



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

VANUZA XAVIER DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DO PONTO DE COLHEITA DO CAMU-CAMU [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] POR MEIO DE ATRIBUTOS DE QUALIDADE E FUNCIONAIS**

Boa Vista - RR

2012

VANUZA XAVIER DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DO PONTO DE COLHEITA DO CAMU-CAMU [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] POR MEIO DE ATRIBUTOS DE QUALIDADE E FUNCIONAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Roraima, em parceria com a Embrapa Roraima, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Timoni Buchdid Camargo Neves

Boa Vista – RR

2012

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)

Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

S586d Silva, Vanuza Xavier da.

Determinação do ponto de colheita do camu-camu [*Myrciaria dubia*](H.B.K) Mc Vaugh] por meio de atributos de qualidade e funcionais/ Vanuza Xavier da Silva. -- Boa Vista, 2012.  
108f : il.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Timoni Buchdid Camargo Neves.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Roraima,  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de  
Concentração Produção Vegetal.

1 – . *Myrciaria dubia*. 2 – Alimentos funcionais. 3 – Índice de maturidade. 4 – Frutos nativos da Amazônia.. I – Título. II. - Neves, Leandro Timoni Buchdid Camargo (orientador).

CDU- 634.42

VANUZA XAVIER DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DO PONTO DE COLHEITA DO CAMU-CAMU [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] POR MEIO DE ATRIBUTOS DE QUALIDADE E FUNCIONAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Roraima, em parceria com a Embrapa Roraima, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal.

Projeto aprovado em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Leandro Timoni Buchidid Camargo Neves  
(Orientador) – DFT/CCA/UFRR

---

Pesq. Dr. Edvan Alves Chagas  
(Co-orientador) - EMBRAPA/RR

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Adriana Flach  
DQ/UFRR

---

Prof. Dr. Alberto Moura de Castro  
EAGRO/UFRR

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Maria do Socorro Moura Rufino  
UNILAB

Aos meus pais,  
Josué Martires da Silva e Valéria Xavier da Silva,  
que com amor e dedicação me ensinaram que a vida é um constante aprendizado  
e que sem Deus não somos nada.

Ao meu noivo,  
Juarez Barros de Oliveira,  
pelo amor, respeito e compreensão em todos os momentos e por estar sempre ao  
meu lado

Amo muito vocês!

## AGRADECIMENTOS

À Deus, razão da minha existência, de onde vim e pra onde pretendo voltar, e que na sua infinita misericórdia e no seu imenso amor me dá forças para seguir.

Aos meus pais, meus grandes incentivadores sempre presentes em minha vida.

Aos meus irmãos Vanessa e Léo, pelo companheirismo e apoio e aos meus sobrinhos Maurício e Miguel pelo sorriso e alegria contagiante de criança.

Ao meu noivo, Juarez Barros, pelo incentivo e auxílio, além o companheirismo durante o mestrado.

Ao Prof. Dr. Leandro Camargo Neves pela orientação, amizade e conhecimentos transmitidos.

Ao pesquisador da Embrapa-RR Dr. Edvan Alves Chagas pela co-orientação, amizade, pelos conhecimentos transmitidos e apoio logístico na coleta dos frutos.

Ao amigo Jonierison Pontis e a professora Dr.<sup>a</sup> Adriana Flach, pelo auxílio em parte das análises químicas no Lab. de Biotecnologia e Química Fina.

A técnica laboratorial e amiga Semiramys Moreira e ao Prof. Dr. Valdinar Ferreira Melo pelo auxílio na liofilização das amostras.

Aos amigos da Embrapa-RR Lourenço Souza, Williams e Dr.<sup>a</sup>. Christynny Giselly Lima pelo apoio no campo desde a marcação a coleta dos frutos.

Aos amigos Jéssica Tosin, Samuel Silva, Leonara Vasconcelos, Maria Luiza Grigio, Paula Carolini, Dr.<sup>a</sup>. Érika Fujita, Marcos Prill, Ataíza Andrade, Cássia Rejane, Danverson Chaves e Kemuel Pessoa pelo auxílio no Laboratório de Tecnologia de Alimentos-UFRR ou no campo na marcação floral e/ou coleta dos frutos.

Ao médico Dr. Homero Cruz por nos deixar usar as instalações de seu sítio como base de apoio para realização desse trabalho.

Ao senhor Antônio e dona Elza pela logística fluvial e alimentação durante as marcações florais e coleta dos frutos.

Aos amigos do Programa de Pós-graduação em Agronomia Natália Trajano, Guilherme Rodrigues, Júlio Melo, Angélica Carvalho, Marcela Liege, Maria da Conceição Araújo (Nilma) e Francisco Cleilton Maciel pelos momentos de estudo e de descontração.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Agronomia pela amizade e conhecimentos repassados.

Ao CNPq pela concessão de bolsa.

## **BIOGRAFIA**

VANUZA XAVIER DA SILVA, filha de Josué Martires da Silva e Valéria Xavier da Silva, nasceu em 14 de fevereiro de 1986, na cidade de Boa Vista, no Estado de Roraima.

Concluiu o ensino médio na Escola Estadual Professora Maria das Dores Brasil, no ano de 2003, em Boa Vista, Roraima.

Em março de 2004 ingressou no curso de bacharelado em Agronomia da Universidade Federal de Roraima (UFRR), concluindo o curso em dezembro de 2009. Durante a graduação foi bolsista do programa de iniciação científica da UFRR (PICI) e bolsista de iniciação tecnológica do CNPq, desenvolvendo atividades dentro de projetos na área de pós-colheita de produtos vegetais.

Estagiou em 2007 na empresa Roraima Agrofrutas, em Boa Vista-RR, na qual desenvolveu atividades de campo pertinentes a fruticultura tropical. Também estagiou em 2008 no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina (UEL), em Londrina-PR, onde obteve aprendizado de análises físicas, químicas e físico-químicas de alimentos.

Em março de 2010 foi admitida no curso de Mestrado em Agronomia do Programa de Pós-graduação em Agronomia da UFRR (POSAGRO), dentro do qual foi bolsista do CNPq, submetendo-se à defesa da dissertação em 02 de abril de 2012.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”

Madre Tereza de Calcutá

## RESUMO

O camu-camu é um fruto nativo da Amazônia com grande potencial econômico, nutricional e funcional, principalmente devido ao conteúdo de vitamina C e de compostos fenólicos totais. Tais compostos possuem ação antioxidante e adicionados a dieta humana podem prevenir e/ou auxiliar no tratamento de doenças crônico-degenerativas. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar as mudanças físicas, químicas, físico-químicas e funcionais durante o ciclo de desenvolvimento do camu-camu, visando a correta determinação do ponto de colheita, baseado no destino pretendido, seja para o consumo *in natura* ou mesmo para extração de biocompostos. Foram realizadas as seguintes determinações: diâmetros equatorial e polar, massa fresca, produção de CO<sub>2</sub> e etileno, pH, acidez total titulável (AT), sólidos solúveis (SS), açúcares totais e redutores, amido, pectinas totais e solúveis, enzimas pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG), flavonóides totais, antocianinas totais, carotenóides totais, ácido ascórbico, fenólicos totais, atividade antioxidante pelos métodos ORAC e DPPH. O aumento da massa fresca e diâmetros equatorial e polar foram crescentes até os 81 DAA, decrescendo nos períodos seguintes, provavelmente, devido a perda de água. Pela avaliação da produção de CO<sub>2</sub> e etileno, foi confirmado o padrão não climatérico nos frutos de camu-camu, onde os atributos de qualidade começaram a se desenvolver aos 81DAA, indicando o início do amadurecimento dos frutos na planta. O desenvolvimento do camu-camu no ambiente natural ocorreu dentro do período de 102 dias, do pleno florescimento ao amadurecimento dos frutos nas plantas. Nesse sentido, os atributos de qualidade sensorial estiveram mais pronunciados entre os 95 e 102 DAA, apresentando coloração 100% vermelha, elevação da relação SS/AT, com redução da AT e elevação dos SS e dos açúcares redutores nos frutos. Além disso, observou-se o aumento da atividade das enzimas pectolíticas e o consequente aumento da concentração das pectinas solúveis, sendo esses parâmetros favoráveis ao consumo dos frutos *in natura*. Contudo, os compostos funcionais como o conteúdo de vitamina C e as antocianinas apresentaram maior conteúdo aos 88 e 102 DAA, respectivamente. Os compostos funcionais concentraram-se principalmente na casca, cujas frações apresentaram maiores atividades antioxidantes, principalmente nos frutos colhidos aos 88 DAA, caracterizando a vitamina C como maior contribuinte para essa atividade.

**Palavras-chave:** *Myrciaria dubia*, alimentos funcionais, índice de maturidade, frutos nativos da Amazônia.

## ABSTRACT

The camu-camu is a native fruit to the Amazon with a great economic, nutritional and functional potential, mainly due to the vitamin C and the total phenolic contents. These compounds have antioxidant and when added to the human diet might prevent and / or help in the treatment of chronic-degenerative diseases. Thus, the objective of this study was to evaluate the physical, chemical, physico-chemical and functional changes during the development cycle of the camu-camu, in order to accurately determine the harvest time of the fruits, based on the intended destination, either for fresh consumption or even for the extraction industrial of functional compounds. It was performed the following determinations: longitudinal and equatorial diameters, fresh mass weight, ethylene and CO<sub>2</sub> production, pH, titratable acidity (TA), soluble solids (SS), total and reducing sugars, starch, total and soluble pectins, enzymes pectinmethylesterase (PE) and polygalacturonase (PG), flavonoids, anthocyanins, carotenoids, ascorbic acid, and total phenolic contents, antioxidant activity by ORAC and DPPH methods. The increase in the fresh mass, equatorial and longitudinal diameters were growing up till 81 DAA, observing decrease after this harvest, probably, due the moisture losses. By the evaluation of the CO<sub>2</sub> and ethylene production, it was possible to confirm the metabolic behavior non-climacteric to the fruits of camu-camu, where the quality attributes have began to develop in the harvest performed at 81DAA, indicating the beginning of fruit ripening on the plant. The development of camu-camu in natural environment occurred within the period of 102 days, from the full flowering until the fruit ripening on the plants. In this sense, the sensory quality attributes were more pronounced between 95 and 102 DAA, showing 100% red color, increased of SS / TA ratio, with the reduction of the AT and an increase in the SS and reducing sugars in the fruits. Furthermore, there was observed the increase in the activity of the pectolytic enzymes and the consequent increase in the concentration of the soluble pectins, being these parameters favorable to the consumption of fresh fruit. However, the functional compounds such as vitamin C contents and the anthocyanins were more evident at 88 and 102DAA, respectively. The functional compounds were concentrated mainly in the peel, whose fractions showed higher antioxidant activities, mainly in the fruits harvested at 88DAA, showing the vitamin C as a major contributor to this activity.

**Keywords:** *Myrciaria dubia*, functional foods, maturity index, native fruits of the Amazon.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	17
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	18
3.1	CAMU- CAMU .....	18
3.2	BIOLOGIA FLORAL E FENOLOGIA DO CAMU-CAMU.....	21
3.3	IMPORTÂNCIA E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO CAMU-CAMU ..	22
3.4	UTILIZAÇÃO E POTENCIAIS USOS DO CAMU-CAMU.....	25
3.5	DESENVOLVIMENTO DO FRUTO .....	28
3.6	MUDANÇAS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DOS FRUTOS.....	30
3.6.1	MUDANÇAS FÍSICAS .....	32
3.6.2	MUDANÇAS FÍSICO-QUÍMICAS E QUÍMICAS .....	33
3.6.3	MUDANÇAS FISIOLÓGICAS.....	45
3.7	ANTIOXIDANTES E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	48
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	52
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	64
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	90

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados de temperatura e precipitação média mensal do período experimental.....	53
Tabela 2 - Cor da casca dos frutos de camu-camu ( <i>Myrciaria dubia</i> ) durante o desenvolvimento. ....	65
Tabela 3 - Correlação entre os conteúdos de fenólicos totais, ácido ascórbico e atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ORAC. ....	87

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Desenvolvimento dos frutos de camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] dos 53 aos 102 dias após a antese (DAA). ..... 54
- Figura 2 - Massa fresca (g) de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 95 DAA..... 64
- Figura 3 - Evolução do diâmetro equatorial e polar (mm) de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA. . 66
- Figura 4 - Produção de CO<sub>2</sub> e etileno de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA..... 68
- Figura 5 - (5A) Evolução dos teores de Acidez titulável e pH; e (5B) de Sólidos solúveis de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA..... 69
- Figura 6 - Relação sólidos solúveis e acidez titulável (SS/AT) de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA..... 72
- Figura 7 - Evolução dos açúcares totais e redutores (7 A) e amido (7 B) de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA. .... 73
- Figura8 - Evolução das pectinas totais e solúveis (8 A) e da atividade das enzimas pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG) (8 B) de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA..... 75
- Figura 9 - Evolução do teor de ácido ascórbico na polpa, casca e polpa+casca de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA..... 76
- Figura10 - Evolução do conteúdo de carotenoides totais na polpa e casca de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA. .... 80
- Figura 11 - Evolução de antocianinas totais (11 A) e flavonas e flavonóis(11 B) na polpa e casca de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA..... 82

Figura 12 - Evolução do teor de fenólicos totais na polpa,casca e polpa+casca de frutos de camu-camu ( <i>Myrciaria dubia</i> ) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA. ....	83
Figura 13 - Evolução da atividade antioxidante pelo método DPPH (12 A) e ORAC (12B) na polpa, casca e polpa+casca de frutos de camu-camu ( <i>Myrciaria dubia</i> ) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA.....	85

## LISTA DE ABREVIATURAS

DAA	Dias após a antese
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
ORAC	Oxygen-Radical Absorbancy Capacity - Capacidade de absorção do radical oxigênio
EAG	Equivalente de ácido gálico
ET	Equivalente de Trolox
b.s.	Base seca
SS	Sólidos solúveis
AT	Acidez titulável
DAF	Dias após a floração
PME	Pectinametilsterase
PG	Poligalacturonase
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
TROLOX	Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico

## 1. INTRODUÇÃO

O camu-camu é uma espécie que se encontra em estado natural nas zonas de várzeas da maioria dos rios, lagos e igapós da Bacia Amazônica (YUYAMA, 2011). Também conhecido como caçari, araçá d'água, ou sarão, é pertencente à família *Myrtaceae* (IIAP, 2001). O fruto do camucamuzeiro é redondo, tipo baga, vermelho, com diâmetro médio de 2,5 cm apresentando sabor ácido forte (ZAPATA; DUFOUR, 1993). É considerado como importante fonte de vitamina C com valores de até 6.112 mg.100 mL<sup>-1</sup> de polpa fresca (YUYAMA *et al.*, 2002). Apresenta elevada capacidade antioxidante, dado não só ao elevado teor de vitamina C, mas também por apresentar concentrações consideráveis de compostos fenólicos (CHIRINOS *et al.*, 2010), fazendo-os adentrar ao mercado de alimentos funcionais.

Quando imaturo, o fruto de camu-camu apresenta coloração verde, sofrendo alterações durante o processo de maturação e amadurecimento, variando a coloração do verde ao vermelho ou roxo, devido à presença de antocianinas (ZANATTA *et al.*, 2005). Mudanças no conteúdo e perfis de outros fitoquímicos, tais como a vitamina C, compostos fenólicos e carotenoides também são evidentes, pois o estágio de maturação apresenta efeito significativo sobre as características físicas e a composição química do camu-camu (ANDRADE, 1991).

O fator determinante do ponto de colheita é o destino que se pretende dar aos frutos. O estágio de maturação ideal para a colheita é condicionado pelo mercado, transporte e armazenamento (NEVES, 2009). Podendo ser determinado por curvas de maturação e amadurecimento que consideram as mudanças químicas e físicas, como a perda de massa, a evolução dos sólidos solúveis e acidez titulável, bem como, a própria concentração de vitamina C (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Para formatação dessas curvas, acompanha-se a mudança dos componentes dos frutos, durante o seu desenvolvimento na planta mediante análises físicas, físico-químicas, químicas e fisiológicas, traçando-se curvas para os constituintes que significativamente apresentam mudanças (ANDRADE, 1991). Os pontos máximos ou mínimos dos constituintes de interesse nutricional, funcional e ou industrial, e a correlação entre eles, possibilitam o estabelecimento

do período ideal de colheita para o consumo *in natura* imediato e/ou a produção de extratos químicos agroindustrializados (NEVES, 2009).

Assim, a caracterização dos parâmetros físicos, químicos, físico-químicos e fisiológicos dos frutos nas diferentes fases do desenvolvimento poderá contribuir para se determinar o ponto de colheita em que os componentes químicos e funcionais se encontram em máxima produção. Dessa maneira, será possível a melhor extração dos constituintes químicos de interesse funcional, bem como, a determinação do período ideal para desenvolvimento de tecnologias de processamentos e conservação para o consumo *in natura*.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Caracterizar os parâmetros físicos, químicos, físico-químicos, fisiológicos e atividade antioxidante dos frutos de camu-camu durante o desenvolvimento, definindo as distintas etapas do processo de crescimento, maturação e amadurecimento visando obter subsídios na determinação do ponto de colheita do fruto.

### **2.2. Objetivos específicos**

Determinar a massa fresca, diâmetro equatorial, diâmetro polar e coloração da casca durante o desenvolvimento de frutos de camu-camu;

Determinar acidez titulável, pH e sólidos solúveis durante o desenvolvimento de frutos de camu-camu;

Determinar os conteúdos de açúcares totais e redutores, amido, pectinas totais e solúveis, enzimas PME e PG durante o desenvolvimento dos frutos de camu-camu;

Determinar a produção de CO<sub>2</sub> e etileno durante o desenvolvimento dos frutos de camu-camu;

Determinar o conteúdo de compostos bioativos como vitamina C, carotenoides, fenólicos totais, antocianinas, flavonas e flavonóis durante o desenvolvimento dos frutos de camu-camu;

Determinar a atividade antioxidante durante o desenvolvimento dos frutos de camu-camu;

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. CAMU- CAMU

O camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh], também conhecido como caçari, araçá d'água, ou sarão, é uma espécie pertencente à família *Myrtaceae*, nativa das várzeas e lagos da Amazônia (MAEDA *et al.*, 2007). O primeiro registro da ocorrência do camu-camuzeiro no Brasil foi em 1902, por conta de expedições a floresta Amazônica, coordenada pelo botânico Adolf Ducke (YUYAMA, 2011). Algumas outras espécies da família *Myrtaceae* estão representadas no Brasil pelos gêneros: *Camponesia* (Gabiobas), *Eugenia* (Pitanga e Caigata), *Psidium* (Goiabas e Araçá) e *Myrciaria* (Jabuticabas) destacando-se o camu-camu como uma das mais importantes *Myrtaceae* nativas da Amazônia (YUYAMA; VALENTE; FLORES, 2011 a).

A distribuição geográfica do camu-camu é limitada aos cursos dos rios, sendo encontrado desde o estado do Pará até o Peru, cujo centro de origem não tem sido ainda determinado (YUYAMA, 2011). Alguns autores mencionam essa frutífera como sendo nativa de alguns tributários do rio Amazonas no Peru (CLAY; CLEMENT; SAMPAIO, 1999). Afirmativa considerada incorreta por Yuyama (2011), uma vez que a ocorrência natural de camu-camu se estende a rios do Brasil, Guiana Inglesa, Colômbia e Venezuela, que não tem ligação nenhuma com o Peru. Esse autor aponta o provável centro de origem, considerando-o como aquele que apresenta a ocorrência de variabilidade genética, a região do rio Uatumã (Amazonas-BR) devido à existência de grande variação morfológica na arquitetura da planta (planta tipo ortotrópica, tipo taça, e coposo ou multicaule), formato da folha (lanceolada e ovalada), número de folhas por inserção (1 a 3 folhas) e genética da planta.

No estado silvestre, o camu-camu é encontrado somente em áreas úmidas e quentes, crescendo, principalmente, nos solos aluviais de textura argilosa limosa e pH 5,0 a 6,5 e adaptando-se razoavelmente bem a solos pobres e ácidos (pH 4,0 a 4,5). O crescimento da planta de camu-camuzeiro também é favorecido por temperaturas médias anuais de 20 a 30 °C, precipitação anual de 1500 a

3000 mm, e umidade relativa anual de 78 a 82% (CLAY; CLEMENT; SAMPAIO, 1999). A planta apresenta porte arbustivo, com altura de 3 a 8 m e é encontrada na estação chuvosa, parcial ou totalmente submersa (RIBEIRO *et al.*, 1999). Cerca de 30 a 40% da planta, em alguns casos completamente, podem ficar submersa durante os períodos de enchente, sendo tolerante a inundação, podendo permanecer debaixo da água durante 4 ou 5 meses (YUYAMA, 2011).

O fruto de camu-camu é globoso arredondado, de superfície lisa e brilhante, de cor vermelha escura até negra púrpura ao amadurecer, podendo ter de 1,2 a 3,8 cm de diâmetro, possuindo de 1 a 4 sementes por fruto. A massa média é de 8,5 g por fruto, variando entre 2 a 18 g. As sementes são reniformes, achatadas, com 8 a 11 mm de comprimento e 5,5 a 11 mm de largura, cobertas por lanugem branca. As sementes têm massa que varia entre 14 e 27% da massa total do fruto; a polpa mais a casca representam porcentagem equivalente variável de 73 a 86% da massa total do fruto (YUYAMA; VALENTE; CHÁVEZ FLORES, 2011 a).

Até a divulgação do camu-camu como fruto comestível na década de 1970, em Iquitos no Peru, não havia mercado significativo para este produto florestal não madeirável, porém em localidades específicas esse fruto era tradicionalmente usado como isca de peixe e como fonte de lenha de alta qualidade (PENN, 2004). Com a crescente e atual divulgação comercial do camu-camu, os frutos têm atingido cada vez maior potencial nos mercados locais, regionais e internacionais devido ao alto teor de vitamina C encontrado nos frutos.

Apesar do potencial funcional do camu-camu, ele ainda é pouco cultivado em pomares domésticos e comerciais, principalmente na região Amazônica, onde também é encontrado em estado silvestre, sobretudo em áreas alagadas, com metade inferior do caule submersa em água (VIEGAS *et al.*, 2004).

No Peru, o governo vem incentivando o plantio de camu-camu desde 1996 por meio de projetos de reflorestamento implementado por instituições públicas e privadas sob o Programa Nacional do camu-camu (PNCC) para exportação para o Japão, concedendo incentivos para a indústria e organizações privadas sem fins lucrativos para colaborar com o PNCC (PENN, 2006). Porém, a implantação de cultivos de camu-camu no Peru ocorre, principalmente, em áreas alagadas, pois fatores como custos de produção, custos de transportes, pragas e doenças,

fertilidade do solo, precocidade, rendimento e preço do fruto podem aumentar de acordo com a distância da área de cultivo ao rio (PINEDO *et al.*, 2010). Em experimentos recentes do Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) com clones de camu-camu propagados por estacas e estabelecidos em restinga baixa (alcance do nível mínimo da inundação e, portanto mais próximo ao rio) obteve-se rendimento médio de 1000 kg de frutos. ha<sup>-1</sup> aos 3 anos, enquanto que as plantas da restinga alta (alcance do nível máximo da inundação e, portanto mais longe do rio) que tinham a mesma idade alcançaram somente 60 kg de frutos.ha<sup>-1</sup> (PINEDO *et al.*, 2010). Sobre esses acidentes geográficos, a inundação anual ajuda a manter a fertilidade do solo e limita o desenvolvimento de ervas daninhas, pragas e doenças, minimizando as exigências de trabalho com menos risco de perder os frutos (PENN, 2006).

No Brasil, o Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) vem desenvolvendo trabalhos de domesticação do camu-camu para cultivo em terra firme, para que se possa controlar a época de colheita do fruto, onde estudos vem mostrando que a qualidade do fruto, em termos de ácido ascórbico e antocianinas, é mais elevada (YUYAMA; VALENTE; FLORES, 2011 b).

Em condições de terra firme, a floração ocorre no terceiro ano após o plantio, quando a propagação é sexuada, frutificando duas vezes por ano por um período de 6 a 7 meses, onde a maior floração acontece de outubro a fevereiro e a maior produção de frutos entre janeiro e maio (LIMA; YUYAMA, 2011). Com isso, o cultivo de camu-camu em terra firme apresenta algumas vantagens em relação às plantas nativas, pois o período reprodutivo estende-se ao longo dos anos e a colheita é feita nas épocas de maior concentração de vitamina C (fruto de coloração vermelha) e alto teor de antocianinas (YUYAMA; VALENTE; FLORES 2011 b). Já no estado natural, o ciclo reprodutivo é regulado pelas enchentes e vazantes do rio. A emissão de folhas novas na vazante do rio e a maturação dos frutos no período de enchentes do rio, muitas vezes impedem a colheita dos frutos com a chegada das águas, e outras vezes os frutos encontram-se ainda verdes (YUYAMA; VALENTE; FLORES, 2011 b).

