ^a; Jailane de Souza Aquino ^b; Ângela Maria Tribuzy de Magalhães
Cordeiro ^c; Ismael Ivan Rockenbach ^{c*}; Tânia Lúcia Montenegro Stamford ^a

^a Department of Nutrition, Centre for Health Sciences, Federal University of Pernambuco – UFPE, Av. Profº Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

^bDepartment of Nutrition, Centre for Health Sciences, Federal University of Paraíba – UFPB, Cidade Universitária, s/nº, Castelo Branco, 58051-900, João Pessoa, PB, Brazil.

^c Department of Food Technology, Centre for Technology and Regional Development, Federal University of Paraíba – UFPB, Av. dos Escoteiros, s/nº, Mangabeira VII, 58055-000, João Pessoa, PB, Brazil.

Abstract

The purpose of this study was to evaluate physico-chemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of Malay apple fruit (*Syzygium malaccense*) grown in Brazil, in regard to the geographical origin of the fruits and its fractions peel and edible portion analyzed separately. Phytochemical analysis showed weak presence of steroids and strong presence of flavonoids. Total phenolics (1293 mg GAE/100 g) and total anthocyanins (1045 mg/100 g) contents were higher in peel, with the major anthocyanin identified by HPLC-DAD-MS/MS as cyanidin 3-glucoside. Higher values for DPPH antiradical scavenging activity (47.52 μ Mol TEAC/g) and Ferric Reducing Antioxidant Potential (FRAP, 0.19 mMferrous sulfate/g) were also observed in peel fraction. All extracts tested showed the ability to inhibit oxidation in the β -carotene/linoleic acid system. This study highlights the potential of Malay apple fruit as a good source of antioxidant compounds with potential benefits to the human health.

Keywords: *Syzygium malaccense*; Malay apple fruit; antioxidant activity; phenolic compounds; anthocyanins; phytochemicals.

1. Introduction

Recently, many epidemiological studies have suggested that the consumption of natural antioxidants such as polyphenol-rich food, fresh fruits, vegetables or teas has protective effects against many diseases and this protection has been partly ascribed to the presence of several components, such as vitamins, flavonoids, anthocyanins and other phenolic compounds (Moo-Huchin et al., 2015).

Colourful fruits are a potentially rich source of many dietary phenolic antioxidants. The anthocyanin pigments are responsible for many of the bright fruit and flower colours, and act as strong antioxidants and anti-inflammatories, with antimutagenic and cancer

chemopreventative activities. Often, anthocyanins account for much of the phenolic content of these fruits (Reynertson, Yang, Jiang, Basile, & Kennelly, 2008). A variety of these richly coloured fruits is available but has not been investigated for their therapeutic properties though these fruits have been consumed for centuries. Malay apple fruit is one of such fruits with a deep purple colour and is rich in anthocyanins, as shown in the present studies.

The Malay apple is presumed to be a native of Malaysia. It is commonly cultivated from Java to the Philippines and Vietnam, also in Bengal and South India. Portuguese voyagers carried it from Malacca to Goa and from there it was introduced into East Africa. Perhaps the Portuguese were responsible for its introduction into Brazil, for it is cultivated here, as it is also in Surinam and Panama. The fruits are sold in local markets and along the streets wherever the tree is grown. The ripe fruit of Malay apple is eaten raw though many people consider it insipid. It is best stewed with cloves or other flavoring and served with cream as dessert (Morton, 1987).

To the best of our knowledge, there is no report in the international literature regarding the phenolic composition and antioxidant activity of Malay apple fruit grown in Brazil, where this plant can be found in the North, Northeast and Southeastern regions of the country. In this study, we present a physical and chemical characterization of Malay apple fruit (*Syzygium malaccense*), along with a screening of the phytochemical content and antioxidant activity in peel and edible fraction of the fruit.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals and samples

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), sodium carbonate (Na_2CO_3), β -carotene, linoleic acid, BHT (2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol), Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), were purchased from Sigma-Aldrich Chemie

(Steinheim, Germany).Cianidin-3-glucoside was purchased from Polyphenols Laboratories AS (Sandnes, Norway). Folin-Ciocalteau reagent, 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) and Tween 40 were purchased from Fluka Chemie AG (Buchs, Switzerland). The solvents employed for extraction and HPLC procedures were analytical/HPLC grade and purchased from Merck (São Paulo, Brazil).

Malay apple samples were obtained from two different geographical origins (designated as L1 and L2), during the harvest season in 2013. Geographic coordinate L1: Latitude 7° 15' 38'' South and Longitude 34° 54'30'' West. Geographic coordinate L2: Latitude 7° 5' 39'' South and Longitude 35° 13' 58'' West. Samples were transported to the Biochemistry and Applied Microbiology Laboratory of the Federal University of Paraíba and then were selected and washed in running water for 15 min.

Initially fruits *in natura* from each L1 and L2 were separated to physical and chemical characterization. Samples were peeled and separated from the seed using a stainless steel knife, obtaining two fractions: peel and edible portion (pulp + peel).

For anthocyanins, total phenolic content and antioxidant activity assays, samples were frozen (-80 °C) and then lyophilized at -68 °C with pressure of 130 mmHg in lyophilizer model Liotop, L101 (São Carlos, Sao Paulo, Brazil) for seven days. After the liophilization, both fractions were separately homogenized in an industrial stainless steel blender with 2 L capacity (Tron), with velocity of 25,000 rpm when empty and maintained under -30 °C in vacuum conditioning until extract preparation.

2.2. Physical characterization

Transverse diameter (total height of fruit) and longitudinal diameter were measured using vernier caliper. Fruit shape (format index) was determined by the ratio of fruit length to diameter. Fruit, pulp, peel and seed weight were measured using a digital balance with

accuracy 0.01. Peels and seeds were manually separated from the pericarp/membrane and total weight per fruit was recorded. Peel yield (%) was determined as the ratio between peel weight and fruit weight, multiplied by 100. Similarly, pulp yield (%) was determined as the ratio between pulp weight and fruit weight, multiplied by 100.

