



Universidade Federal de Pelotas  
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel  
Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial  
Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Dissertação

**Caracterização de frutos de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine):  
composição fenólica, atividade antioxidante e inibição de alfa-amilase e  
alfa-glicosidase**

**Elisa dos Santos Pereira**

Pelotas, 2018.

**Elisa dos Santos Pereira**

**Caracterização de frutos de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine):  
composição fenólica, atividade antioxidante e inibição de alfa-amilase e  
alfa-glicosidase**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de orientação: PhD. Leonardo Nora

PhD. Márcia Vizzotto

Dr<sup>a</sup>. Juliana Vinholes

Dr. Gabriel Dalmazo

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

P436c Pereira, Elisa dos Santos

Caracterização de frutos de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine): composição fenólica, atividade antioxidante e inibição de alfa-amilase e alfa-glicosidase / Elisa dos Santos Pereira ; Leonardo Nora, orientador. — Pelotas, 2018.

85 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Extração em fase sólida. 2. Cromatografia. 3. Diabetes mellitus. I. Nora, Leonardo, orient. II. Título.

CDD : 634.4

**Banca examinadora:**

Prof. Dr<sup>a</sup>. Elizabete Helbig

Prof. Dr<sup>a</sup>. Letícia Mascarenhas Pereira Barbosa

Prof. Dr<sup>a</sup>. Rejane Giacomelli Tavares

*“Mantenha seus pensamentos positivos, porque seus pensamentos tornam-se suas palavras. Mantenha suas palavras positivas, porque suas palavras tornam-se suas atitudes. Mantenha suas atitudes positivas, porque suas atitudes tornam-se seus hábitos. Mantenha seus hábitos positivos, porque seus hábitos tornam-se seus valores. Mantenha seus valores positivos, porque seus valores tornam-se seu destino.”*

*Mahatma Gandhi*

## *Agradecimentos*

*A Deus por me guiar, proteger e me fazer forte.*

*Aos meus pais Danilo e Maria Helena pelo grande esforço e apoio incondicional durante toda a minha vida e aos meus irmãos Ivan, Rafael e Charles por estarem sempre presentes quando eu precisei.*

*Ao Diego por ser sempre meu companheiro, fazer os meus dias mais felizes e me alegrar mesmo quando algo não ia bem.*

*Aos meus colegas de laboratório, que se tornaram muito mais que apenas colegas, se tornaram grandes amigos que levarei para sempre no meu coração: Priscila, Marina, Alex, Juliana Vinholes, Juliana Lemos, Graciele, Jardel, Maurício, Sabrina, Taiane e Marjana. Obrigada por tudo!*

*As queridas orientadoras da Embrapa Clima Temperado Márcia Vizzotto, Ana Cristina Krolow e Núbia Lettnin Ferri, pelo exemplo, apoio, ensinamento e carinho que sempre tiveram comigo.*

*Aos meus orientadores, Leonardo Nora, Márcia Vizzotto, Juliana Vinholes e Gabriel Dalmazo pela paciência, apoio, amizade e pelos ensinamentos transmitidos. Muito obrigada!*

*À Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de realização do curso de mestrado.*

*À Embrapa Clima Temperado, pela disponibilização de sua estrutura, onde parte do meu trabalho de mestrado foi executado.*

*À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.*

## Resumo

Pereira, Elisa dos Santos. **Caracterização de frutos de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine): composição fenólica, atividade antioxidante e inibição de alfa-amilase e alfa-glicosidase**. 2018. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

Dentre as frutas silvestres da mata Atlântica, o araçá destaca-se pela presença de compostos bioativos, com ação antiproliferativa, antimicrobiana, antienvhecimento e antidiabética (pela inibição de alfa-amilase e alfa-glicosidase). Entretanto, a quantificação e caracterização dos compostos presentes no araçá ainda não foram suficientemente elucidadas. Assim, foram identificados e quantificados compostos fenólicos presentes em diferentes extratos da polpa-casca e da semente de três genótipos de araçá, bem como suas atividades antioxidantes e seus potenciais de inibição de alfa-glicosidase e alfa-amilase. Os extratos obtidos foram fracionados por extração em fase sólida e os compostos presentes foram identificados e quantificados por análise cromatográfica. Não foram verificadas diferenças significativas na inibição enzimática entre os três genótipos, e nem mesmo entre polpa-casca e semente. Os compostos presentes na polpa-casca e na semente, independentemente do genótipo, inibiram a alfa-amilase e a alfa-glicosidase. Os compostos presentes na fração III (flavonoides) destacaram-se pela inibição da alfa-glicosidase e também da alfa-amilase, enquanto os compostos presentes na fração IV (antocianinas poliméricas) e no extrato não fracionado, destacaram-se pela inibição da alfa-glicosidase, com pouca inibição da alfa-amilase. Nas frações estudadas, e também no extrato não fracionado, verificou-se maior concentração de ácido elágico, e menores concentrações de quercetina, cianidina-3-glicosídeo, malvidina-3-glicosídeo, e de ácidos vanílico, siríngico, p-cumárico e 4-hidroxibenzóico. Em conclusão, os extratos fenólicos de araçá inibiram alfa-amilase e alfa-glicosidase; os genótipos e a parte da fruta não influenciaram a inibição destas enzimas; os compostos presentes no extrato não fracionado e nas frações III e IV resultaram em maior inibição das enzimas estudadas.

**Palavras-chave:** extração em fase sólida, cromatografia, *diabetes mellitus*

## Abstract

Pereira, Elisa dos Santos. **Characterization of araçá fruits (*Psidium cattleianum* Sabine): phenolic composition, antioxidant activity and inhibition of alpha-amylase and alpha-glycosidase**. 2018. 91f. Dissertation (Master in Food Science and Technology) - Postgraduate Program in Food Science and Technology, Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2018.

Among the wild fruits of the Atlantic forest, araçá stands out for presenting bioactive compounds with antiproliferative, antimicrobial, anti-aging and antidiabetic action (by the inhibition of alpha-amylase and alpha-glucosidase). However, the quantification and characterization of the compounds present in the araçá have not been sufficiently elucidated. Thus, phenolic compounds present in different pulp-peel and seed extracts of three araçá genotypes were identified and quantified. In addition, their antioxidant activities and alpha-glucosidase and alpha-amylase inhibition potentials were evaluated. The obtained extracts were fractionated by solid phase extraction and the phenolic compounds were identified and quantified by chromatographic analysis. No significant differences were observed for the enzymatic inhibition between the three genotypes, nor even between pulp-peel and seed. Alpha-amylase and alpha-glucosidase enzymes were inhibited by the compounds present in araçá pulp-peel and seed extracts regardless of genotype. Phenolic compounds present in fraction III (flavonoids) were distinguished by the inhibition of both alpha-glucosidase and alpha-amylase enzymes. However, phenolic compounds present in fraction IV (polymeric anthocyanins) and in the unfractionated extract, were distinguished by the inhibition of alpha-glucosidase, with slight inhibition of alpha-amylase. Ellagic acid was the compound found in higher amounts in the fractions and non-fractionated extract, while quercetin cyanidin-3-glycoside, malvidin-3-glycoside, and vanillic, syringic p-coumaric and 4-hidroxybenzoic acids were present in lower amounts. In conclusion, araçá phenolic extracts inhibited alpha-amylase and alpha-glucosidase; the genotype and the fruit part did not influence the inhibition of these enzymes; the compounds present in the unfractionated extract and fractions III and IV resulted in higher inhibition of the enzymes studied.



**Keywords:** solid phase extraction, chromatography, diabetes mellitus

## Lista de Figuras

Figura 1. Araçá de epiderme amarela e vermelha. ....	4
Figura 2. Regulação da absorção da glicose antes e após a refeição .....	6
Figura 3. Estrutura básica de um flavonoide. ....	8
Figura 4. Exemplo de compostos fitoquímicos presentes em alimentos vegetais, com a classificação dos compostos polifenólicos.....	9
ARTIGO 1	
Figura 1. Araçás amarelos e vermelhos.....	45
ARTIGO 2	
Figura 1. Obtenção das frações fenólicas por SPE. ....	59

## Lista de Tabelas

### ARTIGO 1

Tabela 1- Composição mineral de araçá amarelo maduro e imaturo e araçá vermelho maduro. ....	46
Tabela 2. Carotenoides em <i>Psidium cattleianum</i> .....	47
Tabela 3- Compostos fenólicos individuais em araçás amarelos e vermelhos. ....	48

### ARTIGO 2

Tabela 1. Gradiente utilizado no estudo. ....	61
Tabela 2. Compostos fenólicos totais e rendimento total (%) das frações fenólicas obtidas das diferentes partes da fruta do araçá para os genótipos bicudo, AC44 e AC87.....	66
Tabela 3. Características dos compostos fenólicos analisados nas frações e extratos purificado e bruto de araçá vermelho e amarelo .....	68
Tabela 4. Compostos fenólicos totais e individuais identificados nos extratos bruto e purificado e nas frações e extratos purificado e bruto de araçá vermelho e amarelo. ....	69
Tabela 5. Atividade antioxidante e valores de IC <sub>50</sub> para alfa-amilase e alfa-glicosidase para os extratos bruto e purificado e frações fenólicas obtidas das diferentes partes da fruta do araçá para os genótipos bicudo, AC44 e AC87... ..	76

## Sumário

1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1 Objetivo geral .....	2
1.2 Objetivos específicos .....	2
1.3 Hipóteses .....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 Araçá ( <i>Psidium cattleianum</i> Sabine) .....	3
2.2 O araçá como potencial inibidor de enzimas digestivas .....	5
2.3 Compostos fenólicos na inibição de enzimas digestivas .....	7
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	11
ARTIGO 1 .....	16
1. INTRODUÇÃO .....	20
2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA .....	22
2.1 Composição nutricional do araçá .....	22
2.2 Polissacarídeos .....	23
3. FITOQUÍMICOS .....	24
3.1 Compostos voláteis .....	24
3.2 Carotenoides .....	26
3.3 Compostos fenólicos .....	27
4. ATIVIDADES BIOLÓGICAS .....	30
4.1 Atividade antioxidante .....	30
4.2 Atividade antidiabética .....	31
4.3 Atividade anticâncer .....	32
4.4 Atividade antimicrobiana .....	32
4.5 Atividade anti-inflamatória .....	32

4.6 Atividade anti idade .....	33
5. CONCLUSÕES .....	33
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	35
ARTIGO 2.....	50
1. INTRODUÇÃO .....	55
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	57
2.1 Padrões e reagentes .....	57
2.2 Amostras .....	57
2.3 Preparo dos extratos brutos .....	58
2.4 Preparo dos extratos e extração em fase sólida (SPE) .....	58
2.5 Composição química .....	60
2.5.1 Compostos fenólicos totais.....	60
2.5.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	60
2.5.2.1 Instrumentação e condições .....	60
2.6 Potencial de inibição das enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase e potencial antioxidante .....	62
2.6.1 Geral.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
2.6.2 Atividade de eliminação de radicais de DPPH.....	63
2.6.3 Inibição da atividade da alfa-amilase .....	63
2.6.4 Inibição da atividade de alfa-glicosidase.....	64
2.7 Análise estatística .....	64
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	64
3.1 Compostos fenólicos totais.....	64
3.2 Compostos fenólicos individuais.....	67
3.3 Atividade antioxidante .....	73

4. CONCLUSÃO.....	80
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	81

## 1. INTRODUÇÃO

O araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) está entre as frutas nativas brasileiras que são altamente exploradas devido à presença de compostos biológicos ativos, com uma série de metabólitos com ação antioxidante. Muitos estudos farmacológicos demonstram que essa fruta pode exercer atividades biológicas, como proteção contra o diabetes, atividades anticancerígena, antimicrobiana e anti-inflamatória, entre outras. Devido a isso, é de grande importância à pesquisa acerca da composição das frutas, e a influência destes na saúde humana.

O araçá é uma planta da família mirtácea, com origem botânica no sul do Brasil. Suas frutas são consumidas *in natura* e também podem ser processados em geleias e sucos. Têm sabor diferenciado, elevado teor de vitamina C, são ricos em antioxidantes, e ainda apresentam compostos com atividade antimicrobiana e antiproliferativa (GALHO et al., 2007 e FRANZON et al., 2009; JACQUES, et al., 2009, MEDINA et al., 2011). Extratos de araçá já foram avaliados quanto à capacidade de inibição de enzimas digestivas, como a alfa-amilase e alfa-glicosidase, e os resultados se mostraram promissores (PACHECO, 2015; VINHOLES et al. 2015).

O interesse por frutas que possuem capacidade inibitória de enzimas digestivas vem crescendo, visto que algumas enzimas, como as glicosidases, são responsáveis pelo metabolismo de glicoconjugados. A inibição destas enzimas provoca retardo da absorção da glicose a partir do intestino delgado, reduzindo a glicemia pós-prandial (YAMAGISHI et al., 2009). Este benefício demonstra grande importância visando o possível controle da diabetes tipo II.

Compostos com ação antioxidante, como os compostos fenólicos, estão relacionados com o bloqueio de enzimas específicas (VALKO et al., 2007). Isso ocorre pela capacidade de estruturas fenólicas se combinarem com estas enzimas, proteínas e outros polímeros (carboidratos e pectinas) formando complexos estáveis, impedindo a absorção dos nutrientes e assim, fazendo com que os compostos fenólicos sejam possíveis inibidores de algumas enzimas digestivas (COSTA et al. 2008).

Vários inibidores de alfa-glicosidase, tais como acarbose e voglibose obtidos de fontes naturais, podem efetivamente controlar a concentração de glicose no sangue após as refeições e têm sido usados clinicamente no tratamento de *diabetes mellitus* tipo II. Há poucos inibidores de glicosidase disponíveis comercialmente, e todos contêm derivados de açúcar em sua estrutura, são de difícil síntese química e clinicamente associados com sérios efeitos colaterais gastrointestinais (YIN et al., 2014). Assim, a descoberta de inibidores de glicosidase a partir de fontes naturais tem recebido grande atenção devido à abundância de compostos na natureza e de suas promissoras atividades biológicas.