Diante o exposto, o plantio em terra firme permitiria o aumento da produção com a seleção de genótipos e a melhor qualidade do produto por meio de programas de melhoramento, ao mesmo tempo se obteria mais de uma safra ao

ano (YUYAMA; VALENTE; FLORES, 2011 b). Porém, ainda há necessidade de se ter mais conhecimento a respeito dessa espécie amazônica, mediante estudos biológicos, ecológicos e agronômicos, principalmente quanto aos métodos de manejo que possam fornecer subsídios viando à melhor frutificação e produtividade do camu-camuzeiro em terra-firme (BARCELAR-LIMA, 2009). Desta forma, possibilitando o surgimento de agroindústrias e bioindústrias, para melhor aproveitamento dos frutos de camu-camu, capazes de gerar produtos processados em escala, e que por sua vez poderão gerar mais emprego e desenvolvimento da fruticultura regional, aumentando a renda e qualidade de vida dos produtores rurais (SOUZA FILHO *et al.*, 2002).

### 3.2. BIOLOGIA FLORAL E FENOLOGIA DO CAMU-CAMU

Segundo Maués e Couturier (2002) a espécie *Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh apresenta inflorescências com flores brancas, hermafroditas e poliândricas. A antese ocorre entre as 5 h e 00 min. e 7 h 00 min. horas, onde cerca de 4 horas após a antese entram em senescência. Os mesmos autores verificaram que há sincronismo entre a viabilidade do pólen e a receptividade do estigma, pelo período de 60 a 90 minutos. O pólen é seco e facilmente transportado pelo vento ou gravidade, sendo o principal recurso e atrativo floral (MAUÉS; COUTURIER, 2002).

Nas áreas nativas, a maioria das plantas de camu-camu floresce quando o estipe atinge 2 cm de circunferência, com as flores aparecendo em toda a copa (CLAY; CLEMENT; SAMPAIO, 1999). A floração natural ocorre quando há diminuição do volume de água, expondo os caules e as folhas à luz (LIMA; YUYAMA, 2011). Nas regiões inundáveis, a floração vai de setembro a novembro, ou seja, 2 a 3 meses após a descida das águas dependendo do regime hidrológico da região (ANDRADE; 1991). Segundo Clay *et al.* (1999), nas terras firmes da Amazônia Central a fenologia é similar com floração de setembro a dezembro e a frutificação de dezembro a abril. Considerando plantas estudadas no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de *Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh da

Embrapa Amazônia Oriental, Maués e Couturier (2002) verificaram que a fenofase de floração ocorreu durante o ano todo, mesmo que em baixa proporção, sendo mais expressiva nos meses de setembro de 1997, março e junho de 1998, época da realização do trabalho. Em avaliação com população natural de camu-camu de Sahuá e Supay do rio Ucayali no Peru, Inga *et al.* (2001) registraram que a fenologia reprodutiva da espécie transcorre em 77 dias, sendo dividida em 2 períodos: desenvolvimento da flor em torno de 15 dias, e do fruto com duração de 62 dias.

A floração não é sincronizada ocorrendo em etapas dentro da mesma planta. As gemas florais são produzidas primeiramente na parte distal das ramas mais altas e, após a abertura e polinização outras gemas saem em lugar próximo, nas mesmas ramas. A floração segue dessa maneira desde as ramas superiores até as inferiores (BARCELAR-LIMA, 2009). Assim, a planta pode apresentar ao mesmo tempo, gemas florais, flores e frutos em vários estádios de desenvolvimento (BARCELAR-LIMA, 2009), o que pode dificultar a determinação do ponto de colheita do camu-camu.

### **3.3. IMPORTÂNCIA E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO CAMU-CAMU**

O camu-camu é o fruto com maior teor de vitamina C estudado até hoje (VILACHICA, 1996; RODRIGUES *et al.*, 2001; ALVES *et al.*, 2002; YUYAMA *et al.*, 2002 a; ZAMUDIO, 2007). Concentrações superiores foram observadas por Yuyama *et al.* (2002 a) em frutos provenientes da região leste de Roraima em habitat natural, que apresentaram de 3.571 (Rio Maú) a 6.112 mg de ácido ascórbico.100 g de polpa fresca<sup>-1</sup> (Rio Tacutu), superando a acerola (1790mg.100 g de polpa<sup>-1</sup>) que era considerada a mais rica nesta vitamina.

Esse alto conteúdo de vitamina C tem criado demandas potenciais no mercado de produtos naturais, pois essa vitamina não é sintetizada pelo organismo humano, sendo indispensável a sua ingestão pela dieta (AGUIAR, 2001). Ela desempenha várias funções biológicas no organismo humano relacionadas ao sistema imunológico, formação de colágeno, absorção de ferro,

inibição da formação de nitrosaminas e ação antioxidante (VANNUCHI; JORDÃO JÚNIOR, 2000).

Estudos mostram que a vitamina C previne resfriados nos períodos de queda da temperatura porque no frio os números de imunoglobulinas, proteínas do sistema imunológico, decrescem e a vitamina C, como suplemento, atua elevando-os (GLASSER *et al.*, 1999). Além disso, apresenta efeito anticarcinogênico devido à ação antioxidante e ao fortalecimento do sistema imunológico, que promovem a redução dos riscos de câncer, pois as células cancerosas e pré-cancerosas são reconhecidas como invasoras, sendo assim, destruídas pelas células imunes (GLASSER *et al.*, 1999).

Além da vitamina C, os frutos de camu-camu contêm outros efetivos compostos antioxidantes como carotenoides, antocianinas e outros compostos fenólicos que são fornecidos pela sua ingestão.

Zanatta (2004) observou variação no conteúdo de carotenoides totais de frutos de camu-camu provenientes de diferentes regiões, observando valores de  $363,4 \pm 217,4 \mu\text{g}.100 \text{ g}^{-1}$  a  $1096,4 \pm 198,0 \mu\text{g}.100 \text{ g}^{-1}$ . Dentre os carotenoides encontrados nesses frutos de camu-camu, a *all-trans*-luteína e o  $\beta$ -caroteno foram quantitativamente os carotenoides majoritários, correspondendo de 45% a 55% e de 13% a 20% do total de carotenoides, respectivamente. Os carotenoides interrompem as reações dos radicais livres que podem oxidar lipídeos insaturados e protegem o DNA contra o ataque desses. Além disso, as espécies de carotenoides como o  $\beta$ - caroteno, licopeno e zeaxantina exercem funções antioxidantes em fases lipídicas, reduzindo radicais livres que danificam as membranas lipoprotéicas (NEVES, 2009).

Quanto às antocianinas, teores médios em torno de  $42,42 \text{ mg}.100 \text{ g}^{-1}$  foram encontrados em frutos inteiros de camu-camu (RUFINO, 2010). No entanto, na casca desses frutos foram encontrados teores médios de até  $56,37 \text{ mg}.100 \text{ g}^{-1}$ , onde na qualificação dessas a cianidina 3-glicosídeo foi identificada como a antocianina majoritária, seguida pela delphinidina 3- glucosídeo (ZANATTA, 2004). As antocianinas apresentam atividades antiinflamatórias e antiedematogênicas (ZUANAZZI; MONTANHA, 2003). Possuem ainda, ótima propriedade terapêutica e anti-carcinogênica e reparam e protegem a integridade genômica do DNA. Estudos mais avançados mostraram que as antocianinas são benéficas em

reduzir estresse oxidativo das células associado a idade, e melhora a função neuronal e cognitiva do cérebro (BAGCHI *et al.*, 2004).

Nos últimos anos os compostos fenólicos ganharam muita atenção, devido à atividade antioxidante e capacidade de eliminação de radicais livres com potenciais implicações benéficas na saúde humana (ROSS; KASUM, 2002).

Dentre os outros compostos fenólicos, além das antocianinas, os flavonóis e ácido elágico foram os fenólicos mais representativos em 3 estádios de maturação de frutos de camu-camu (CHIRINOS *et al.*, 2010) que são de considerável importância na dieta, pois podem inibir o processo de peroxidação lipídica. Também a quercetina um flavonol importante e seus derivados foram encontrados a elevados teores em torno de 42 mg.100 g<sup>-1</sup> de polpa de camu camu por Gonçalves (2008). Reynertson *et al.* (2008) também constataram que entre 14 espécies estudadas do gênero *Myrtaceae* o camu-camu ficou entre as espécies que apresentaram os maiores teores de quercetina e ácido elágico. Esses mesmos autores observaram o destaque do camu-camu como fonte de compostos fenólicos, com 10.100 mg EAG.100 g<sup>-1</sup>, contra 3160 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> da jabuticaba e 995 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> da ameixa Java.

Trabalhando com frutas tropicais não tradicionais, Rufino (2008), observou que as frutas frescas e secas mais ricas em polifenóis foram, respectivamente, camu-camu (1176,3 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> e 11615 mg EAG.100 g<sup>-1</sup>), acerola (*Malpighia emarginata*) (1063,3 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> e 10279,9 mg EAG.100 g<sup>-1</sup>) e puçá-preto (*Mouriri pusa*) (867,5 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> e 2638.3 mg EAG.100 g<sup>-1</sup>), indicando esses frutos como excelentes fontes de antioxidantes naturais, mostrando o potencial do camu-camu como fonte de compostos fenólicos.

Além dos compostos antioxidantes, o camu-camu como a maioria dos frutos é fonte potencial de fibra alimentar presentes principalmente na casca, atingindo concentração média de fibra alimentar total de 2,88 g 100 g<sup>-1</sup> (YUYAMA *et al.*, 2002 b).

E no que concerne aos elementos minerais Yuyama *et al.* . (2004) ao avaliar diferentes populações do rio Uatumã observaram variações na concentrações de elementos minerais, devido provavelmente as variações no tipo e condições do solo, maturação e armazenamento dos frutos. Dos elementos minerais considerados essenciais, o cálcio está presente nos frutos de camu-

camu em concentrações de até  $10,6 \pm 0,5 \text{ mg.100 g}^{-1}$  podendo servir na diversificação de fontes alimentícias deste macronutriente. As concentrações de potássio se encontraram elevadas variando de  $144,1 \pm 0,8 \text{ mg.100 g}^{-1}$ , enquanto a concentração de sódio foi baixa  $90,7 \pm 16,5 \text{ } \mu\text{g.100 g}^{-1}$ . Juntos sódio e potássio são eletrólitos no organismo humano e estimulam os impulsos nervosos (PEDROSO, 2000). O camu-camu também apresentou alto teor do micronutriente zinco com  $472,0 \pm 8,3 \text{ } \mu\text{g.100 g}^{-1}$ , que é importante para o crescimento celular e sistema imunológico (CUKIER, MAGNONI, RODRIGUES, 2001). Além desses, a concentração de ferro em frutos de camu-camu foi de  $664,6 \pm 121,7 \text{ } \mu\text{g.100 g}^{-1}$  também considerado um micromineral importante, pois quando ligado à hemoglobina auxilia no transporte de  $\text{O}_2$  e  $\text{CO}_2$  no sangue (CUNHA; CUNHA, 2000).

Assim o camu-camu apresenta além de ótimo valor nutricional, potencial valor funcional devido à presença de potentes antioxidantes como a vitamina C e compostos fenólicos, que adicionados a dieta podem prevenir e auxiliar no tratamento de doenças crônico-degenerativas.

### **3.4. UTILIZAÇÃO E POTENCIAIS USOS DO CAMU-CAMU**

Atualmente, com a busca cada vez maior por produtos naturais e com a crescente utilização de compostos antioxidantes em terapias preventivas nas doenças nas quais os radicais livres estão implicados, os produtos naturais, como vitaminas e compostos fenólicos, têm merecido atenção especial (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000). Além disso, a partir dos anos 80, o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios ou para o uso farmacêutico, tem aumentado consideravelmente com o intuito de substituir antioxidantes sintéticos, os quais têm sido restringidos devido a sua potencial toxicidade (CURTI, 2003).

O camu-camu está entre os frutos com real potencial funcional e industrial devido aos elevados teores de vitamina C e compostos fenólicos presentes em sua polpa e casca. No entanto, devido a sua elevada acidez, dificilmente são

consumidos *in natura*, fato que pode ser contornado com o processamento dos frutos em produtos de maior aceitação, além da extração dos componentes de interesse nutricional/funcional.

No Peru, o alto teor de vitamina C do camu-camu tem gerado interesse no consumo nacional além da exportação de produtos como o concentrado de bebidas e vitaminas (PENN, 2006). Inicialmente, o destino do camu-camu do Peru era somente para o Japão e hoje são exportados para aproximadamente 30 países como a China, EUA, Holanda, países da União Européia, etc. (PINEDO *et al.*, 2010). O produto de exportação majoritário é a polpa congelada, destinada principalmente ao Japão, e em baixa escala, a exportação de polpa liofilizada ou desidratada e sucos para os Estados Unidos e União Européia (PINEDO *et al.*, 2010).

Nos Estados Unidos e União Européia, as indústrias farmacêuticas transformam o camu-camu em tabletes e cápsulas de vitamina C, destinados ao mercado de produtos naturais para a saúde (PINEDO *et al.*, 2010). Enquanto que no Brasil, os frutos são utilizados no preparo de cosméticos, e na Amazônia são utilizados especialmente no preparo de refrescos, sorvetes, geléias, doces e licores (VIÉGAS *et al.*, 2004).

Recentemente, a Faculdade de Indústria Alimentar da Universidade Nacional da Amazônia Peruana e algumas empresas privadas do Peru desenvolveram produtos que podem abrir novas opções para diversificar a oferta de produtos com valor agregado como o refrigerante de camu-camu chamado Camu-cola, pó atomizado de camu-camu, manjar com e sem leite, chá da casca de camu-camu, e conservas de frutos (frutos sem sementes em xarope) (PINEDO *et al.*, 2010).

Além desses produtos, Peuckert *et al.* (2010), observaram que o camu-camu mostrou-se ingrediente de ótima qualidade para enriquecimento de barra de cereal com ácido ascórbico, tornando o produto elaborado um diferencial em relação ao produto comumente comercializado, com alta aceitabilidade e com grande potencial no mercado.

Também, recentemente, na Embrapa-RR, foram desenvolvidos picolés de camu-camu, que mesmo após o processamento apresentaram teores

significativos de vitamina C, além de obterem boa aceitação sensorial e comercial (SILVA *et al.*, 2011).

Outro componente de interesse no camu-camu são as antocianinas, que também apresentam valor funcional devido sua ação antioxidante. Atualmente, observa-se crescente interesse no uso de antocianinas em diversos segmentos, dentre os quais se destacam as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, onde podem ser aplicadas, como corantes, principalmente corantes vermelhos os quais são os corantes naturais mais difíceis de encontrar na natureza em forma estável (FAVARO, 2008).

Segundo Favaro (2008) antocianinas podem ser extraídas de maneira simples e rápida com a utilização de etanol 94% v/v como solvente extrator, sendo mais vantajoso em comparação com os demais solventes testados porque permite obter extratos mais concentrados e mais estáveis, além de evitar o aparecimento de fungos durante período mais longo.

Os pigmentos antociânicos são considerados aditivos eficazes e seguros na indústria alimentar, não sendo empregados em grande escala em razão da instabilidade decorrente de diferentes fatores físicos (como luz, pH e temperatura, por exemplo), dificuldade de purificação e síntese, e as possíveis reações com dióxido de enxofre, muito empregado como conservante de alimentos. Essa destruição, segundo Bobbio e Bobbio (2001) é mais intensa quando o fator luz é combinado com o efeito do oxigênio. Porém, Maeda *et al.* (2007) ao avaliar o armazenamento de néctar de camu-camu, sem aditivos químicos sintéticos e em 4 condições ambientais: refrigeração e ausência de luz (RE); refrigeração e presença de luz (RL); temperatura ambiente e ausência de luz (AE); e temperatura ambiente em presença de luz (AL); observaram que o armazenamento do néctar em temperatura ambiente tem efeito negativo sobre pigmentos do tipo antocianinas e vitamina C e que a exposição ou não do néctar à luz não teve efeito sobre os teores de antocianinas e de ácido ascórbico.

Portanto o camu-camu, apesar da alta acidez para consumo *in natura*, detém características que o tornam altamente competitivo no mercado de produtos funcionais. Assim, a presença de biocompostos antioxidantes poderá ser utilizada como apelo para o consumo dos frutos e seus derivados.

### 3.5. DESENVOLVIMENTO DO FRUTO

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), o ciclo vital dos frutos compreende a formação, o crescimento, a maturação e a senescência que ocorre mediante uma série dinâmica de processos fisiológicos e bioquímicos, sendo que o desenvolvimento dos frutos corresponde à formação, crescimento e maturação. Entretanto, muitos processos são comuns entre as fases, dificultando a clara distinção entre as mesmas (WATADA *et al.*, 1984).

A fase de formação dos frutos ocorre em consequência da polinização e fertilização do óvulo. Em alguns casos, a mera germinação do pólen ou o crescimento parcial do tubo polínico, sem fertilização, são suficientes para causar o crescimento das paredes do ovário ou outras partes florais, que se transformarão em fruto (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A fase de crescimento é a etapa de desenvolvimento do fruto onde ocorrem as alterações quantitativas marcadas principalmente pelo aumento do volume das células devido ao acúmulo de carboidratos e água, que resultam no aumento irreversível nos atributos físicos como massa e volume desse órgão. Tal fase é bastante influenciada por fatores do ambiente, como temperatura, radiação solar e precipitação, além de fatores genéticos intrínsecos de cada material vegetal (BERILLI *et al.*, 2007), e é totalmente dependente da planta mãe (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A maturação do fruto ocorre antes que o desenvolvimento completo seja atingido, onde após essa fase não há mais aumento no tamanho do fruto (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A maturação é o estágio do desenvolvimento que leva à maturação fisiológica e, a maturidade fisiológica é definida como o estágio do desenvolvimento em que a fruta continuará sua ontogenia, mesmo que destacada da planta (WATADA *et al.*, 1984).

A fase final da maturação é designada como amadurecimento. É o estágio do desenvolvimento dos frutos que compreende a interrelação de mudanças bioquímico-moleculares, resultando em alterações fisiológicas e fenotípicas facilmente perceptíveis (NEVES, 2009). Embora os processos específicos bioquímicos, que resultam nos fenômenos da maturação variem entre

as espécies, as alterações tipicamente incluem (1) modificação de cor através da alteração de clorofila, carotenoides, e/ou acumulação de flavonóide, (2) modificação textural via alteração da turgescência celular e da estrutura da parede celular e/ou o metabolismo, (3) modificação de açúcares, ácidos, e os perfis de voláteis que afetam a qualidade nutricional, sabor, e aroma, e (4) geralmente aumento da susceptibilidade a patógenos oportunistas (provavelmente devido à perda da integridade da parede celular) (GIOVANNONI, 2004).

O amadurecimento é a fase mais importante do desenvolvimento dos frutos, pois os tornam palatáveis e comercialmente atrativos em função das mudanças na coloração, textura, concentrações de açúcares e compostos aromáticos, bem como, na acidez e compostos fenólicos (NEVES, 2009). As principais mudanças que ocorrem nesse período são bioquímicas. Tais mudanças são decorrentes do aumento da atividade enzimática, e no caso de frutos climatéricos estão associadas às mudanças da atividade respiratória e biossíntese de etileno (NEVES, 2009). Independente da presença (climatério) ou ausência (não-climatérico) da respiração elevada e da síntese do hormônio gasoso etileno no início do amadurecimento, ambos os tipos de frutos apresentam normalmente essas alterações bioquímicas (GIOVANNONI, 2004), que culminaram com a senescência na fase final do ciclo vital do fruto.

A senescência é decorrente da limitada capacidade de síntese do vegetal, com as reações tendendo para o catabolismo dentro de curto período de tempo, que são responsáveis pelo envelhecimento e morte dos tecidos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A senescência pode ocorrer tanto antes como após a colheita, por meio de injúrias físicas promovidas pela ação de insetos e/ou microrganismos ou mesmo pelo manejo pré e pós-colheita (NEVES, 2009). Os danos físicos ou ferimentos nos tecidos ativam inúmeras respostas fisiológicas e bioquímicas que promovem aumento na atividade respiratória, perda de água e consequente diminuição da matéria seca dos frutos, produção de etileno e distúrbios relativos à compartimentalização celular, o que torna os produtos mais perecíveis, levando-os rapidamente a senescência (WILLS *et al.*, 1998; LUENGO *et al.*, 2003).

### 3.6. MUDANÇAS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DOS FRUTOS

Como organismo vivo, o fruto é um órgão de intensas atividades fisiológicas, principalmente de respiração. Após a colheita, ela torna-se o seu principal processo fisiológico, uma vez que não depende mais das atividades da planta-mãe. Assim, adquirem vida independente e utilizam, para tal, suas próprias reservas metabólicas acumuladas nas fases de crescimento e de maturação. A energia química liberada pela respiração é captada para dar continuidade aos processos de síntese necessários à sua sobrevivência (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Porém, devido à alta demanda energética necessária para continuação dos processos de síntese/degradação após a colheita, apenas os frutos climatéricos, que apresentam pico respiratório durante o processo de amadurecimento conseguem desenvolvê-los. O climatério pode ser definido como o período na ontogenia de certos frutos no qual uma série de alterações bioquímicas iniciadas pela produção auto-catalítica de etileno, associada a respiração aumentada, leva a mudanças do crescimento e, conseqüentemente, ao amadurecimento (SUDHEER; INDIRA, 2007). Os frutos que não apresentam esse pico respiratório, chamados não climatéricos, necessitam continuar presos a planta-mãe para suprir a demanda energética dos processos de síntese/degradação e sua sobrevivência.

Assim os frutos climatéricos podem ser colhidos quando atingirem a maturidade fisiológica, já que estes continuam o amadurecimento após a colheita. Entretanto, os frutos não climatéricos não completam o amadurecimento quando destacados da planta (NEVES, 2009). Observando-se essas peculiaridades dos frutos, a colheita vai depender da necessidade do mercado, do período de transporte ou da necessidade do consumidor (NEVES, 2009). É baseada nisso que a maturidade pode ser dividida em maturidade fisiológica, que se refere ao período de vida do fruto quando ocorre o crescimento e acúmulo máximo de matéria seca advindos da planta-mãe; e maturidade comercial, que é o período da vida do fruto requerido para a sua comercialização, podendo ser em qualquer etapa da vida do produto. Portanto, a determinação do estágio de maturação do fruto é essencial para que a colheita seja efetuada no momento certo, ou seja,

quando os frutos apresentarem as características mais desejáveis, seja para o consumo *in natura* ou para a extração de componentes químicos específicos. Para isso acompanha-se a mudança composicional dos frutos, mediante análises físicas, químicas, físico-químicas e fisiológicas, traçando-se curvas para os constituintes que significativamente apresentam mudanças durante a maturação e amadurecimento (ANDRADE, 1999; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Essas mudanças podem ser determinadas por meio visual (coloração externa da casca; tamanho); medidas físicas (facilidade de separação ou abscisão, firmeza); análises físico-químicas (pH, acidez titulável) e químicas (sólidos solúveis, relação sólidos solúveis/acidez titulável, açúcares totais, compostos fenólicos); período decorrido após a antese; acúmulo de graus dias (GD); e fisiológico (respiração, produção de etileno, atividade enzimática).

As características físicas, bioquímicas e fisiológicas que mudam durante o desenvolvimento podem ser diferentes nas várias espécies e variedades de frutos. As goiabas 'Pedro Sato', por exemplo, em diferentes estádios de maturação apresentaram comportamento semelhante quanto às transformações físico-químicas e apresentarem pico respiratório, caracterizando-se como climatéricos (AZZOLINI *et al.*, 2004). Porém, para Cavalini (2008), goiabas 'Pedro Sato' e 'Kumagai' não apresentaram comportamento climatérico. O comportamento bioquímico do ácido ascórbico também difere entre espécies e em acerolas, por exemplo, ocorre maior acúmulo desse biocomposto quando ainda estão imaturas ou verdes (BATISTA; FIGUEIREDO; QUEIROZ, 2000), já no camu-camu quanto mais maturo ou vermelho, maior é o teor de vitamina C (YUYAMA; YUYAMA; AGUIAR, 2011).

Variações como as citadas acima nas diversas características dos frutos, entre as espécies e variedades, além do fator genético, podem ser consequências da nutrição, tamanho do fruto, efeito das estações e clima, posição na árvore, tipo de solo, umidade do solo, métodos de poda e uso de fitorreguladores e pulverizações químicas (PANTÁSTICO, 1975). Apesar dessas limitações, entretanto, é possível combinar vários índices ou parâmetros de maturação para avaliar precisamente o estágio no qual o fruto deve ser colhido (PANTÁSTICO, 1975). Assim, os pontos máximos ou mínimos dos constituintes de interesse nutricional, funcional e ou industrial, ou a correlação entre eles,

possibilitam o estabelecimento do período ideal de colheita para o consumo *in natura* imediato e/ou a agroindustrialização (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

### **3.6.1. MUDANÇAS FÍSICAS**

#### **3.6.1.1. Parâmetros físicos**

O crescimento do fruto se inicia sob rápida multiplicação celular, seguida pela expansão celular que continua até a maturidade (CHITARRA, CHITARRA, 2005). Frutos, tubérculos e outras estruturas têm uma característica em comum, são órgãos de estocagem. Assim, durante o desenvolvimento das estruturas atuam como centros fisiológicos de absorção, e sua ontogenia, carregam nutrientes de outras partes da planta, acumulando grandes quantidades de reservas alimentícias, que variam de acordo com a espécie. Os acúmulos de reservas, principalmente carboidratos, e de água durante o crescimento dos frutos promovem principalmente mudanças físicas na sua forma (diâmetro e altura) e massa (fresca e seca). Assim, o crescimento pode ser acompanhado por um ou mais parâmetros, tais como diâmetro, volume, massa fresca e massa seca em diferentes intervalos, durante o período de desenvolvimento.