2.3. Chemical characterization

Moisture, ash, protein ($N \times 6.25$), total lipid, reducing sugars and ascorbic acid content were determined according to AOAC (1998). Total carbohydrate content was determined by the difference between 100 and the sum of the moisture, protein, total lipids, ash and fiber content as percentages. The energy value was calculated from the protein, and total lipid and total carbohydrate content was calculated using an Atwater system (Merrill & Watt, 1973). Total soluble solids (TSS) was determined using an Abbe refractometer (A. Krüss Optronic, Germany), with results expressed as °BRIX (at 20 °C). pH was measured using a digital Mettler Toledo MP 230 pH meter (at 20 °C). Total crude fiber was determined according to Brasil (2005).

2.4. Phytochemical screening

Phytochemical screening of samples to detect the presence of flavonoids, saponins, tannins, sterols and alkaloids was performed according to the methodology proposed by Matos (2009).

For the detection of flavonoids, chloroform was added for the separation of layers. Then, methanol was added and evaporation was conducted in rotary evaporator. The dissolved material was distributed into two test tubes, where 10% HCl solution and magnesium tape were added, leaving to react until the tape disappeared and observing the appearance of pink color (positive test). In the second tube, acetone, oxalic acid and boric acid

were added. The mixture was dried in water bath, added of ethyl ether and the fluorescence was observed under UV spectrophotometer at wavelength of 510 nm (Biospectro model SP-220/Brazil).

Qualitative analysis of saponin was performed using the foam test, which consisted of dissolving the sample in water in a test tube, stirring for 1 min and leaving to rest for 10 min. After rest, the foam disappeared, which characterizes negative test for this phytochemical.

The test for tannins was carried out with evaporation of samples to complete drying, filtering with cotton funnel. The filtrate was distributed in six test tubes, the first three were tested with 0.5% gelatin and the others with 2% iron chloride at different concentrations (0.5, 1.0 and 2.0 mL), observing the formation of precipitates, which indicates the presence of tannins.

For the analysis of steroids, samples were submitted to evaporation until complete drying, adding chloroform for dissolution. Then, the samples were divided into three test tubes with 0.12, 0.25 and 0.5 mL. Chloroform, acetic anhydride and concentrated sulfuric acid were added to each tube. The results were observed according to the colour standard, where the colour blue indicated the presence of steroids.

Qualitative analysis of alkaloids was performed by evaporation of the alcoholic extract to complete drying, alkalizing the medium with 1% sodium hydroxide. Distilled water with chloroform was added; the system was filtered with cotton filter and the extract was separated from the chloroform layer. Then, 1% hydrochloric acid was added to the chloroform layer, stirring and letting settle until it becomes clear. Subsequently, it was distributed into four test tubes of 1 mL, followed by testing with the following reagents: Bouchardat, Mayer, Dragendorff and silicotungstic acid, observing the formation of precipitate if positive.

2.5. Extracts preparation

Extracts of peel and edible fraction from *Syzygium malaccense* were prepared separately. Anthocyanins were exhaustively extracted from 2.0 g of homogenized fractions using methanol containing 1% HCl. Extracts for total phenolic compounds were prepared from 5.0 g of samples, with methanol/water (8:2, v/v), which was also used to evaluate the antioxidant properties. All extracts (anthocyanins and phenolic compounds) were obtained by stirring in a Metabo GE700 homogenizer (Nürtingen, Germany), followed by vacuum filtration. The extracts were concentrated in a rotary evaporator ($T < 35\text{ }^{\circ}\text{C}$) and stored under nitrogen, at $-36\text{ }^{\circ}\text{C}$. Before HPLC-DAD-MS/MS analysis, the anthocyanin extract was partially purified on a XAD-7 column (Sigma) in order to remove sugars.

2.6. Total monomeric anthocyanins

The monomeric anthocyanin contents were determined in both the peel and edible portion extracts, through the differential pH method (Lee, Durst, & Wrolstad, 2005). Monomeric anthocyanin (MA) content was calculated as equivalent of cyanidin 3-glucoside (cyd 3-glu), considering the molecular weight (MW) of 449.2 g/mol and molar absorption coefficient (ϵ) of 26,900 L/mol/cm.

2.7. Identification of anthocyanins by HPLC-DAD-MS/MS

The anthocyanins from peel extract were separated on a C18 Shim-pack CLC-ODS column ($5\text{ }\mu\text{m}$, $250 \times 4.6\text{ mm i.d.}$) (Shimadzu, Canby, USA), using as mobile phase a linear gradient of water/methanol, both with 5%_{v/v} formic acid, from 90:10 to 60:40 in 20 min, passing to 20:80 in 15 min and keeping this proportion for 5 min. The UV–Vis spectra were acquired between 200 and 600 nm and the chromatograms were processed at 520 nm. After passing through the cell of the DAD, the flow from the column was split, allowing only 0.15 mL/min into the ESI source. For MS detection, the ESI ionization source was used in either

positive (ESI^+) or negative (ESI^-) modes, with capillary voltage at 2.5 and 1.5 kV, respectively. The output voltage of the capillary was 95.2 V for anthocyanins (ESI^+). The other conditions were: end plate offset -500 V, drying gas (N_2) temperature of 325°C and flow of 8 L/min, nebulizer at 30 psi. The MS/MS was acquired in automatic mode, applying fragmentation energy of 1.2 V. The scan range was from m/z 100 to 1000.

2.8. Total phenolic compounds content

The determination of total phenolic compounds was performed by the reaction with Folin-Ciocalteu reagent (Singleton, & Rossi, 1965). The quantification was based on the calibration curve of gallic acid (2.0–8.0 mg/L), and the results were expressed in mg gallic acid equivalent (GAE)/100 g sample.