### **1.1 Objetivo geral**

Realizar um estudo de revisão sobre as propriedades biológicas do araçá e pesquisar acerca de três genótipos de araçá quanto ao perfil de compostos fenólicos, atividade antioxidante e seu potencial na inibição das enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase.

### **1.2 Objetivos específicos**

- Realizar um estudo de revisão sobre as propriedades biológicas do araçá.



- Comparar os genótipos bicudo, AC44, e AC87 de araçá quanto à atividade inibitória de enzimas digestivas.
- Comparar os genótipos bicudo, AC44, e AC87 de araçá quanto à concentração, perfil de compostos fenólicos, e atividade inibitória de enzimas digestivas, no conjunto polpa-casca e na semente.
- Obter frações cromatográficas do conjunto polpa-casca e da semente, dos genótipos bicudo, AC44, e AC87 de araçá, e testar seu efeito na atividade de enzimas digestivas.

### **1.3 Hipóteses**

- Os genótipos do araçá bicudo, AC44 e AC87 inibem enzimas digestivas distintamente.
- A concentração de compostos fenólicos (em base seca) no conjunto polpa-casca, e seu efeito inibitório sobre enzimas digestivas, são maiores do que na semente.
- Diferentes frações cromatográficas de compostos fenólicos de araçá exercem distintos efeitos na inibição de enzimas digestivas.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine)**

O araçá é uma fruta nativa do Brasil pertencente à família Myrtaceae, e é originária do sul do Brasil, podendo ser encontrada desde o Estado da Bahia até o Rio Grande do Sul e regiões Nordeste do Uruguai (BRANDÃO et al., 2002; GALHO et al., 2007).

O araçazeiro é uma pequena árvore (1 a 4 m de altura) com frutas de 2,2 a 5 cm de diâmetro e peso de aproximadamente 20 g, contendo numerosas sementes, podendo apresentar o epicarpo amarelo ou vermelho e endocarpo podendo variar de amarelo-claro a branco ou vermelho (CASTRO; RASEIRA;

FRANZON, 2004; BIEGELMEYER et al., 2011). No Brasil, o *Psidium cattleianum* é conhecido por diversos nomes como araçá, araçá-rosa, araçá-de-comer, araçá-da-praia e araçá-coroa, e é considerada a melhor fruta dentre as espécies de araçazeiros conhecidas (BEZERRA, 2006).



Foto: Paulo Lanzetta

Figura 1. Araçá de epiderme amarela e vermelha.

Essa espécie apresenta grande potencial econômico, pois é uma frutífera de baixo custo de manutenção, pouca necessidade de utilização de agrotóxicos e alta produtividade. Além disso, pode representar uma alternativa dentro da agricultura familiar como opção para o cultivo orgânico, em virtude das características da sua fruta e da boa aceitação para consumo (CORRÊA, 2009). Na pós-colheita o elevado teor de umidade encontrado nas frutas, favorece a rápida deterioração e, sob temperatura ambiente, a sua conservação é de apenas 2 a 3 dias (GALHO et al., 2000). Todavia, sob refrigeração, o período de conservação do fruto é estendido.

A composição centesimal e os teores de minerais variam em função dos índices pluviométricos, altitude, clima e solo das regiões de colheita (CALDEIRA et al., 2004). Outros fatores, tais como a origem do material genético, genótipo, a época de produção e o estágio de maturação da fruta, também exercem influência na composição e valor nutricional do araçá.

As espécies nativas, como o araçá, possuem potencial para serem utilizadas tanto no consumo *in natura*, quanto para a agroindústria, na forma de

doces, geleias e sucos, ou ainda, pela indústria farmacêutica devido à riqueza em vitaminas, substâncias antioxidantes e agentes antiproliferativos e antimicrobianos presentes (FRANZON et al., 2009; MEDINA et al., 2011). Esta fruta é conhecida como fonte rica de vitamina C com valores de 200 e 242 mg de ácido ascórbico / g de peso fresco para genótipos vermelho e amarelo, respectivamente (LUXIMON-RAMMA, 2003).

As atividades biológicas relatadas para araçás estão, principalmente, relacionadas com sua composição química, particularmente com a presença de compostos fenólicos. Esses compostos são metabolitos secundários das plantas amplamente conhecidos por sua alta capacidade antioxidante. São capazes de proteger os sistemas biológicos contra o excesso de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (VERMA et al., 2013). Assim, quando incluídos na dieta humana, eles são capazes de preservar a qualidade dos alimentos e também reduzir o desenvolvimento de doenças degenerativas, como a aterosclerose, câncer, doenças cardiovasculares, diabetes entre outros (MEDINA et al., 2011; DALLA NORA et al., 2014). Além disso, araçás também contém outros compostos químicos interessantes como minerais, ácidos graxos, açúcares, compostos voláteis e carotenoides que também podem contribuir para a saúde humana (VRIESMANN et al., 2009; BIEGELMEYER et al., 2011; ADRIAN et al., 2015; VINHOLES et al., 2017).

## **2.2 O araçá como potencial inibidor de enzimas digestivas**

O interesse por frutas que possuem capacidade inibitória de enzimas digestivas vem crescendo, visto que algumas enzimas, como a alfa-glicosidase e alfa-amilase, são responsáveis pelo metabolismo de glicoconjugados, que

atuam no retardo da absorção da glicose a partir do intestino delgado, reduzindo a glicemia pós-prandial (YAMAGISHI et al., 2009).

Estas enzimas atuam na absorção da glicose nos enterócitos através de transportadores específicos. Elas hidrolisam os carboidratos para que estes sejam absorvidos na corrente sanguínea, sendo que a alfa-amilase é responsável por hidrolisar as ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4 da amilose e da amilopectina presentes no amido e a alfa-glicosidase é responsável pela hidrólise dos dissacarídeos, liberando duas moléculas de glicose para serem absorvidas na corrente sanguínea (Figura 2) (WILLIAMSON, 2013).

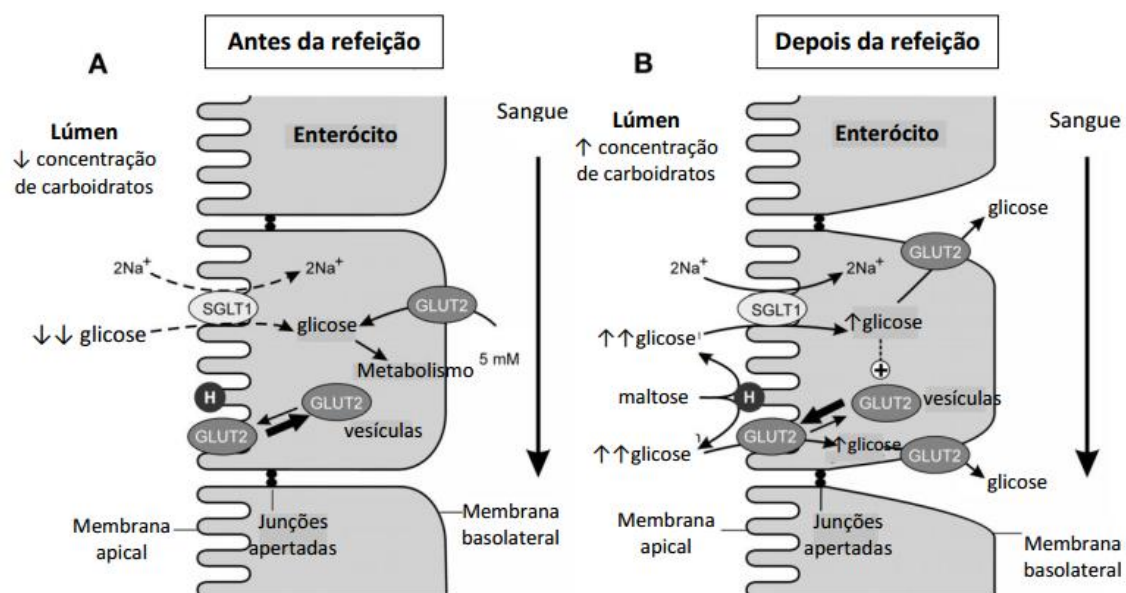


Figura 2. Regulação da absorção da glicose antes e após a refeição

H – hidrolase (alfa-glicosidase)

Fonte: adaptado de Kellet; Brot-Laroche, 2005.

A inibição destas enzimas demonstra grande importância visando o possível controle da diabetes tipo II (DM2), cujo tratamento baseia-se em mudanças no estilo de vida como dietas, exercícios físicos e uso de

antidiabéticos orais e injetáveis (WEINERT, et al., 2015). Esta doença é caracterizada por distúrbios metabólicos causados por defeitos na ação e/ou secreção da insulina, que resulta em hiperglicemia (Diretrizes SBD 2015-2016). Estas características são bem diferentes da diabetes tipo I (DM1) que é caracterizada pela destruição parcial ou total das células  $\beta$  das ilhotas de Langerhans pancreáticas, resultando na incapacidade progressiva de produzir insulina (Diretrizes SBD 2015-2016), sendo o único tratamento, a administração de insulina.

O controle glicêmico adequado na DM2 é importante para evitar complicações agudas, como retinopatias, neuropatias, pé diabético, doença renal crônica, doença arterial obstrutiva periférica, entre outras (Diretrizes SBD 2015-2016).

Extratos de araçá foram avaliados como potenciais inibidores das enzimas digestivas e verificou-se que os genótipos de araçás vermelhos e amarelos foram capazes de inibir as enzimas alfa-glicosidase e alfa-amilase, sendo uma alternativa à modulação da hiperglicemia (PACHECO, 2015; VINHOLES et al., 2017). Esta atividade pode estar relacionada com alguns dos compostos fenólicos presentes nos extratos de araçás, uma vez que esses compostos são responsáveis pela inibição de enzimas específicas (VALKO et al., 2007). A quercetina, por exemplo, é considerada um bom inibidor das enzimas digestivas com  $IC_{50}$  quase 40 vezes menor do que o controle positivo (acarbose) (VINHOLES et al., 2017).

### **2.3 Compostos fenólicos na inibição de enzimas digestivas**

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas e essenciais para o crescimento e reprodução destas. Além disso, são

formados em condições de estresse, como por exemplo, infecções, fermentos, radiações UV, entre outros (NACZK e SHAHIDI, 2004). Estruturalmente, os compostos fenólicos compreendem um anel aromático (Figura 3), com um ou mais substituintes hidroxila, e variam desde moléculas fenólicas simples até compostos altamente polimerizados (BRAVO, 1998). Estes representam um grupo muito diversificado de fitoquímicos, e são categorizados em diversas classes, sendo os flavonoides (Figura 3), e ácidos fenólicos os grupos mais representativos desta classe (Figura 4) (MANACH et al., 2004).

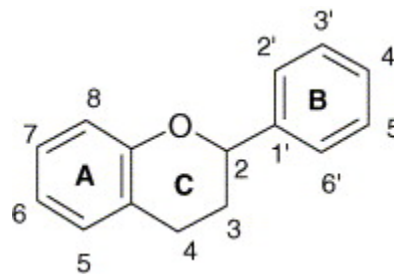


Figura 3. Estrutura básica de um flavonoide.

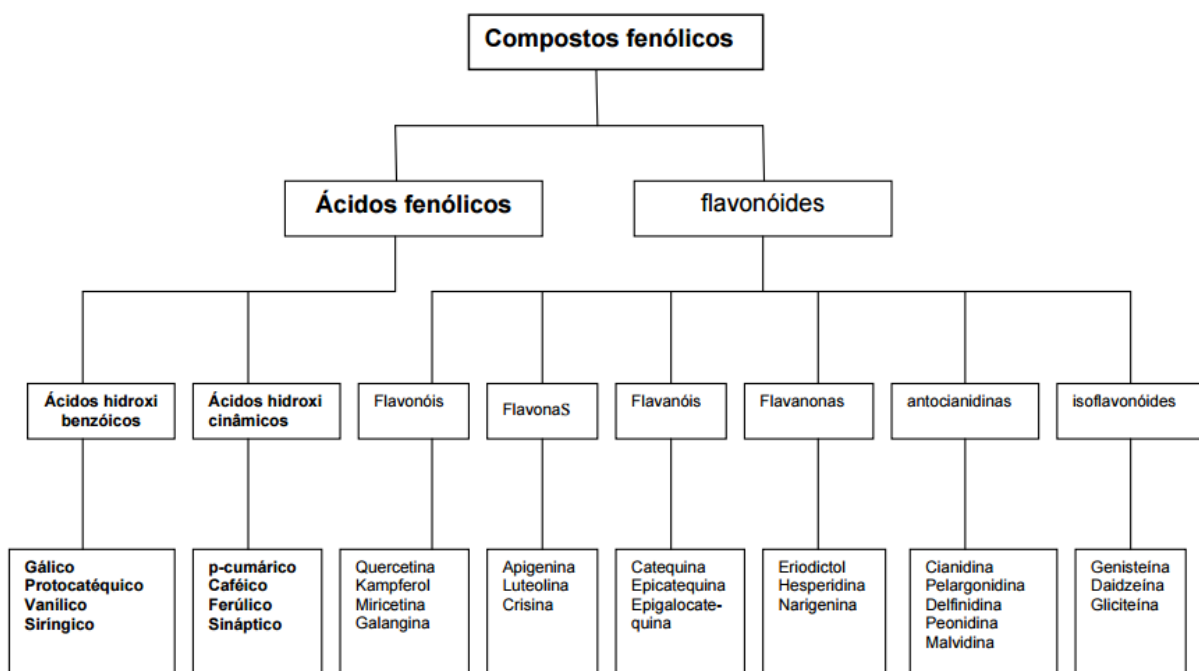


Figura 4. Exemplo de compostos fitoquímicos presentes em alimentos vegetais, com a classificação dos compostos polifenólicos (Karakaya, 2004).

Os flavonoides são compostos largamente distribuídos no reino vegetal na forma de glicosídeos ou agliconas (HARBONE et al., 1999). Os ácidos fenólicos caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes para os vegetais (SOARES, 2002).