Os resultados desses parâmetros proporcionam o tamanho e aparência do fruto que podem variar de acordo com a espécie e variedade e que correspondem ao seu potencial na comercialização para consumo *in natura* e no rendimento de polpa para processamento de derivados.

#### **3.6.1.2. Coloração da casca**

Outro atributo físico (visual) que apresenta mudanças e que pode auxiliar no estudo durante o desenvolvimento dos frutos é a coloração. As alterações

nesse parâmetro são observadas mais pronunciadamente durante o fim da maturação e início do amadurecimento principalmente na casca.

As mudanças da coloração são resultantes, principalmente, da degradação de clorofila, mas também pode ser resultado da síntese de pigmentos como carotenoides e antocianinas (TUCKER,1993). A degradação da clorofila ocorre em função das mudanças de pH, de ácidos, do aumento dos processos oxidativos e da ação das clorofilases (WILLS *et al.*,1998).

Os pigmentos em frutos maduros incluindo os carotenoides e os flavonoides, têm propriedades antioxidantes que ajudam a neutralizar os efeitos da fotoxidação e, ao mesmo tempo significado nutricional para os seres humanos (BEYER *et al.*,2002). Foi observado em tomates que a luz parece regular o acúmulo de pigmentos durante o amadurecimento dos frutos, independentemente da produção de etileno (ALBA *et al.*,2000), provavelmente em decorrência da proteção contra a fotoxidação.

Além disso, a coloração é o atributo de qualidade que mais atrai o consumidor, pois associam a coloração da superfície dos frutos com o estágio de maturação e qualidade sensorial (ARGENTA; FLORES-CANTILLANO; BECKER, 2004). Andrade (1991) concluiu que devido à falta de sincronia da floração, a coloração do fruto é a forma mais viável para se predizer o ponto ideal de colheita do camu-camu. Entretanto, a determinação da fase de maturação com base apenas na aparência do fruto é falha, por ser subjetiva e sujeita às muitas variações e, conseqüentemente, à grande margem de erro (CAVALINI, 2004).

### **3.6.2. MUDANÇAS FÍSICO-QUÍMICAS E QUÍMICAS**

#### **3.6.2.1. Acidez titulável e pH**

A acidez titulável do fruto é dada pela presença dos ácidos orgânicos (NEVES, 2009). O teor desses ácidos tende a diminuir durante o processo de maturação devido à oxidação dos ácidos no ciclo dos ácidos tricarbóxicos em

decorrência da respiração (BRODY, 1996), sendo fundamentais na síntese de compostos fenólicos, lipídios e aromas voláteis (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Assim, a variação da acidez pode ser indicativa do estágio de maturação do fruto, já que a acidez decresce com o avanço da maturação.

A acidez geralmente é inversamente proporcional a evolução do pH (potencial hidrogeniônico), que representa o inverso da concentração de íons hidrogênio (H<sup>+</sup>). Assim, na medida em que a acidez titulável diminui com a maturação o pH aumenta, ficando a solução do fruto mais alcalina e susceptível ao ataque de patógenos.

Essa variação foi observada durante o desenvolvimento de frutos de jabuticaba onde a acidez total titulável na polpa apresentou decréscimo de 2,38% a 1,08%, ao mesmo tempo em que o pH elevou-se de 2,7 a 3,6 (ARAÚJO *et al.*, 2010).

Contrariando a maioria dos resultados observados em frutos tropicais a acidez titulável de pitangas roxas e vermelhas aumentam até o início da pigmentação dos frutos, decrescendo nos períodos subsequentes, entretanto, o pH decresceu até o início da pigmentação e incrementou após esse período devido as variações da acidez titulável (SANTOS *et. al*, 2002).

### **3.6.2.2. Açúcares e Sólidos solúveis e Relação SS/AT**

São os componentes químicos mais abundantes nos tecidos vegetais, funcionando como material de reserva energética ou como material estrutural dos tecidos, podendo encontrar-se como açúcares simples ou altamente polimerizados (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A mobilização dos carboidratos de reserva na forma de amido, ácidos orgânicos ou na própria forma de sacarose translocada da planta para o fruto, levando ao acúmulo de açúcares, é um dos principais eventos bioquímicos que ocorre durante o crescimento (ROSSETTO *et al.*, 2004). Quando o fruto encontra-se na fase de crescimento, os açúcares translocados para ele são utilizados, em parte, para a síntese de amido (substância de reserva) e, em parte, para a síntese

de substâncias pécnicas e outros componentes da parede celular. O restante é utilizado para interconversão em outros açúcares, que servem para a produção de energia ou para a biossíntese de outros compostos.

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), os açúcares simples encontram-se principalmente nos frutos maduros enquanto o amido está presente em frutos verdes. Em condições normais, o amido e os açúcares solúveis encontram-se em equilíbrio dinâmico, com degradação de alguns açúcares a CO<sub>2</sub> durante o processo respiratório e com tendência de acúmulo do amido, que representa o principal carboidrato de reserva na maioria dos vegetais.

Os carboidratos ou açúcares mudam tanto em qualidade como em quantidade durante o amadurecimento do fruto (CORRÊA *et al.*, 2000). Com a evolução da maturação, há aumento da concentração de açúcares simples ou redutores até o completo amadurecimento, com declínio posterior em função da utilização como fonte de energia (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Os monossacarídeos, glicose e frutose são açúcares redutores por possuírem grupo carbonílico e cetônico livres, capazes de se oxidarem na presença de agentes oxidantes em soluções alcalinas. Os dissacarídeos (sacarose) que não possuem essa característica sem sofrerem hidrólise da ligação glicosídica são denominados de açúcares não redutores (SILVA, 2003).

Por representarem boa parte dos compostos solúveis presentes nos frutos, os açúcares podem ter presença detectada pela análise do teor de sólidos solúveis (SS), uma avaliação físico-química realizada por refratômetro e representada em °Brix.

No entanto, outros compostos como vitaminas, ácidos, aminoácidos e algumas pectinas também são representados pela avaliação dos sólidos solúveis (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Em frutos de camu-camu o teor de sólidos solúveis é representado por ácidos orgânicos que correspondem a mais de 40% desse teor, estando os açúcares em baixas concentrações (ALVES *et al.*, 2002).

Em jabuticabas, Araújo *et al.* (2010), observaram acúmulo de açúcares totais e redutores em detrimento do acúmulo de amido do período do 25° ao 50° dia após o florescimento, que resultou em aumento de 7,6% a 16,8% do teor de sólidos solúveis nos frutos. Segundo Neves (2009), os principais açúcares responsáveis pelo sabor doce dos frutos são frutose, a glicose e a sacarose,

porém a frutose e a glicose são originadas da degradação da sacarose e dos polissacarídeos de reserva como o amido. Os açúcares redutores representam muitas vezes a totalidade dos açúcares presentes em frutos de camu-camu, sendo a glicose a maior fração desses (ANDRADE, 1991).

Para estimar a qualidade sensorial do fruto, o grau de doçura e a intensidade de processamento, é utilizada a relação acidez titulável e sólidos solúveis, ou índice de palatabilidade, que é a razão entre o teor de sólidos solúveis e acidez titulável total, frequentemente usada como índice de maturidade, pois relacionam a quantidade de açúcares e ácidos presentes (ZAPATA; DUFOR, 1993; ALVES *et al.*, 2002). Esta relação tende a aumentar durante a maturação, devido ao aumento nos teores de açúcares e à diminuição dos ácidos orgânicos (CAVALINI, 2004).

### **3.6.2.3. Pectinas**

Pectina é a mistura de diferentes compostos onde o ácido pectínico é o maior componente. A forma nativa está localizada na parede celular e pode estar interligada com outros polissacarídeos estruturais e proteínas para formar a protopectina insolúvel (KASHYAP *et al.*, 2001). A parede celular primária contém 35% de pectina, 25% de celulose, 20% de hemicelulose e 10% de proteínas estruturais ricas em hidroxiprolina (PRASSANA, 2007). Elas contribuem para a resistência mecânica da parede celular e para a adesão entre as células, assim qualquer modificação nas características estruturais resulta em alterações na textura dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

As substâncias pécticas encontram-se nos frutos em diferentes formas, caracterizadas por diferentes solubilidades, dependendo do estágio evolutivo do desenvolvimento, desempenhando importante função na textura. Quando localizadas no exterior das paredes celulares (lamela média) dos tecidos vegetais, formam rede tridimensional por meio de ligações dos grupos carboxílicos livres com as cadeias de celulose e com minerais bivalentes, como o cálcio, formando a protopectina (insolúvel) (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A protopectina predomina nos tecidos vegetais imaturos. Devido à característica de insolubilidade, a protopectina é protegida da degradação por agentes como enzimas, alcaloides e ácidos que podem estar atuando no tecido da planta, tendo a função primária relacionada com a manutenção da forma e firmeza de frutos e hortaliças. Entretanto, durante a maturação do fruto, esta é quebrada e a celulose retira a proteção sobre a pectina, tornando-a então suscetível às substâncias degradativas (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Uma vez que as pectinas, celulose e hemicelulose são as principais classes de polissacarídeos da parede celular que sofrem modificações durante o amadurecimento (PRASSANA *et al.*, 2007).

Esse processo de degradação dos componentes da parede celular resulta na diminuição do grau de polimerização e conseqüente diminuição da rigidez da célula (KASHYAP *et al.*, 2001; ASSIS *et al.*, 2002). Com a evolução da maturação dos frutos, ocorrem liberação do cálcio e solubilização do polímero péctico pela ação de 2 enzimas específicas, designadas como pectinametilesterase (PME), responsável pelo rompimento das ligações metil-éster e poligalacturonase (PG), que transforma os polímeros de ácido galacturônico em ácidos pécticos, solúveis em água (PRASSANA *et al.*, 2007). O processo de solubilização das pectinas contribui para o amaciamento dos tecidos em decorrência da redução da força de coesão entre as células. A tendência geral, durante a maturação e o amadurecimento, é ocorrer redução no teor da pectina total com aumento no grau de solubilização, contribuindo para o amaciamento dos tecidos (PRASSANA *et al.*, 2007). Além da degradação de polissacarídeos da parede celular e do amido, mudanças na pressão de turgor também determinam o grau de amolecimento de frutos (PRASSANA *et al.*, 2007).

#### **3.6.2.4. Enzimas PME e PG**

As enzimas pectinametilesterase (PME) e a poligalacturonase (PG) estão envolvidas no processo de amaciamento com conseqüente aumento nos teores de pectina solúvel (OLIVEIRA JÚNIOR *et al.*, 2004).

Segundo Manrique e Lajolo (2004), a PME aumenta a suscetibilidade das pectinas da parede celular à PG durante a maturação, pois ela desesterifica o polímero de ácido galacturônico, enquanto que a PG catalisa as ligações entre os resíduos desse ácido no interior das cadeias pécticas, hidrolisando as ligações  $\alpha$  1-4 glicosídicas entre os resíduos de ácido galacturônico. Ou seja, a PG depende da atividade normal da PME para que se dê prosseguimento ao processo natural de despolimerização dos componentes pécticos da parede celular, tornando os frutos menos duros e mais suculentos (PRASSANA *et al.*, 2007). Também, segundo SILVA *et al.* (2009), a degradação de polissacarídeos da parede celular é acompanhada por aumento na atividade de poligalacturonase e pectinametilesterase. Resende *et al.* (2004) observaram que híbridos de tomate com menor atividade das enzimas PME e PG apresentaram redução na despolimerização e solubilização das pectinas resultando em maior textura dos frutos. Confirmando a atuação da PME que assume um dos principais papéis, por promover a desmetoxilação dos polímeros de pectina, favorecendo a atuação da PG, que quebra os polímeros pécticos em unidades de ácidos galacturônicos que irão compor a pectina solúvel.

Frutos verdes são ricos em PME, enquanto os frutos maduros são ricos em enzimas hidrolases (PRASSANA *et al.*, 2007). Como observado em frutos de café em diferentes estádios de maturação que apresentaram diferenças quanto à atividade da PME e PG, onde o grão verde mostrou porcentagem média de solubilidade da pectina, alta atividade da PME e baixa atividade da PG; o grão verde-cana apresentou baixa porcentagem de solubilidade da pectina e valores intermediários da PME e PG; o estágio cereja apresentou a maior porcentagem de solubilidade da pectina e pequena atividade da PME e da PG; o grão seco/passa apresentou alta porcentagem de solubilidade da pectina, alta atividade da PG e baixa atividade da PME, comparando-se com os outros estádios de maturação. Assim, a atividade da PME é mais elevada nos grãos originados de frutos verdes, diminuindo de maneira gradativa à medida que o fruto vai amadurecendo e secando na planta, enquanto nos frutos imaturos há ausência de PG, havendo aparecimento próximo ao início do amadurecimento, aumentando a solubilização de pectinas nos frutos mais maduros (PIMENTA; CHAGAS; COSTA, 2000).

### 3.6.2.5. Ácido ascórbico

A vitamina C é definida em termo genérico como todo composto que exibe atividade biológica como o ácido L-ascórbico (AA). O ácido ascórbico é o principal composto biologicamente ativo, mas o L-deidroascórbico (DHA), produto da oxidação, também exibe atividade biológica (LEE; KARDER, 2000).

Apesar de ser conhecido principalmente pelas propriedades antioxidantes, o ácido ascórbico também atua como co-fator para várias enzimas desempenhando, conseqüentemente, várias funções no metabolismo além de contribuir para a regulação da divisão e de expansão celular nas plantas (SMIRNOFF; WHEELER, 2000). Além disso, o ácido ascórbico e sua forma oxidada, ácido deidroascórbico, podem atuar como agentes de sinalização (PASTORI *et al*, 2003; FOTOPOULOS *et al*, 2008) participando da interação da planta com o meio ambiente, por exemplo, na resposta ao ozônio (SANMARTIN *et al.*, 2003), patógenos e agentes oxidantes (FOTOPOULOS *et al.*, 2006), e perda de água (FOTOPOULOS *et al.*, 2008).

A biossíntese do ácido ascórbico nos vegetais ainda não é totalmente compreendida, porém alguns estudos apontam D-manose e L-galactose como seus precursores em plantas (SMIRNOFF *et al.*, 2001).

Para Yuyama (2002), ocorre variação na concentração de vitamina C no camu-camu em função do estágio de maturação, ou seja, o teor de vitamina C é mais elevado quando os frutos apresentam coloração arroxeadada da casca, e coloração rósea da polpa.

Semelhantemente a esses estudos, Andrade (1991) observou aumento do teor de vitamina C com o decorrer da maturidade dos frutos de camu-camu, de 2768,17 mg.100 g de polpa<sup>-1</sup> quando meio maduros para 3133,06 mg.100 g de polpa<sup>-1</sup> quando totalmente roxos. Em contrapartida, Zamudio (2007) observou redução de ácido ascórbico no estágio de maturação com coloração da casca totalmente verde a totalmente roxo, porém considerado elevado em consideração aos teores de vitamina C de outros frutos. Além disso, o teor de vitamina C na casca do fruto foi significativamente superior ao da polpa independente do grau de maturação (ZAMUDIO, 2007).

Em acerola, o teor de ácido ascórbico apresenta relação inversa com o estágio de maturação variando de 2738 mg.100 g<sup>-1</sup> do material verde a 1650 mg.100 g<sup>-1</sup> do material meio-maturo e 887 mg.100 g<sup>-1</sup> do material maturo, sendo o estágio verde potencial a extração em escala industrial de ácido ascórbico (BATISTA; FIGUEIREDO; QUEIROZ, 2000). No entanto, a acerola 'Okinawa', no fim da maturação, apresentou considerável teor de vitamina C de 2232 mg.100 g de polpa<sup>-1</sup> (MARANHÃO, 2010).

Em frutos de goiabeira, durante a maturação, o teor de ácido ascórbico aumenta nos estádios iniciais de desenvolvimento até a maturação total e, quando excessivamente maduros, o conteúdo diminui significativamente (CAVALINI, 2004).

Assim, o teor de ácido ascórbico além de influenciado pela espécie, também sofre variações conforme o genótipo, o estágio de maturação e a relação com as condições edafo-climáticas, uma vez que tem várias funções no metabolismo e na resposta das plantas ao estresse abiótico (ISHIKAWA; DOWDLE; SMIRNOFF, 2006).

### **3.6.2.6. Fenólicos**

Quimicamente os compostos fenólicos são substâncias que possuem pelo menos um anel benzênico. São derivados do metabolismo secundário e representam respostas da planta na interrelação biótica contra a herbivoria, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de sementes e microrganismos simbioses e abiótica como mudança de temperatura, conteúdo de água, níveis de luz, exposição à UV e deficiência de nutrientes minerais.

Esses compostos são sintetizados, principalmente, a partir de 2 rotas do metabolismo secundário: a via do ácido chiquímico e a via do ácido mevalônico, a qual é menos significativa. Na natureza existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles, destacam-se os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (SHAHIDI; NACZK, 1995).

A diversidade estrutural dos compostos fenólicos deve-se à grande variedade de combinações que acontece na natureza e os compostos resultantes são chamados de polifenóis. Em plantas, são essenciais no crescimento e reprodução dos vegetais, além de atuarem como agente antipatogênico e contribuírem na pigmentação (SHAHIDI; NACZK, 1995). Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma (PELEG; BODINE; NOBLE, 1998) e estabilidade oxidativa (NACZK; SHAHIDI, 2004). Dentre os fenólicos, destacam-se os flavonoides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis como os mais comuns antioxidantes fenólicos de fonte natural (KING; YOUNG, 1999).

Os compostos fenólicos são formados nos tecidos dos frutos e são translocados para esses durante a fase de desenvolvimento, onde permanecem relativamente constantes (SENER *et al.*, 1989), exceto sob condições de estresse (RHODES *et al.*, 1981). Segundo Andrade (1991) os fenólicos totais em camu-camu decrescem durante a maturação elevando-se nos estádios finais que corresponde ao período de amadurecimento, afirmando que esse aumento no período de amadurecimento corresponde à acentuada síntese de antocianinas.

Chirinos *et al.* (2010) também observaram que o camu-camu exibiu evolução do teor de fenólicos totais de 1120 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> de amostra fresca no estágio verde para 1320 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> de amostra fresca no estágio vermelho, sendo valor muito alto em comparação com outras frutas vermelhas como cereja, ameixa, morango, blueberry, cranberry e lingonberry.

### **3.6.2.7. Antocianinas, Flavonas e Flavonóis**

Estruturalmente, os flavonoides constituem substâncias aromáticas com 15 átomos de carbono (C15) no seu esqueleto básico, sendo compostos fenólicos, que possuem nessa estrutura anéis benzênicos C6-C3-C6. (DORNAS *et al.*, 2007). Eles são produzidos a partir da via dos fenilpropanoides e são subdivididos nas principais classes: flavonas, flavonóis, chalconas, auronas, flavanonas,

flavanas, antocianidinas, leucoantocianidinas, proantocianidinas, isoflavonas e neoflavonoides (BRAVO, 1998).

Os flavonóis e as flavonas apresentam origem biossintética muito próximas, pois os flavonóis são flavonas substituídas na posição C-3 por uma hidroxila. Assim, essas duas classes são em geral classificadas juntas uma vez que suas análises, síntese e reações químicas possuem uma base teórica comum (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

As flavonas e os flavonóis agem na proteção das células contra o excesso de radiação UV-B, pois se acumulam nas camadas epidérmicas das folhas, caules e frutos e absorvem intensamente a luz na região do UV-B, enquanto permitem a passagem contínua dos comprimentos de luz visível, os quais contêm as cores azuis e vermelhas, fotossinteticamente ativas (FERREIRA *et al.*, 2008). Essas classes de flavonóides são constituídas por pigmentos incolores, diferentemente das antocianinas. Os flavonóis possuem coloração branca ou amarela clara e geralmente acompanham as antocianinas em frutos, provavelmente porque apresentam rotas de biossíntese semelhantes, além de atuarem na copigmentação das antocianinas (MELO, *et al.*, 2006).

A apigenina e luteolina, livres (agliconas) ou conjugadas (heterosídeos) são as flavonas mais abundantes encontradas nas plantas, já os flavonóis mais encontrados em vegetais são kaempferol, quercetina e miricetina (FENNEMA, 1992). Em frutos as maiores concentrações de quercetina foram constatadas em acerola, pitanga e maçã (cultivar Fuji), já a acerola apresentou os maiores teores de kaempferol e a pitanga as maiores concentrações de miricetina (HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

Dentre as demais classes de flavonoides as antocianidinas são pigmentos vegetais responsáveis pelas cores laranja, azul, roxa e tonalidades de vermelho, violeta encontrada em flores, frutos, folhas, caules e tubérculos de plantas (ANDERSEN; JORDHEIM, 2006). São compostos solúveis em água e instáveis em altas temperaturas (SHAHIDI; NACZK, 1995). A coloração azul, vermelha, púrpura ou laranja depende da estrutura fenilpropanoide e da presença de grupos hidroxílicos (-OH), metoxílicos (-OCH<sub>3</sub>), açúcares e açúcares acetilados, os quais têm efeito marcante na intensidade e na estabilidade da coloração (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Mazza e Miniati (1993) mencionaram a existência de 17 antocianidinas, com diferenças no número e posição dos grupos hidroxilas e/ou metoxilas, porém apenas 6 delas são mais frequentemente encontradas em alimentos. A partir dessas 17 estruturas, são formadas as antocianinas, que são as moléculas resultantes da esterificação das antocinidinas com pelo menos uma molécula de açúcar.

As antocianinas mais frequentes em frutos são derivadas das agliconas, pertencentes a 6 compostos antociânicos básicos: perlagonidina (morango, amora), cianidina (jabuticaba, figo, cereja, uva, ameixa, jambolão), delphinidina (romã, maracujá), malvinidina (uva), peonidina (uva, cereja) e petunidina (frutas diversas), todas com hidroxilas nas posições três, cinco e sete (WU; PRIOR, 2005). Sendo a cianidina 3-glicosídeo a antocianina majoritária no camu-camu, seguida por delphinidina 3- glucosídeo (ZANATTA, 2004).

Assim, as antocianinas são glicosídeos solúveis em água e encontram-se principalmente nos vacúolos das células de frutos e de algumas hortaliças. A coloração desse pigmento usualmente mascara a dos carotenoides e das clorofilas. As antocianinas são sintetizadas com o decorrer da maturação, predominando no epicarpo dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005), como observado em acerolas que apresentaram acentuada produção de antocianinas aos 25 dias após a antese (ciclo de 25 DAA), tanto na casca quanto na polpa, o que resultou em coloração púrpura dos frutos justamente devido ao amadurecimento. Fortes (2008) também encontrou elevados teores de antocianinas em jabuticaba, principalmente na casca, após o amadurecimento.

Estudos sobre a atividade da luz na biossíntese de antocianinas em plantas mostraram que o fitocromo é o pigmento responsável por estimular o acúmulo de antocianinas, pois esse pigmento é excitado pela exposição das plantas a raios infravermelhos longos (720 nm) e nesta forma é capaz de aumentar consideravelmente a atividade de enzimas responsáveis pela síntese de antocianinas, promovendo conseqüentemente aumento na concentração destes pigmentos nas plantas (SCHOPFER, 1977).

### 3.6.2.9. Carotenoides

Quimicamente, os carotenoides são moléculas tetraterpênicas formadas por 8 unidades de isopreno, constituídos apenas por carbono e hidrogênio, e seus derivados oxigenados, as xantofilas (SOUTH; FAULKS, 2001).

Os carotenoides localizam-se nos cromoplastos e também nos cloroplastos associados com a clorofila (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Têm como funções a proteção da clorofila e do aparelho fotossintético contra a fotodegradação, bem como a absorção de luz em comprimentos de onda diferentes da clorofila (DELGADO-VAGAS, 2000). Com a degradação da clorofila, os carotenoides previamente presentes nos tecidos tornam-se visíveis, ou podem também ser sintetizados com o avanço da maturação dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Também, na maturação, a biotransformação dos carotenoides resulta na formação de alguns compostos voláteis, que podem contribuir para o aroma e o sabor típico de cada espécie e/ou cultivar (UENOJO; MARÓSTICA JÚNIOR; PASTORES, 2007).

A biossíntese de carotenoides ainda não é totalmente conhecida, entretanto, sabe-se que a luz é um fator de extrema importância, sendo um dos principais responsáveis pelas variações nas concentrações de carotenoides e também pela maior variedade de pigmentos encontrados numa planta (BRITTON, 1998).

Andrade (1991) encontrou em frutos de camu-camu, ao longo do desenvolvimento, teores de carotenoides totais variando de 0,14 a 0,29 mg/100 g de polpa integral. Segundo Zanatta (2004) a *all-trans*-luteína foi o principal carotenóide encontrado nos frutos de camu-camu perfazendo de 45% a 55% do total de carotenoides. Em seguida, apareceram o  $\beta$ -caroteno contribuindo com 13% e 20%, do total de carotenoides encontrado para os frutos das cidades de Iguape e Mirandópolis, respectivamente.