2.9. Antioxidant activity – DPPH Method

The DPPH method was carried out as described by Brand-Williams, Cuvelier and Berset (1995). The decrease in the absorbance of 100 μM DPPH• radicals (2.9 mL) dissolved in 80% methanol was evaluated at 515 nm, 30 min after of addition of each extract. Total antioxidant activity of peel and edible portion (on a dry weight basis) were expressed in $\mu\text{Mol/g}$ of TEAC.

2.10. Reducing Power – FRAP Method

Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) assay was performed according to the method of Benzie and Strain (1996), based on the direct measurement of antioxidant (reducing) ability through the reduction of the complex Fe^{3+} /tripyridyltriazine (TPTZ) to Fe^{2+} at acid pH (3.6). The absorbance was read at 620 nm and using a UV–vis spectrophotometer during the monitoring period (2 h). The antioxidant potential of the peel and edible portion

extracts was determined based on a calibration curve plotted using $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ at a concentration ranging between 500 and 2000 μM .

2.11. Oxidation inhibition power – Co-oxidation of β -carotene/linoleic acid method

The inhibition activity of β -carotene oxidation by peroxide radicals of the fruit methanolic extract was evaluated by decolouring of the β -carotene/linoleic acid system as described by Marco (1968), with some modifications: an 20 μL aliquot of β -carotene solution (20 mg/mL in chloroform) was placed in a 250 mL Erlenmeyer flask with 40 μL of linoleic acid, 1 mL chloroform and 20 mg of Tween 40. After homogenization, the chloroform was completely evaporated with nitrogen. Deionized water (previously submitted to oxygen atmosphere for 30 min) was then added until formation of a clear emulsion with absorbance ranging from 0.6 to 0.7 at 470 nm. Different aliquots of the extracts (100 μL and 400 μL), BHT (Butylated hydroxytoluene, 100 μL) and a mixture of extracts (50 μL) + BHT (50 μL) were added to 5 mL of linoleic acid emulsion in glass cuvettes (optical path of 10 mm). After the initial reading, the absorbance was monitored every 15 min for 2 h. During this period, cuvettes were kept at 50 °C in a water bath. The decrease in absorbance was compared to the control (without antioxidant). The synergistic effect was also evaluated using 50 μL of the extracts and BHT in a 1:1 ratio. Antioxidant activity was expressed as % inhibition, relative to the control, according to the following equation:

$$\text{inhibition \%} = 100 - \left(\frac{A_i - A_f}{C_i - C_f} \times 100 \right)$$

A_i = extract initial absorbance

A_f = extract final absorbance

C_i = control initial absorbance

Cf = control final absorbance

2.11. Statistical Analysis

Data were subjected to ANOVA and Student T-test (*Statistica*® 7.0 software) at a 0.01 level of significance. All assays being carried out in triplicate.

3. Results and discussion

3.1. Physico-chemical characterization

Fruits with the similar weight and uniform shape are desirable in terms of marketing value. In addition, the demand of fruit quality, physically and chemically talking, by industries, depends on fruit species and physical characteristics. Among physical characteristics, dimensions, mass and yield are important parameters in sizing and fruit appearance (Khoshnam, Tabatabaeefar, Ghasemi Varnamkhasti, & Borghei, 2007).

Table 1 shows the values obtained in the physical characterization of *Syzygium malaccense*. There were statistically significant differences between L1 and L2 physical characteristics. This is to be expected since physico-chemical characteristics in fruits are dependent on the genetic and environmental factors (Doshi, Adsule, & Banerjee, 2006). Fruits from L2 were slightly larger and heavier (diameter of 5.93 cm and weight of 63.56 g) than those from L1, which presented diameter of 5.89 cm and weight of 60.86 g. Fruit size may fluctuate depending on climatic conditions and production practices (Radunić, Špika, Ban, Gadže, Díaz-Pérez, & MacLean, 2015). Fruit LD/TD ratio was approximately 1.20. The more closer to ratio one ($LD/TD = 1$) more round is the fruit. In another study, Malay apple fruit, pulp, peel and seed weight was, respectively, 39.16g, 29.64g, 2.57g and 6.95g (Augusta, Resende, Borges, Maia, & Couto, 2010).

(Table 1)

Chemical composition of a fruit can usually be determined by preparing the sample the same way it is consumed, which could be with the peel or peeled. Although Malay apple fruits peel and pulp are eaten together, peels present higher concentration of bioactive compounds. Therefore, this study analyzed peel and edible portion separately (Table 2). There were significant differences ($p < 0.01$) in physico-chemical characteristics between the fractions (peel and edible portion) of samples from same geographical origin and between the same fractions considering its different geographical origin.

(Table 2)

There is scarce information available in the literature regarding the proximate composition and chemical characteristics of Malay apple fruits (*S. malaccense*), therefore we will use as a reference data on other fruits with known composition which are recognized for their health benefits.

Based on the results, it was noted that the peels presented higher contents of carbohydrates, lipids, ashes, ascorbic acid, reductive sugars and total soluble solids, and lower values of moisture, proteins, pH and food fiber when compared to the edible portion.

The moisture level of both fractions of the fruit was around 90%, which lies within the class of fleshy and succulent fruits; a common characteristic in tropical fruits (Lorenzi, Sartori, Bacher, & Lacerda, 2006). The carbohydrate level is the highest calorie contributor, as the total lipid and protein contents do not substantially influence the calculation of the energy value of the sample. Lipids, however, are highly energetic molecules and generally appear in small amounts in fruits and vegetables. The lipid content of the peel was higher than the pulp and this result was similar to the one reported for many other fruits (*Spondias cytherea* Sonn. 'cajá-manga', passion fruit, melon, tangerine, avocado, pineapple, banana and papaya) (Gondim, Moura, Dantas, Medeiros, & Santos, 2005; Lago-Vanzela, Ramin, Umsza-Guez, Santos, Gomes, & Silva 2011).