Os flavonoides, especialmente a subclasse dos flavonóis, acumulam-se principalmente na casca das frutas e nas folhas, devido à biossíntese ser estimulada pela luz, fazendo com que diferentes partes da mesma fruta possuam concentrações diferentes de flavonóis (MANACH et al., 2004), o que torna interessante a investigação de compostos nas diferentes partes das frutas. A composição das frutas interfere diretamente na qualidade e atividade biológica dos mesmos. Bieglmeyer et al., (2011) avaliaram araçás de cor amarela e vermelha, verificando que nas frutas de cor vermelha a concentração de polifenóis e flavonoides era superior, provavelmente devido à presença das antocianinas.

Dentre os compostos fenólicos individuais detectados no araçá amarelo, estão em maior quantidade a epicatequina (MEDINA et al., 2011; FERRARI, 2015), ácido gálico (MEDINA et al., 2011; SILVA et al., 2014), dímero de proantocianidina e taxifolin-hexosídeo (FERRARI, 2015) e, em menor quantidade, o ácido cumárico, ácido ferúlico, miricetina e quercetina (MEDINA et al., 2011). No araçá vermelho, também são detectadas antocianinas, sendo as majoritárias: cianidina 3-O-glicosídeo, malvidina 3-O-glicosídeo e cianidina (DALLA NORA, 2012).

Os compostos polifenólicos atuam por mecanismos variados, dependendo da sua concentração e do tipo de composto presente no alimento, podendo existir sinergismo ou antagonismo entre eles (PEDRIELLI e SKIBSTED, 2002; HASSIMOTTO et al., 2005).

Há evidências de que o consumo de compostos fenólicos presentes nos alimentos pode diminuir o risco de transtornos graves de saúde devido a sua atividade antioxidante (SHAHIDI et al., 2015). Este mecanismo dos compostos fenólicos está relacionado com o efeito protetivo contra o estresse oxidativo, imposto por espécies reativas de oxigênio (ROS), o que desempenha papel crucial na fisiopatologia de neoplasias, aterosclerose e doenças neurodegenerativas (HEIM et al., 2002). Além disso, os compostos fenólicos também atuam no bloqueio de enzimas específicas (VALKO et al., 2007). Isso ocorre pela capacidade de estruturas fenólicas se combinarem com enzimas digestivas, proteínas e outros polímeros (carboidratos e pectinas) formando complexos estáveis, impedindo a absorção dos nutrientes e assim, fazendo com que os compostos fenólicos sejam possíveis inibidores de algumas enzimas digestivas (COSTA et al. 2008).

A (-) - epicatequina e quercetina são consideradas bons inibidores de alfa-glicosidase e alfa-amilase, enzimas chave no controle de DM2 (TADERA et al., 2006). As procianidinas, encontradas em ambos os genótipos de araçás, também possuem propriedades antidiabéticas. Verificou-se que possuem funções miméticas de insulina, reduzindo a hiperglicemia e estimulando a absorção de glicose em linhagens celulares sensíveis à insulina (MONTAGUT et al., 2010).



No entanto, ainda há dificuldade de correlacionar o tipo e a quantidade de compostos fenólicos presentes no araçá, que exerçam o efeito inibitório de enzimas digestivas, ou ainda, considerar que tanto a glicosilação como possíveis efeitos sinergistas ou antagonistas podem estar implicados nessa característica (GONÇALVES, 2008).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIAN, J.A.L., ARANCON, N.Q., MATHEWS, B.W., & CARPENTER, J.R. Mineral composition and soil-plant relationships for common Guava (*Psidium guajava* L.) and yellow strawberry Guava (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) tree parts and fruits. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**. n. 46, n. 15, p. 1960–1979, 2015.

BEZERRA, J.E.F., LEDERMAN, I.E., SILVA JUNIOR, J.F., PROENÇA, C.E.B. Araçá. In: VIEIRA, R.F., COSTA, T.S.A., SILVA, D.B., FERREIRA, F.R., SANO, S.M. **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 42-62. 2006.

BIEGELMEYER, R., ANDRADE, J. M. M., ABOY, A. L., APEL, M. A., DRESCH, R. R., MARIN, R., ... & HENRIQUES, A. T. Comparative analysis of the chemical composition and antioxidant activity of red (*Psidium cattleianum*) and yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) strawberry guava fruit. **Journal of food science**, v. 76, n. 7, 2011.

BRANDÃO, M., LACA-BUENDÍA, J.P., MACEDO, J.F. **Árvores nativas e exóticas do Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG. 528 p., 2002.

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

CALDEIRA, S.D., HIANE, P.A., RAMOS, M.I.L., RAMOS FILHO, M.M. Caracterização físico-química do araçá (*Psidium guineense* SW.) e do tarumã (*Vitex cymosa* Bert.) do Estado do Mato Grosso do Sul. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v.1, p.144-154, 2004.

CASTRO, C.M., RASEIRA, M.C.B., FRANZON, R.C. Descrição da Planta. In: RASEIRA, M.C.B., ANTUNES, L.E.C., TREVISAN, R., GONÇALVES, E.D. Ed.). **Espécies Nativas do Sul do Brasil** - Documento 129. 1. ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 13-28. 2004.

CORRÊA, L.C. Similaridade genética em acessos de goiabeiras e araçazeiros: análises químicas e bioquímicas dos frutos. 2009. 96p. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP – Universidade Estadual Paulista., 2009.

COSTA, C.T.C., BEVILAQUA, C.M.L., MORAIS, S.M., VIEIRA, L.S. Taninos e sua utilização em pequenos ruminantes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 10, n. 4, p. 108-116, 2008.

DALLA NORA, C., DANELLI, D., SOUZA, L.F., RIOS, A.D.O., JONG, E.V. DE, & FLÔRES, S.H. Protective effect of guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand) and red guava (*Psidium cattleyanum* Sabine) against cisplatin-induced hypercholesterolemia in rats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 3, p. 483-491, 2014.

DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Sociedade Brasileira de Diabetes (2015 – 2016). Disponível em

<http://www.diabetes.org.br/sbdonline/images/docs/DIRETRIZES-SBD-2015-2016.pdf>.

FERRARI, A. Composição de carotenoides e compostos fenólicos do araçá-amarelo (*Psidium cattleianum*) por HPLC-DAD-MS. **Salão de Iniciação Científica – UFRGS**. 2015.

FRANZON, R.C., CAMPOS, L.D.O., PROENÇA, C.E.B., SOUSA-SILVA, J.C. Araçás do Gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos. **Embrapa Cerrados**, 2009.

GALHO, A.S., LOPES, N.F., BACARIN, M.A., LIMA, M.G.S. Chemical composition and growth respiration in *Psidium cattleianum* Sabine fruits during the development cycle. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 61–66, 2007.

GALHO, A.S., LOPES, N.F., RASEIRA, A., BACARIN, M.A. Crescimento do fruto do araçá (*Psidium cattleianum* Sabine). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 22, n. 2, p. 223-225, 2000.

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. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2008.

HARBORNE, J.B., BAXTER, H. The handbook of natural flavonoids, 1999.

HASSIMOTTO, N.M.A., GENOVESE, M.I., LAJOLO, F.M.. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 8, p. 2928-2935, 2005.

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

JACQUES, A.C., PERTUZATTI, P.B., BARCIA, M.T., ZAMBIAZI, R.C. Bioactive compounds in small fruits cultivated in the southern region of Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v 12, n 2, p 123–127, 2009.

LUXIMON-RAMMA, A., BAHORUN, T., CROZIER, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 5, p. 496-502, 2003.

MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, p. 727-747, 2004.

MEDINA, A.L., HAAS, L.I.R., CHAVES, F.C., SALVADOR, M., ZAMBIAZI, R. C., DA SILVA, W.P., NORA, L., ROMBALDI, C. V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidante and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human câncer cells. **Food Chemistry**, v. 128, n. 4, p. 916-922, 2011.

MONTAGUT, G., ONNOCKX, S., VAQUÉ, M., BLADÉ, C., BLAY, M., FERNÁNDEZ-LARREA, J., PUJADAS, G., SALVADÓ, M.J., AROLA, L., PIRSON, I., ARDÉVOL, A., PINENT, M. Oligomers of grape-seed procyanidin extract activate the insulin receptor and key targets of the insulin signaling pathway differently from insulin. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 21, n. 6, p. 476-481, 2010.

NACZK, Marian; SHAHIDI, Fereidoon. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**, v. 1054, n. 1-2, p. 95-111, 2004.

PACHECO, S.M., 2015. Frutos da família Myrtaceae: Caracterização físico-química e potencial inibitório da atividade das enzimas digestivas. Universidade Federal de Pelotas, 2015.

PEDRIELLI, P., SKIBSTED, L.H. Antioxidant synergy and regeneration effect of quercetin, (-)-epicatechin, and (+)-catechin on  $\alpha$ -tocopherol in homogeneous solutions of peroxidating methyl linoleate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 24, p. 7138-7144, 2002.

SHAHIDI, F., JANITHA, P.K., WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SOARES, S.E. Phenolic acids as antioxidants. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

TADERA, K., MINAMI, Y., TAKAMATSU, K., MATSUOKA, T. Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase by flavonoids. **Journal of nutritional science and vitaminology**, v. 52, n. 2, p. 149-153, 2006.

VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOL, J., CRONIN, M.T., MAZUR, M., TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VERMA, A.K., RAJKUMAR, V., BANERJEE, R., BISWAS, S., DAS, A.K. Guava (*Psidium guajava* L.) powder as an antioxidant dietary fibre in sheep meat nuggets. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 26, n. 6, p. 886, 2013.

VINHOLES, J.R., LEMOS, G.S., KONZGEN, E.A., FRANZON, R.C., VIZZOTTO, M. Atividade antiglicêmica e antioxidante em araçá amarelo e vermelho. In: 10º SIERGEALC - SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E O CARIBE, 10, 2015, Bento Gonçalves. Anais do 10º Simpósio de Recursos Genéticos para a América Latina e o Caribe, Bento Gonçalves, p. 275. 2015.

VINHOLES, J., LEMOS, G., BARBIERI, R.L., FRANZON, R.C., VIZZOTTO, M. *In vitro* assessment of the antihyperglycemic and antioxidant properties of araçá, butiá and pitanga. **Food Bioscience**, v. 19, p. 92-100, 2017.

VRIESMANN, L.C., LÚCIA, C., PETKOWICZ, D.O., BORBA, P.I. Acidic polysaccharides from *Psidium cattleianum* (Araca). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 2, p. 259-264, 2009.

WEINERT, L.S, CAMARGO, E.G, SILVEIRO, S.P. Tratamento Medicamentoso da Hiperglicemia no *Diabetes Mellitus* Tipo 2. **Clinical & Biomedical Research**, v. 30, n. 4, 2015.

WILLIAMSON, G. Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 57, n. 1, p. 48-57, 2013.

YAMAGISHI, S., MATSUI, T., UEDA, S., FUKAMI, K., OKUDA, S. Clinical utility of acarbose, an alpha-glucosidase inhibitor in cardiometabolic disorders. **Current Drug Metabolism**. n. 10, p. 159–163, 2009.

YIN, Z., ZHANG, W., FENG, F., ZHANG, Y., KANG, W.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. **Food Science and Human Wellness**, v. 3, n. 3, p. 136-174, 2014.

#### 4. ARTIGO 1

***Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity**

**Submissão realizada à revista científica Food Chemistry**

***Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity**

Elisa dos Santos Pereira<sup>1,2</sup>, Juliana Vinholes<sup>1\*</sup>, Rodrigo C. Franzon<sup>1</sup>, Gabriel Dalmazo<sup>2</sup>, Márcia Vizzotto<sup>1\*</sup>, Leonardo Nora<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Embrapa Clima Temperado, BR 392, KM 78, C. P. 403, CEP 96010-971, Pelotas-RS, Brasil.*

<sup>2</sup> *Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Avenida Eliseu Maciel, S/N, CEP 96160-000, Capão do Leão, RS, Brasil.*



\* Corresponding authors. Tel.: +55 53 3275-8100

*E-mail addresses: julianarochavinhoes@gmail.com and  
marcia.vizzotto@embrapa.br*

### **Highlights**

- Araçá has excellent flavor and high potential to the agri-food sector.
- Fruits have good nutritional properties, with high vitamin C content.
- Araçá is a source of gallic and ellagic acids derivatives.
- Biological activity is related with phytochemical compounds.
- Promising agri-food and pharmaceutical applications.

## **Abstract**

*Psidium cattleianum* Sabine, commonly known as araçá, is a Brazilian native fruit, which is very juicy, with sweet to sub acid pulp and a spicy touch. The fruit can be eaten fresh or processed into juice, jellies and ice creams. Araçás are source of vitamin C, minerals, fatty acids, polysaccharides, volatile compounds, carotenoids and phenolic compounds, which can provide nutrients and phytochemical agents with different biological functions. Different pharmacological studies demonstrate that *P. cattleianum* exerts antioxidant, antidiabetic, anticarcinogenic, antimicrobial, anti-inflammatory and antiaging effects. Thus, this article aims to review the chemical composition and biological effects reported for araçá fruit in the last years.

Keywords: Araçá; chemical composition; antioxidant; antidiabetic; anticancer; antimicrobial; anti-inflammatory; anti-aging.

## 1. Introduction

*Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae) is a Brazilian native species that can be found from Bahia to Rio Grande do Sul states, and also in the neighbor country Uruguay. It has adapted very well in tropical climates as Hawaii and many Caribbean islands (Galho et al., 2007; Patel, 2012). The species is characterized as a small fructiferous evergreen tree/shrub (1 m to 4 m high) whose fruit diameters are between 2.2 cm to 5 cm, with ovoid or oblong shape, weighting less than 20 g, with high number of seeds, presenting yellow or red epicarp and light-yellow or white endocarp (Figure 1), and also red endocarp (Biegelmeier et al., 2011; Castro et al., 2004). Relevant synonyms for this species are *Psidium littorale* Raddi, *Eugenia ferruginea* Sieber ex C. Presl, *Guajava obovata* (Mart. ex DC.) Kuntze, *P. ferrugineum* C. Presl, *P. indicum* Bojer, *P. obovatum* Mart. ex DC., *P. variabile* O. Berg and *G. cattleiana* (Afzel. ex Sabine) Kuntze. Nevertheless, fruits are popular known in Brazil as araçá, araçá-amarelo, araçá-vermelho, araçá-rosa, araçá-de-comer, araçá-da-praia, araçá-de-coroa or araçá-do-campo and in other countries are known as Cattle guava, Chinese guava, purple guava, yellow strawberry guava, red strawberry guava, guayaba, cherry guava and lemon (Bezerra et al., 2010; Lisbôa et al., 2011; Mitra et al., 2012).