### **3.6.3. MUDANÇAS FISIOLÓGICAS**

#### **3.6.3.1. Respiração e Padrão respiratório**

A respiração corresponde às reações oxidativas de compostos orgânicos (ácidos orgânicos e carboidratos) que são transformados em água e dióxido de carbono com produção de energia química, utilizada para biossíntese de novos compostos indispensáveis ao perfeito funcionamento e manutenção da planta como um todo (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O processo de respiração é fundamental no amadurecimento dos frutos, pois várias reações acopladas a respiração são responsáveis pela síntese de inúmeros compostos, tais como pigmentos, compostos fenólicos e reguladores de crescimento (PURVIS, 1997). Porém, a intensidade da respiração é também responsável pela longevidade dos frutos em pós-colheita, provocando modificações profundas nos constituintes químicos, principalmente em condições não controladas, levando a perda de umidade e a rápida senescência do fruto, interferindo assim na sua qualidade (NEVES, 2009). A atividade respiratória é naturalmente variável entre as espécies e estádios de desenvolvimento dos frutos. O padrão da atividade respiratória durante o amadurecimento é dividido em climatérico e não climatérico (NEVES, 2009).

Os frutos climatéricos são aqueles que apresentam aumento na atividade respiratória e produção de etileno durante o amadurecimento (NEVES, 2009). Esses frutos respondem à ação do etileno, com conseqüente incremento na taxa respiratória, num processo autocatalítico (NEVES, 2009). Segundo Giovannoni (2001), em frutos climatéricos o etileno é necessário para coordenar e completar o amadurecimento. Em alguns frutos climatéricos, como maçã e tomate, o aumento na taxa respiratória ocorre tanto no fruto preso à planta como após a colheita, já o abacate, apresenta pico respiratório climatérico apenas após ser desligado da planta (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Já os frutos não-climatéricos mostram perfil relativamente baixo e declínio gradual no seu padrão de respiração e produção de etileno, durante todo o processo de amadurecimento (GAMAGE; REHMAN, 1999), e as transformações bioquímicas que tornam o fruto maduro ocorrem de forma mais lenta (WILLS *et al.*, 1998). Nesses as respostas típicas à ação do etileno exógeno não são acentuadas, embora se verifiquem reduções do teor de clorofilas e de ácidos orgânicos, com incrementos esporádicos na taxa respiratória (NEVES, 2009). Entretanto, o efeito autocatalítico clássico de produção de etileno não se desenvolve normalmente, embora o sistema de recepção do sinal esteja presente (NEVES, 2009).

Os frutos de camu-camu apresentam típico padrão não climatérico, pois, quando colhidos em estado verde, não conseguem alcançar a maturação total (YUYAMA; VALENTE, 2011) diferentemente dos frutos climatéricos que possuem a capacidade de amadurecer mesmo após a colheita. Pois após a colheita, em tecidos vegetais e frutos imaturos, como no caso dos frutos não climatéricos colhidos antes do amadurecimento, ocorre rápido declínio da respiração que presumidamente reflete a diminuição da concentração de substratos respiráveis que são tipicamente baixos em tais tecidos (SALTVEIT, 2004), desfavorecendo o processo natural do amadurecimento.

### **3.6.3.2. Etileno**

O etileno desempenha papel chave na regulação do amadurecimento de muitos frutos (BARRY; GIOVANNI, 2007). Ele é sintetizado a partir de metionina em três passos: conversão (1) da metionina para S-adenosil-L-metionina (SAM) catalisada pela enzima sintetase de SAM, (2) formação de 1 - aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) de SAM através sintase ACC (ACS) atividade, e (3) a conversão de ACC para etileno, que é catalisada por ACC oxidase (ACO). A formação de ACC também leva à produção de 5 -metiltioadenosina (MTA), que é reciclado através do ciclo da metionina para produzir uma nova molécula de metionina (BARRY; GIOVANNI, 2007).

Segundo Vendrell e Palomer (1997) o aumento da produção autocatalítica de etileno se deve ao aumento da atividade da ACC sintase. Chaves *et al.* (1997) também verificou que o aumento na produção de etileno, quando os frutos passaram do estágio pré-climatérico para o climatérico, está diretamente correlacionada com o aumento da síntese da ACC oxidase, porém os fatores internos que regulam a síntese de etileno ainda são pouco conhecidos.

O etileno é biologicamente ativo em quantidades muito pequenas e seus efeitos são comercialmente importantes na agricultura (ABELES *et al.*,1992). Além do amadurecimento, sugere-se que o etileno também esteja envolvido em outros processos fisiológicos, como a resposta a patógenos e ferimento, senescência de folhas, resposta a estresse abiótico e biótico (ALEXANDER; GRIERSON, 2002) afetando o crescimento de tecidos vegetais, incluindo caules, raízes e pecíolo (DEIKMAN, 1997). As taxas de produção de etileno pelos tecidos são geralmente baixas, e a concentração necessária para induzir o amadurecimento na fase pré-climatérica é dependente da espécie e do estágio de maturação dos frutos (YANG,1985).

A ação do etileno é dependente da sua ligação com um receptor, que segundo Lelievre (1997) liga-se ao receptor, localizado na membrana celular, formando um complexo ativado que desencadeia processo de reação em cascata, que levam a modificação da expressão gênica, com consequentes respostas fisiológicas e bioquímicas.

Frutos de tomate demonstraram forte inibição do amadurecimento quando submetidos a qualquer inibidor da biossíntese ou inibidores que bloqueiam a ação do etileno. No entanto, em estágio verde-maturo, quando expostos ao etileno tem a maturação ativada (GRAY *et al.*, 1992). Essas respostas podem ser observadas em diversos trabalhos principalmente em frutos climatéricos, onde se busca, tecnologicamente, retardar o amadurecimento, prolongando supostamente a vida útil desses frutos (NEVES, 2009). Botrel *et al.* (2002), observaram retardamento em até 12 dias do amadurecimento de bananas prata-anã submetidas ao 1-metilciclopropano (1-MCP), molécula que se liga aos receptores de etileno impedindo sua ligação bioquímica e consequente resposta fisiológica. Mangas também obtiveram atraso no amadurecimento quando embaladas em filmes plásticos em conjunto com sachês de permanganato de potássio, que captura o

etileno produzido diminuindo sua concentração na embalagem e, conseqüentemente, atraso do amadurecimento (NEVES *et al.*, 2008; PFAFFENBACH *et al.*, 2003; CASTRO *et al.*, 2002). Assim, o etileno pode promover diferentes respostas em função do estágio de desenvolvimento, das condições ambientais e da espécie ou mesmo da variedade (LEVIEVRÉ *et al.*, 1997).

Em alguma etapa do desenvolvimento de frutos não-climatéricos o etileno endógeno está implicado na regulação dos aspectos do amadurecimento como a degradação da clorofila, biossíntese de carotenoides e de antocianinas, além de parte do amaciamento dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Segundo Taiz e Zeiger (2009), análises do mRNA de frutos de tomateiro tipo selvagem e de plantas geneticamente modificadas para a deficiência em etileno revelaram que a expressão gênica durante o amadurecimento é regulada por, pelo menos 2 rotas independentes: a rota dependente do etileno que inclui genes envolvidos com a biossíntese do licopeno e do aroma, do metabolismo respiratório e da ACC oxidase e clorofilase e a rota de desenvolvimento independente do etileno que inclui genes que codificam a ACC oxidase e clorofilase.

Assim, dada a importância do etileno principalmente no amadurecimento dos frutos, sejam eles climatéricos ou não-climatéricos, é fundamental sua caracterização durante o desenvolvimento nas diferentes espécies e variedades de frutos.

### **3.7. ANTIOXIDANTES E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE**

Espécies reativas de oxigênio (ERO) são produzidas para ajudar na manutenção da homeostase celular ou regulação de reações de redução e oxidação (REDOX) em tecidos saudáveis (DEVASAGAYAM *et al.*, 2004). Os radicais em baixa concentração podem atuar de maneira benéfica em defesa contra agentes infecciosos, formação de ATP através de ADP na mitocôndria, regulação do crescimento celular e produção de oxigenases para formação de prostaglandinas e leucotrienos. A produção descontrolada de radicais e ERO ou a

deficiência de mecanismo de defesa prejudicam o equilíbrio, gerando o estresse oxidativo ou danos oxidativos. Assim, quando em concentração excedente ao normal, essas espécies podem causar efeitos potencialmente deletérios: danos celulares, ao atacar membranas, proteínas, polissacarídeos e ácidos nucleicos, com conseqüente alteração funcional e prejuízo das funções vitais em diversos tecidos adiposo, vascular e cerebral, e órgãos, como músculo e fígado (MULLER *et al.*, 2007), ocasionando eventualmente algumas doenças (VASCONCELOS *et al.*, 2007; THOMAS; BALASUBRAMANIAN, 2004).

Devido à incompleta eficiência de nosso sistema endógeno de defesa, que produz enzimas antioxidantes, a influência de fatores externos como fumo, poluição, radiação UV e alimentação bem como a existência de alguns processos fisiopatológicos (envelhecimento, obesidade, inflamação e isquemia), esta estabelecida a importância de compostos antioxidantes provenientes da dieta que podem ajudar a suprir esta deficiência e também promover proteção, prevenção ou redução dos efeitos causados pelo estresse oxidativo (HUONG *et al.*, 2005; PIETTA, 2000).

Dentre os antioxidantes não enzimáticos, provenientes da dieta, destacam-se os carotenoides, o alfa-tocoferol (vitamina E), o ácido ascórbico (vitamina C) e compostos fenólicos, entre outras. Estão presentes em número e concentração maiores que os antioxidantes enzimáticos e distribuídos em ambientes lipofílicos e hidrofílicos. Estes antioxidantes atuam como inibidores de enzimas oxidativas (ciclooxigenase), alguns cofatores enzimáticos, sequestrantes de espécies reativas de oxigênio/espécies reativas de nitrogênio

(ERO/ERN) e quelantes de metais de transição (HUONG *et al.*, 2005; PIETTA, 2000).

A eficiência antioxidante de compostos bioativos em alimentos de origem vegetal depende da estrutura e da concentração no alimento. Por sua vez, a quantidade destas substâncias em vegetais é amplamente influenciada por fatores genéticos e condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros aspectos.

Além disso, em um mesmo alimento pode haver misturas de diferentes antioxidantes com variados mecanismos de ação, ocorrendo reações sinérgicas, fazendo-se necessário a diversificação nas análises para poder considerar os

possíveis mecanismos de ação de todos os antioxidantes presentes no alimento (PÉREZ-JIMÉNEZ, 2007).

Com isso, a capacidade antioxidante é influenciada pelo substrato utilizado no ensaio, pelo solvente e pela técnica de extração utilizada, bem como pelo binômio tempo-temperatura (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Por isso, atualmente preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas, já que nenhum ensaio usado isoladamente para determinar a capacidade antioxidante irá refletir exatamente a capacidade antioxidante total de uma amostra (HUANG *et al.*, 2005; PRIOR *et al.*, 2005).

Um dos métodos mais usados para verificar a capacidade antioxidante é o método DPPH que é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante (quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante) ou sequestradora de radicais e/ou a porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional (HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L., 2005).

Já o método de capacidade de absorção do radical oxigênio, ou ORAC, verifica a capacidade sequestradora de um antioxidante frente à formação de um radical peroxila. Neste ensaio, o radical peroxila reage com um composto fluorescente formando um produto não fluorescente. Na presença dos antioxidantes, a reação do radical peroxil com a fluoresceína fará com que esta mantenha a mesma emissão de fluorescência. O efeito protetor de um antioxidante é verificado calculando-se a área formada abaixo da curva de decaimento da fluorescência da amostra versus tempo, quando comparada ao branco, que não apresenta antioxidantes. Dessa forma, pode-se comparar o decréscimo da fluorescência produzida na presença e na ausência de um antioxidante (OU *et al.*, 2001).

Segundo LEE e GOULD (2002) os frutos tropicais do gênero *Myrtaceae* são cultivados em condições de alto estresse oxidativo devido à luz solar intensa e calor, e os compostos fenólicos ajudam a inibir a peroxidação lipídica e danos ultravioletas nos tecidos vegetais, além de proteger os sistemas de mamíferos quando consumidos.

Reynertson *et al.*(2005) relataram o potencial antioxidante de sete frutas da família Myrtaceae como boas fontes de antioxidantes usando o método de DPPH. Uma boa correlação linear foi estabelecida entre o fenólicos totais e a capacidade antioxidante DPPH ( $R^2 = 0,931$ ), mas não entre ácido ascórbico e capacidade antioxidante DPPH ( $R^2 = 0,190$ ). Estes resultados sugerem que a capacidade antioxidante da fruta é derivada de compostos fenólicos.

Ao testar a capacidade antioxidante em diferentes frutos tropicais brasileiros não tradicionais com o método DPPH, Rufino (2008) observou que os frutos mais antioxidantes foram puçá-preto ( $EC_{50} = 414,3$  e  $65,6$  g/g DPPH), camu-camu ( $EC_{50} = 477,7$  e  $42,6$  g/g DPPH) e acerola ( $EC_{50} = 670,1$  e  $49,2$  g/g DPPH), indicando uma associação entre a capacidade antioxidante e fenóis para o primeiro e, no caso de acerola e camu-camu, entre capacidade antioxidante e conteúdo de vitamina C.

Segundo Gonçalves (2008), frutos de camu-camu apresentaram pelo método ORAC cerca de  $790 \mu\text{mol}$  de equivalentes de Trolox (ET). $\text{g}^{-1}$  de amostra fresca, e pelo método DPPH cerca de  $1439 \mu\text{mol}$  de equivalentes de Trolox (ET). $\text{g}^{-1}$  de amostra fresca representando a maior atividade antioxidante com relação a frutos como bacuri, tucumã, cupuaçu, graviola, buriti, uxi, cambuci, araçá, tamarindo, carambola e araçá-boi, corroborando com as exigências de alguns pesquisadores em utilizar mais de uma técnica a fim de se obter com maior precisão a capacidade antioxidante total de uma amostra.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAL**

Os frutos foram colhidos de uma população nativa de camu-camu em ambiente inundado no Lago da Morena (N 02° 27.455'; O 60° 50.014'), localizado na Ilha da Morena no rio Branco, na região do município do Cantá a 60 Km de Boa Vista.

Para marcação dos botões florais foram selecionadas aproximadamente 40 plantas correspondentes a 90% das plantas do lago, onde foram marcados  $\pm$  2000 inflorescências de forma a se obter frutos de toda a população. Inicialmente, o objetivo era marcar as flores em antese, porém foi observado que estas eram mais difíceis de marcar por sofrerem danos durante a marcação. Assim, devido à presença de inúmeros botões na fase em que as pétalas formam um retângulo e que, segundo Barcelar-Lima (2009) apresentam aproximadamente 26 dias, esses foram escolhidos para marcação. Porém, devido à mesma inflorescência conter flores em diferentes estádios, removeu-se quando necessário, os estádios que se encontravam tanto posterior (ovários em desenvolvimento) quanto anterior (botões jovens com poucos dias) ao estádio desejado citado anteriormente. A marcação dos botões florais foi realizada em 3 dias: 20/12/10, 21/12/10 e 22/12/10. Cada inflorescência era marcada com arame colorido com uma etiqueta presa, contendo a data e o número correspondente. A partir da data de marcação, os botões florais foram monitorados semanalmente até o início da colheita dos frutos.

#### **4.1.2. Localização e clima**

O local possui clima do tipo Awi. A precipitação anual média é de 2800 mm. O lago da Morena sofre influência do Rio Branco durante a cheia, embora

suas águas tenham coloração escura devido à provável deposição de matéria orgânica no solo argiloso. Os dados climáticos de temperatura e precipitação do período experimental estão na tabela 1 e foram coletados na estação meteorológica do Campo Experimental Confiança da Embrapa-RR, localizado no município do Cantá.

Tabela 1 - Dados de temperatura e precipitação média mensal do período experimental.

<b>DADOS MENSAIS</b>	<b>NOV/10</b>	<b>DEZ/10</b>	<b>JAN/11</b>	<b>FEV/11</b>	<b>MAR/11</b>	<b>ABR/11</b>
<b>Temperatura (°C)</b>	26,4	27,8	27,7	28,5	27,8	28,3
<b>Precipitação (mm)</b>	273,8	298,1	80,7	142,8	157,5	181,0

Fonte: EMBRAPA-RR

#### 4.1.3. Colheita e transporte

Os frutos foram colhidos em intervalo de 7 dias no decorrer do experimento, contados a partir da antese das inflorescências observada no campo (Figura 1). As datas de colheita foram 15/02/11, 22/02/11, 01/03/11, 08/03/11, 15/03/11, 22/03/11, 29/03/11 e 05/04/11 correspondendo a 53, 60, 67, 74, 81, 88, 95 e 102 dias após a antese (DAA). Em cada data de colheita foram coletadas em torno de 120 frutos representativos da população. Após a colheita, os frutos eram transportados, no mesmo dia, ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos –UFRR, acondicionados em potes plásticos dentro de caixas de isopor com gelo, evitando-se o contato direto dos frutos com o gelo. No laboratório, os frutos eram higienizados e colocados para secar em temperatura ambiente.

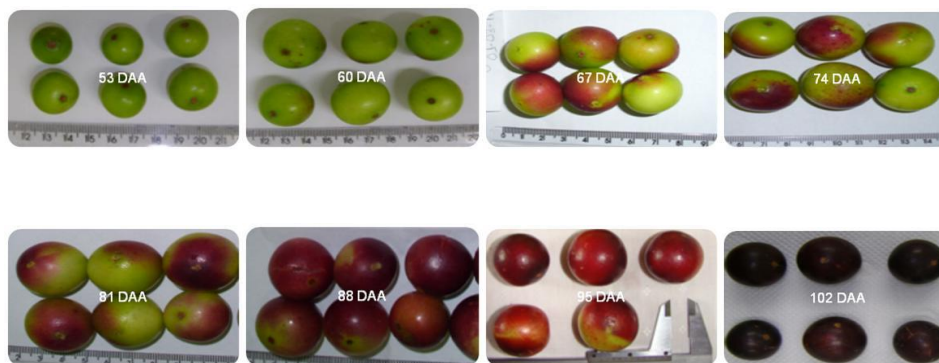


Figura 1 - Desenvolvimento dos frutos de camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] dos 53 aos 102 dias após a antese (DAA).

#### 4.1.4. Preparo do material para análise

Após a higienização foi realizada separação aleatória de 30 frutos para as análises físicas com massa média de  $276,3 \pm 106,0$  g, divididos em três repetições de 10 frutos com massa média de  $92,0 \pm 36,0$  g. Esses frutos foram utilizados para a determinação de  $\text{CO}_2$  e etileno. Para as análises químicas em torno de 90 frutos com massa média de  $828,8 \pm 319,0$  g, de acordo com a disponibilidade de frutos no mesmo estágio de desenvolvimento, foram divididos em 3 repetições de 30 frutos, que tiveram a casca e a polpa separadas. Parte da casca e polpa de cada repetição foi misturada e triturada a fim de obter a massa do fruto inteiro que foi utilizada para as avaliações de pH, sólidos solúveis, amido, acidez titulável, açúcares totais e redutores, pectinas totais e solúveis, e as enzimas pectolíticas. As avaliações físicas e as determinações de pH, sólidos solúveis, acidez titulável, e a coleta gasosa para mensuração de  $\text{CO}_2$  e etileno foram realizadas no mesmo dia da colheita. O restante das amostras que continham casca e polpa trituradas juntas ou frutos inteiros, bem como a casca e a polpa trituradas separadamente foram congelados em freezer a  $-40$  °C. Parte da amostra congelada de cada período avaliado foi enviada ao Laboratório de Pós-colheita da UNESP-Botucatu, onde foram realizadas as análises de amido, açúcares totais e redutores, pectinas totais e solúveis, enzimas pectolíticas e a

mensuração de CO<sub>2</sub> e etileno nas amostras gasosas coletadas. A outra parte das amostras congeladas foram liofilizadas a 200 µmmHg e a temperatura de – 40 °C e armazenadas em freezer para conservar as características até serem realizadas as demais análises químicas. As análises dos compostos funcionais como ácido ascórbico, fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método ORAC e DPPH foram realizadas no Plant Bioactive & Bioprocessing Research Laboratory TAMU/USA. As quantificações de flavonóides, antocianinas e carotenoides foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia e Química Fina da UFRR. Essas análises de componentes funcionais foram realizadas na casca, polpa e fruto inteiro liofilizados gerando um esquema fatorial para essas variáveis.

## **4.2. MÉTODOS**

### **4.2.1. Características físicas**

#### **4.2.1.1. Massa Fresca (g)**

Determinada através da pesagem de 10 frutos por repetição, dividindo-se a massa total pelo número de frutos, obtendo-se assim a massa fresca individual.

#### **4.2.1.2. Diâmetro equatorial e polar (mm)**

Para as medições foi utilizado um paquímetro digital, realizada em 10 frutos por repetição. A mensuração do diâmetro equatorial foi medida no sentido horizontal do fruto. O diâmetro polar foi medido no sentido vertical do fruto, a partir dos pólos, tomando-se como base a localização de inserção do pedúnculo.

## **4.2.2. Características fisiológicas**

### **4.2.2.1. Produção de CO<sub>2</sub> e etileno**

Foram acondicionados 10 frutos com massa média de  $92 \pm 35,54$  g (aproximadamente 0,1k g por repetição) em recipientes herméticos com capacidade unitária de 1 L, durante 1 hora, a  $22 \pm 1$  °C. Passado esse período, foram coletados, com auxílio de uma seringa hipodérmica, 5mL da atmosfera gasosa de cada recipiente (tratamentos) para dosagem de etileno e CO<sub>2</sub>. As concentrações de etileno foram quantificadas por cromatografia gasosa, utilizando cromatógrafo a gás marca Varian®, modelo 3300, equipado com uma coluna de aço inox 1/8", preparado com Porapak® N e detetor de ionização de chama. Já a concentração de CO<sub>2</sub> foi quantificada em cromatógrafo Shimadzu® CR 950, equipado com sistema de detecção por condutividade térmica. Utilizaram-se como padrões soluções de etileno e CO<sub>2</sub> a 100ppm e 5%, respectivamente, para cada um dos gases. Os resultados foram expressos em mL de CO<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> e µL de etileno.kg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>.

## **4.2.3. Características físico-químicas**

### **4.2.3.1. pH**

O potencial hidrogeniônico foi determinado diretamente por potenciômetro previamente calibrado com soluções tampões de pH 7,0 e 4,0, de acordo com a temperatura dos padrões e amostras (IAL, 2008).

#### **4.2.3.2. Sólidos solúveis**

Os valores de sólidos solúveis foram determinados por refratometria, utilizando um refratômetro portátil com correção de temperatura, utilizando uma gota de suco puro em cada replicação das 3 repetições que continham 30 frutos. O resultado foi expresso em °Brix (IAL, 2008).

#### **4.2.3.3. Relação sólidos solúveis (SS) e acidez titulável (AT)**

A relação SS/AT foi determinada através da relação entre os teores de sólidos solúveis e de acidez titulável.

#### **4.2.4. Características químicas**

##### **4.2.4.1. Acidez titulável**

A acidez titulável foi determinada por meio da diluição de 10 mL de suco puro em 100 mL de água destilada e titulação com NaOH a 0,1 M para pH 8,1. O resultado foi expresso em g de ácido cítrico em 100 g de polpa (IAL, 2008).

##### **4.2.4.2. Açúcares totais e redutores**

Os açúcares totais e redutores foram determinados segundo a metodologia de Nelson (1944) e os resultados expressos em mg de glicose  $100\text{g}^{-1}$  de polpa.

#### **4.2.4.3. Amido**

Pesou-se 1,0 g de amostra, previamente seca em erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se a essa 50 mL de ácido clorídrico (HCl) a 1M (8,5 mL de HCl em 1 litro de água destilada). Os erlenmeyers foram fechados com tampão de algodão envolvido por filme plástico auto-aderente. Os frascos contendo as amostras foram colocados em recipiente plástico para microondas com água no fundo suficiente para evitar secar. Os erlenmeyers permaneceram em microondas durante 20 minutos na potência máxima. Após esse período, o amido se transformou em açúcares e algumas gotas foram retiradas para o teste com Lugol (Iodo em iodeto de potássio) - tornando amarela a solução. A seguir, a amostra foi neutralizada com NaOH 10% (100 g NaOH/L de água) usando 3 gotas de fenolfetaleína como indicador até que a coloração da solução ficasse rósea. Os resultados foram expressos em mg de glicose. $100\text{g}^{-1}$  de polpa.

#### **4.2.4.4. Pectina total e solúvel**

Foram extraídas seguindo a técnica de McCready e McCoomb (1952) e determinadas colorimetricamente pela reação com carbazol, segundo técnica de Bitter e Muir (1962). Os teores de pectina total e solúvel foram expressos em porcentagem (%) de ácido galacturônico $100\text{g}^{-1}$  de polpa.

#### **4.2.4.5. Pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG)**

A pectinametilesterase (PME) foi determinada segundo Jen e Robinson (1984) onde, analisou-se a capacidade da enzima em catalisar a desmetilação de pectina correspondente a 1  $\mu\text{mol}$  de NaOH por minuto nas condições de ensaio. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de NaOH.g-1.min-1; a enzima poligalacturonase (PG), foi determinada segundo Pressey e Avants (1973) onde, analisou-se a capacidade da enzima em catalisar a formação de 1  $\mu\text{mol}$  de açúcar redutor por minuto por grama. Os resultados foram expressos em U.A.E. g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>.