It is well documented that vitamin C, a water soluble vitamin, is a strong antioxidant (Judprasong, Charoenkiatkul, Thiyajai, & Sukprasansap, 2013). A considerable amount of ascorbic acid was found in *S. malaccense* peel (318.01 and 321.27 mg/100 g, for L1 and L2, respectively). The outcome of this study was consistent with reports from Azevêdo (2010), which showed that *S. malaccense* contained a high ascorbic acid level in peel portion (292.59 mg/100g) (fresh weight). A considerable amount of ascorbic acid was found in other regional fruits, 200.2 mg/100 g (dry material) for *Spondias pinnata* K. (Satpathy, Tuagi, & Gupta, 2011) and 575 mg/100 g (dry material) for *Phyllanthus emblica* L. (Judprasong, Charoenkiatkul, Thiyajai, & Sukprasansap, 2013).

The peel and edible portion samples showed a fiber level of, respectively, 9.42 and 10.93% for L1, and 9.96 and 10.31% for L2, which could be considered as a food rich in fibers when compared to other dark-coloured fruits, such as blackberries (5.30%), blueberries (2.40%), strawberries (2.00%) and grapes (fresh weight) (USDA, 2008). In our study, Malay apple different fractions (peel and edible portion, respectively) showed Total Soluble Solids (TSS, in °BRIX) of 6.76 and 5.46 (L1) and 6.5 and 6.02 (L2). The pH values were of 3.60 and 3.75 (L1) and 3.54 and 3.82 (L2). TSS and pH are important characteristics related with sugar content and quality factor as it balances sweetness and tartness (Radunić, Špika, Ban, Gadže, Díaz-Pérez, & MacLean, 2015).

3.2. Phytochemical screening

Phytochemicals are widely distributed in foods of plant origin and cannot be synthesized by humans or animals and the ingestion of sources of these nutrients is recommended (Kumar, & Pandey, 2013). However, it could not be found in literature detailed studies about the presence of phytochemical compounds in Malay apple fruits.

Phytochemical screening results (Table 3) were the same for peel and edible portion of *Syzygium malaccense* from both geographical origins.

(Table 3)

Phytochemical analysis showed weak presence of steroids. It should be noted that steroidal compounds are of importance and interest in pharmacy due to their relationship with such compounds as sex hormones (Manalisha, & Chandra, 2012). And there was a strong presence of flavonoids, a large group of polyphenolic compounds responsible for a variety of pharmacological activities related to its antioxidant activity and other health benefits (Yilmaz, & Toledo, 2004). Malay apple can be considered as a potential source of these compounds. Accordingly, there has been an increasing interest in the production of foods with therapeutic benefits attributed to the presence of flavonoids (Kumar, & Pandei, 2012).

3.3. Anthocyanins

Anthocyanins are reported to be powerful antioxidant compounds and stability studies showed that they can be stable up to 6 months in dry pulps (Banerjee, Dasgupta, & De, 2005). The monomeric anthocyanins content found was 1032.01 mg/100 g and 278.34 mg/100g for peel and edible portion, respectively to extracts from L1 and 1045.34 mg/100 g and 275.68 mg/100g to extracts from L2. Similar results were described in the literature for this fruit, 1051.9 mg/100 g for peels and 391.8 mg/100g for edible portion (dry weight) (Azevêdo, 2010). Differences in anthocyanins content can be attributed to the inherent variability of the raw material, as well as to differences in methodology or standard used. When compared to other fruits from the Myrtaceae family, Malay apple showed a higher content of monomeric anthocyanins, as compared to those reported for camu–camu (*Myrciaria dubia*), 30–54 mg/100 g (Zanatta, Cuevas, Bobbio, Winterhalter, & Mercadante, 2005), *Eugenia myrtifolia*,

33 mg/100 g (Longo, Scardino, Vasapollo, & Blando, 2007), and jambolão (*Syzygium cumini*), 134 mg/100 g (fresh weight) (Benherlal, & Arumughan, 2007).

Table 4 presents the chromatographic, UV–Vis and mass spectrometry characteristics of anthocyanins from Malay apple fruit. The chromatogram of the extract of anthocyanins from Malay apple is presented in Fig. S1, measured by HPLC–DAD–MS/MS.

(Fig. S1)

(Table 4)

The major anthocyanin found in Malay apple was cyanidin 3-glucoside, followed by cyanidin 3,5-diglucoside and peonidin 3-glucoside, respectively. These results are consistent with those reported in previous studies with Malay apple fruits, where the major anthocyanins was identified as cyanidin 3-glucoside (Reynertson, Yang, Jiang, Basile, & Kennelly, 2008). Cyanidin glucosides have been shown to protect cell membrane lipids from oxidation (Tsuda, 1998).

3.4. Total phenolic compounds and antioxidant activity

As can be seen in Table 5, total phenolic compounds and antioxidant activity in the edible portion of fruit are present in lower concentrations when compared to those found in the peel. This difference can be attributed to the peel's deep purple colour that indicates rich presence of anthocyanins and other bioactive compounds (Benherlal, & Arumughan, 2007). There were significant differences ($p < 0.01$) between all the parameters compared, except for FRAP assay when comparing same fraction (peel and edible portion) in samples from different geographical origin (L1 and L2).

(Table 5)

Higher contents of total phenolic compounds (TPC) in both peel and edible portion fractions were expected, even though a reasonable variability was observed in the levels

found in the literature for this fruit, 13.71–8.04 mg GAE/g for peel and 7.04–4.75 mg GAE/g for edible portion (dry weight) (Azevêdo, 2010). In their study of antiradical phenolic constituents of fourteen edible fruits from Myrtaceae family, Reynertson, Yang, Jiang, Basile, and Kennelly (2008) reported a similar result for TPC in *Syzygium malaccense* (8.58 mg GAE/g dry weight for edible portion), which is lower when compared to those for other fruits from Myrtaceae family (*Myrciaria dubia*, 101.0, *Myrciaria vexator*, 44.1, *Syzygium curranii*, 39.6, *Myrciaria cauliflora*, 31.6, and *Eugenia aggregata*, 25.3 mg GAE/g dry weight).