Flowering in south of Brazil occurs in two main times, the first from September to October and the second in December. Eventually, a third flowering can occur in March, thus araçás can be harvest from October to March (Raseira and Raseira, 1996). Under specific conditions, araçá orchard (0.5 m between plants and 4.0 m between rows of plants) can produce 10 ton of fruit per ha, considering 2 kg of fruit per plant (Franzon et al., 2009).

Araçá is very juicy fruit, with an excellent flavor and a sweet to sub acid pulp, with a spicy touch (Biegelmeier et al., 2011). The fruit, consumed *in natura* or processed (sweets, jams and juices), has high potential to the agri-food sector (Reissig et al., 2016; Santos et al., 2007). Moreover, due to the bioactivity (antiproliferative, antidiabetic and antimicrobial) of the fruit extract, which may be related to high content of vitamin C and antioxidants, the araçá can also be valuable to the pharmaceutical industry (Franzon et al., 2009; Medina et al., 2011)

The bioactivity reported for araçá is mainly attributed to the high content of phenolic compounds, which are well known secondary metabolites with high antioxidant capacity. These compounds are able to protect biological systems against the excess of free radicals and reactive oxygen species (Verma et al., 2013). Thus, when included in human diet they contribute to reduce the development of degenerative diseases such as atherosclerosis, cancer, cardiovascular diseases, diabetes among others. In addition, araçá also contains other interesting chemical compounds such as minerals, fatty acids, sugars, volatile compounds and carotenoids that can also contribute to human health.

Prospective applications in the agrifood sector and pharmaceutical industry has been reviewed by Patel, (2012). Since then several studies have been conducted, providing knowledge to subsidize other applications for this species. Thus, the aim of this article is to review the literature on the biological activities and chemical composition reported for yellow and red araçá fruit in the last years.

## 2. Chemical composition

### 2.1 Araçá nutritional composition

In 100 g of araçá fresh fruit there are 82.36 g of water, 0.5 g of protein, 7.67 g of carbohydrate, 0.49 g of lipid, 8.65 g of dietary fiber and 37 Kcal of energy (Silva et al., 2008). When compared with apple, the most common fruit consumed worldwide, araçá is less caloric, lower in carbohydrate content, and higher in lipid and dietary fiber content.

Vitamin C, or ascorbic acid, has many physiological functions. The two most important ones are its role on the increase of absorption of iron from vegetal origin and its high antioxidant activity, protecting the cell membranes and lipoproteins against the lipid peroxidation (Figuroa-Méndez and Rivas-Arancibia, 2015). Araçá is known as a rich source of vitamin C, with values of 200 mg and 242 mg per gram of fresh fruit, for red genotype (RG) and yellow genotype (YG), respectively (Luximon-ramma et al., 2003). Therefore, the consumption of one fruit of 15 g will provide more than four times the recommended daily intake of vitamin C for adults.

Different groups of researchers studied the mineral composition of mature and immature yellow araçás (Table 1). Araçá from Hawaii, regardless the maturation stage, was rich in macrominerals such as potassium (1.30 % - 1.59 %) and nitrogen (0.85 % - 0.91 %), and microminerals such as iron (0.0016 % - 0.0043 %) and zinc (0.0011 % - 0.0050 %) (Adrian et al., 2015). Similar results were obtained for yellow and red mature araçá in Brazil (Kinupp and Inchausti, 2008; Silva et al., 2008). Minerals are involved in metabolic process and they have exclusive physiological function in the regulation and catalization of important cellular mechanisms (Bailey et al., 2015).

Lipid is present in araçá seed and linoleic acid is the major fatty acid in both yellow and red araçá, with  $61.01 \% \pm 2.51 \%$  and  $75.42 \% \pm 3.50 \%$ , respectively. Oleic acid is present in higher amount in the YG ( $14.99 \% \pm 0.88 \%$ ) than in RG ( $10.83\% \pm 0.99\%$ ). Quantitative differences for palmitic acid were observed among YG and RG, where the yellow one has  $19.92 \% \pm 0.26 \%$ , more than double the percentage observed in the red one ( $9.12 \% \pm 2.12 \%$ ). The content of stearic acid was low in both genotypes,  $3.57 \% \pm 0.62 \%$  in the yellow and  $4.63 \% \pm 0.40 \%$  in the red one (Biegelmeyer et al., 2011). The lipid profile evaluation has become an important parameter since the fatty acids are crucial for the maintenance of a normal physiological health. Moreover, diets rich in mono and polyunsaturated fatty acids are associated with lower risk of development of cardiovascular diseases and atherosclerosis. For instance, linoleic acid, the most representative in araçá, exerts health benefits such as antimutagenic, anticarcinogenic (breast and skin cancers), thermogenic, antidiabetic, preventive of atherosclerosis, antihypertensive, and stimulant of the immunological system (Koba and Yanagita, 2014).

## **2.2 Polysaccharides**

Different acidic polysaccharides were found in the edible portion of the araçá fruit (mesocarp) (Vriesmann et al., 2009). Different forms of pectin and hemicellulose were identified and presented the following characteristics: (i) polysaccharides non associated to the cell wall composed by 30.0 % of uronic acids and 50.3 % arabinose; (ii) pectin not covalently linked to the cell wall associated with calcium, composed by 42.6 % of uronic acids and 37.8 % arabinose; (iii) pectin not covalently cross-linked to the cell wall, with 20.0 % of uronic acid and high content of arabinose and galactose (arabinans and

galactans as side chains); and (iv) hemicelluloses, 69.1 % xylose and 19.8 % uronic acid, probably an acidic xylan.

In the human diet, pectin is considered a dietary fiber. Different studies suggest that pectin ingestion can reduce cholesterol and triglycerides levels, arterial tension and also can reduce glucose absorption. Besides, the increased consumption of this fibers can also contribute in the reduction of chronic diseases such as diabetes, cardiovascular diseases and colon neoplasia (Bernaud and Rodrigues, 2013; Hur et al., 2013; Sriamornsak, 2003). Additionally, pectin monomers, resulted from the microbial degradation of pectin in human intestine, was described with prebiotic effect (Nazzaro et al., 2012).

### **3. Phytochemicals**

#### **3.1 Volatile compounds**

Volatile compounds are a diverse group of organic compounds, generally with a low molecular weight (< 250 Da) and high vapor pressure under ambient conditions, allowing them to readily diffuse through the gas phase and within biological systems. In fruits, volatile compounds are responsible for aroma characteristics, including various chemical substances (Chitarra and Chitarra, 2005).

The volatile composition of araçá has been reported by different authors using different techniques such as simultaneous steam distillation and extraction (Pino et al., 2001), hydrodistillation (Biegelmeier et al., 2011; Marin et al., 2008) and dynamic headspace extraction (Egea et al., 2014).

(E)- $\beta$ -caryophyllene was the major constituent in both yellow and red araçá, in all studies. Nevertheless, due to the variability of the sample (e.g. different locations and edaphoclimatic conditions), and the extraction method

employed, the profile of yellow and red araçá is quite different. Apart from (E)- $\beta$ -caryophyllene, hexadecanoic acid, (Z)-3-hexenol and  $\alpha$ -pinene were the major constituents found in red araçá studied by (Pino et al., 2001), while  $\beta$ -selinene and neo-intermedeol were those from the study of (Biegelmeier et al., 2011). Concerning the yellow araçá, neo-intermedeol (Marin et al., 2008),  $\alpha$ -humulene (Biegelmeier et al., 2011; Marin et al., 2008),  $\beta$ -selinene (Marin et al., 2008) and geraniol (Biegelmeier et al., 2011) were the major compounds.

Although, previous work (Pino et al., 2001) did not find one or more compounds that impact the red araçá odor, they linked the araçá flavor with the presence of aliphatic esters and terpenic compounds. Yellow and red araçá fruit share a common citric, green and sweet flavor pattern, however, they were distinct according to tropical fruit characteristic, found for the YG, and tomato characteristic for the RG (Egea et al., 2014). The compound with highest impact on both yellow and red araçá odor characteristics were: (Z)-3-hexenal (grass, herbaceous), that was the main active odorant in tomato; 1,8-cineole (minty and eucalyptus) and (Z)-1,5-Octadien-3-one (geranium). The tropical odor associated with the yellow araçá was supposed to be for the presence of 3-mercaptohexyl acetate with fresh and citrus aroma descriptors. Nevertheless, other compounds were also present and together can explain the distinction between the two genotypes. In fact authors attribute the odor of araçá as a result of interaction of compounds present in the fruit (Egea et al., 2014).

The investigation about the pharmacological activities of volatile compounds has increased in the last years since different studies shows their potential application on human health as antioxidant, hepatoprotective, anti-inflammatory, anticarcinogenic and anti-obesity, among other (Ayseli and



Ayseli, 2016; Vinholes et al., 2014a, 2014b). (E)- $\beta$ -Caryophyllene for instance, the major volatile compound in araçá, has antioxidant (Calleja et al., 2013; Elmann et al., 2009; Rather et al., 2012), anticarcinogenic, analgesic (Fidyt et al., 2016), hepatoprotective (Calleja et al., 2013) and neuroprotective (Chang et al., 2007) properties. Moreover, this compound attenuates hyperglycemia and mediated oxidative and inflammatory stress in diabetic rat (Basha and Sankaranarayanan, 2016) and protects plasma and tissue glycoprotein components in streptozotocin-induced hyperglycemic rat (Basha and Sankaranarayanan, 2015 ).

### 3.2 Carotenoids

Carotenoids are a diverse group of natural pigments which have received considerable attention since they are potential protector agents against disturbances caused by reactive oxygen species (Fiedor and Burda, 2014).

Levels of total carotenoids in araçá vary considerably, with values of 389.0  $\mu\text{g}$  - 1084.0  $\mu\text{g}$  and 364.4  $\mu\text{g}$  - 1134.0  $\mu\text{g}$  of equivalents of  $\beta$ -carotene / 100 g fresh weight (fw), for yellow and red araçá, respectively (Denardin et al., 2014; Medina et al., 2011; Vinholes et al., 2017).

Table 2 presents the carotenoids reported in araçás. Major individual carotenoids compounds in fresh yellow araçá were all-*trans*- $\beta$ -cryptoxanthin (26.4  $\mu\text{g} \pm 1.9 \mu\text{g} / 100 \text{ g fw}$ ), all-*trans*- $\beta$ -carotene (20.0  $\mu\text{g} \pm 4.6 \mu\text{g} / 100 \text{ g fw}$ ) and all-*trans*-lutein (15.7  $\mu\text{g} \pm 3.8 \mu\text{g} / 100 \text{ g fw}$ ) (Silva et al., 2014). Although other authors found similar composition, major compounds in skin and pulp were different being all-*trans*-lutein, all-*trans*-antheraxanthin, all-*trans*- $\beta$ -carotene and all-*trans*- $\beta$ -cryptoxanthin the most representative compounds in araçá studied by (Ribeiro et al., 2014). Lutein was also the main carotenoid

compound in yellow araçá studied by (Pereira et al., 2012), followed by  $\alpha$ -carotene, zeaxanthin and  $\beta$ -carotene. The composition of red araçá genotype is quite similar to the yellow one, as reported by Silva et al, 2014, with all-*trans*- $\beta$ -cryptoxanthin as a major compound, however all-*trans*-lutein was in the second position, and all-*trans*- $\beta$ -carotene in the third, but with very close values (Dalla Nora et al., 2014b).

Carotenoids are important antioxidant compounds which ingestion can significantly reduce the risk of diseases associated with oxidative stress. The beneficial effects of carotenoids have been confirmed in different types of cancer, cardiovascular and eyes disorders (Fiedor and Burda, 2014). Improvements in baseline blood pressure, reduction of inflammation and correction of dyslipidemias can also be highlighted (Maria et al., 2015).

### **3.3 Phenolic compounds**

The total content of phenolic compounds and flavonoids, expressed in fresh weight, were reported to be more abundant in red araçá (501.33 mg of gallic acid equivalents (GAE)/ 100 g and 200.20 mg of quercetin equivalents (QE)/ 100 g, respectively) than in yellow one (292.03 mg of GAE / 100 g and 35.12 mg of QE / 100 g, respectively) (Biegelmeier et al., 2011). However, in other studies, the total content of phenolic compounds did not differ between yellow and red genotypes, for instance, 5372 mg and 5638 mg of GAE acid / 100 g and 603 mg and 606 mg of chlorogenic acid equivalent (CAE) / 100 g, were reported for YG and RG, respectively (Luximon-ramma et al., 2003; Vinholes et al., 2017). However, differences were found for flavonoids contents, 712 mg of QE/g in the red araçá against 308 mg of QE/g in the yellow araçá, and also in proanthocyanidins (2561 mg and 2473 mg of cyanidin

chloride (CE)/g in the red and in the yellow araçá, respectively) (Luximonramma et al., 2003). The total content of phenolic compounds varies considerably between different accessions. Three different accessions of red araçá showed total content of phenolic compound varying from 402.68 mg to 528.30 mg of GAE / 100 g fresh fruit pulp (ffp), while yellow accessions (3) varied from 581.02 mg to 632.56 mg of GAE / 100 g ffp (Medina et al., 2011). Anthocyanins were present in much higher amounts in the red accessions (4.82 mg - 6.29 mg cyanidin-3-O-glucoside (C-3-O-G) / 100 g ffp) than in the yellow ones (0.21 mg - 0.55 mg C-3-O-G / 100 g ffp).