#### 4.2.4.6. Vitamina C

A análise de HPLC foi realizada para determinação da vitamina C (ácido ascórbico) em um aparelho Shimadzu categoria de sistema LC VP HPLC system, uma bomba (LC-6AD), e um detector UV-VIS (SPD-10AV VP). A coluna utilizada foi YMC-Pack ODS (250 mm x 4,6 mm, ID 5 mm). As fases móveis foram ajustadas com água de pH 3 acidificadas com ácido fosfórico. A separação foi realizada por eluição isocrática com fluxo de 0,4 mL.min<sup>-1</sup> estando a coluna à temperatura ambiente. O detector UV foi fixado em 254 nm. A quantificação foi baseada na medição da área do pico. Os resultados foram expressos em mg.100 mL<sup>-1</sup> de polpa e casca. Uma amostra (10 g) foi extraída em 10 mL de água ajustado para pH 1,5 com 10 mL de ácido fosfórico em água (2%,v/v). Os extratos foram filtrados em papel filtro. Após, 1,5 mL de tampão (0,01 MKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 8,0) foi adicionado a 1,5 mL do extrato da amostra. A partir daí, 1,0 mL dessas misturas foram carregadas em cartuchos de C18. Após o carregamento, 3 mL de água ajustada para pH 1,5 com 2 mL de água-ácido fosfórico (2%, v /v) foram passados através dos cartuchos e 20 mL de eluentes foram injetados no HPLC. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico.100 g<sup>-1</sup> de amostra em base seca (b.s.).

#### 4.2.4.7. Teor de Carotenoides Totais

Para extração de carotenoides foram pesadas 0,2 g de amostras da polpa e casca liofilizadas correspondente a cada período de avaliação, e foram colocadas em tubos de ensaio cobertos com papel alumínio, onde se adicionou 10 mL da solução extratora de hexano-acetona (6:4). Os extratos foram agitados no agitador de tubos por 1 minuto. Em seguida, esperou-se 9 minutos, e os extratos foram filtrados em algodão procedendo-se imediatamente a leitura em triplicata em espectrofotômetro a 450 nm. Foi utilizado  $\beta$ - caroteno como padrão para confecção da curva de calibração. Os resultados foram expressos em mg de  $\beta$ - caroteno.  $100 \text{ g de amostra}^{-1}$  em base seca (b.s.).

#### **4.2.4.8. Teor de Flavonas e Flavonóis**

Para extração de flavonas e flavonóis pesou-se 0,5 g da polpa ou casca liofilizada correspondente a cada período de avaliação em um béquer, onde foram acrescentados 20 ml de metanol que foram misturados com auxílio de um bastão de vidro. Em seguida, os extratos foram transferidos para tubos de ensaio e foram agitados em agitador de tubos por 1 min, sendo posteriormente embalados com papel alumínio e armazenados no refrigerador. Após 24 horas, 3 ml de cada extrato foram retirados e colocados em tubos de ensaio, onde foram acrescentados de 2 ml de cloreto de alumínio a 5% e homogeneizados e deixados em repouso por 30 min. Após o repouso foi realizada a leitura em triplicada em espectrofotômetro a 441 nm, onde foi feito um branco para cada amostra constituído de 3 ml do extrato de cada amostra acrescentados de 2 ml de metanol e sem a adição de cloreto de alumínio 5%. A quercetina foi utilizada como padrão para a curva de calibração e o conteúdo de flavonas e flavonóis foram expressos em mg de quercetina.  $100 \text{ g de amostra}^{-1}$  da polpa ou casca em base seca (b.s.).

#### **4.2.4.9. Teor de Antocianinas Totais**

Para a determinação de antocianinas totais utilizou-se a metodologia de Francis (1982), onde para extração corrigiu-se a massa das amostras para 0,2 g da polpa ou casca liofilizada correspondente a cada período de avaliação em um béquer. Após, adiciono-se 6 mL de solução extratora de etanol 95%+HCl 1,5N (85:15). O extrato da amostra foi transferido para um balão de 10 mL, também corrigidos, completando-se o volume com a solução extratora. Em seguida, esse material foi transferido para tubos de ensaio, e foram agitados em agitador de tubos e envoltos com papel alumínio e armazenados no refrigerador. Após 24 horas os extratos das amostras foram filtrados e imediatamente submetidos à leitura em triplicata em espectrofotômetro a 535 nm. Os resultados foram expressos em  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  de amostra em base seca (b.s.) e calculados por meio da fórmula: fator de diluição x absorvância/98,2.

#### **4.2.4.10. Teor de Fenólicos Totais**

Fenólicos totais foram determinados pelo método espectrofotômetro utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (Merck), seguindo metodologia por Wettasinghe e Shahidi (1999) e curva padrão de ácido gálico. Os resultados foram expressos em  $\text{mg}$  de ácido gálico. $100 \text{ g}^{-1}$  de amostra.

#### **4.2.5. Atividade antioxidante**

##### **4.2.5.1. ORAC (Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio)**

Atividade antioxidante pelo método ORAC foi realizada de acordo com a metodologia de Ou *et al.* (2001) adaptado por Huang *et al.* (2002), utilizado em microplacas com fluoresceína. A análise foi realizada em microplacas de 96 poços (HT Synergy Multi-Modo Leitora, Biotek Industries, EUA). Um volume de 25  $\mu\text{L}$  da

amostra foi misturada com 150 mL de fluoresceína (55,5 nm) e incubados por 15 minutos a 37 °C nanomicroplacas antes da injeção automática de 25 µL da solução AAPH (155mm). A fluorescência foi observada por 50 minutos por leitura ( $\lambda$  excitement= 485 nm;  $\lambda$  emission= 520 nm). Soluções de Trolox foram preparadas para curva de calibração (8, 16, 24, 32 e 40 M). Todas as soluções foram diluídas em tampão fosfato (75 mM, pH 7,4). As amostras foram analisadas em três diluições tomando como média o valor final ORAC como recomendado por Huang *et al.* (2002). A quantificação da atividade antioxidante foi baseada no cálculo da área sob a curva de fluorescência como proposto por Prior *et al.* (2003). Os resultados foram expressos em mmol Trolox.100 g Eq<sup>-1</sup> de amostra.

#### **4.2.5.2. DPPH (radical 1,1-difenil-2- picrilhidrazila)**

Atividade antioxidante pelo método DPPH foi realizado de acordo com Brand-williams (1995) com algumas modificações. A análise foi realizada em microplacas de 96 poços (HT Synergy Multi-Modo Leitora, Biotex Industries, EUA) e a redução da absorvância a 517 nm foi monitorada a cada 5 minutos até que a reação atingiu um platô. As determinações foram realizadas adicionando a cada poço da microplaca 250 µL da solução de DPPH e metanol 40 µL para o controle, ou o mesmo volume para as soluções padrão (BHA, BHT, ácido ascórbico, ácido clorogênico e quercetina) extratos da amostra. Leituras de absorção foram feitas depois de 25 minutos de reação em espectrofotômetro de microplaca com incubação a 25 ° C. As análises foram realizadas em triplicata. O DPPH remanescente no final da reação foi determinado e quantificado como a atividade radical DPPH usando uma curva padrão de Trolox. O método DPPH antioxidante foi expresso em mmol Trolox Eq.100 g<sup>-1</sup> de amostra.

### **4.3. Análise estatística**

O delineamento foi inteiramente casualizado e com esquema fatorial somente para as análises vitamina C, fenólicos totais e atividade antioxidante (7 x

3) e carotenoides totais, flavonóides totais, antocianinas totais (7 x 2). Foram utilizadas 3 repetições de 10 frutos cada para as análises físicas e de 30 frutos para as análises químicas. Foi realizado ajustamento de modelos de regressão com aplicação do teste estatístico F ao nível de 5 % de probabilidade para medir a significância do modelo proposto. Todas as análises estatísticas foram feitas no programa SISVAR-UFLA versão 5.1.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Massa fresca dos frutos e diâmetro polar e equatorial

O desenvolvimento do camu-camu em habitat natural compreendeu 102 dias do pleno florescimento ao amadurecimento. Durante esse período acúmulo de massa fresca dos frutos de camu-camu foi crescente no período compreendido entre 53 e 81 dias após a antese (DAA) período no qual obteve massa máxima de 12,00 g apresentando, a partir daí, perdas de massa fresca nos períodos subsequentes (Figura 2). O desenvolvimento caracterizou-se por rápido crescimento inicial até os 60 DAA, quando acumulou o triplo da massa do período anterior, que foi de 2,11 g (53 DAA), passando a apresentar 6,89 g de massa fresca. Esses resultados correspondem a taxa de  $683,00 \text{ mg.dia}^{-1}$ .

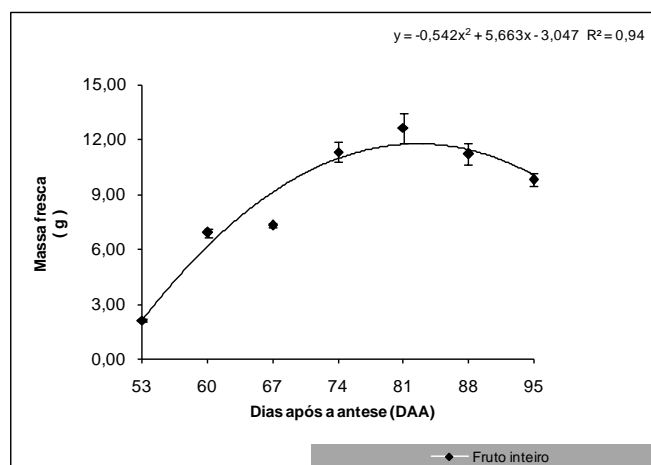


Figura 2 - Massa fresca (g) de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 95 DAA.

Nesses 2 períodos iniciais de avaliação os frutos ainda apresentavam coloração verde, correspondendo ao estágio imaturo dos frutos (Tabela 2). Nos

períodos seguintes de 67 a 81 DAA, onde também se observou o início da pigmentação vermelha da casca, o acúmulo de massa continuou, porém, em menor proporção. O que caracterizou desaceleração da taxa de crescimento dos frutos até os 81 DAA, quando os frutos apresentaram máxima massa fresca, além de cascas 50% vermelhas (Tabela 2 e Figura 1). Representando o alcance da maturação fisiológica aos 81 DAA.

Tabela 2 - Cor da casca dos frutos de camu-camu durante o desenvolvimento.

Dias após a antese (DAA)	Cor da casca
53 DAA	100% verdes
60 DAA	100% verdes
67 DAA	90% verdes com leve coloração vermelha do lado exposto ao sol
74 DAA	75% verdes com aumento da coloração vermelha do lado exposto ao sol
81 DAA	50% verdes e 50 % vermelhas do lado exposto do sol
88 DAA	85% vermelhas com pequena mancha verde clara do lado não exposto ao sol
95 DAA	100% vermelhas
102 DAA	100% vermelhas escuras a arroxeadas

Após esse período de paralisação do crescimento (81 DAA), observaram-se decréscimos na massa dos frutos a partir dos 88 DAA. Fato que ocorreu em consequência das perdas de água para atmosfera devido à forte insolação e alta demanda evaporativa que predominam na região Amazônica, além do avanço do amadurecimento e início da senescência. Esse comportamento também foi observado em Mangas 'Haden' que apresentaram máxima massa fresca aos 55 dias após a floração (DAF) (em um ciclo de 15 a 73 DAF) e apresentaram decréscimo na massa fresca após esse período, associada à redução do conteúdo de água do fruto (CASTRO NETO; REINHARDT, 2003). O mesmo foi observado em frutos de café 'Obatã' que apresentaram perda de massa e diminuição do volume logo após a finalização do crescimento também em função da perda de água (CUNHA; VOLPE, 2011). Aos 88 DAA, os frutos apresentaram aumento da coloração vermelha (85% vermelha) até a coloração roxa (100% roxa) aos 102 DAA, caracterizando o amadurecimento e início da senescência.

Sendo essa a etapa representada pela coloração arroxeada, quase preta com certo grau de desidratação e murchamento das cascas (YUYAMA *et al.*, 2002).

Assim como o acúmulo de massa fresca, os diâmetros equatoriais e polares dos frutos de camu-camu foram crescentes até os 81DAA, período após o qual decresceram (Figura 3). Sendo o crescimento dos diâmetros proporcional ao ganho de massa dos frutos, pois também apresentou maior velocidade de crescimento no período inicial de avaliação com subsequente desaceleração na taxa de crescimento e estabilização do crescimento aos 81DAA.

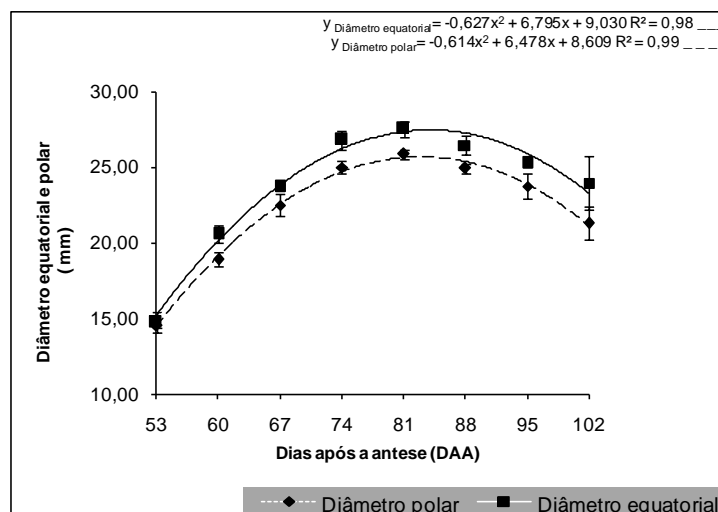


Figura 3 - Evolução do diâmetro equatorial e polar (mm) de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA.

Assim, o máximo tamanho externo dos frutos de camu-camu correspondeu ao ganho máximo de massa fresca. Tal resultado ocorreu, provavelmente, devido à predominância da expansão celular nesse período em detrimento da divisão, pois a divisão celular cessa gradualmente durante a antese, ao passo que a expansão celular inicia-se e torna-se responsável pela última parte do aumento de volume do fruto. Portanto, o crescimento do fruto é marcado, principalmente, pelo aumento do volume das células, embora a divisão celular também continue, existindo grande variação entre as espécies (TANKSLEY, 2004).

Visualizando o gráfico observa-se que ambos os diâmetros apresentaram igual comportamento de crescimento, porém o diâmetro equatorial excedeu o crescimento do diâmetro polar ao longo do desenvolvimento e maturação dos frutos, indicando que a largura é maior que o comprimento, característica que define um formato subgloboso. Esse formato também foi constatado por Alves *et al.* (2002) em frutos oriundos da estação experimental da Embrapa Amazônia Oriental, que apresentaram diâmetro equatorial médio na ordem de 22,31 a 23,06 mm e diâmetro polar médio de aproximadamente 21,44 a 22,11 mm no estágio totalmente verde e totalmente vermelho, respectivamente. O diâmetro equatorial dos frutos no presente estudo também se mostrou superior ao diâmetro equatorial dos frutos de Mirandópolis e de Iguape (São Paulo) com 21,7 e 24 mm (ZANATTA, 2004) 22,31 a 23,06 mm demonstrando que mesmo adaptado as outras regiões as características edafoclimáticas da Amazônia favorecem o crescimento e maior rendimento dos frutos de camu-camu.

## 5.2. Respiração e etileno

A respiração dos frutos de camu-camu foi decrescente ao longo do desenvolvimento dos frutos (Figura 4). Observou-se que os primeiros períodos de avaliação, 53, 60 e 67 DAA, corresponderam ao período de maior produção de CO<sub>2</sub>, devido ao intenso metabolismo gerado pelo desenvolvimento inicial do fruto. Decréscimos constantes na produção de CO<sub>2</sub> foram observados nos períodos subsequentes, não sendo detectado qualquer pico respiratório. Esse comportamento respiratório permite classificar os frutos de camu-camu como não-climatéricos, pois não apresentam pico respiratório antes ou durante o amadurecimento (NEVES, 2009).

De acordo com a taxa respiratória do camu-camu, observou-se valores médios de 10,00 a 20,00 mg.CO<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, considerada mediana segundo Kader (2002). A partir dos 95 DAA, os frutos apresentaram diminuição na produção de CO<sub>2</sub>, chegando a menos de 5,00 mg.CO<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, dado, possivelmente, ao início

do período de senescência, classificando-se como taxa respiratória muito baixa nesse período final.

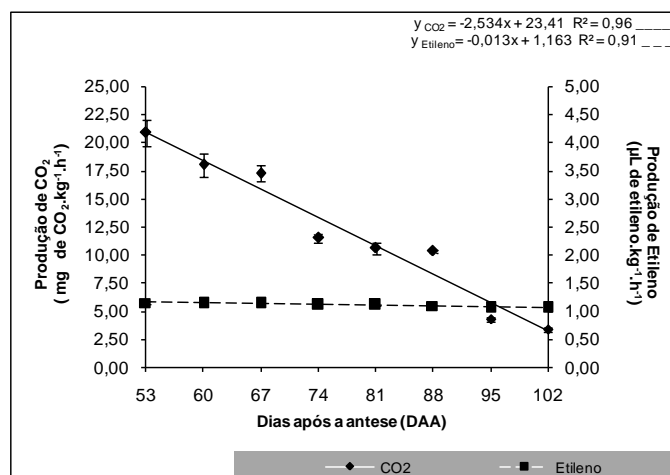


Figura 4 - Produção de CO<sub>2</sub> e etileno de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA.

Outro fator que caracterizou o padrão não-climatérico dos frutos de camu-camu foi o da baixa e pequena variação na produção de etileno durante o desenvolvimento e maturação dos frutos (Figura 4). Esses dados corroboram com Bardales *et al.*(2008) onde o camu-camu apresentou moderada taxa respiratória sem detecção de pico climatérico ou respiratório e sem detecção do etileno durante o desenvolvimento, considerando o padrão respiratório do camu-camu de acordo com outras espécies mirtáceas não-climatéricas. Wills *et al.* (1998) afirmam que nos frutos não climatéricos a respiração diminui durante o amadurecimento e as transformações bioquímicas que tornam o fruto maduro ocorrem de forma mais lenta. O amadurecimento só ocorre se o fruto estiver aderido à planta, diferentemente dos frutos climatéricos que possuem a capacidade de amadurecer mesmo após a colheita. Assim, os frutos de camu-camu necessitam ficar presos à planta até a maturação desejada para a colheita.

### 5.3. Acidez titulável (AT), pH, sólidos solúveis(SS) e relação SS/AT

Os frutos de camu-camu apresentaram decréscimos da acidez titulável até os 88 DAA, alcançando o valor mínimo de 2,28 g de ácido cítrico.100 g<sup>-1</sup>, com leve incremento, porém não significativo, nas duas últimas colheitas, ocorridas aos 95 e 102 DAA (Figura 5 A). Esses decréscimos ocorreram devido ao uso dos ácidos orgânicos na respiração, mesmo sendo realizada em níveis basais. O teor desses ácidos tende a diminuir durante o processo de maturação devido à oxidação dos ácidos no ciclo dos ácidos tricarbóxicos em decorrência da respiração (NEVES, 2009). Além disso, a diminuição do teor de ácidos orgânicos pode ter ocorrido devido à diluição desses ácidos em consequência ao crescimento do fruto. O pequeno aumento nos 2 últimos períodos avaliados (95 e 102 DAA), ocorreu como resultado da perda de umidade dos frutos, que concentrou os ácidos presentes. Esse comportamento corrobora com o observado em frutos totalmente verdes e totalmente vermelhos de camu-camu (ALVES *et al.*, 2002) que apresentaram maior conteúdo de AT nos frutos verdes e menor conteúdo de AT nos frutos vermelhos, demonstrando a redução no teor de ácidos orgânicos no decorrer do desenvolvimento dos frutos de camu-camu.

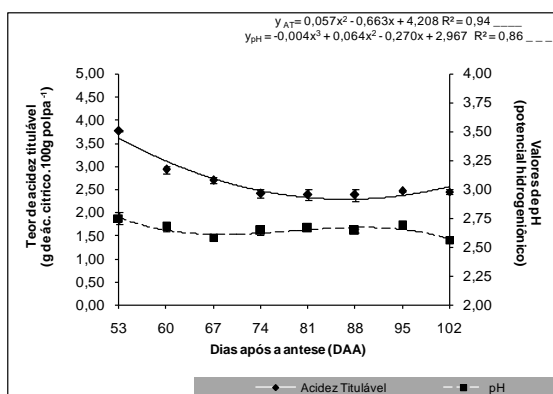


Figura (5A)

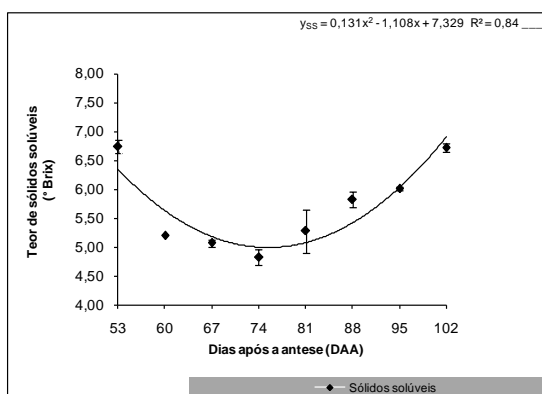


Figura (5B)

Figura 5 - (5A) Evolução dos teores de Acidez titulável e pH; e (5B) de Sólidos solúveis de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA.

No entanto, o pH apresentou pouca variação no decorrer do crescimento, correspondendo a variação da acidez titulável somente nas últimas 3 colheitas em consequência da perda de massa fresca que concentrou os ácidos orgânicos presentes, observado pela pequena elevação da AT, resultando na redução do pH e em frutos mais ácidos (Figura 5 A). Andrade (1991) também observou reduzida variação do pH durante a maturação do camu-camu em sequeiro e ajuste cúbico para sua equação. Segundo esse mesmo autor, o fruto possui ação tamponante que resulta em pequena variação do pH, independente das mudanças na acidez. Alves *et al.* (2002) também não observaram diferença significativa no pH entre frutos totalmente verdes e totalmente vermelhos. Em contrapartida, frutos de jabuticaba, pertencentes à mesma família botânica, apresentaram tendência a elevação do pH durante o desenvolvimento e maturação, o que contribui para frutos menos ácidos para o consumo (ARAÚJO *et al.*, 2010), mostrando diferente comportamento entre espécies da mesma família.

O teor de sólidos solúveis apresentou decréscimos até os 74 DAA chegando ao valor mínimo de 5,00 °Brix, com subseqüentes acréscimos a partir de 81 DAA, alcançando 6,71°Brix aos 102 DAA (Figura 5B). Os decréscimos na primeira fase de desenvolvimento dos frutos ocorreram em consequência ao uso dos açúcares translocados ao fruto na formação de polissacarídeos estruturais (ROSSETTO *et al.*, 2004). Já o acréscimo nos sólidos solúveis a partir dos 81 DAA foi resultado dos incrementos nos teores de açúcares redutores a partir do período anterior (74DAA), como resultado do início da fase de maturação, uma vez que em frutos os açúcares são quantitativamente os principais componentes dos sólidos solúveis (NEVES, 2009). Entretanto os ácidos orgânicos, no caso do camu-camu, também contribuem para a elevação dos SS (ALVES *et al.*, 2002). Com isso, a elevação da acidez titulável nos 2 últimos períodos avaliados, também podem ter contribuído para a elevação dos SS. Acerolas também apresentaram queda nos teores de sólidos solúveis até o 11° dia após a antese (ciclo de desenvolvimento até 25 DAA), com incrementos nos dias subseqüentes (MARANHÃO, 2010). Por outro lado, ao avaliar pontos extremos do desenvolvimento de frutos de camu-camu, Alves *et al.* (2002) não observaram diferenças significativas no teor de SS entre frutos totalmente verdes e totalmente vermelhos.

O período de incremento no teor de SS correspondeu ao período em que os frutos começaram a apresentar a casca totalmente vermelha evidenciando o início do amadurecimento. Nesse sentido, a partir dos 81DAA, final da maturação e início do amadurecimento, o crescente teor de SS foi significativamente diferente entre os períodos de colheita subsequentes. Segundo o comportamento aqui observado, pode-se inferir que os SS podem ser usados como um dos parâmetros que estimam o grau de maturidade do camu-camu durante o amadurecimento. Alguns frutos não-climatéricos, como goiabas 'Paluma' e 'Kumagai' (CAVALINI, 2004), e goiabas 'Pedro Sato' (AZZOLINI, 2004), não apresentaram o mesmo comportamento durante a maturação, descartando para esses frutos o uso do teor de SS como índice de maturidade.