The methanolic extracts were tested for its antioxidant property using the 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl radical (DPPH) assay. DPPH scavenging is a commonly assessed parameter for identification of plants with potential free radical scavenging activity (Ebrahimzadeh, Pourmorad, & Hafezi, 2008). In the present study, the DPPH antiradical scavenging activity values ranged from 47.22 to 47.52 $\mu\text{Mol TEAC/g}$ for peel extracts and from 25.92 to 22.20 $\mu\text{Mol TEAC/g}$ for edible portion extracts. The results are in the same range as those found by Azevêdo (2010) (28.40 $\mu\text{Mol TEAC/g}$ dry weight of edible portion).

It is highly recommended to use different assays instead of relying on a single assay to assess and compare the antioxidant activity of biological materials. Thus, this study also evaluated the antioxidant activity of samples by the Ferric Reducing Antioxidant Potential (FRAP) assay. The FRAP values were 0.19 (peel) and 0.09 (edible portion) mM ferrous sulfate/g dry weight. Our findings are in agreement with Ikram et al. (2008), who found FRAP values of 0.22 mM for *Syzygium malaccense*.

Earlier studies showed that there is a correlation between antioxidant activity and total phenolic compounds in fruits (Balasundram, Sundram, & Samman, 2006; Rockenbach et al. 2011). In our study, positive correlations ($p < 0.01$) between the total phenolic content and DPPH antiradical scavenging activity values ($r = 0.9424$) and between the total phenolic content and FRAP values ($r = 0.9667$) were observed.

3.5. Oxidation inhibition power

Besides showing good antioxidant activity and significant reducing power, peel and edible portion extracts of Malay apple also showed a moderate capacity to inhibit the oxidation of the β -carotene/linoleic acid system (Fig. 1). In the β -carotene assay, oxidation of linoleic acid releases linoleic acid peroxide as free radicals that oxidize β -carotene resulting in discoloration, thus decreasing the absorbance value.

(Fig. 1)

Different aliquots of the extracts: 100 μ L of peel extract (P100), 100 μ L of edible portion extract (EP100), 400 μ L of peel extract (P400), 400 μ L of edible portion extract (EP400), 100 μ L of BHT (BHT), 50 μ L of peel extract + 50 μ L of BHT (P+BHT) and 50 μ L of edible portion extract + 50 μ L of BHT (EP+BHT) were tested and the oxidation inhibition power (OIP) based on β -carotene assay of the Malay apple fruit ranged from 51.74% (EP100) to 78.47% (P400) for extracts obtained from L1, and 47.57% (EP100) to 83.33% (P400) for extracts obtained from L2.

The OIP was in the following order: P400 (78.47%) > P+BHT (72.22%) > EP+BHT (71.88%) > EP400 (68.40%) > BHT (67.36%) > P100 (56.25%) > EP100 (51.74%) for extracts from L1; and P400 (83.33%) > P+BHT (73.26%) > EP400 (68.40%) > BHT (67.36%) > EP+BHT (67.71%) > P100 (67.01%) > EP100 (47.57%) for extracts from L2. Although it was observed that the fruits from different geographical origins exhibited a small variation in OIP, all antioxidant extracts tested showed the ability to inhibit oxidation in the β -carotene/linoleic acid system. The same ability to inhibit oxidation was observed in the studies of Ikram et al. (2008) and Rockenbach et al. (2011), who evaluated extracts of Malaysian underutilized fruits and pomace from red grapes, respectively. For both L1 and L2,

higher OIP was observed to P400 and P+BHT, demonstrating higher potential of peel extracts compared to edible portion extracts and a positive synergistic effect of peel extracts and BHT.

4. Conclusions

Fruits from different geographical origins presented statistically significant differences ($p < 0.01$) in chemical and physical parameters. The composition analysis of Malay apple fruit parts brought out its nutritional importance. Peel contained higher contents of bioactive compounds and antioxidant activity. In a lipidic system, peel extracts demonstrated higher oxidation inhibition power compared to edible portion extracts and a positive synergistic effect between peel extracts and BHT was observed. With regard to the few reports on *Syzygium malaccense*, this study provides new information about physical and chemical properties, bioactive compounds and antioxidant activity of this fruit.

Acknowledgements

This work was supported by CNPq (National Council for Scientific and Technological Development - Brazil).

References

- AOAC (1998). *Official methods of analysis* (6th ed). Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemist.
- Amin, I., Lee, W.Y. (2005). Effect of different blanching times on antioxidant properties in selected cruciferous vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 2314–2320.

- Augusta, I. M., Resende, J. M., Borges, S. V., Maia, M. C. A., & Couto, M. A. P. G. (2010). Caracterização física e química da casca e polpa de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl & Perry). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(4), 928-932.
- Arumugam, B., Manaharan, T., Heng, C. K, Kuppusamy, U. R., & Palanisamy, U. D. (2014). Antioxidant and antiglycemic potentials of a standardized extract of *Syzygium malaccense*. *LWT - Food Science and Technology*, 59, 707-712.
- Arumugam, B., Manaharan, T., Heng, C. K, Kuppusamy, U. R., & Palanisamy, U. D. (2014). Antioxidant and antiglycemic potentials of a standardized extract of *Syzygium malaccense*. *LWT - Food Science and Technology*, 59, 707-712.
- Azevêdo, J. C. S. (2010) Estratégias de Obtenção do Corante do Jambo Vermelho (*Syzygium malaccense*) e Avaliação de sua Funcionalidade. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal da Paraíba. 101p.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006) Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191–203.
- Banerjee, A., Dasgupta, N., & De B. (2005). In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. *Food Chemistry*, 90, 727–733.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 22, 25-30.
- Benherlal, P. S., & Arumugan, C. (2007). Chemical composition and in vitro antioxidant studies on *Syzygium cumini* fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 2560–2569.