Araçá studied by different groups of researchers showed a different individual phenolic profile (Table 3). Nevertheless, the most representative phenolic compounds in yellow and red genotypes were: gallic acid in concentrations of 0.31 µg - 0.80 µg / 100 g fw (Medina et al., 2011), 0.46 µg - 1.51 µg / 100 g of extract (ex) (Ribeiro et al., 2014) and 12.20 mg gallic acid equivalents (GAE) / 100 g fw (Silva et al., 2014). Gallic acid derivatives galloyl hexoside (7.4 mg GAE/ 100 g fw) (Silva et al., 2014) and cinnamoyl-galloyl hexoside (0.57 µg - 0.88 µg/100 g ex) (Ribeiro et al., 2014). Ellagic acid (2.21 µg - 3.82 µg / 100 g ex) and its derivative ellagic acid deoxyhexoside (1.48 µg - 2.07 µg / 100 g ex), methyl ellagic acid deoxyhexoside (0.47 µg - 0.65 µg / 100 g ex) and ellagitanin-like compound (0.08 µg - 1.02 µg / 100 g ex) (Ribeiro et al., 2014). Epicatechin (0.62 µg - 2.66 µg / 100 g fw) (Medina et al., 2011) and epicatechin gallate (0.89 µg - 1.60 µg / 100 g ex) (Ribeiro et al., 2014). Vanillic acid hexoside (8.1 mg GAE/ 100 g fw) and the flavonoids taxifolin hexoside (11.7 mg GAE/ 100 g fw) and quercetin-hexoside (6.4 mg GAE/ 100 g fw) (Silva et al., 2014) and the anthocyanins cyanidin-3-O-glucoside

(0.35  $\mu\text{g}$  / 100 g of dry fruit (df)), malvidin-3-*O*-glucoside (0.24  $\mu\text{g}$ /100 g df) and cyanidin (0.087  $\mu\text{g}$ /100 g of df) (Dalla Nora et al., 2014b).

Phenolic compounds are secondary metabolites of plants and are essential for their growth and reproduction. Besides, they are formed in stress conditions, such as infections, wounds, UV radiations among others (Naczka and Shahidi, 2004).

There is growing evidence that consumption of phenolic compounds present in foods may lower the risk of health disorders due to their antioxidant activity (Shahidi and Ambigaipalan, 2015). Phenolic compounds act over reactive oxygen species and free radicals, which are in the origin of pathophysiology of neoplasia, atherosclerosis and neurodegenerative diseases (Heim et al., 2002). In fact, major phenolic compounds present in araçás (gallic acid, ellagic acid, epicatechin and quercetin), are described with chelating properties, inhibition of lipid peroxidation, responsible for the maintenance of endogenous antioxidant defense system, anti-inflammatory, antiproliferative and antimicrobial effects among others (Badhani et al., 2015; Chanwitheesuk et al., 2007; García-Niño and Zazueta, 2015; Jagan et al., 2008; Kaur et al., 2009; Long et al., 2016; Shay et al., 2015; Tadera et al., 2006; Wang et al., 2016). Moreover, (-)-epicatechin and quercetin are considered good inhibitors of  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase, key enzymes in the control of type II diabetes mellitus (Tadera et al., 2006). Procyanidins, found in both araçás genotypes, also have antidiabetic properties. It was found that they possess insulin mimetic functions, reducing the hyperglycemia and stimulating the glucose absorption in cell lines sensitive to insulin (Montagut et al., 2010).

## 4. Biological activities

### 4.1 Antioxidant activity

*P. cattleianum* can be considered as a good source of bioactive compounds with antioxidant properties (McCook-Russell et al., 2012; Dalla Nora et al., 2014b). According to (Ribeiro et al., 2014), araçá is a potent scavenger of reactive oxygen and nitrogen species, besides its pulp has also the potential of  $O_2^-$ , HOCl and  $^1O_2$  scavenger. Similar results were obtained by (Vinholes et al., 2017) were edible portions of araçá from yellow and red genotypes showed good inhibition properties against  $O_2^-$  and hydroxyl radicals.

Fetter et al. (2010) and Medina et al. (2011) reported that araçá extracts with higher content of phenolic compounds where those with higher antioxidant activity. Moreover, red genotypes were more effective against DPPH than the yellow genotypes, which authors suggest to be probably by their higher anthocyanins content. Nevertheless, results obtained in other study shows that yellow araçá ( $IC_{50} = 334.3 \mu\text{g/mL} \pm 16.5 \mu\text{g/mL}$ ) were more effective against DPPH than the red genotype ( $IC_{50} = 490.3 \mu\text{g/mL} \pm 35.1 \mu\text{g/mL}$ ) (Vinholes et al., 2017).

Araçá also showed good antioxidant protection of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) against hydrogen peroxide at a concentration of 25 %. In fact, the action was independent of genotype and extraction solvent used, and yeast survival rates were above 80 % (Medina et al., 2011). Hydrogen peroxide is formed during the normal cell metabolism and can cause damage to protein, lipid and DNA, mainly by the generation of hydroxyl radicals through the Haber-Weiss / Fenton (Caillet et al., 2007). In addition, rats fed with powdered freeze-dried araçá showed remarkable decrease on parameters altered by oxidative

stress induced with cisplatin. Animals showed lowered levels of glucose, LDL cholesterol, oxidized LDL cholesterol and total cholesterol when compared with control animals (cisplatin-induced animals not feed with araçá). Also, animals fed with araçá decreased fat deposition in the liver showing an improvement in the lipid profile (Dalla Nora et al., 2014a). More recently, the administration of araçá extract (200 mg/kg/day, for 21 days) to insulin resistant rats, prevented the liver lipid peroxidation and the formation of reactive oxygen species (Cardoso et al., 2017).

#### **4.2 Antidiabetic activity**

Araçá extracts were evaluated as potential inhibitor of digestive enzymes and it was verified that red araçá genotypes were able to inhibit alfa-glucosidase e alfa-amylase enzymes, being an alternative to the modulation of hyperglycemia (Pacheco, 2015). Nevertheless, araçá extracts of both genotypes were described as very effective against alfa-glucosidase enzyme with inhibitory concentrations of 50 % of the enzyme, 13 times and 16 times lower than the positive control (acarbose) (Vinholes et al., 2017). In addition, *P. cattleianum* extract (200 mg/kg/day, for 21 days) prevented hyperglycemia and hypertriglyceridemia in insulin resistant rats (Cardoso et al., 2017). This activity can be related with some of the phenolic compounds present in araçá extracts, since these compounds are responsible for inhibiting specific enzymes (Valko et al., 2007). Quercetin, for instance, is considered a good inhibitor of digestive enzymes with IC50 almost 40 times lower than the positive control (Vinholes et al., 2017).

### **4.3 Anticancer activity**

Araçá extracts showed antiproliferative activity of cancer cells (mammary, MCF-7 cells and colon, Caco-2 cells), without affecting fibroblasts (Medina et al., 2011). Mammary cells were more sensitive to araçá extracts rich in phenolic compounds.

### **4.4 Antimicrobial activity**

Araçá fruit extract showed antibacterial activity against *Salmonella enteritidis*, an enteric, food-borne pathogen, frequently described in the literature on the occurrence of toxoinfections in humans. Extracts showed minimum inhibitory concentration at 5 % and it was verified that extracts with higher secondary metabolites concentrations were more effective against the bacterial proliferation (Medina et al., 2011). Intermediate activity was reported for araçá against *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* (McCook-Russell et al., 2012). The antimicrobial activity of plants is mainly related with the presence of phenolic compounds in leaves and fruits (Rubilar et al., 2011). Araçá contains flavonoids (i.e. kaempferol and quercetin) and anthocyanidins (cyanidin) that are well recognized antimicrobial agents. These compounds mode of action is related with their reaction with microbial cellular membrane inactivating essential enzymes, or forming complexes with metallic ions, limiting their accessibility to the microbial metabolism (Medina et al., 2011).

### **4.5 Anti-inflammatory activity**

The anti-inflammatory activity of araçá was tested using hexane and ethyl acetate extracts. Reported activity at 250 µg / mL were 18.3 % and 26.5 % inhibition of ciclooxigenase-2 enzyme by hexane and ethyl acetate extracts, respectively (McCook-Russell et al., 2012). Authors also tested isolated

compounds, the mixture of ursolic and oleanolic acids, for instance, showed 19.4 % of inhibition at the same concentration tested for the araçá extracts. In addition, the mixture of isolated compounds 2- $\alpha$ -hydroxyursolic and 2- $\alpha$ -hydroxyoleanolic acids showed inhibition of 52.9 % and 43.1 % for COX-2 and COX-1, respectively (McCook-Russell et al., 2012).

#### **4.6 Anti-aging activity**

A long term experiment (8 months) carried out on adult mice fed with araçá extract (1000 mg/kg/day) showed that hippocampus gene expression profile were different from control animals. Authors found that araçá altered the expression of genes associated with regulation of essential cellular processes such as cell cycle, proliferation, differentiation and signal transduction, regulate inflammatory genes (inhibiting inflammatory process) and up-regulate genes encoding for proteins involved in radical scavenging (Ramirez et al., 2012).

### **5. Conclusions**

This review aimed to explore the chemical composition and biological potential of araçás in order to valorize this native fruit. The succulence and sweet taste of araçá pulp has been of interest to the food industry. In addition, there was an increased interest in the pharmaceutical area due to the findings on the nutritional properties of this fruit. Different studies indicate promising pharmacological properties mainly related to its chemical properties. The phenolic compounds present in araçás, such as gallic acid, ellagic acid, epicatechin and quercetin are described by the maintenance of the endogenous antioxidant defense system, anti-inflammatory, antiproliferative and antimicrobial. Thus, araçás can be useful in the prevention and treatment of



pathologies associated to oxidative stress and aging. Moreover, it seems to be a very good candidate to treat type 2 *Diabetes mellitus*.

### **Acknowledgments**

This work was carried out with CNPq support, National Council for Scientific and Technological Development Brazil (process number 400201/2014-3). Authors are thankful to CNPq/ Science Without Borders Program project “Frutas Nativas do Brasil: potencial anti-hiperglicemiante e antioxidante”. E. S. Pereira is thankful to for the financial support of Institute of International Education (CAPES, process number 1591849, grant number 2016/2018). J. Vinholes (process number 313712/2014-0) thanks the Science Without Borders Program (CNPq) for the Young Talent Attraction.

## 6. References

- Adrian, J.A.L., Arancon, N.Q., Mathews, B.W., & Carpenter, J.R. (2015). Mineral composition and soil-plant relationships for common Guava (*Psidium guajava* L.) and yellow strawberry Guava (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) tree parts and fruits. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 46, 1960–1979. doi:10.1080/00103624.2015.1069310
- Ayseli, M.T., & Ayseli, Y.I. (2016). Flavors of the future: Health benefits of flavor precursors and volatile compounds in plant foods. *Trends in Food Science and Technology* 48, 69–77. doi:10.1016/j.tifs.2015.11.005
- Badhani, B., Sharma, N., & Kakkar, R. (2015). Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *RSC Advances* 5, 27540–27557. doi:10.1039/C5RA01911G
- Bailey, R.L., West, K.P., & Black, R.E. (2015). The epidemiology of global micronutrient deficiencies. *Annals of Nutrition and Metabolism* 66, 22–33. doi:10.1159/000371618
- Basha, R.H., & Sankaranarayanan, C. (2016).  $\beta$ -Caryophyllene, a natural sesquiterpene lactone attenuates hyperglycemia mediated oxidative and inflammatory stress in experimental diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions* 245, 50–58. doi:10.1016/j.cbi.2015.12.019
- Basha, R.H., & Sankaranarayanan, C. (2015). Protective role of  $\beta$ -caryophyllene, a sesquiterpene lactone on plasma and tissue glycoprotein components in streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *Journal of Acute Medicine* 5, 9–14. doi:10.1016/j.jacme.2015.02.001
- Bernaudo, F.S.R., & Rodrigues, T.C. (2013). Fibra alimentar – Ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* 57, 397–405. doi:10.1590/S0004-27302013000600001
- Bezerra, J.E.F., Lederman, I.E., Silva Junior, J.F., & Proença, C.E.B., 2010. Araça, in: Vieira, R.F., Costa, T.S.A., Silva, D.B., Ferreira, F.R., Sano, S. (Eds.), *Frutas Nativas Da Região Centro-Oeste Do Brasil*. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, Brazil, pp. 42–62.

- Biegelmeyer, R., Maria, J., Andrade, M., Ana, L., Apel, M.A., Dresch, R.R., & Marin, R. (2011). Comparative analysis of the chemical composition and antioxidant activity of red (*Psidium cattleianum*) and yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) strawberry Guava fruit. *Journal of Food Science* 76, C991-C996. doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02319.x
- Caillet, S., Yu, H., Lessard, S., Lamoureux, G., Ajdukovic, D., & Lacroix, M. (2007). Fenton reaction applied for screening natural antioxidants. *Food Chemistry* 100, 542–552.
- Calleja, M.A., Vieites, J.M., Montero-Meterdez, T., Torres, M.I., Faus, M.J., Gil, A., & Suárez, A. (2013). The antioxidant effect of  $\beta$ -caryophyllene protects rat liver from carbon tetrachloride-induced fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation. *British Journal of Nutrition* 109, 394–401. doi:DOI: 10.1017/S0007114512001298
- Castro, C., Raseira, M. do C.B., & Franzon, R.C. (2004). Descrição da Planta, in: Raseira, M. do C.B., Antunes, L.E.C., Trevisan, R., Gonçalves, E.D. (Eds.), *Espécies Frutíferas Nativas Do Sul Do Brasil*. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, pp. 13–28.
- Chang, H.-J., Kim, H.J., & Chun, H.S. (2007). Quantitative structure–activity relationship (QSAR) for neuroprotective activity of terpenoids. *Life Sciences* 80, 835–841. doi:https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.11.009
- Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., Kilburn, J.D., & Rakariyatham, N. (2007). Antimicrobial gallic acid from *Caesalpinia mimosoides* Lamk. *Food Chemistry* 100, 1044–1048. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.008
- Chitarra, M.I.F., Chitarra, A.B. (2005). Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio, 2 ed. ed. Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.
- Dalla Nora, C., Danelli, D., Souza, L.F., Rios, A.D.O., Jong, E.V. De, & Flôres, S.H. (2014a). Protective effect of guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand) and red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) against cisplatin-induced hypercholesterolemia in rats. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 50, 483-491.