Em função da evolução inversa dos SS e da AT durante a maturação a relação SS/AT apresentou crescimento linear positivo (Figura 6). Essa relação é importante atributo qualitativo, uma vez que indica o sabor inerente ao produto, o qual é resultado da contribuição dos componentes responsáveis pela acidez e doçura (CHITARRA; CHITARRA, 2005), sendo considerado índice indicativo do estágio de maturação e do grau de doçura do fruto. Stenzel *et al.* (2006) também obtiveram ajuste de regressão linear positivo para a relação SS/AT em frutos de laranjeira 'Folha Murcha' enxertadas em diferentes variedades de cavalo e avaliados em duas regiões. Assim, a relação SS/AT também pode ser adotada como parâmetro na avaliação do grau de maturação do camu-camu. Porém, o aumento da relação SS/AT não significou o aumento do grau de doçura dos frutos, pois os valores que variaram de 1,79 aos 53DAA a 2,75 aos 102 DAA são considerados baixos em relação a outras frutas como goiabas 'Paluma' que apresentaram variação de SS/AT de 9,88 a 17,66 (CAVALINI, 2004); e uvas 'Dixie' que variaram de 0,51 a 6,88 ao longo da maturação (SACHI; BIASI, 2008), confirmando seu sabor ácido mesmo quando maturo. Fator que limita seu consumo *in natura*, mas que promove alta diluição, e conseqüentemente maior rendimento dos frutos, no processamento de derivados como doces, sucos, sorvetes etc. favorecendo a agregação de valor.

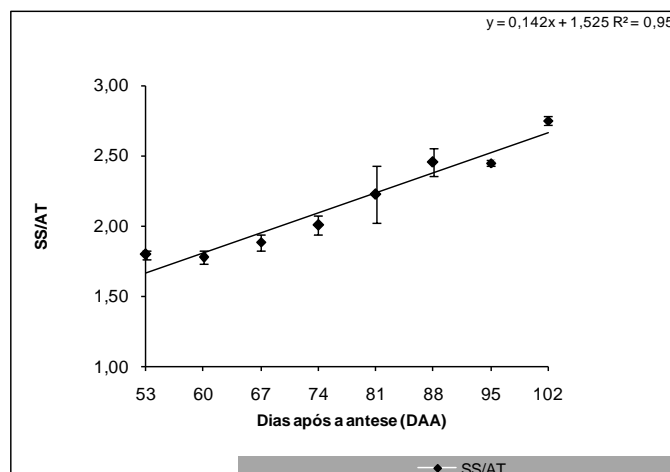


Figura 6 - Relação sólidos solúveis e acidez titulável (SS/AT) de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA

#### 5.4. Açúcares totais, açúcares redutores e amido

Os açúcares totais e redutores aumentaram durante o desenvolvimento do camu-camu com acúmulo mais significativo para os açúcares redutores (Figura 7 A). A elevação de açúcares totais e redutores coincidiram com o acúmulo em massa fresca e diâmetro dos frutos. Porém, o aumento na concentração de açúcares totais se deu até os 88 DAA, onde alcançaram teores máximos de 1,68 mg de glicose.100 g<sup>-1</sup>, com subsequente decréscimo, como consequência da quebra e utilização desses açúcares no processo de amadurecimento. A elevação dos açúcares totais do estágio verde ao totalmente vermelho também foi observada por Alves *et al.* (2002) em camu-camu. Como consequência da quebra dos açúcares observou-se também o aumento crescente dos açúcares redutores, que apresentaram teores máximos de 0,95 mg de glicose.100 g<sup>-1</sup> aos 102 DAA. Sendo esse considerado o período de avaliação que representou o máximo amadurecimento e, supostamente, o início da senescência dos frutos. O conteúdo de açúcares totais e redutores também apresentou acréscimos durante 9 estádios de desenvolvimento de acerolas 'Okinawa', apresentando conteúdos máximos no último período do desenvolvimento, representando também o máximo

amadurecimento. (MARANHÃO, 2010). Já jabuticabas apresentaram valores máximos de açúcares totais e redutores aos 55 DAA, período que correspondeu ao período de amadurecimento dos frutos, porém com decréscimos nos períodos subsequentes devido à utilização no processo respiratório (CORRÊA *et al.*, 2007). Fato não observado no camu-camu devido à decrescente e baixa atividade respiratória nos períodos finais do amadurecimento.

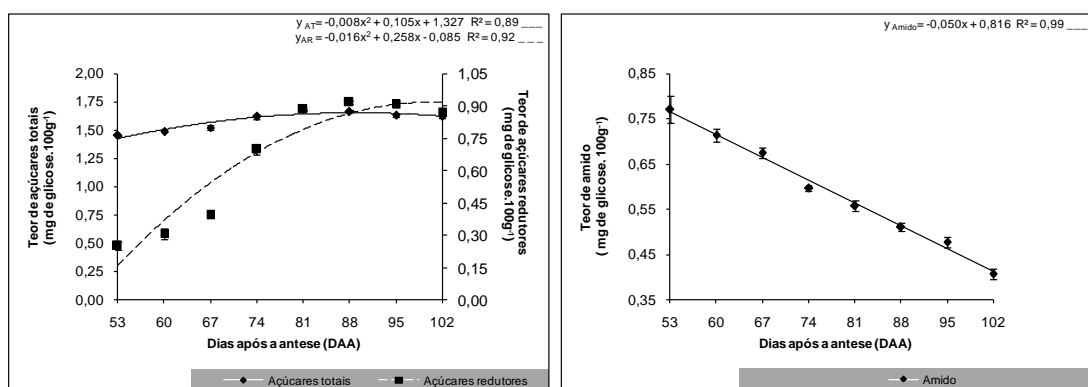


Figura (7 A)

Figura (7B)

Figura 7 - Evolução dos açúcares totais e redutores (7 A) e amido (7 B) de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA.

O comportamento dos açúcares indicou ainda período de taxas reduzidas de síntese, principalmente para os açúcares redutores, que correspondeu aos períodos iniciais de desenvolvimento dos frutos até os 67 DAA. Os acréscimos mais pronunciados nas colheitas subsequentes são inversamente proporcionais ao teor de amido que apresentaram constante decréscimo (Figura 7B). Alves *et al.* (2002) também observaram redução do teor de amido em frutos maduros de camu-camu. Em jabuticabas, o teor de amido também foi decrescente desde o início do período de avaliação aos 25 DAA até 50 DAA em contraposição aos incrementos nos teores de açúcares totais e redutores (ARAÚJO *et al.*, 2010). Nesse sentido, entende-se que a frutose e a glicose, açúcares redutores, são originadas da degradação da sacarose e dos polissacarídeos de reserva como o amido (NEVES, 2009). Assim, quanto menor o teor de amido e maior o teor de

açúcares redutores, mais avançado se encontrará o amadurecimento dos frutos. Entretanto, apesar de o teor de açúcares redutores aumentar durante o desenvolvimento dos frutos a partir dos 81DAA, ele manteve-se alto, porém, com pouca variação até os 102 DAA, diferente do conteúdo de amido. Portanto, o teor de amido pode ser usado como parâmetro para estimar o grau de maturidade o camu-camu durante o amadurecimento.

### **5.5. Pectinas totais e solúveis e enzimas pectolíticas**

Outro fator que pode ter contribuído para a evolução dos açúcares redutores é a degradação de polissacarídeos da parede celular avaliados pelos teores de pectinas totais e solúveis (Figura 8 A). O comportamento da pectina total foi linear e decrescente, demonstrando que as primeiras colheitas experimentais (53, 60 e 67 DAA), corresponderam ao crescimento físico dos frutos, e caracterizaram-se como fase de síntese, pois nessas fases o teor de pectina total tendeu a ser mais elevado, sendo responsáveis pela textura mais firme do fruto. Observou-se subsequente despolimerização e consequente solubilização das pectinas nas colheitas seguintes, dado ao constante decréscimo das pectinas totais e elevação, porém não pronunciada, das pectinas solúveis (Figura 8 A). A elevação dos teores de pectinas solúveis indicou a solubilização das substâncias pécticas da parede celular, o que levou ao amaciamento do fruto, fato esse também observado por Araújo *et al.* (2010). Alves *et al.* (2002) também observaram decréscimos das pectinas totais e tendência não significativa do aumento das pectinas solúveis do estágio totalmente verde a totalmente vermelho em camu-camu. Segundo Araújo *et al.* (2010), jabuticabas também apresentaram tendência de aumento no teor de pectinas solúveis tanto na polpa quanto na casca, resultando em teores mais elevados para essa última fração. Essa evolução das pectinas contribuiu para modificações na textura (amolecimento) dos frutos de camu-camu a partir dos 74 DAA, período correspondente ao início da maturação.

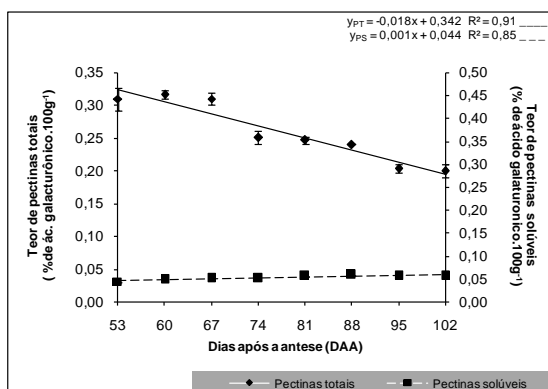


Figura (8 A)

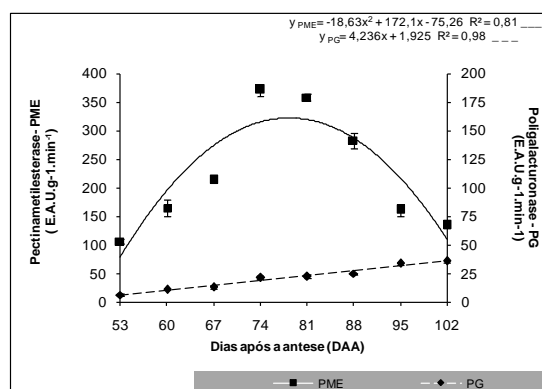


Figura (8 B).

Figura 8 - Evolução das pectinas totais e solúveis (8 A) e da atividade das enzimas pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG) (8 B) de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA.

A despolimerização mais acentuada aconteceu a partir dos 74 DAA, período em que se observou a maior atividade da enzima pectinametilesterase (PME) e início de maior atividade da enzima poligalacturonase (PG), correspondendo ao início do processo de degradação das paredes celulares e consequente mudança textural dos tecidos do fruto (Figura 8 B). Resultado esse que confirma o início do processo de maturação do camu-camu, e confirmado pelo início da pigmentação dos frutos (Tabela 2). Após esse período observou-se decréscimos constantes da atividade da enzima PME e incrementos na atividade da enzima PG até os 102 DAA. Esse padrão caracteriza a ação de desmetilação dos polímeros de ácido galacturônico, inicialmente desencadeada pela PME, com subsequente ação de quebra desses polímeros pela ação final da PG. A atividade das enzimas PME e PG neste trabalho foram semelhantes aos encontrados por Alves *et al.* (2002) onde a atividade da PME também foi significativamente superior a PG nos frutos verdes, enquanto que a atividade da PG foi mais pronunciada nos frutos vermelhos, nitidamente mais maduros. Essas mudanças na solubilidade das pectinas em decorrência da despolimerização das cadeias por enzimas específicas, durante a maturação e o amadurecimento, refletem em modificações na textura dos frutos maduros.

## 5.6. Vitamina C

O camu-camu apresentou acúmulo significativo de vitamina C, tanto na polpa quanto na casca e polpa+casca (Figura 9). Os dados obtidos mostraram o acúmulo de ácido ascórbico e também o aumento da velocidade de síntese durante a fase de maturação, onde os frutos alcançaram o tamanho máximo, e início do amadurecimento, quando começam a predominar reações bioquímicas que resultam em mudanças nos componentes dos frutos, tornando-os comestíveis. As maiores atividades de síntese ocorreram aos 88 DAA, início do amadurecimento, quando acumularam o maior conteúdo de ácido ascórbico com 4752,23; 5178,49 e 5084,70 mg de ácido ascórbico.100 g de amostra<sup>-1</sup> na polpa, casca e polpa+casca, respectivamente. Nas colheitas subsequentes observou-se decréscimos no conteúdo de ácido ascórbico para todas as frações analisadas. Dado, supostamente, devido ao início das reações de catabolismo favorecidas pelo amadurecimento dos frutos. Resultados semelhantes foram observados por Villachica (1996) e Vilanueva- Tiburcio *et al.* (2010) em camu-camu.

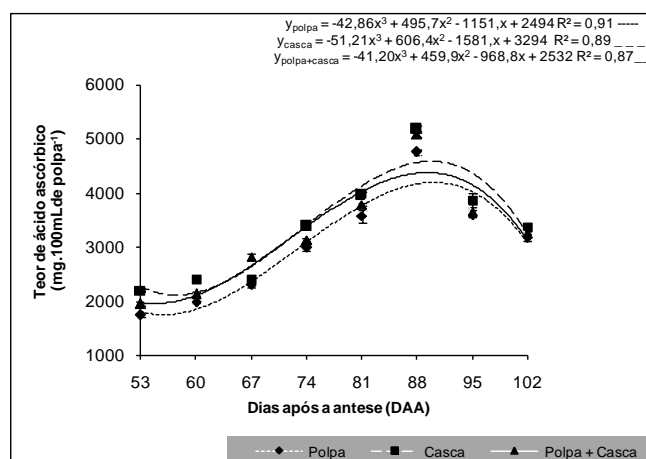


Figura 9 - Evolução do teor de ácido ascórbico na polpa, casca e polpa+casca de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA.

Alguns trabalhos relataram o aumento no conteúdo de ácido ascórbico no decorrer da maturação e amadurecimento dos frutos de camu-camu. Nesse sentido, Zapata (1992) observou aumento de cerca de aproximadamente 12% no conteúdo de ácido ascórbico, estando em 8,64 quando imaturos, e chegando a 9,70 g.kg<sup>-1</sup> de frutos quando completamente maduros, ou totalmente vermelhos. Andrade (1991), ao determinar a variação do conteúdo de vitamina C durante o desenvolvimento e maturação do fruto de camu-camu em 6 estádios de maturação, obteve acúmulo de vitamina C do estágio 3 de maturação até o último estágio. Esse mesmo autor observou que a variação do conteúdo de vitamina C foi de 2.004,66 a 2.605,76 mg.100 g de fruto<sup>-1</sup>. Alves *et al.*(2002) também observaram maior conteúdo de ácido ascórbico em frutos predominantemente vermelhos, apresentando valores de até 2.061,04 mg.100 g de amostra<sup>-1</sup>, em detrimento de 1.910,31 mg.100 g de amostra<sup>-1</sup> nos frutos verdes. Segundo Yuyama (2011) quanto mais vermelhos os frutos de camu-camu maior é o conteúdo de vitamina C. O que não foi observado nos frutos do presente estudo. Esses autores relatam que oposto ao de outros frutos ricos em vitamina C, como a acerola, a vitamina C no camu-camu se apresentou maior nos frutos maduros.

Porém, outros trabalhos relatam a diminuição do teor de ácido ascórbico com o aumento da maturidade de frutos de camu-camu. Chirinos *et al.* (2010) observaram que frutos totalmente verdes apresentaram 2.280,00 mg de ácido ascórbico.100 g de amostra fresca<sup>-1</sup> enquanto que frutos totalmente vermelhos apresentaram 2.010,00 mg de ácido ascórbico.100 g de amostra fresca<sup>-1</sup> em frutos totalmente vermelhos. Smiderle e Souza (2008) observaram que os teores médios de vitamina C obtidos nas análises de amostras de frutos imaturos e maduros foram 2.520,00 e 2.590,00 mg.100 g de amostra<sup>-1</sup>, respectivamente, concluindo que os 2 estádios de maturação não apresentaram diferenças significativas quanto ao teor de vitamina C. Os dados de Zamudio (2007), assim como no presente estudo determinados por HPLC, tanto na casca quanto na polpa de camu-camu, também apontaram para a redução do teor de vitamina C a medida que o fruto amadurecia.

Ao analisar cascas de camu-camu em base seca, Vilanueva- Tiburcio *et al.* (2010) observaram que frutos em estágio intermediário de amadurecimento apresentaram maior conteúdo de ácido ascórbico (53,49 ± 9,40 mg ác.

ascórbico.g<sup>-1</sup> b.s) quando em comparação aos frutos totalmente maduros (16,41 ± 3,64 mg ác. ascórbico.g<sup>-1</sup> b.s.) e totalmente verdes (15,38 ± 5,81 mg ác. ascórbico.g<sup>-1</sup> b.s.). Esses autores observaram que não houve diferença estatística entre os frutos totalmente maduros e os frutos verdes. Os frutos do presente estudo, como citado anteriormente, também apresentaram maior conteúdo de ácido ascórbico na fase intermediária de maturação ou início do amadurecimento, que correspondeu aos 88 DAA, apresentando decréscimos nos períodos subsequentes (Figura 9). Nesse contexto, Villachica (1996) também observou que frutos 100% verdes, 100% maduros e sobremaduros apresentaram 17%, 9% e 20% menos ácido ascórbico que os frutos em estágio de maturação intermediário (75% maduros, baseado na coloração da casca). Esse mesmo autor afirmou que se o fruto for usado para a produção de ácido ascórbico, poderia ser colhido no estágio verde, depois de alcançar a maturidade fisiológica, ou ainda no estágio intermediário de maturidade, quando os teores de vitamina C atingiram o ponto máximo no conteúdo de vitamina C nos frutos de camu-camu.

Dessa forma, a ampla variação do teor de vitamina C descrito na literatura, entre diferentes populações do fruto camu-camu deve-se, em grande parte, às diferenças genéticas. Esse fato foi observado por meio de isoenzimas (esterase e esterase -D), isoladas de plantas de camu-camu oriundas de populações de Iquitos (Peru), Uatumã (Amazonas) e de Boa Vista (Roraima) (TEIXEIRA *et al.*, 2004). Além disso, diferenças nas condições de desenvolvimento da planta e consequentemente do fruto, como as variações edafo-climáticas, também interferem no conteúdo de vitamina C nos frutos (JUSTI *et al.*, 2000). Segundo Zamudio (2007), independente da matriz estudada e do clima da região, a concentração de ácido ascórbico decresce à medida que o fruto vai amadurecendo, sendo esse comportamento atribuído à atuação de enzimas como a ascorbato oxidase, fenolase e citocromo oxidase.

A casca, bem como o fruto inteiro (polpa+casca no mesmo extrato) foram as frações que apresentaram maiores conteúdos de ácido ascórbico, seguidos da polpa durante o desenvolvimento dos frutos de camu-camu (Figura 8). Fato semelhante foi observado por Zamudio (2007), onde a casca de camu-camu apresentou 28% maior teor de ácido ascórbico em relação a polpa, apresentando-se elevada em todos os estágios de maturação analisados. Assim, Pinedo (2002)

argumentou que o aumento de ácido ascórbico na casca é devido à maior exposição dos frutos aos raios solares, que favorecendo assim a fotossíntese, produtora dos carboidratos que são transformados em ácido ascórbico. Nesse sentido, e de acordo com Smirnoff *et al.* (2001), os precursores da vitamina C em plantas são os açúcares D-manose e L-galactose.

### 5.7. Carotenoides totais

No camu-camu visualmente não foi possível detectar a coloração amarela característica dos carotenoides, entretanto, a presença dessa substância foi detectada pela extração de pigmentos lipossolúveis. O teor de carotenoides foi mais evidente na casca em relação a polpa de camu-camu, para qual não foi possível ajustar equação significativa (Figura 10). Em pitangas o teor de carotenoides também foi maior na casca (LIMA *et al.*, 2002). Quanto aos carotenoides presentes na casca de camu-camu, foi observada tendência de decréscimo com o avanço da maturação, apresentando os maiores teores aos 53 DAA, queda a partir dos 60 DAA até os 102 DAA. Andrade (1991) também detectou decréscimo nos teores de carotenoides no decorrer da maturação de frutos de camu-camu produzidos em sequeiro. Diferentemente, acerolas apresentaram decréscimos de carotenoides nos primeiros estádios de maturação e posterior incremento nos estádios finais do amadurecimento (MARANHÃO, 2010). Também em pitangas (*Eugenia uniflora* L.) roxa e vermelha maduras apresentaram teores de carotenoides maiores no estágio semi-maturo ou em estágio intermediário de maturação, confirmando que apesar da coloração característica desse fruto ser devida aos pigmentos antociânicos, o teor de carotenoides totais não diminuiu com o amadurecimento dos frutos (LIMA *et al.*, 2002). Mesmo comportamento observado por Centeno e Neves (2009) em tomates que apresentaram incremento nos níveis de carotenoides do estágio verde (35DAF) ao vermelho maturo (65 DAF).

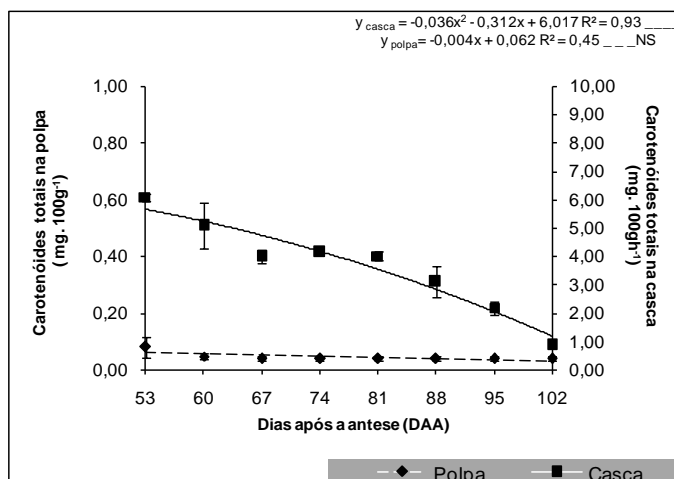


Figura 10 - Evolução do conteúdo de carotenoides totais na polpa e casca de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA.

Assim, os frutos de camu-camu não podem ser considerados, a nível quantitativo, boa fonte de carotenoides quando comparados a pintangas e outros frutos como cajá e maracujá (ZANATTA; MERCADANTE, 2007). Porém, é uma importante fonte de luteína, que foi o principal carotenóide encontrado em frutos de camu-camu provenientes do Sudeste com conteúdo de 45% a 55% dos carotenoides identificados (ZANATTA, 2004). Sendo a luteína um importante antioxidante estudado por possíveis efeitos protetores aos olhos (AMBROSIO *et al.*, 2006).

## 5.8. Antocianina, Flavonas e Flavonóis

O ajuste polinomial foi possível apenas para os valores da casca de camu-camu. Contudo, não foi possível qualquer ajuste significativo para os valores da polpa, tanto para as flavonas, flavonóis e antocianinas (Figura 11 A). Esse comportamento retrata a maior produção e concentração desses flavonoides na casca de camu-camu. Fato confirmado por Maeda *et al.* (2006) que constataram conteúdo de antocianinas de 181,38 mg.100 g<sup>-1</sup> no epicarpo e de apenas 0,14

mg.100 g<sup>-1</sup> no mesocarpo de camu-camu. Fortes (2008) também encontrou elevados teores de antocianinas justamente na casca de jabuticabas. Também em jambolão, a maior concentração de antocianinas foi na casca (SILVA *et al.*, 2007). Lima *et al.*, (2002), quantificando flavonóis em pitanga roxa (casca e polpa) evidenciaram uma maior concentração desse pigmento também na casca. A tendência das antocianinas e das flavonas e flavónois foi aumentar no decorrer da maturação dos frutos, apresentando os maiores teores no último período de colheita dos frutos de camu-camu, variando de 7,37 a 170,00 mg.100 g<sup>-1</sup> b.s. e de 38,96 a 60,75 mg de quercetina.100 g<sup>-1</sup> b.s., respectivamente no decorrer do desenvolvimento até o completo amadurecimento. O incremento desses flavonóides, principalmente das antocianinas, pode ser percebido pela mudança na coloração da casca dos frutos durante o desenvolvimento (Tabela 2). Chirinos *et al.* (2010) detectaram aumento das antocianinas em camu-camu de 65,7 vezes com o amadurecimento, variando de 0,8 a 52,6 mg EAG.100 g<sup>-1</sup>. Em acerola, Maranhão (2010) observou acentuada produção de antocianinas e de flavonóis, na casca, aos 25 DAA (último período de coleta realizado nesse experimento), que correlacionou à coloração púrpura do fruto devido ao amadurecimento. Fortes (2008) também observou acúmulo de antocianinas na casca, polpa e fruto inteiro de jabuticabas no decorrer do período de maturidade dos frutos, onde, quanto mais maturo, maior o teor de antocianinas. As antocianinas (306,00 mg.100 g de amostra<sup>-1</sup> b.s.), seguidas das quercetinas (42,00 mg.100 g de amostra<sup>-1</sup> b.s.), foram os flavonoides majoritários em frutos de camu-camu (GONÇALVES, 2008). Em outros trabalhos também foram detectados elevados teores de antocianinas em camu-camu, que variaram de 42,42 mg.100 g<sup>-1</sup> em frutos inteiros (RUFINO, 2008) até 56,37 mg. 100 g<sup>-1</sup> na casca de camu-camu (ZANATTA, 2004). Entretanto, esses teores não foram maiores do que o encontrado em jambolão de 230 mg.100 g de amostra<sup>-1</sup> b.s. (VIEGAS *et al.*, 2007), e açaí de 450 mg.100 g de amostra<sup>-1</sup>(RODRIGUES *et al.*, 2006). Assim, esses dados demonstraram que a antocianina é uma das classes de flavonóides majoritários na casca do camu-camu, apresentando potencial para extração desses pigmentos, principalmente na fase final do amadurecimento e início da senescência, onde deteve os maiores teores de antocianinas.