- BRASIL.(2005). Ministério da Saúde.Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*. Diário Oficial da União. Brasília: Ministério da Saúde, 1018p.
- Doshi, P., Adsule, P., & Banerjee, K. (2006).Phenolic composition and antioxidant activity in grapevine parts and berries (*Vitis vinifera* L.) cv. Kishmish Chorneyi (Sharad Seedless) during maturation.*International Journal of Food Science and Technology*, 41, 1-9.
- Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., Nabavi, S. F., Bahramian, F., & Bekhradnia, A. R. (2010).Antioxidant and free radical scavenging activity of *H. officinalis* L. var. *angustifolius*, *V. odorata*, *B. Hyrcana* and *C. speciosum*.*Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23, 29-34.
- Gondim, J. A. M., Moura, M. de F. V., Dantas, A. S., Medeiros, R. L. S., & Santos, K. M. (2005). Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 825-827
- Ikram, E. H. K., Eng, K. H., Jalil, A. M. M., Ismail, A, Idris, S., Azlan, A, et al. (2008). Antioxidant capacity and total phenolic content of Malaysian underutilized fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 388–393.
- Judprasong, K., Charoenkiatkul, S., Thiyajai, P., & Sukprasansap, M. (2013). Nutrients and bioactive compounds of Thai indigenous fruits.*Food Chemistry*, 140, 507–512.
- Khoshnam, F., Tabatabaeefar, A., Ghasemi Varnamkhasti, M., & Borghei, A. (2007). Mass modeling of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit with some physical characteristics.*Scientia Horticulturae*,114, 21–26.
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2012).Antioxidant, lipo-protective and antibacterial activities of phytoconstituents present in *Solanum xanthocarpum* root. *IREBIC*, 3(3), 42-47.
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Science World Journal*.1, 1-16.

- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88, 1269–1278.
- Lago-Vanzela, E. S., Ramin, P., Umsza-Guez, M. A., SANTOS, G. V., GOMES, E., & SILVA, R. da. (2011). Chemical and sensory characteristics of pulp and peel ‘cajá-manga’ (*Spondias cytherea* Sonn.) jelly (2011). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31(2), 398-405.
- Lorenzi, H., Sartori, S. F., Bacher, L. B., & Lacerda, C. T. M. da. (2006). *Frutas Brasileiras e Exóticas Cultivadas de consumo in natura*. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora.
- Longo, L., Scardino, A., Vasapollo, G., & Blando, F. (2007). Anthocyanins from *Eugenia myrtifolia* Sims. *Innovative of Food Science and Emerging Technologies*, 8, 329–332.
- Manalisha, D., & Chandra, K. J. (2012). Preliminary phytochemical analysis and acute oral toxicity study of *Mucuna pruriens* Linn. in albino mice. *International Research Journal of Pharmacology*, 3(2), 181-183.
- Marco, G. J. (1968). A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 45, 594-598.
- Matos, F. J. (2009). *Introdução à fitoquímica experimental*. Fortaleza: Edições UFC.
- Merrill, A.L., & Watt, B.K. (1973). *Energy Value of Foods: Basis and Derivation*, Revised U.S. Department of Agriculture, Retrieved November, 15, 2008 from the Department of Agriculture. Agriculture Handbook, 74.
- Moo-Huchin, V. M., Moo-Huchin, M. I., Estrada-León, R. J., Cuevas-Glory, L., Estrada-Mota, I. A., Ortiz-Vázquez, E., et al. (2015). Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 166, 17-22.

- Morton, J. F. (1987). Malay Apple. In: *Fruits of warm climates*. Florida Flair Books. Miami, FL.
- Radunić, M., Špika, M. J., Ban, S. G., Gadže, J., Díaz-Pérez, J. C., & MacLean, D. (2015). Physical and chemical properties of pomegranate fruit accessions from Croatia. *Food Chemistry*, 177, 53–60.
- Reynertson, K. A., Yang, H., Jiang, B., Basile, M. J., & Kennelly, E. J. (2008). Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry*, 109, 883–890.
- Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Gonzaga, L. V., Caliar, V., Genovese, M. I., Gonçalves, A. E. de S. S., Fett, R. (2011). Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry*, 127, 174–179.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Satpathy, G., Tuagi, Y. K., & Gupta, R. K. (2011). Preliminary evaluation of nutraceutical and therapeutic potential of raw *Spondias pinnata* K., an exotic fruit of India. *Food Research International*, 44, 2076–2087.
- Tsuda T. (1998). Dietary cyanidin 3-O-beta-D-glycoside increases in vivo oxidative, resistance of serum in rats. *Lipids*, 6, 583–588.
- USDA. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2008). USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 21. Food Group: 09 Fruits and fruit Juices. Retrieved November, 20, 2014 from the Nutrient Data Laboratory Home Page: <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>.
- Whistler, W. A., & Elevitch, C. R. (2006). *Syzygium malaccense* (Malay apple). *Traditional Tree Initiative-Species Profiles for Pacific Island Agroforest*. 1, 1–13.

- Yilmaz, Y., & Toledo, R. T. (2004). Major Flavonoids in Grape Seeds and Skins: Antioxidant Capacity of Catechin, Epicatechin, and Gallic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 255-260.
- Zanatta, C. F., & Mercadante, A. Z. (2007). Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). *Food Chemistry*, 101, 1526–1532.

Table 1. Physical characteristics* of *Syzygium malaccense* obtained from different geographical origins (L1 and L2).

Characteristics	L1	L2
Transverse diameter (TD) (cm)	4.81 ± 0.32 ^b	4.92 ± 0,4 ^a
Longitudinal diameter (LD) (cm)	5.89 ± 0.39 ^b	5.93 ± 0,39 ^a
Format index LD/TD	1.24 ± 0.09 ^a	1.20 ± 0,09 ^b
Fruit weight (g)	60.86 ± 7.27 ^b	63.56 ± 8.78 ^a
Pulp weight (g)	38.80 ± 4.31 ^b	40.93 ± 7.22 ^a
Peel weight (g)	9.97 ± 2.62 ^b	11.52 ± 3.68 ^a
Seed weight (g)	12.09 ± 3.53 ^a	11.11 ± 3.61 ^b
Peel yield (%)	16.34 ± 3.30 ^b	18.19 ± 5.47 ^a
Pulp yield (%)	64.02 ± 4.75 ^b	64.32 ± 5.81 ^a

Means ± standard deviation followed by different letters in the same row differ by Student T-test ($p < 0.01$)

*Means for 50 fruits

Table 2. Physico-chemical characterization of *Syzygium malaccense* obtained from different geographical origins (L1 and L2).