- Dalla Nora, C., Jablonski, A., Rios, A. de O., Hertz, P.F., de Jong, E.V., & Flôres, S.H. (2014b). The characterisation and profile of the bioactive compounds in red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand). *International Journal of Food Science & Technology* 49, 1842–1849. doi:10.1111/ijfs.12493
- de Souza Cardoso, J., Oliveira, P. S., Bona, N. P., Vasconcellos, F. A., Baldissarelli, J., Vizzotto, M., Soares, M. S. P, Ramos, V. P., Spanevello, R. M., Lencina, C. L., Tavares, R. G., & Stefanello, F. M. (2017). Antioxidant, antihyperglycemic, and antidyslipidemic effects of Brazilian-native fruit extracts in an animal model of insulin resistance. *Redox Report: Communications in Free Radical Research*, 1–6.
- Denardin, C.C., Hirsch, G.E., da Rocha, R.F., Vizzotto, M., Henriques, A.T., Moreira, J.C.F., Guma, F.T.C.R., & Emanuelli, T. (2014). Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. *Journal of Food and Drug Analysis* 23, 387-398. doi:10.1016/j.jfda.2015.01.006
- Egea, M.B., Pereira-Netto, A.B., Cacho, J., Ferreira, V., & Lopez, R. (2014). Comparative analysis of aroma compounds and sensorial features of strawberry and lemon guavas (*Psidium cattleianum* Sabine). *Food Chemistry* 164, 272–277. doi:10.1016/j.foodchem.2014.05.028
- Elmann, A., Mordechay, S., Rindner, M., Larkov, O., Elkabetz, M., & Ravid, U. (2009). Protective effects of the essential oil of *Salvia fruticosa* and its constituents on astrocytic susceptibility to hydrogen peroxide-induced cell death. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 6636–6641. doi:10.1021/jf901162f
- Fetter, M. R., Vizzotto, M., Corbelini, D. D., & Gonzales, T. N. (2010). Functional properties of yellow guava, red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and pear guava (*Psidium acutangulum* D.C.) grown in Pelotas/RS - Brazil. *Brazilian Journal of Food Technology* 3, 92-95. doi: 10.4260/BJFT20101304115.
- Fidy, K., Fiedorowicz, A., Strz̄adała, L., & Szumny, A. (2016).  $\beta$ -Caryophyllene and  $\beta$ -caryophyllene oxide—Natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer Medicine* 5, 3007–3017.

doi:10.1002/cam4.816

- Fiedor, J., & Burda, K. (2014). Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients* 6, 466–488. doi:10.3390/nu6020466
- Figueroa-Méndez, R., & Rivas-Arancibia, S. (2015). Vitamin C in health and disease: Its role in the metabolism of cells and redox state in the brain. *Frontiers in Physiology* 6, 1–11. doi:10.3389/fphys.2015.00397
- Franzon, R.C., Campos, L.Z. de O., Proença, C.E.B., & Sousa-Silva, J.C. (2009). Araçás do Gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos - Documentos 266, Embrapa Cerrados.
- Galho, A.S., Lopes, N.E.I.F., Bacarin, M.A., & Lima, M.D.G. de S. (2007). Chemical composition and growth respiration in *Psidium cattleyanum* Sabine fruits during the development cycle. *Revista Brasileira de Fruticultura* 29, 61–66. doi:10.1590/s0100-29452007000100014
- García-Niño, W.R., & Zazueta, C. (2015). Ellagic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in liver protection. *Pharmacological Research* 97, 84–103. doi:https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.04.008
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., & Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 13, 572–584.
- Hur, S.J., Kim, Y.C., Choi, I., & Lee, S.K. (2013). The effects of biopolymer encapsulation on total lipids and cholesterol in egg yolk during *in vitro* human digestion. *International Journal of Molecular Sciences* 14, 16333–16347. doi:10.3390/ijms140816333
- Jagan, S., Ramakrishnan, G., Anandakumar, P., Kamaraj, S., & Devaki, T. (2008). Antiproliferative potential of gallic acid against diethylnitrosamine-induced rat hepatocellular carcinoma. *Molecular and Cellular Biochemistry* 319, 51-59. doi:10.1007/s11010-008-9876-4
- Kaur, M., Velmurugan, B., Rajamanickam, S., Agarwal, R., & Agarwal, C. (2009). Gallic acid, an active constituent of grape seed extract, exhibits anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-tumorigenic effects against

- prostate carcinoma xenograft growth in nude mice. *Pharmaceutical Research* 26, 2133–2140. doi:10.1007/s11095-009-9926-y
- Kinupp, V.F., & Inchausti, I.B. (2008). Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas Protein and mineral contents of native species, potential vegetables, and fruits. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 28, 846–857.
- Koba, K., & Yanagita, T. (2014). Health benefits of conjugated linoleic acid (CLA). *Obesity Research & Clinical Practice* 8, e525–e532. doi:10.1016/j.orcp.2013.10.001
- Lisbôa, G.N., Kinupp, V.F., & Barros, I.B.I. de (2011). *Psidium cattleianum* Araçá, in: Coradin, L., Siminski, A., Reis, A. (Eds.), *Espécies Nativas Da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual Ou Potencial Plantas Para O Futuro - Região Sul*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, Brazil, pp. 205–208.
- Long, M., Yang, S.H., Han, J.X., Li, P., Zhang, Y., Dong, S., Chen, X., Guo, J., Wang, J., & He, J. Bin (2016). The protective effect of grape-seed proanthocyanidin extract on oxidative damage induced by zearalenone in kunming mice liver. *International Journal of Molecular Sciences* 17, 808. doi:10.3390/ijms17060808
- Luximon-ramma, A., Bahorun, T., & Crozier, A. (2003). Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 502, 496–502. doi:10.1002/jsfa.1365
- Maria, A.G., Graziano, R., & Nicolantonio, D.O. (2015). Carotenoids: potential allies of cardiovascular health? *Food & Nutrition Research* 59, 26762.
- Marin, R., Apel, M.A., Limberger, R.P., Raseira, M.C.B., Pereira, J.F.M., Zuanazzi, J.Â.S. & Henriques, A.T. (2008). Volatile components and antioxidant activity from some Myrtaceous fruits cultivated in Southern Brazil. *Latin American Journal of Pharmacy* 27, 172–177.
- McCook-Russell, K.P., Nair, M.G., Facey, P.C., & Bowen-Forbes, C.S. (2012). Nutritional and nutraceutical comparison of Jamaican *Psidium cattleianum*

- (strawberry guava) and *Psidium guajava* (common guava) fruits. *Food Chemistry* 134, 1069–1073. doi:10.1016/j.foodchem.2012.03.018
- Medina, A.L., Haas, L.I.R., Chaves, F.C., Salvador, M., Zambiasi, R.C., Da Silva, W.P., Nora, L., & Rombaldi, C.V. (2011). Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. *Food Chemistry* 128, 916–922. doi:10.1016/j.foodchem.2011.03.119
- Mitra, S.K., Irenaeus, T.K.S., Gurung, M.R., & Pathak, P.K. (2012). Taxonomy and importance of Myrtaceae. *Acta Horticulturae* 959, 23–34.
- Montagut, G., Onnockx, S., Vaqué, M., Bladé, C., Blay, M., Fernández-Larrea, J., Pujadas, G., Salvadó, M.J., Arola, L., Pirson, I., Ardévol, A., & Pinent, M. (2010). Oligomers of grape-seed procyanidin extract activate the insulin receptor and key targets of the insulin signaling pathway differently from insulin. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 21, 476–481. doi:https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.02.003
- Naczek, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A* 1054, 95–111. doi:10.1016/j.chroma.2004.08.059
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Orlando, P., & Coppola, R. (2012). Biochemical traits, survival and biological properties of the probiotic *Lactobacillus plantarum* grown in the presence of prebiotic inulin and pectin as energy source. *Pharmaceuticals* 5, 481–492. doi:10.3390/ph5050481
- Pacheco, S.M., 2015. Frutos da família Myrtaceae: Caracterização físico-química e potencial inibitório da atividade das enzimas digestivas. Universidade Federal de Pelotas.
- Patel, S. (2012). Exotic tropical plant *Psidium cattleianum*: a review on prospects and threats. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 11, 243–248. doi:10.1007/s11157-012-9269-8
- Pereira, M.C., Steffens, R.S., Jablonski, A., Hertz, P.F., De O. Rios, A., Vizzotto, M., & Flôres, S.H. (2012). Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry* 60, 3061–3067. doi:10.1021/jf205263f
- Pino, J.A., Marbot, R., & Vázquez, C. (2001). Characterization of volatiles in strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 5883–5887. doi:10.1021/jf010414r
- Ramirez, M.R., Zanchin, N.I.T., Henriques, A.T., & Zuanazzi, J.Â.S. (2012). Study of the effects of *Psidium cattleyanum* on gene expression from senescent mouse hippocampus. *Boletim Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas* 11, 127–137.
- Raseira, M.C.B., & Raseira, A., 1996. Contribuição ao estudo do araçazeiro, *Psidium cattleyanum*. EMBRAPA-CPACT, Pelotas.
- Rather, M.A., Dar, B.A., Dar, M.Y., Wani, B.A., Shah, W.A., Bhat, B.A., Ganai, B.A., Bhat, K.A., Anand, R., & Qurishi, M.A. (2012). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oil of *Juglans regia* L. and its constituents. *Phytomedicine* 19, 1185–1190. doi:https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.07.018
- Reissig, G.N., Vergara, L.P., Franzon, R.C., Rodrigues, R.D.S., & Chim, J.F. (2016). Bioactive compounds in conventional and no added sugars red strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) jellies. *Revista Brasileira de Fruticultura* 38, 1–7. doi:10.1590/0100-29452016062
- Ribeiro, A.B., Chisté, R.C., Freitas, M., Da Silva, A.F., Visentainer, J.V., & Fernandes, E. (2014). *Psidium cattleianum* fruit extracts are efficient *in vitro* scavengers of physiologically relevant reactive oxygen and nitrogen species. *Food Chemistry* 165, 140–148. doi:10.1016/j.foodchem.2014.05.079
- Santos, S., Lúcia, C., Petkowicz, D.O., Wosiacki, G., Nogueira, A., & Borba, B. (2007). Caracterização do suco de araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) extraído mecanicamente e tratado enzimaticamente. *Acta Scientiarum. Agronomy* 29, 617-621.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods* 18, 820–897. doi:10.1016/j.jff.2015.06.018



- Shay, J., Elbaz, H.A., Lee, I., Zielske, S.P., Malek, M.H., & Hüttemann, M. (2015). Molecular mechanisms and therapeutic effects of (-)-epicatechin and other polyphenols in cancer, inflammation, diabetes, and neurodegeneration. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015. doi:10.1155/2015/181260
- Silva, M.R., Santos, G.G., Mendes, D., & Martins, D.O. (2008). Caracterização química de frutos nativos do cerrado. *Ciência Rural* 38, 1790–1793.
- Silva, N.A., Rodrigues, E., Mercadante, A.Z., & Rosso, V.V. (2014). Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62, 5072–5084. doi:10.1021/jf501211p
- Sriamornsak, P. (2003). Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: a review. *Silpakorn University International Journal* 3, 207–228. doi:10.5458/jag.54.211
- Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., & Matsuoka, T. (2006). Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 52, 149–153. doi:10.3177/jnsv.52.149
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39, 44–84. doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001
- Verma, A.K., Rajkumar, V., Banerjee, R., Biswas, S., & Das, A.K. (2013). Guava (*Psidium guajava* L.) powder as an antioxidant dietary fibre in sheep meat nuggets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 26, 886–895. doi:10.5713/ajas.2012.12671
- Vinholes, J., Gonçalves, P., Martel, F., Coimbra, M.A., & Rocha, S.M. (2014a). Assessment of the antioxidant and antiproliferative effects of sesquiterpenic compounds in *in vitro* Caco-2 cell models. *Food Chemistry* 156, 204–211.
- Vinholes, J., Lemos, G., Barbieri, R.L., Franzon, R.C., & Vizzotto, M. (2017). *In vitro* assessment of the antihyperglycemic and antioxidant properties of araçá, butiá and pitanga. *Food Bioscience* 19, 92-100.

- Vinholes, J., Rudnitskaya, A., Gonçalves, P., Martel, F., Coimbra, M. A., & Rocha, S.M. (2014b). Hepatoprotection of sesquiterpenoids: A quantitative structure-activity relationship (QSAR) approach. *Food Chemistry* 146, 78–84. doi:10.1016/j.foodchem.2013.09.039
- Vriesmann, L.C., Lúcia, C., Petkowicz, D.O., & Borba, P.I. (2009). Acidic polysaccharides from *Psidium cattleianum* (Araca). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52, 259-264. doi:10.1590/S1516-89132009000200001
- Wang, W., Sun, C., Mao, L., Ma, P., Liu, F., Yang, J., & Gao, Y. (2016). The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin: A review. *Trends in Food Science & Technology* 56, 21–38. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.004>



Figure 1. Yellow and red araçás (from: Paulo Luiz Lanzetta Aguiar)

Table 1- Mineral composition of mature and immature yellow araçá and mature red araçá.

Minerals	Yellow araçá		Red araçá	References
	Mature	Immature	Mature	
<b>Macrominerals (%)</b>				
Ca	0.14-0.21	0.15	0.18	(Adrian et al., 2015; Kinupp and Inchausti, 2008; Silva et al., 2008)
Mg	0.11	0.12	0.08	(Adrian et al., 2015; Kinupp and Inchausti, 2008)
N	0.85	0.91	-	(Adrian et al., 2015)
P	0.12	0.12	0.11	(Adrian et al., 2015; Kinupp and Inchausti, 2008)
K	1.52	1.59	1.30	(Adrian et al., 2015; Kinupp and Inchausti, 2008)
S	0.07	0.07	0.06	(Adrian et al., 2015; Kinupp and Inchausti, 2008)
Na	0.20	0.21	0.05	(Adrian et al., 2015; Kinupp and Inchausti, 2008)
<b>Microminerals (%)</b>				
B	0.0012	0.0012	0.0011	(Adrian et al., 2015; Kinupp and Inchausti, 2008)
Cu	0.0011	0.0008	0.0006	(Adrian et al., 2015; Kinupp and Inchausti, 2008)
Fe	0.0021- 0.0039	0.0043	0.0016	(Adrian et al., 2015; Kinupp and Inchausti, 2008; Silva et al., 2008)
Mn	0.0018	0.0011	0.0018	(Adrian et al., 2015; Kinupp and Inchausti, 2008)
Ni	0.0001	0.0001	-	(Adrian et al., 2015)
Zn	0.0011- 0.0050	0.0011	0.0015	(Adrian et al., 2015; Kinupp and Inchausti, 2008)

Table 2. Carotenoids from *Psidium cattleianum*.