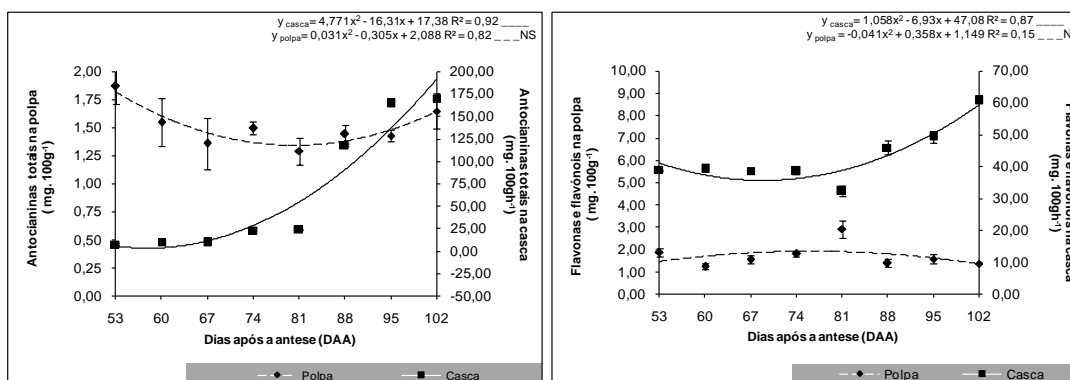


Figura (11 A)

Figura (11 B)

Figura 11 - Evolução de antocianinas totais (11 A) e flavonas e flavonóis(11 B) na polpa e casca de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA.

### 5.10. Fenólicos totais

Os frutos de camu-camu apresentaram incrementos nos teores de fenólicos totais do período inicial (53 DAA) até os 88 DAA, em estágio intermediário de maturidade, quando apresentaram os valores máximos de 12798,80; 14854,00 e 13873,60 mg equivalentes de ácido gálico.100 g amostra<sup>-1</sup> b.s., para polpa, casca e polpa + casca, respectivamente. Após 88 DAA observaram-se decréscimos, alcançando aos 102 DAA 10956,18; 11944,66 e 11301,89 mg equivalentes de ácido gálico.100 g amostra<sup>-1</sup> b.s., para polpa, casca e polpa+casca, respectivamente (Figura 12). Esse comportamento corrobora com o observado por Chirinos *et al.* (2010) em frações ricas em fenólicos de camu-camu obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação com base na coloração. Onde esses autores observaram que o teor de fenólicos totais aumentou do estágio verde ao verde-avermelhado de  $1120 \pm 47$  a  $1420 \pm 193$  mg equivalentes de ácido gálico.100 g amostra<sup>-1</sup> fresca. Exibindo diminuição no estágio totalmente vermelho com valores de  $1320 \pm 102$  mg equivalentes de ácido gálico.100 g amostra<sup>-1</sup> fresca. Comportamento também observado por Vilanueva-Tiburcio *et al.* (2010) ao analisarem cascas de camu-camu em base seca, obtidas em diferentes estádios de maturidade com base na cor da casca, observaram incremento dos fenólicos totais do estágio verde ( $6,02 \pm 0,48$  mg de ácido

gálico.g<sup>-1</sup>) ao estágio intermediário de maturidade (7,70 ± 0,26 mg de ácido gálico.g<sup>-1</sup>) com decréscimo no estágio totalmente maturo (5,95 ± 0,13 mg de ácido gálico.g<sup>-1</sup>). Alves *et al.* (2002), ao analisarem fenólicos totais em extratos 100% aquosos, 100% metanólicos e 50% metanólicos de frutos de camu-camu observaram menor teor de fenólicos totais em frutos totalmente roxos em relação aos frutos totalmente verdes para todos os extratos.

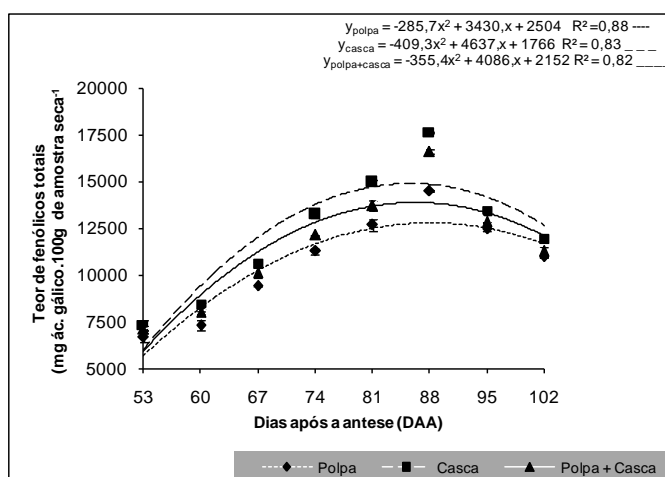


Figura 12 - Evolução do teor de fenólicos totais na polpa,casca e polpa+casca de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA.

Embora os fenólicos totais tenham diminuído com o amadurecimento dos frutos de camu-camu, eles ainda foram considerados elevados quando comparados a outros frutos. Gonçalves (2008) analisando diversos frutos verificou que o teor de fenólicos totais de camu-camu foi cerca de 10 vezes superior ao cambuci, tucumã e uxi. Rufino (2008) observou que os frutos frescos e secos que apresentaram maiores concentrações de compostos fenólicos foram camu-camu (1176,3 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> e 11615,1 mg EAG.100 g<sup>-1</sup>), acerola (1063,3 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> e 10279,9 mg EAG.100 g<sup>-1</sup>), e puçá-preto (867,5 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> e 2638,3 mg EAG.100 g<sup>-1</sup>), respectivamente, indicando esses frutos como excelentes fontes de antioxidantes naturais, seguidas do açaí (454,1 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> e 3267,5 mg EAG.100 g<sup>-1</sup>) e jaboaticaba (440,4 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> e 3584,0 mg EAG.100 g<sup>-1</sup>) considerados fontes intermediárias. Assim, pode-se constatar que

mesmo no final do amadurecimento, quando os frutos apresentaram queda no teor de fenólicos totais, os frutos de camu-camu ainda se mostram superiores a outros frutos apresentando excelente potencial antioxidante.

Ainda pelos resultados obtidos, pôde-se observar que a casca foi a fração do fruto que apresentou os maiores teores de fenólicos totais, seguida do fruto inteiro (polpa + casca) e da polpa. Tal resultado pode estar associado ao fato de que fenólicos como antocianinas (VILANUEVA-TIBURCIO *et al.*, 2010) e a vitamina C (ZAMUDIO, 2007) estarem presentes mais na casca do que em outras partes do fruto. Lima (2009) também observou em jabuticabas, maior teor de fenólicos totais na casca em relação à polpa e semente. Tanto extratos etanólicos como aquosos da casca de pequi (*Caryocar brasiliense*) e banha de galinha (*Swartzia langsdorfii*), frutos do Cerrado brasileiro, apresentaram elevado teor de fenólicos totais em relação às polpas e sementes (ROESLER *et al.*, 2007). Em jabuticabas o teor de fenólicos totais na casca, polpa e fruto inteiro foram:  $604,47 \pm 4,07$ ;  $161,92 \pm 19,94$ ;  $396,58 \pm 4,07$  mg ácido gálico.100 g<sup>-1</sup> fruta fresca, respectivamente. Assim, constatou-se que o maior teor de compostos fenólicos está localizado na casca dos frutos (ROSA *et al.*, 2010). Esses trabalhos, citados anteriormente, corroboram com o fato de que os fenólicos predominam na casca dos frutos, observando-se o mesmo em frutos de camu-camu. Portanto, a casca é a principal parte tissular do fruto que deverá ser utilizada para extração desses biocompostos, não devendo ser desprezada durante o processamento de produtos derivados do camu-camu.

### 5.11. Capacidade antioxidante por DPPH e ORAC

A capacidade de sequestro do radical DPPH e a capacidade de absorção do radical oxigênio, ou ORAC, apresentaram comportamento semelhante a curva de fenólicos totais e do conteúdo de vitamina C. A atividade antioxidante máxima do camu-camu também ocorreu aos 88 DAA, onde polpa, casca e polpa + casca obtiveram 5159,50; 5848,90 e 5591,00  $\mu$ moles equivalentes de trolox.100 g amostra<sup>-1</sup> b.s., respectivamente, para DPPH (Figura 13 A). Com comportamento

semelhante pelo método ORAC onde polpa, casca e polpa+casca apresentaram 5036,5; 5810,03 e 5461,5  $\mu\text{moles}$  equivalentes de trolox. 100 g amostra<sup>-1</sup> b.s., respectivamente, aos 88DAA (Figura 13B).

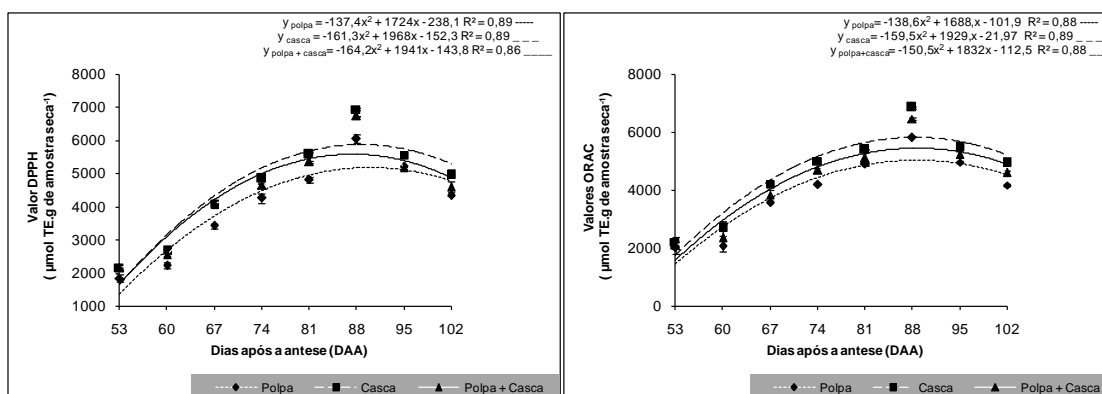


Figura (13 A)

Figura (13B)

Figura 13 - Evolução da atividade antioxidante pelo método DPPH (12 A) e ORAC (12B) na polpa, casca e polpa+casca de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) durante o desenvolvimento dos 53 aos 102 DAA.

Chirinos *et al.* (2010) também observaram que a capacidade antioxidante pelo método DPPH apresentou a mesma tendência que o teor de fenólicos totais, aumentando do estágio verde ao verde- avermelhado, diminuindo no estágio totalmente vermelho quando os frutos estavam totalmente amadurecidos. Porém, esses mesmos autores separaram extratos de camu-camu de diferentes estádios de maturação em 2 frações, obtendo uma rica em vitamina C (FI) e outra rica em compostos fenólicos (FII), para cada estágio, e observaram que a capacidade antioxidante dos frutos nos diferentes estádios de maturação avaliados variou de 67,5% para 79,3% na FI e de 20,7% para 32,5% na FII. Onde a capacidade antioxidante em FI e FII foram respectivamente 121,20 (verde); 137,80 (maturação intermediária) e 112,60  $\mu\text{mol ET.g}^{-1}$  (totalmente maduros); e 19,80 (verde); 26,10 (maturação intermediária) e 32,70  $\mu\text{mol ET.g}^{-1}$  (totalmente maduro) (CHIRINOS *et al.*, 2010). Demonstrando a influência do conteúdo de vitamina C na FI, pois a maior atividade antioxidante nessa fração corresponde à maturação

intermediária, onde também foi detectado o maior conteúdo de vitamina C. Assim como na FII, a maior atividade antioxidante correspondeu aos frutos totalmente maduros, onde também se detectaram os maiores teores de antocianinas, com a provável presença de outros compostos fenólicos. Nesse sentido, acredita-se que outros trabalhos deverão ser realizados a fim de se qualificar o tipo de componentes fenólicos em cada fase e parte (casca, polpa, fruto inteiro) dos frutos de camu-camu.

A atividade antioxidante da casca dos frutos de camu-camu, em diferentes estádios de maturação, também foram avaliadas pelo método DPPH por Vilanueva-Tiburcie *et al.* (2010) onde o extrato aquoso da casca de frutos em estágio intermediário de maturação apresentaram maior eficiência para inibir o radical DPPH com  $92,89 \pm 0,44\%$ , seguido do fruto totalmente maduro com  $90,17 \pm 3,02\%$ , e do fruto totalmente verde com  $82,62 \pm 8,54\%$ . Esses dados foram confirmados pelo  $IC_{50}$  (Coeficiente de inibição) onde as cascas de frutos em estágio intermediário de maturação ( $46,20 \pm 0,10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) apresentaram menor  $IC_{50}$  em relação às cascas dos frutos totalmente verdes ( $117,80 \pm 0,65 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) e totalmente maduros ( $114,20 \pm 0,98 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Vale ressaltar que no trabalho citado anteriormente, de acordo com a análise e parâmetro analisado, baixos valores de  $IC_{50}$  refletem em alta atividade para inibir os radicais livres (ANCOS; GONZALES; CANO, 2000).

Assim, houve uma correlação positiva entre os fenólicos totais analisados pelo método de Folin Ciocalteu, os métodos que avaliam a capacidade antioxidante DPPH e ORAC e o ácido ascórbico (Tabela 3). A elevada correlação entre Folin-Ciocalteu e DPPH deveu-se, principalmente, ao fato dos 2 estarem baseados em mecanismos de ação semelhantes, ou seja, na transferência de elétrons. Quanto ao método de ORAC, o mesmo baseia-se na transferência de átomos de hidrogênio do antioxidante para o radical AAPH (PRIOR *et al.*, 2005). A forte correlação positiva entre fenólicos totais e ácido ascórbico deveu-se ao fato desse último reagir com o ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico formando o complexo azul de molibdênio (HUONG *et al.*, 2005). Assim, pôde-se concluir que tanto o teor de fenólicos totais quanto a atividade antioxidante, determinadas pelos métodos DPPH e ORAC, sofreram influências do alto poder redutor do ácido ascórbico, presente em diferentes concentrações e nos diferentes estádios

de maturação do camu-camu. Esses dados confirmam que a alta atividade antioxidante desse fruto deveu-se principalmente a presença do ácido ascórbico.

Tabela 3 - Correlação entre os conteúdos de fenólicos totais, ácido ascórbico e atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ORAC.

Correlação	Fenólicos totais	ORAC	DPPH
Ác. Ascórbico	0,986	0,967	0,979
Fenólicos totais		0,983	0,991
ORAC			0,995

A elevada atividade antioxidante do camu-camu, mesmo em estágio totalmente maduro, é confirmada por alguns trabalhos. Rufino *et al.* (2010) demonstrou que frutos de camu-camu analisados pelos método DPPH apresentaram menor IC<sub>50</sub> em base seca em relação a frutos como açaí, acerola, carnaúba, caju, cajá, gurguri, jabuticaba, jambolão, mangaba, murta, puçá coroa-de-frade, puçá-preto, umbu e uvaia, perdendo apenas para o puçá-preto quando as análises foram realizadas em amostras frescas. Segundo esses mesmos autores, esse resultado indica associação da atividade antioxidante e o seu conteúdo de vitamina C. Frutos de camu-camu maduros e analisados em amostras liofilizadas apresentaram maior atividade antioxidante tanto pelo método DPPH, com 1439±15 µmoles equivalentes de trolox/g amostra b.s.; e ORAC, com 790±45 µmoles equivalentes de trolox/g amostra b.s., em relação a outras frutos produzidos no Brasil, como bacuri, tucumã, cupuaçu, graviola, buriti, uxi, cambuci, araçá, tamarindo, maracujá doce, granadilha, carambola, maná-cubiu, abiu e araçá-boi (GONÇALVES, 2008). O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2007) publicou, como parte do Programa Nacional de Análise de Alimentos e Nutrientes (National Food and Nutrient Analysis Program – NFNAP), valores de ORAC de frutos, castanhas e vegetais. Nesse estudo do USDA, o camu-camu apresentou atividade antioxidante semelhante a frutos como *cranberry* (*Vaccinium* subgênero *Cyanococcus*) e *blueberry* (*Vaccinium* subgênero

*Oxycoccus*). Esses dados demonstram o potencial funcional dos frutos de camu-camu em relação aos frutos de outras espécies, com maior atividade antioxidante quando em fase intermediária de amadurecimento. Assim, seus benefícios antioxidantes podem ser adquiridos para o consumo ou extração em qualquer fase de maturação do fruto, porém em maior proporção aos 88 DAA.

## 6. CONCLUSÕES

O desenvolvimento do camu-camu em habitat natural compreendeu período de 102 dias, do pleno florescimento ao amadurecimento.

O aumento da massa fresca, diâmetro equatorial e diâmetro foram crescentes até 81 DAA, período após o qual decresceram;

Foi confirmado o padrão não-climatérico nos frutos de camu-camu, dada pela baixa produção de CO<sub>2</sub> e etileno durante o desenvolvimento;

O ponto ideal de colheita se encontra entre os 88 e 95 dias após a antese, períodos onde foram observados maior desenvolvimento dos atributos qualitativos como coloração (85% e 100% vermelhas), sabor (elevação da relação SS/AT, com redução da AT e elevação dos SS e dos açúcares redutores) e mudanças texturais (elevação das pectinas solúveis), além da presença elevada de biocompostos (vitamina C e antocianinas).

Os pigmentos (carotenoides, flavonoides e antocianinas), e vitamina C apresentaram maiores conteúdos na casca dos frutos de camu-camu, resultando em maior atividade antioxidante também na casca, sendo essa parte tissular dos frutos indicada para a extração desses biocompostos funcionais;

O período de maior teor de ácido ascórbico foi aos 88 DAA, início do amadurecimento (dado aos atributos qualitativos desenvolvidos nesse período), apresentando decréscimos nos períodos subseqüentes quando totalmente vermelhos. Esse período também correspondeu ao maior conteúdo de fenólicos totais e da atividade antioxidante, atribuindo a vitamina C o potencial funcional do camu-camu;

Os teores de flavonoides e antocianinas apresentaram seus maiores conteúdos quando totalmente maduros aos 102 DAA, sendo esse período recomendado a extração de pigmentos antociânicos;

Os frutos de camu-camu não foram considerados boa fonte desse biocomposto antioxidante.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELES, F.B.; MORGAN, P.W.; SALTVEIT, M.E. **Ethylene in Plant Biology**. San Diego: Academic Press, 1992. 414p.

AGUIAR, L. P.  **$\beta$ -caroteno, vitamina C e outras características de qualidade de acerola, caju e melão em utilização no melhoramento genético**. 2001. 87f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

ALBA, R., MARIE-MICHELE, C. P.; PRATT, L.H. Fruit-localized phytochromes regulate lycopene accumulation independently of ethylene production in tomato. **Plant Physiology**, v.134, p. 661–666, 2000.

ALEXANDER, L.; GRIERSON, D. Ethylene biosynthesis and action in tomato: A model for climacteric fruit ripening. **J. Exp. Bot.** v.53, p.2039–2055, 2002.

ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C.; MOURA, C. F. H.; ARAÚJO, N. C. C.; ALMEIDA, A. S. Camu-Camu (*Myrciaria dúbia* (H.B.K.) McVaugh) Mc Vaugh): A Rich Natural Source of Vitamin C. **Proceedings of Interamerican Society for tropical Horticulture**. v.46, p.11-13, 2002.

ANDERSEN, O.M.; JORDHEIM, M. The anthocyanins. In: **Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications**. Boca Raton: CRC Press; 2006.

ANDRADE, J. S. **Curvas de maturação e características nutricionais de camu camu *Myrciaria dúbia* (H.B.K.)Mc Vaugh cultivado em terra firme na Amazônia Central Brasileira**. Campinas, 1991.194 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

ARAÚJO, F.M.M.C.; MACHADO, A.V.; LIMA, H.C.; CHITARRA, A.B. Alterações físicas e químicas do fruto da jaboticabeira (*Myrciaria jaboticaba* berg cv. sabará) durante seu desenvolvimento. **Revista Verde**, Mossoró – RN, v.5, n.2, p. 109 - 116, 2010.

ARGENTA, L.C.; FLORES-CANTILLANO, F.; BECKER, W.F. Tecnologias Pós-colheita em fruteiras e caroço. In: UFPR. **Fruteiras de Caroço: uma visão ecológica**. Curitiba, 2004, p.333-362.

ASSIS, S. A.; LIMA, D.C.; OLIVEIRA, O.M. M. F. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development. **Food Chemistry**, London, v.74, p.133-137, 2001.

AZZOLINI, M.; JACOMINO, A.P.; BRON, I.B. Índices para avaliar qualidade pós-colheita de goiabas em diferentes estádios de maturação. Brasília, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.2, p.139-145, fev. 2004.

BAGCHI, D.; SEN, C.K.; BAGCHI, M.; ATALAY, M. Antiangiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. **Biochemistry**, Moscou, v.69, n.1, p.75-80, 2004.

BARCELAR-LIMA, C. G. **Estudos da biologia reprodutiva, morfologia e polinização aplicados à produção de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) adaptadas à terra firme da Amazônia Central, Brasil.** Manaus, 2009, 121f. Tese (Doutorado em Botânica). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Amazonas.

BARRY, C.S.; GIOVANNONI, J.J. Ethylene and Fruit Ripening. **Journal Plant Growth Regulation**, v.26, p.143–159, 2007.

BATISTA, M. S.; FIGUEIREDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Parâmetros físicos e químicos da acerola (*Malpighia puniceifolia*, L.) em diferentes fases de maturação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.2, n.2, p.19-24, 2000.

BEYER, P., AL-BABILI, S., YE, X., LUCCA, P., SCHAUB, P., WELSCH, R. and POTRYKUS, I. Golden rice: Introducing the beta-carotene biosynthesis pathway into rice endosperm by genetic engineering to defeat vitamin a deficiency. **Journal Nutrition**, v.132, p. 5065–5105. 2002.

BERILLI, S. S.; OLIVEIRA, J. G.; MARINHO, A. B.; LYRA, G. B.; SOUSA, E. F.; VIANA, A. P.; BERNARDO, S.; PEREIRA, M. G. Avaliação da taxa de crescimento de frutos de mamão (*Carica papaya* L.) em função das épocas do ano e graus-dias acumulados. **Revista Brasileira Fruticultura**. Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 11-14. 2007.

BITTER, T.; MUIR, H. M. A modified uronic acid carbazole reaction. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 34, p. 330-334, 1962.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O . **Química do processamento de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Varela, 2001.

BOTREL,N.; FREIRE JUNIOR, M.;VASCONCELOS, R.M.; BARBOSA, H. T. G. Inibição do amadurecimento da banana-‘prata-anã’ com a aplicação do 1 metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 1, p. 053-056, abril 2002.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30, 1995.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutrition Reviews**,v.56, n.11, p.317-33, 1998.

BRODY, A.L. **Envasado de alimentos en atmosferas controladas, modificadas y vacío**. Zaragoza: Acribia, 1996. 220p.

CASTRO, J.V.; PFAFFENBACH, L.B.; CARVALHO, C.R.L.; ROSSETTO, C.J. Efeito da atmosfera modificada e da refrigeração na conservação pós-colheita de mangas Van Dyke. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 15., Campinas, **Resumos...** v.69. suplemento, 2002.

CASTRO NETO, M.T.; REINHARDT, D.H. Relações entre parâmetros de crescimento do fruto da manga cv. Haden. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 25, n. 1, p., 36-38, 2003.

CAVALINI, F.C. **Índices de Maturação, ponto de colheita e padrão respiratório de goiabas ‘Kumagai’ e ‘Paluma’**. Piracicaba, 2004. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Area de concentração: Fisiologia e bioquímica de plantas). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

CENTENO, D.C.; NEVES, N.R.Contribuidores do sabor em tomate (*Solanum lycopersicum* var. Moneymaker) e suas inter-relações. **Revista Tropica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 3, n. 2, p. 4, 2009.

CHAVES, A. L.; BIERHALS, J. D.; ZIMMER, P. D.; SILVA, J. A.; ROMALDI, C. V. Caracterização imunoquímica da ACC (ácido 1-carboxílico- 1 aminociclopropano) oxidase em frutos climatéricos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.17, n.3, Campinas, 1997.

CHIRINOS, R.; GALARZA, J.; BETALLELUZ-PALLARDEL, I.; PEDRESCHI, J.; CAMPOS, D. Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. **Food Chemistry**, n. 120, p. 1019–1024, 2010.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005.

CLAY, J.W.; CLEMENT, C.H.; SAMPAIO, P.T.B. **Biodiversidade amazônica: exemplos e estratégias de utilização**. 1 ed., p.409. Manaus: Programa de desenvolvimento empresarial e tecnológico, 1999.

CORRÊA, A. D.; ABREU, C. M. P.; SANTOS, C. D.; RIBEIRO, L. J. Constituintes químicos da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum* st. hil.) durante a maturação. **Ciência agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.1, p. 130-135, 2000.

CORRÊA, M.O.G.; PINTO, D.D.; ONO, E.O. Análise da atividade respiratória em frutos de jaboticabeira. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 831-833, jul. 2007.

CUNHA, D.F.; CUNHA, S.F.C. In: SARVIER. Microminerais. São Paulo, 2000, p. 142-164.

CUNHA, A.R.; VOLPE, C.A. Curvas de crescimento do fruto de cafeeiro cv. Obatã IAC 1669-20 em diferentes alinhamentos de plantio. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 49-62, jan./mar. 2011.

CUKIER, C.; MAGNONI, D.; RODRIGUES, A.B. In: ROCA. Micronutrientes, vitaminas e sais minerais. São Paulo, 2001, p. 37-44.