Composition (per 100g)	L1		L2	
	Peel	Edible portion	Peel	Edible portion
Moisture (g)	89.28 ± 0.21 ^{bb}	91.42 ± 0.73 ^{aA}	90.03 ± 0.24 ^{bA}	90.93 ± 0.45 ^{aB}
Ash (g)	0.52 ± 0.23 ^{aA}	0.37 ± 0.17 ^{bA}	0.41 ± 0.22 ^{aB}	0.25 ± 0.06 ^{bb}
Protein (g)	0.82 ± 0.46 ^{bA}	1.04 ± 0.36 ^{aA}	0.59 ± 0.29 ^{bb}	0.72 ± 0.22 ^{aB}
Lipids (g)	0.30 ± 0.05 ^{aA}	0.19 ± 0.11 ^{bA}	0.24 ± 0.06 ^{aB}	0.12 ± 0.02 ^{bb}
Crude Fiber(g)	1.30 ± 0.78 ^{bb}	1.93 ± 0.49 ^{aA}	1.42 ± 0.55 ^{bA}	1.50 ± 0.66 ^{aB}
Carbohydrates (g)	7.78 ± 1.56 ^{aA}	5.05 ± 0.73 ^{bb}	7.31 ± 0.81 ^{aB}	6.48 ± 1.18 ^{bA}
Energy (kcal)	37.10 ± 2.93 ^{bb}	26.07 ± 2.52 ^{aB}	33.76 ± 1.30 ^{bA}	29.88 ± 1.59 ^{aA}
Ascorbic acid (mg)	318.01 ± 0.77 ^{aB}	171.14 ± 1.61 ^{bb}	321.27 ± 1.18 ^{aA}	175.06 ± 1.09 ^{bA}
Reductive Sugars (g)	0.66 ± 0.04 ^{aA}	0.52 ± 0.36 ^{bb}	0.61 ± 0.36 ^{aB}	0.56 ± 0.20 ^{bA}
Total Soluble Solids (°Brix)	6.76 ± 0.00 ^{aA}	5.46 ± 0.44 ^{bb}	6.5 ± 0.36 ^{aB}	6.02 ± 0.47 ^{bA}
pH	3.60 ± 0.01 ^{bA}	3.75 ± 0.02 ^{aB}	3.54 ± 0.01 ^{bb}	3.82 ± 0.02 ^{aA}

Means ± standard deviation of triplicate measurement followed by different letters in the same row differ by Student T-test ($p < 0.01$). Small letters compare different fractions (peel and edible fruit) of the same geographical origin. Capital letters compare the same fractions (peel or edible fruit) of different geographical origin (L1 and L2).

Table 3. Phytochemical screening of *Syzygium malaccense*.

Phytochemical Screening	Qualitative Analysis
Alkaloids	—
Steroids	+
Tannins	—
Flavonoids	+ + +
Saponins	-

Data expressed as absence (-), weakly present (+), moderately present (+ +), strongly present (+ + +)

Table 4.Characteristics of Anthocyanins from *Syzygium malaccence*.

Peak ^a	Compounds	t _R (min) ^b	λ _{max} (nm)	[M] ⁺ (m/z)	MS/MS (m/z)
1	cyanidin 3,5-diglucoside	11.44	517	611	449[M-162] ⁺ , 287 [M-162-162] ⁺
2	cyanidin 3-glucoside	15.4	514	449	287 [M-162] ⁺
3	peonidin 3-glucoside	18.5	517	463	301 [M-162] ⁺

^a numbered according to Fig.S1.

^b retention time (min).

Table 5. Total Phenolic Compounds (TPC) and Antioxidant Activity (DPPH and FRAP) of extracts of peel and edible portion from *S. malaccense* obtained from different geographical origins (L1 and L2).

Samples	L1		L2	
	Peel	Edible portion	Peel	Edible portion
TPC ¹	12.58 ± 0.03 ^{aB}	8.03 ± 0.67 ^{bB}	12.93 ± 0.02 ^{aA}	7.64 ± 0.02 ^{bA}
DPPH ²	47.22 ± 0.26 ^{aB}	25.92 ± 0.28 ^{bA}	47.52 ± 0.41 ^{aA}	22.20 ± 0.50 ^{bB}
FRAP ³	0.19 ± 0.01 ^{aA}	0.09 ± 0.00 ^{bA}	0.19 ± 0.02 ^{aA}	0.09 ± 0.01 ^{bA}

Means ± standard deviation of triplicate measurement followed by different letters in the same row differ by Student T-test ($p < 0.01$). Small letters compare different fractions (peel and edible fruit) of the same geographical origin. Capital letters compare the same fractions (peel or edible fruit) of different geographical origin (L1 and L2).

¹ Expressed as mg GAE (gallic acid equivalent)/g dry weight.

² Expressed as μMol TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity)/g dry weight.

³ Expressed as mM ferrous sulfate/g dry weight.

Figure Captions

Fig. 1. Oxidation inhibition power of *Syzygium malaccense* from L1 (A) and L2 (B) extracts and BHT in β -carotene/linoleic acid system. P100 = 100 μ L of peel extract; P400 = 400 μ L of peel extract; EP100 = 100 μ L of edible portion extract; EP400 = 400 μ L of edible portion extract; P + BHT = 50 μ L of peel extract + 50 μ L of BHT; EP + BHT = 50 μ L of edible portion + 50 μ L of BHT.