Compounds	Reference
All- <i>trans</i> -antheraxanthin	(Ribeiro et al., 2014)
All- <i>trans</i> -lutein	(Dalla Nora et al., 2014b; Pereira et al., 2012, 2014; Ribeiro et al., 2014; Silva et al., 2014)
5,6-epoxy- $\beta$ -cryptoxanthin	(Ribeiro et al., 2014)
5,8-epoxy- $\beta$ -cryptoxanthin	(Silva et al., 2014)
All- <i>trans</i> - $\beta$ -cryptoxanthin	(Dalla Nora et al., 2014b; Ribeiro et al., 2014; Silva et al., 2014)
All- <i>trans</i> - $\alpha$ -cryptoxanthin	(Silva et al., 2014)
All- <i>trans</i> - $\beta$ -carotene	(Ribeiro et al., 2014; Silva et al., 2014)
9- <i>cis</i> - $\beta$ -carotene	(Pereira et al., 2012; Ribeiro et al., 2014; Silva et al., 2014)
13- <i>cis</i> - $\beta$ -carotene	(Pereira et al., 2012)
5,6-epoxy- $\beta$ -carotene	(Pereira et al., 2012)
$\alpha$ -carotene	(Dalla Nora et al., 2014b; Pereira et al., 2012)
All- <i>trans</i> -zeaxanthin	(Dalla Nora et al., 2014b; Pereira et al., 2012; Ribeiro et al., 2014; Silva et al., 2014)
13'- <i>cis</i> - $\beta$ -cryptoxanthin phytoene	(Silva et al., 2014)

Table 3- Individual phenolic compounds found in yellow and red araçás.

Compounds	Reference
Epicatechin	(Medina et al., 2011)
Epicatechin epicatechin	(Silva et al., 2014)
Epicatechin gallate	(Ribeiro et al., 2014)
Cumaric acid	(Medina et al., 2011)
Ferulic acid	(Medina et al., 2011)
Myricetin	(Medina et al., 2011)
Cyanidin-3-O-glicoside	(Nora et al., 2014b)
Malvidin-3-O-glicoside	(Dalla Nora et al., 2014b)
Cyanidin	(Dalla Nora et al., 2014b)
Chlorogenic acid	(Ribeiro et al., 2014)
Chlorogenic acid hexoside	(Ribeiro et al., 2014)
Gallic acid	(Medina et al., 2011; Ribeiro et al., 2014; Silva et al., 2014)
Galloyl hexoside	(Silva et al., 2014)
Digalloyl hexoside	(Silva et al., 2014)
Trigalloylquinic acid	(Ribeiro et al., 2014)
Ellagic acid	(Ribeiro et al., 2014)
Ellagic acid hexoside	(Ribeiro et al., 2014)
Ellagic acid pentoside	(Ribeiro et al., 2014)
Ellagic acid deoxyhexoside	(Ribeiro et al., 2014)
Ellagitanin-like	(Ribeiro et al., 2014)
HHDP hexoside	(Silva et al., 2014)
Di-HHDP-hexoside	(Ribeiro et al., 2014; Silva et al., 2014)
Di-HHDP-hexoside isomer	(Silva et al., 2014)
HHDP digalloyl hexoside	(Silva et al., 2014)
HHDP digalloyl hexoside isomer	(Silva et al., 2014)
Quercetin	(Medina et al., 2011; Ribeiro et al., 2014)
Quercetin glucuronide	(Ribeiro et al., 2014)
Quercetin hexoside	(Ribeiro et al., 2014; Silva et al., 2014)
Quercetin pentoside	(Ribeiro et al., 2014)
Quercetin deoxyhexoside	(Ribeiro et al., 2014)
Quercetin coumaroyl deoxyhexoside	(Ribeiro et al., 2014)
Methyl ellagic acid hexoside	(Silva et al., 2014)
Methyl ellagic acid pentoside	(Silva et al., 2014)
Methyl ellagic acid deoxyhexoside	(Ribeiro et al., 2014)
Methyl ellagic acid acetyl-deoxyhexoside	(Ribeiro et al., 2014)
Cinnamoyl-galloyl hexoside	(Ribeiro et al., 2014)

Vanillic acid hexoside	(Silva et al., 2014)
Taxifolin hexoside	(Silva et al., 2014)
Eriodictyol hexoside	(Silva et al., 2014)

---

**ARTIGO 2**

**Caracterização de frutos de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine):  
composição fenólica, atividade antioxidante e inibição de alfa-amilase e  
alfa-glicosidase**

**Este manuscrito será submetido à revista Food Chemistry  
A1, Fator de impacto: 3.391**



**Caracterização de frutos de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine):  
composição fenólica, atividade antioxidante e inibição de alfa-amilase e  
alfa-glicosidase**

Elisa dos Santos Pereira<sup>1,2</sup>, Juliana Rocha Vinholes<sup>1</sup>, Taiane Mota Camargo<sup>1,2</sup>,  
Bianca Camargo Aranha<sup>2</sup>, Rosane Crizel<sup>2</sup>, Gabriel Dalmazo<sup>2</sup>, Márcia Vizzotto<sup>1</sup>,  
Leonardo Nora<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Clima Temperado, BR 392, KM 78, C. P. 403, CEP 96010-971,  
Pelotas-RS, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de  
Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Avenida Eliseu  
Maciel, S/N, CEP 96160 000, Capão do Leão, RS, Brasil.

\* Corresponding authors. Tel.: +55 53 32757217

E-mail addresses: l.nora@me.com

## **Destaques**

- Os compostos fenólicos da fruta araçá inibem as enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase.
- Os compostos de frutos de três diferentes genótipos araçá inibem a alfa-amilase e a alfa-glicosidase de forma semelhante.
- Os compostos isolados de diferentes partes da fruta araçá (polpa + casca e sementes) inibem a alfa-amilase e a alfa-glicosidase de forma semelhante.

## Resumo

Os inibidores da alfa-amilase pancreática e da alfa-glicosidase desempenham um papel vital no tratamento clínico da hiperglicemia pós-prandial. Os inibidores sintéticos dessas enzimas já são conhecidos, no entanto, os inibidores de fontes naturais são potencialmente mais seguros. O araçá tem forte inibição sobre essas enzimas digestivas e a atividade biológica relatada para este fruto está principalmente relacionada à sua composição química, particularmente à presença de compostos fenólicos. No entanto, os compostos responsáveis pela atividade de inibição enzimática do araçá, bem como, sua localização no fruto, ainda não foram determinados. Os extratos de araçá (semente e polpa+casca) de dois acessos vermelhos (AC-44 e AC-87) e uma variedade amarela (bicudo) foram purificados e fracionados, a fim de identificar quais compostos poderiam estar relacionados com a inibição das enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase. Não foram observadas diferenças significativas entre os genótipos e a parte da fruta (semente e polpa+casca) em termos de inibição de ambas as enzimas digestivas. As frações III (flavonoides), IV (antocianinas poliméricas) e o extrato purificado mostraram a maior atividade inibitória em relação à enzima alfa-glicosidase, enquanto a fração III foi a mais efetiva para a inibição da alfa-amilase, tanto para a semente quanto para a polpa+casca na maioria dos genótipos. Estas frações eram ricas em ácido elágico, no entanto, a quercetina, a cianidina-3-glicosídeo, a malvidina-3-glicosídeo e os ácidos vanílico, siríngico, p-cumárico e 4-hidroxibenzoicos também estavam presentes, mas em quantidades menores. Em conclusão, o araçá tem atividade de inibição de alfa-amilase e alfa-glicosidase; os genótipos

não influenciaram a inibição dessas enzimas; a parte da fruta não influenciou a inibição das enzimas.

Palavras-chave: alfa-glicosidase, alfa-amilase, *diabetes mellitus* tipo II

## 1. Introdução

O araçá (*Psidium cattleianum* Sabine), pertencente à família Myrtaceae, é uma fruta nativa com origem botânica no sul do Brasil. As frutas são consumidas *in natura*, ou na forma de doces, geleias e sucos. Possuem sabor diferenciado além de elevado teor de compostos bioativos (Franzon, 2009), o que pode estar relacionado às atividades antioxidante (Medina et al., 2011; Nora et al., 2014), antimicrobiana (Medina et al., 2011), efeito analgésico (Fidy et al., 2016), atividade antiproliferativa (Medina et al., 2011), atividade anti-hiperglicêmica (Vinholes et al., 2017) e antidiabética (Cardoso et al., 2017) descritas para estas frutas.

As atividades biológicas relatadas para araçás estão principalmente relacionadas à sua composição química, particularmente com a presença de compostos fenólicos, que são metabolitos especializados bem conhecidos com alta capacidade antioxidante (Verma et al., 2013) e potencial para inibição de enzimas digestivas (Vinholes et al., 2017).

O interesse por compostos fenólicos presentes nas frutas que possuem capacidade de inibição de enzimas vem crescendo, visto que algumas enzimas, como as alfa-amilases e alfa-glicosidases, são responsáveis pelo metabolismo dos carboidratos, atuando como retardadores da absorção da glicose no intestino delgado, reduzindo a glicemia pós-prandial (Kumar et al., 2011). Essa característica é de grande importância em um contexto de prevenção e controle de síndromes metabólicas, como por exemplo, a diabetes *mellitus* tipo II. Esta doença é caracterizada por uma desordem metabólica que tem como consequência um aumento anormal de glicose no sangue, imediatamente após as refeições (glicemia pós-prandial).

Extratos de araçá já foram testados *in vivo* no controle da hiperglicemia, onde notou-se melhora nos níveis da glicemia e dos triglicerídeos (Cardoso et al., 2017) e avaliados *in vitro* quanto à capacidade de inibição de alfa-amilase e alfa-glicosidase, onde os resultados foram promissores (Pacheco, 2015; Vinholes et al. 2017).

No entanto, as moléculas responsáveis por esta inibição e sua localização na fruta ainda não foram determinadas. Sabe-se que o teor de compostos altera dependendo da parte da fruta, por exemplo, alguns compostos estão em maior quantidade na polpa-casca do que na semente, como os fenólicos (Contreras-Calderón et al., 2011; Kubola e Siriamornpun, 2011; Farhadi et al., 2016). Outro aspecto que deve ser considerado é a variabilidade genética da fruta em questão. Essa variabilidade genética se refere a variação nos genes dentro das espécies, abrangendo populações diferentes na mesma espécie ou variações genéticas dentro de uma população (Vicente, 2004). Estes fatores podem influenciar a composição das frutas e conseqüentemente a atividade biológica. Em vista disso, foram utilizados três genótipos diferentes de araçá neste estudo.

Neste estudo, foi realizado fracionamento dos compostos fenólicos do araçá a fim de verificar a influência de cada fração na inibição das enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase e identificar os compostos presentes em cada fração. No araçá já foram identificados os fenólicos ácidos elágico, p-cumárico, clorogênico e gálico (Medina et al., 2011; Ribeiro et al., 2014), flavonoides como a quercetina, miricetina, epicatequina (Medina et al., 2011) e antocianinas como a cianidina-3-glicosídeo e malvidina-3-glicosídeo (Dalla Nora et al., 2014).

Considerando o potencial dos extratos fenólicos de araçá como inibidores de enzimas hidrolizantes de hidratos de carbono e o não conhecimento dos compostos responsáveis por essa inibição, o presente trabalho teve como objetivo purificar os extratos da semente e polpa-casca de araçá, a fim de identificar e quantificar quais compostos fenólicos podem estar relacionados à inibição de alfa-amilase e alfa-glicosidase.

## **2. Materiais e métodos**

### **2.1 Padrões e reagentes**

Os reagentes foram comprados de diferentes fornecedores. Radical 2,2-difenil-1-picrilidrazilo (DPPH) D9132, tampão fosfato (pH 7,0), alfa-glicosidase (tipo I da levedura de padeiro) G5003, 4-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosídeo (PNP-G) N1377, alfa-amilase (do pâncreas porcino) A6255, cianidina-3-O-glucósido, reagente de Folin-Ciocalteu V0S0427, ácido clorogênico C3878, quercetina Q4951, reserpina, carbonato de sódio e amido obtive-se de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Etanol, acetona, metanol, acetonitrila, acetato de etila e ácido clorídrico foram adquiridos da VETEC (Duque de Caxias, RJ, Brasil) e o iodo e o iodeto de potássio foram adquiridos da Synth (Diadema, SP, Brasil).

### **2.2 Amostras**

Foram utilizados três genótipos (AC-44 e AC-87, genótipo vermelho e bicudo, genótipo amarelo) de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) provenientes do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Clima Temperado, RS, Brasil. As frutas foram colhidas completamente maduras, de forma a se obter uma amostra representativa. Todas as frutas foram colhidas em 2016, entre março e abril. As frutas foram selecionadas considerando-se a ausência de lesões e

infecções visíveis e também a uniformidade de cor e tamanho. A polpa-casca e as sementes foram separadas, manualmente, e congeladas, separadamente, a temperatura de -20 °C até a liofilização. As amostras foram liofilizadas em liofilizador (Liobrás - L101), trituradas em moinho de bolas (Marconi - MA 350) e armazenadas em ultra-freezer (-80 °C) em tubos Falcon selados até a análise.

### 2.3 Preparo dos extratos brutos

Os extratos brutos foram preparados a partir das porções comestíveis da fruta de araçá (polpa-casca e sementes). As amostras liofilizadas (250 mg) foram tratadas com metanol (1:40, p/v) durante 5 min sob agitação (Vórtex). Os homogeneizados foram filtrados através do filtro de papel (Whatman no4) e armazenados a - 20 °C protegidas da luz, até a análise.