CURTI, F. Efeito da maçã Gal (*Malus domestica* Borkh) na lipidemia de ratos hipercolesterolêmicos. Piracicaba. 2003. 75 f. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

DEIKMAN, J. Molecular mechanisms of ethylene regulation of gene transcription. **Physiol. Planta**. v. 100, p.561–566, 1997.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPES, O.; CRIT. Rev. **Food Sci. Nutr**, v.40, n.173, 2000.

DEVASAGAYAM, T.P.A; TILAK, J.C.; BOLOOR, K.K.; SANE, K.S.; GHASKADBI, S.S.; LELE, R.D. Free radical and antioxidant in human health: current status and future prospects. **Journal of the Association of Physicians of India**, v. 52, 2004.

DORNAS, W.C.; OLIVEIRA, T.T.; RODRIGUES-DAS-DORES, R.G.; SANTOS, A.F.; NAGEM, T.J. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n.3, p. 241- 249, 2007.

FAVARO, M.M.A. **Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação industrial como corantes**. Campinas. 2008. 105f. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

FENNEMA, O.R. Química de los alimentos. 2 ed. Zaragoza: Acribia, 2000.

FERREIRA, M.M.M.; OLIVEIRA, A.H.C.; SANTOS, N.S.. Flavonas e flavonóis: novas descobertas sobre sua estrutura química e função biológica. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 2, n. 2, p. 57-60 jul-dez, 2008.

FORTES, G.A.C.; GODOI, F.F.F.; NAVES, S.S.; FERRI, P.H.; SANTOS, S.C. Variações nos teores de polifenóis durante o amadurecimento do fruto da jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora*). **Anais: 31a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. 2008.

FOTOPOULOS, V.; SANMARTIN, M.; KANELIS, A.K. Effect of ascorbate oxidase over-expression on ascorbate recycling gene expression in response to agents imposing oxidative stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p.3933–3943, 2006.

FOTOPOULOS, V.; DE TULLIO, MC.; BARNES, J.; KANELIS, A.K. 2008. Altered stomatal dynamics in ascorbate oxidase over-expressing tobacco plants suggest a role for dehydroascorbate signalling. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, p.729–737, 2008.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: ACADEMIC PRESS. **Anthocyanins as food colors**. New York, p. 181-207. 1982.

GAMAGE, T.V., REHMAN, M.S. Post harvest handling of foods of plant origin. In: Marcel Dekker. **Handbook of Food Preservation**. New York, p.11–46, 1999.

GIOVANNONI, J.J. Molecular biology of fruit maturation and ripening. Annual Review **Plant Physiology Plant Molecular Biology**, v.52, p.725-749, 2001.

GIOVANNONI, J.J. Genetic Regulation of Fruit Development and Ripening. **The Plant Cell**, n.16, p 170-180, 2004.

GLASSER, R.; RABIN, B.; CHESNEY, M.; COHEN, S.; NATELSON, B. Stress induced immunomodulation: implications for infectious diseases. **JAMA**, v. 281, p.2268–2270, 1999.

GONÇALVES, A.E.S.S. Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonóides e vitamina C. São Paulo. 2008. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

GRAY, J.; PICTON, S.; SHABBEER, J.; SCHUCH,W.; GRIERSON, D. Molecular biology of fruit ripening and its manipulation with antisense genes. **Plant Molecular Biology**, v.19, p.69–87, 1992.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3 ed. Clarendon, Oxford, NY, 254p, 2000.

HUANG,D.;OU,B.; PRIOR,R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of agricultural and Food chemistry**,v.53,p.1841-1856, 2005.

HUANG, D.; OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J.A.; DEEMER, E.K. Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated  $\beta$ -cyclodextrin as the solubility enhancer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p.1815, 2002.

HUBER, L.S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentação e Nutrição**, Araraquara, v.19, n.1, p. 97-108, 2008.

IIAP (Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana). 2001. **Sistema de producción de camu camu en restinga**. Iquitos, Peru.: IIAP-PET (Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana – Programa de Ecosistemas Terrestres).

INGA, H.; PINEDO, M.; DELGADO, C.; LINARES, C.; MEJÍA, K. Fenología Reproductiva de *Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh. Camu-Camu. **Folia Amazónica**, v.12, p.1-2, 2001.

IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ) (SÃO PAULO). **Métodos físico-químicos para análisis de alimentos**. Coordinadores: Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020. 2008.

ISHIKAWA, T.; DOWDLE, J.; SMIRNOFF, N. Progress in manipulating ascorbic acid biosynthesis and accumulation in plants. **Physiologia Plantarum**, v.126, n.3, p. 343-355, 2006.

JEN, J. J.; ROBINSON, M. L. P. Pectolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annum* L.). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 49, n. 4, p. 1085-1087, 1984.

JUSTI, K.C.; VISENTAINER, J.V.; SOUZA, N.E. & MATSUSHITA, M. Nutritional composition and Vitamin C stability in stored Camu-camu (*Myrciaria dubia*) pulp. **Arch Latinoam Nutr.** n. 50: 405 – 408, 2000.

KADER, A. A. Postharvest biology and technology: an overview. In: **Postharvest technology of horticultural crops**. 3. ed. California: University of California, p. 435-461. 2002.

KASHYAP, D. R.; VOHRA, P. K.; CHOPRA, S.; TEWARI, R. Applications of pectinases in the commercial sector: A review. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 3, p. 215-227, 2001.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **J. Am. Diet. Assoc.**, v.50, n.2, p. 213-8, 1999.

LEE, S.K.; KADER, A.A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 20, p. 207-220, 2000.

LEE, D. W.; GOULD, K. S. Anthocyanins in leaves and other vegetative organs: An introduction. In GOULD, K. S.; LEE, D. W. (Eds.). *Advances in botanical research: Anthocyanins in leaves* (vol. 37). London: Academic Press, pp. 212. 2002.

LELIEVRE, J.M.; LATCHE, A.; JONES, B.; BOUZAYEN, M. PECH J.C. Ethylene and fruit ripening. **Physiology Plantarum**, v. 101, p.727-739, 1997.

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E. A.; LIMA, D.E.S. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agricola**, v.59, n.3, p.447-450, 2002.

LIMA, C.G.B.; YUYAMA, K. Aspectos fenológicos. In: CRV. **Camu-camu**. Curitiba, 2011. p. 27-49.

LOPES, R.M.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; PINTO, A.S. Flavonóides: farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n. 17, p. 18-22, 2000.

LUENGO, R.F.A.; CALBO, A.G.; JACOMINO, A.P.; PESSOA, J.D.C. Avaliação da compressão em hortaliças e frutas e seu emprego na determinação do limite físico da altura da embalagem de comercialização. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 704-707, 2003.

MAEDA, R.N.; PANTOJA, L.; YUYAMA, L.K.O.; CHAAR, J.M. Estabilidade de ácido ascórbico e antocianinas em néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n.27,v.2,p.313-316, 2007.

MAEDA, R.N.; PANTOJA, L.; YUYAMA, L.K.O.; CHAAR, J.M. Determinação da formulação e caracterização do néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 26, v. 1, p. 70-74, 2006.

MANRIQUE, G.D.; LAJOLO, F.M. Cell-wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*). **Postharvest Biology and Technology**, v.33, p.11-26, 2004.

MARANHÃO, C.M.C. **Caracterização física, físico-química e química do fruto da aceroleira (*Malpighia ematginata* DC), variedade Okinawa, durante o seu**

**desenvolvimento.** João Pessoa. 2010. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba.

MAUÉS, M.M.; COUTURIER, G. Biologia floral e fenologia reprodutiva do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae) no Estado Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.25, n.4, p.441-448, dez. 2002.

MAZZA, R.; MINIATI, E. In: "Anthocyanins in fruits, vegetables and grains". **CRC Press Inc USA**. p.1-28, 1993.

MCCREADY, P.M.; MCCOOMB, E.A. Extration and determination of total pectic material. *Analýtical Chemistry*, Washington, DC, v. 24, n. 12, p. 1586-1588, 1952.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; LEAL, F.L.L.; CAETANO, A.C.S.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.26, n.3, p.639-644, 2006.

MULLER, F. L.; LUSTGARTEN, M.; JANG, Y.; RICHARDSON, A.; VAN REMMEN, H. Free radical. **Biology Medicine**. n. 43, p. 477, 2007.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal Chromatogr.*, v.1, n.2, p. 95-111, 2004.

NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, n.153, p.375-380, 1944.

NEVES, L. C. (Org.). **Manual pós-colheita da fruticultura brasileira**. 1ªed , p.494., Londrina: EDUEL, 2009.

NEVES, L.C.; BENEDETTE, R.M.; SILVA , V.X.; PRILL,M.A.S.; ROBERTO, S. R.; VIEITES, R.L. Qualidade pós-colheita de mangas, não-refrigeradas, e submetidas ao controle da ação do etileno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal , v. 30, n. 1, p. 094-100, 2008.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; GOURLAT, M.O.F.; SILVA, C.A.; BECHARA, E.J.; TREVISAN, M.T.S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n.3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA JÚNIOR, E. N.; SANTOS, C. D.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D.; SANTOS, J. Z. L. Alterações pós-colheita da fruta-de-lobo (*Solanun lycocarpum* St. Hil.) durante o amadurecimento: análises físico-químicas, químicas e enzimáticas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 410-413, dez. 2004.

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R.L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4619-4629, 2001.

PANTÁSTICO, E.B. **Postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables**. Westport: AVI, 1975. 560p.

PASTORI, G.M.; KIDDLE, G.; ANTONIW, J.; BERNARD, S.; VELJOVIC-JOVANOVIC, S.; VERRIER, P.J.; NOCTOR, G.; FOYER, C.H. 2003. Leaf vitamin C contents modulate plant defense transcripts and regulate genes controlling development through hormone signalling. **The Plant Cell**, v.15, p.1212–1226, 2003.

PEDROSO, E.R.P. Águas e eletrólitos. In: SARVIER. Ciências Nutricionais. São Paulo, 2000, p. 107-131.

PENN, J. W. Jr. The cultivation of camu camu (*Myrciaria dubia*): a tree planting programme in the Peruvian Amazon. **Forests, Trees and Livelihoods**, v. 16, p. 85–101, 2006.

PENN, J. W. Jr. **Another boom for Amazonia? Socioeconomic and environmental implications of the new camu camu industry in Peru**. Gainesville, 2004. Doctoral dissertation, University of Florida.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNERO, M.; DÍAZ-RUBIO, M.E.; SERRANO, J.; GOÑI, I.; SAURA-CALIXTO, F. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v. 41, p. 274–285, 2008.

PEUCKERT, Y. P.; VIEIRA, B.V.; HECKTHEUER, L.H.R.; MARQUES, C.T.; ROSA, C.S. Caracterização e aceitabilidade de barras de cereais adicionadas de proteína texturizada de soja e camu - camu (*Myrciaria dubia*). **Alimentação e Nutrição.**, Araraquara, v.21, n.1, p. 147-152, 2010.

PFAFFENBACH, L.B.; CASTRO, J.V. DE; CARVALHO, C.R.L.; ROSSETTO, C.J. The effect of modified atmosphere and refrigeration on post-harvest of mango red espada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p.410-413, 2003.

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035- 1042, 2000.

PIMENTA, C.J.; CHAGAS, S.J.R.; COSTA, L. Pectinas e enzimas pectinolíticas em café (*coffea arabica* l.) colhido em quatro estádios de maturação. **Ciência e agrotecnologia.**, Lavras, v.24, n.4, p.1079-1083, 2000.

PINEDO, P.M.; DELGADO, V.C.; FARROÑAY, P.R.; DELL CASTILLO, T.D., IMAN, C.S.; VILLACRÉS, V.J.; FACHING, M.L.; OLIVA, C.C.; ABANTO, R.C.; BARDALES, L.R.; VEGA, V.R. **Camu-camu (*Myrciaria dubia*, *Myrtaceae*), aportes para su aprovechamiento sostenible en la Amazonia peruana.** Instituto de la Amazonia Peruana, 1ªed. Lima: Talento GSAC, 2010.

PRASSANA,V. PRABHA, T.N.; THARANATHAN, R.N. Fruit ripening phenomena an overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 47,n.1, p. 1-19, 2007.

PRESSEY,R.;AVANTS,J. K. Separation and characterization the exopoligalacturonase and endopoligalacturonase from peaches. **Plant Physiology**, Rockville, v. 52, n. 3, p. 252-256,1973.

PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.4290-4302, 2005.

PURVIS, A. C. The role of adaptive enzymes in carbohydrate oxidation by stressed and senescing plant tissues. **Hortscience**, v.32, n.7, p.195-168, 1997.

RESENDE, J.M.; CHITARRA, M.I.F.; MALUF, W.R.; CHITARRA, A.B.; SAGGIN JÚNIOR, O.J. Atividade de enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase

durante o amadurecimento de tomates do grupo multilocular. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.2, p.206-212, abril-junho 2004.

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

REYNERTSON, K. A., BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Antioxidant potential of seven Myrtaceous fruits. **Ethnobotany Research and Applications**, v.3, p.25–35, 2005.

RHODES, M.J.C. The maturation and ripening of fruits. In:THIMANN, K.V.; ADELMAN, R. C.;ROTH, G. S. Senescence in plants. Florida: **CRC Press**,. cap.8, p.157-205, 1981.

RIBEIRO, J.E.L.S.; HOPKINS, M.J.G.; VICENTINE, A.; SOTHERS, C.A.; COSTA, M.A.S.; BRITO, J.M.; SOUZA, M.A.D.; MARTINS, L.H.P.; LOHMANN, L.G.; ASSUNÇÃO, P.A.C.L.; PEREIRA, E.C.; SILVA, C.F.; MESQUITA, M.R.; PROCÓPIO, L.C. **Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra Firme na Amazônia Central**. Manaus: INPA, 1999.

RODRIGUES, R.B.; MENEZES, H.C.; CABRAL, L.M.C.; DORNIER, M.; REYNES, M. An Amazonian fruit with a high potential as a natural source of vitamin C: the camucamu (*Myrciaria dubia*). **Fruits**, v.56, n.5, p. 345–354, 2001.

ROESLER, R.; MALTA, L.G.; CARRASCO, L.C.; HOLANDA, R.B.; SOUSA, C.A.S.;PASTORE, G.M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.1, p. 53-60, jan.-mar. 2007.

ROSA, C. G1.; BUENO, F. M1.; JACQUES, A. C1.; GOULARTE-DUTRA, F. L1.; ZAMBIAZI, R. Jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*): teor de fenóis totais na casca, polpa e fruto inteiro. In: IV ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL 21 A 23 de setembro de 2010 Pelotas-RS.

ROSS, J. A.; KASUM, C. M. Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Reviews of Nutrition**, v.22, p.19–34, 2002.

ROSSETTO, M.R.M., PURGATTO, E., LAJOLO, F.M.; CORDENUNSI, B.R. Influence of gibberellic acid in the starch breakdown during banana ripening. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**.v. 24, p.76–81,2004.

RUFINO, M.S.M. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais**. Mossoró, 2008. 263 p. Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade Federal Rural do Semi-árido.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996–1002, 2010.

SACHI, A.T.; BIASI, L.A. Maturação dos frutos de quatro cultivares de uvas muscadínias em Pinhais, PR. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.9, n.2, p.255-260, 2008.

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

SALTVEIT, M. Respiratory metabolism. In: GROSS, K. C.; WANG, C. Y.; SALTVEIT, M. **The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks**. USDA, ARS. Agriculture Handbook n. 66, 2004.

SANMARTIN, M.; DROGOUDI, P.D.; LYONS, T.; PATERAKI, I; BARNES, J.; KANELIS, A.K. Over-expression of ascorbate oxidase in the apoplast of transgenic tobacco results in altered ascorbate and glutathione redox states and increased sensitivity to ozone. **Planta**, v.216, p.918–928, 2003.

SANTOS, A.F.; SILVA, S.M.; MENDONÇA, R.M.N.; SILVA, M.S.; ALVES, R.E.; FILGUEIRAS, H.A.C. Alterações Fisiológicas Durante a Maturação de Pitanga (*Eugenia uniflora* L.). **Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.**, v.46, p.52-54, 2002.

SENER, S.D.; ROBERTSON, J.A.; MEREDITH, F.I. Phenolic compounds of the medocarp of Cresthaven peaches during storage and ripening. **Journal of Food Science**, Chicago, v.54, n.4, p. 1259-59, 1989.

SILVA, E.P.; VILAS BOAS, E.V.B.; RODRIGUES, L.J.; SIQUEIRA, H.H. Caracterização física, química e fisiológica de gabioba (*Campomanesia pubescens*) durante o desenvolvimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.4, p. 803-809, 2009.

SILVA, M.; GETTENS, C.; CRUZ, J.; OLIVEIRA, T.; STORCH, T. Teor de antocianinas no fruto inteiro, casca e polpa da Jambolão (*Sizygium cumini*). In: XVI Congresso de Iniciação Científica, n. 16, 2007, Pelotas. **Anais...Pelotas**, 2007. Disponível em: [http://www.ufpel.edu.br/cic/2007/cd/pdf/CA/CA\\_01525.pdf](http://www.ufpel.edu.br/cic/2007/cd/pdf/CA/CA_01525.pdf). Acesso em: 07 mar.2012.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V.N.; ALCANFOR, J.D.X.; ASSIS, E.M.; ASQUIERI, E.R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 23, n. 3, p. 337-34,2003.

SILVA, V.X.; DURIGAN, M.F.B.; FUJITA, E.; CHAGAS, E.A.; NEVES, L.C.; DURIGAN, J.F. Determinação da formulação e caracterização da polpa e do picolé de camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh). In: 9 SLACA- Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 2011, Campinas. Disponível em: [www.alice.cnptia.embrapa.br/.../determinacaopicoleSLACA2011.pdf](http://www.alice.cnptia.embrapa.br/.../determinacaopicoleSLACA2011.pdf). Acesso em: 2 jan. 2012.

SMIDERLE, O. J.; SOUSA, R.C.P. Teor de vitamina C e características físicas do camu-camu em dois estádios de maturação. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 2, n. 2, p. 61-63 jul-dez, 2008.

SMIRNOFF, N.; CONKLIN, P.; LOEWUS, F.A. Byosynthesis of ascorbic acid in plants: A renaissance. **Annual Review of plant and physiology and plant molecular biology**.v.52, p.437-467,2001.

SMIRNOFF.; N, WHEELER G.L. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. **Crit Rev Biochem Mol Biol**.v.35, p. 291-314, 2000.

SOUTHON, S. FAULKS,R. Predicting the bioavaibility of antioxidants in food: carotenóis as a case study. In: POKORNI, J. et al. (ed). **Antioxidantes in Food, Pratical applications**. Woodtthead: Publishing, 2001.

SOUZA FILHO, M.S.M., LIMA, J.R., NASSU, R.T., BORGES, M.F., MOURA, C.F.H.. Avaliação físico-química e sensorial de néctares de frutas nativas da região Norte e Nordeste do Brasil: estudo exploratório. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.5, p. 139-143, 2002.

STENZEL, N.M.C.; NEVES, C.S.V.J.; MARUR, C.J.; SCHOLZ, M.B.S.; GOMES, J.C. Maturation curves and degree-days accumulation for fruits of 'folha murcha' orange trees. **Sciencia Agricola**, Piracicaba, v.63, n.3, p.219-225, may/june, 2006.

SUDHEER, K. P.; INDIRA, V. Maturity and harvesting of fruits and vegetables. In: PETER, K. V. **Post harvest technology of horticultural crops**. New Delhi: New India Publishing Agency, 2007. p. 31-46.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**: 4 ed., Porto alegre: Artmed, 2009.  
TANKSLEY, S.D. The genetic, developmental, and molecular bases of fruit size and shape variation in tomato. **The Plant Cell**, Rockville, v.16, p.181-189, 2004.

TEIXEIRA, A. S.; CHAVES, L. da Silva.; YUYAMA, K. Esterases for examining the population structure of Camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh Myrtaceae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, n.1. 2004.

THOMAS,S.; BALASUBRAMANIAN, K. A.; Free Radical Biol. **Med.** v.36, p.745. 2004.

TUCKER, G.A. Introduction. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G. A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman e Hall, 1993. p. 251.

UENOJO, M.; MARÓSTICA JUNIOR, M.R.; PASTORE, G.M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 616-622, 2007.

VANNUCHI, H.; JORDÃO JÚNIOR, A. F. Vitaminas hidrossolúveis. In: MANCHI, J. S.; DUTRA-DE-OLIVEIRA, E. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier, p.190-207. 2000.

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

VENDRELL, M.; PALOMER, X. Hormonal control of fruit ripening in climacteric fruits. **Acta Horticulturae**, v.463,p.325-334, 1997.

VIÉGAS, I. J. M.; THOMAZ, M.A.A.; SILVA, J.F.; CONCEIÇÃO, H.E.O.; NAIFF, A.P.M. Efeito da omissão de macronutrientes e boro no crescimento, nos sintomas de deficiências nutricionais e na composição mineral de plantas de

camucamuzeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.315- 319, 2004.

VIEGAS, J. M.; NARAYAN, M. S.; LAXMAN, P. M.; NEELWARNE, B. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini*. **Food Chemistry**, v. 105, p. 619- 627, 2007.

VILLACHICA, H. **El cultivo del camu-camu en la Amazonia Peruana**. Secretaría Pro Tempore del Tratado de Cooperación Amazónica. Lima, 1996. Online:<http://www.siamazonia.org.pe/archivos/publicaciones/amazonia/libros/46/base.htm>. Acessado em 13/02/2012.

VILLANUEVA-TIBURCIO, J. E.; CONDEZO-HOYOS, L. A.; ASQUIERI, E.R. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, supl.1, p.151-160, maio 2010.

WATADA,A.E.; HERNER,R.C.; KADER,A.A.; ROMANI,R.J.; STABY,G.L. Terminology for the description of developmental stages of horticultural crops. **HortScience**,v.19,n.1,p.20-21.1984.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.47, p.1801-1812, 1999.

WILLS, R.; McGLASSON, B.; GRAHAM, D. JOYCE, D. Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals. New York: **CAB International**, 262 p. 1998.

WU, X.; PRIOR, P.L. Identification and Characterization of Anthocyanins by High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry in Common Foods in the United States: Vegetables, Nuts, and Grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.8, p.3101-3113, 2005.

YANG, S. F. Biosynthesis and action of ethylene. **HortScience**, v.20, n.1, p.41-45, 1985.

YUYAMA, K. Ocorrência natural. In: CRV. **Camu-camu**. Curitiba, 2011. p. 15-18.

YUYAMA, K; VALENTE, J.P.; CHÁVEZ FLORES, W.B. Taxonomia e descrição da planta. In: CRV. **Camu-camu**. Curitiba, 2011a. p. 19-25.

YUYAMA, K; VALENTE, J.P.; CHÁVEZ FLORES, W.B. Aspectos ecológicos. In: CRV. **Camu-camu**. Curitiba, 2011b. p. 51-61.

YUYAMA, K; YUYAMA, L.K.O.; AGUIAR, J.P.L. Colheita, beneficiamento, transporte e comercialização. In: CRV. **Camu-camu**. Curitiba, 2011. p. 119-123.

YUYAMA, K.; AGUIAR, J. P. L.; YUYAMA, L. K. O. Camu-camu: um fruto fantástico como fonte de vitamina C. **Acta Amazônica**, v. 32, n. 1, p. 169-174, 2002 a.

YUYAMA, K.; AGUIAR, J. L. P.; YUYAMA, K. L. O.; SILVA, I. A. Variabilidade genética de camu-camu silvestre da Amazônia. Simpósio de Recursos Genéticos para a América Latina e Caribe. **Resumo**. p. 459-461. 2001.

YUYAMA, L.K.O.; BARROS, S.E.; AGUIAR, J.L.; YUYAMA, K.; FILHO, D. F.S. Quantificação de fibra alimentar em algumas populações de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal), camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) e açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.). **Acta Amazônica**, vol.32, n.3, p. 491- 497, 2002 b.

YUYAMA, L. K.O.; AGUIAR, J.P.L.; YUYAMA, K.; LOPES, T.M.; FÁVARO, D.I.T.; BERGL, P.C.P.; VASCONCELOS, M.B.A. *Teores de elementos minerais em algumas populações de Camu-Camu*. **Acta Amazônica**, vol.33, n.4, p. 549-554, 2004.

ZAMUDIO, L.H.B. **Caracterização de vitamina C em frutos de camu camu *Myrciaria dúbia* (H.B.K.) em diferentes estágios de maturação do Banco Ativo de Germoplasma de Embrapa**. Brasília, 2007.121f. Monografia (Especialização em Nutrição Humana).Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.

ZANATTA, C.F. **Determinação da composição de carotenóides e antocianinas de camu-camu (*Myrciaria dúbia*)**. Campinas, 2004. 144f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

ZANATTA, C.F.; CUEVAS, E.; BOBBIO, F.O.; WINTERHALTER, P.; MERCADANTE, A.Z. Determination of Anthocyanins from Camu-camu (*Myrciaria*

*dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.24, p.9531-9535, 2005.

ZAPATA, S. M.; DUFOUR, J. Camu camu *Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh: Chemical composition of fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.61, p.349–51.1993.

ZUANAZZI, J. A.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis/Porto Alegre: UFSC/UFRGS, p.577-614. 2003.