Fig. S1. Chromatogram, obtained by HPLC–DAD–MS/MS, of the anthocyanins from *Syzygium malaccense*.

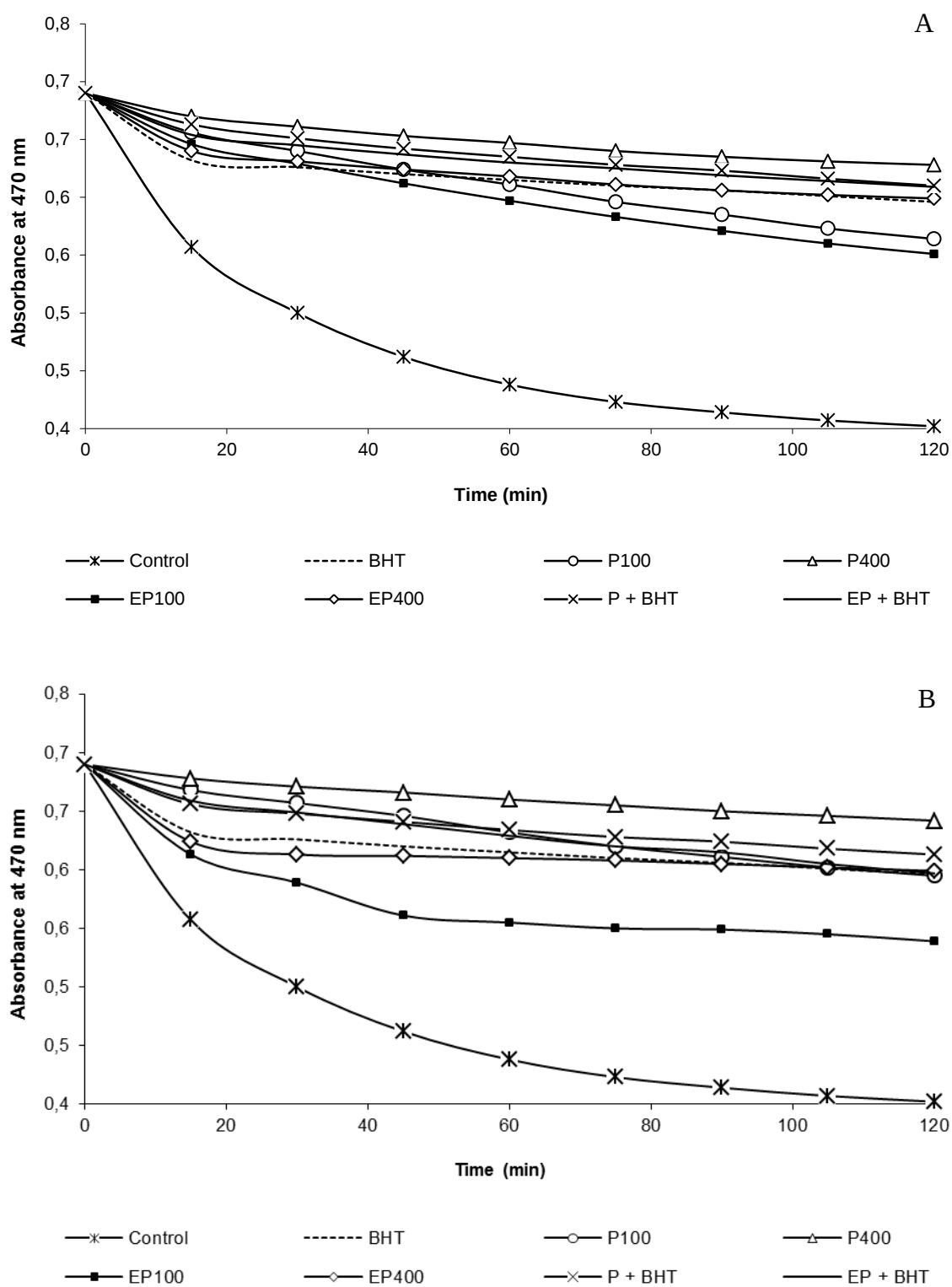


Fig. 1. Oxidation inhibition power of *Syzygium malaccense* from L1 (A) and L2 (B) extracts and BHT in β -carotene/linoleic acid system. P100 = 100 μ L of peel extract; P400 = 400 μ L of peel extract; EP100 = 100 μ L of edible portion extract; EP400 = 400 μ L of edible

portion extract; P + BHT = 50 μ L of peel extract + 50 μ L of BHT; EP + BHT = 50 μ L of edible portion + 50 μ L of BHT.

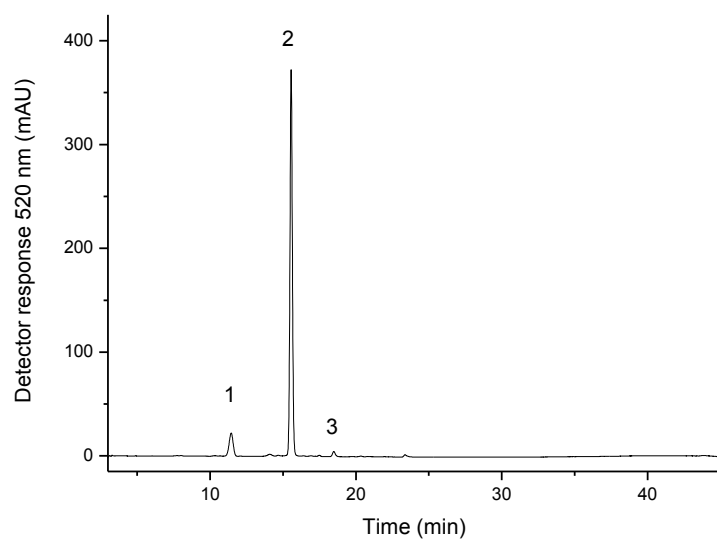


Fig.S1. Chromatogram, obtained by HPLC–DAD–MS/MS, of the anthocyanins from *Syzygium malaccense*.