### 2.4 Fracionamento dos compostos fenólicos através da extração em fase sólida (SPE)

O fracionamento dos extratos de araçá foi realizado a fim de separar os compostos fenólicos em famílias diferentes, incluindo ácidos fenólicos (F-I), antocianinas monoméricas (F-II), outros flavonoides (F-III) e compostos polimerizados (F-IV), e ainda em um “pool” de compostos fenólicos (Purificado).

A 1,6 g de amostra foram adicionadas 50 mL da solução de etanol + acetona (1:3 v/v), e a extração foi realizada através de agitação (Vórtex) por 5 minutos. O homogeneizado foi filtrado com filtro de papel (Whatman nº 4) e evaporado através de vácuo a 40 °C. As amostras foram reconstituídas em 4 mL de água destilada e armazenadas a - 20 °C até a análise. Este extrato foi então utilizado para o fracionamento por extração em fase sólida.



Os extratos de araçá foram diluídos em água destilada na proporção de 1:5 (extrato : água destilada). A purificação e fracionamento por extração em fase sólida (SPE) foi realizada sob pressão de 10 mmHg em cartucho Sep-Pak C-18 Vac 35 cm<sup>3</sup> (10 g) (WAT043345-Waters Association, Milford, MA), de acordo com Oszmianski et al. (1988) e adaptado por Vizzotto et al. (2014).

O fracionamento se dividiu na aquisição da fração I (obtida com metanol), da fração II (obtida com 16% de acetonitrila pH 2,0), da fração III (obtida com acetato de etila), da fração IV (obtida com metanol) (Figura 1) e do extrato purificado (obtido com metanol).

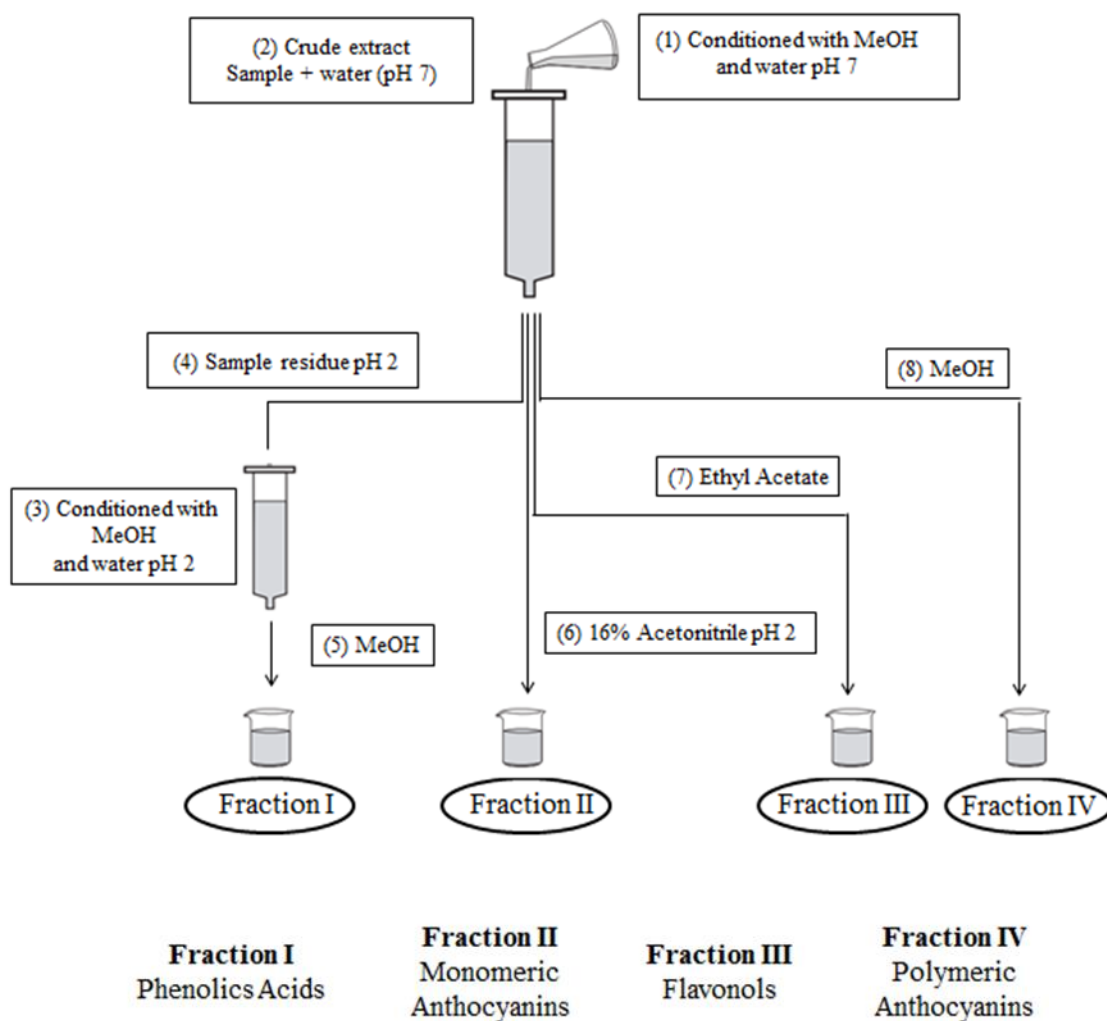


Figura 1. Obtenção das frações fenólicas por SPE.

## 2.5 Preparo do extrato purificado

O extrato purificado consistiu basicamente no carregamento do cartucho com a amostra, coleta do eluído (onde estão os ácidos fenólicos) para carregamento em um segundo cartucho. Aos dois cartuchos foram adicionados metanol para retirada de todos os compostos fenólicos aderidos a matriz e o eluído dos dois cartuchos foram combinados, resultando no extrato purificado (livre de substâncias como açúcares, ácidos orgânicos, etc.).

## 2.6 Composição química

### 2.6.1 Compostos fenólicos totais

O conteúdo fenólico total foi medido de acordo com o método de Folin-Ciocalteu adaptado de Swain e Hillis (1959). Brevemente, uma alíquota de 250  $\mu\text{L}$  do extrato bruto e o controle (250  $\mu\text{L}$  de metanol) foram combinados com 250  $\mu\text{L}$  de reagente Folin-Ciocalteu 0,25 N. Após 3 min de reação, foram adicionados 500  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1 N) e as misturas foram incubadas durante 2 h à temperatura ambiente. Após, a absorvância foi medida a 725 nm. Os resultados foram expressos como equivalentes de ácido clorogênico (CAE 100  $\text{g}^{-1}$  de peso fresco) utilizando uma curva padrão de ácido clorogênico (0 - 0,5  $\text{mg mL}^{-1}$ ).

### 2.6.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

#### 2.6.2.1 Instrumentação e condições

Os compostos fenólicos individuais foram analisados em todas as frações fenólicas e nos extratos purificado e bruto. A identificação e quantificação dos compostos por LC-MS foram realizados em coluna Luna C18, em cromatógrafo líquido (UFLC, Shimadzu, Japão) acoplado a

espectrômetro de massas de alta resolução do tipo quadrupolo-tempo de voo (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). O fluxo foi de 0,2 mL min<sup>-1</sup>, temperatura da coluna de 40 °C e as fases móveis foram água acidificada com 0,1% de ácido fórmico (eluente A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (eluente B). Foram injetados 10 µl de amostra e o gradiente utilizado na análise está mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Gradiente utilizado no estudo.

Tempo (min)	%B
0	10
2	10
10	75
15	75
18	90
21	90
23	10
30	10

Os espectros de massa foram adquiridos ao longo de uma faixa de massa de m/z 50 a 1200. Os parâmetros MS foram definidos da seguinte forma: modo ESI negativo para as frações I e III e para os extratos purificado e bruto, e no modo positivo para as frações II e IV, temperatura da fonte foi de 180°C, tensão capilar de 4 kV, pressão do gás de nebulização (N<sub>2</sub>) de 2 bar, gás de secagem em 8 L min<sup>-1</sup>, colisão de RF de 150 Vpp; transfer 70 mS e armazenamento pré-pulso de 5 mS. O equipamento foi calibrado com formiato de sódio 10 mM, cobrindo toda a faixa de aquisição (de m/z 50 até 1200). Foram realizados experimentos automáticos de MS/MS ajustando valores de

energia de colisão: m/z 100, 15 eV; m/z 500, 35 eV; m/z 1000, 50 eV, utilizando nitrogênio como gás de colisão.

Os compostos fenólicos foram identificados por comparação com os tempos de retenção, dados espectrais UV-visíveis e massas moleculares de compostos padrões conhecidos em araçá. A quantificação foi realizada com base em curvas padrões de catequina/epicatequina, miricetina, kaempferol, quercetina, ácido vanílico, ácido elágico, ácido siríngico, ácido p-cumárico e ácido 4-hidroxibenzoico.

## 2.7 Potencial de inibição das enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase e potencial antioxidante

Para a avaliação do potencial de inibição das enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase dos extratos de araçá, realizaram-se ensaios *in vitro* aplicando métodos espectrofotométricos. Os valores de IC<sub>50</sub> foram calculados utilizando cinco concentrações para cada extrato (diluição seriada). A porcentagem de inibição (%) para os ensaios de atividade antioxidante e potencial de inibição das enzimas através da enzima alfa-glicosidase foi calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$I = \frac{A_{controle} - A_{amostra}}{A_{controle}} \times 100$$

onde  $A_{controle}$  é a absorbância da reação do controle (contendo todos os reagentes exceto o extrato) e  $A_{amostra}$  é a absorbância do extrato testado na mistura de reação.

A porcentagem de inibição (%) para o ensaio de inibição da enzima alfa-amilase foi calculada utilizando a seguinte fórmula.

$$I\% = \frac{(A_{controle} - A_{teste1}) - (A_{amostra} - A_{teste2})}{(A_{controle} - A_{teste1})} \times 100$$

onde  $A_{controle}$  é a absorbância de 100 % da atividade da enzima (+enzima - inibitor);  $A_{amostra}$  é o teste da amostra (+enzyme +inibitor);  $A_{teste1}$  é a absorção do amido devido à redução do açúcar (-enzyme -inibitor) e  $A_{teste2}$  é o inibidor + o amido (-enzima +inibitor).

### 2.7.2 Atividade de eliminação de radicais de DPPH

Foi determinada pelo método adaptado de Brand-Williams et al. (1995) utilizando o radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Em resumo, foram adicionados 200  $\mu\text{L}$  de cada extrato ou metanol (controle) a 2800  $\mu\text{L}$  de solução de DPPH. A reação foi misturada e incubada no escuro durante 24 horas à temperatura ambiente, a absorbância das amostras foi lida a 515 nm em espectrofotômetro. Trolox foi usado como referência para a curva de calibração e os resultados foram expressos como  $\mu\text{g}$  de equivalente de trolox por g de amostra.

### 2.7.3 Inibição da atividade da alfa-amilase

Foi avaliado utilizando o procedimento descrito por Satoh et al. (2015) com algumas adaptações. O mix de reação foi composto de 60  $\mu\text{L}$  de amostra, 200  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato (pH 7,0) e 50  $\mu\text{L}$  da enzima alfa-amilase (241,71 U  $\text{mL}^{-1}$ ); a mistura foi incubada por 5 minutos à 37 °C. A reação iniciou-se com a adição de 250  $\mu\text{L}$  de amido solúvel como substrato, seguida de incubação por 15 minutos à 37 °C. Para finalizar a reação utilizou-se 50  $\mu\text{L}$  de ácido clorídrico 1 M. Para a formação de cor, adicionou-se 100  $\mu\text{L}$  da solução de iodo (0,005 M) + iodeto de potássio (0,005 M). A leitura de absorbância foi feita em

microplacas de poliestireno contendo 96 poços (Spectra Max 190 - Molecular Devives) a um comprimento de onda de 690 nm.

#### 2.7.4 Inibição da atividade de alfa-glicosidase

Foi avaliada utilizando o procedimento descrito por Vinholes et al. (2011) com algumas adaptações. Foram adicionados 10  $\mu\text{L}$  do extrato em 50  $\mu\text{L}$  de substrato p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glicopiranosídio 3,25 mM (diluído em tampão fosfato pH 7,0). A reação iniciou-se pela adição de 50  $\mu\text{L}$  da enzima (9,37 U  $\text{mL}^{-1}$  diluída em tampão fosfato, pH 7,0); a mistura foi incubada a 37 °C por 10 min e a leitura de absorbância (405 nm) foi feita imediatamente após o término do tempo.

#### 2.8 Análise estatística

A atividade ( $\text{IC}_{50}$ ) dos extratos e frações das frutas de araçá foram expressos em  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , e analisados através do programa GraphPad Prism. As análises foram realizadas em triplicata ( $n = 3$ ) e expressas como  $\pm$  média do erro padrão utilizando o programa Microsoft Excel. O valor do  $\text{IC}_{50}$  foi obtido através do cálculo de regressão não-linear das curvas obtidas nos gráficos de percentagem de inibição *versus* concentração dos extratos estudados. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante total foram submetidos à análise de variância e variáveis com efeito significativo para o genótipo cada fração foram comparados pelo teste de Tukey a 5% nível de confiança.

### 3. Resultados e discussão

#### 3.1 Compostos fenólicos totais

Existem evidências crescentes de que o consumo de compostos fenólicos presentes em alimentos podem reduzir o risco de transtornos de

saúde devido à sua atividade antioxidante (Shahidi e Ambigaipalan, 2015), além disso, já está bem estabelecido que a composição fenólica total de uma matriz está intimamente relacionada com as propriedades antioxidantes deste produto.

A concentração de compostos fenólicos foi determinada para o extrato bruto, o extrato purificado e ainda, para cada fração do extrato de araçá (Tabela 2), em base seca.

Os extratos brutos obtiveram concentrações fenólicas com variações de 1933,3 a 2088,5 mg / 100 g na polpa-casca e 1418,5 a 1533,4 mg / 100 g na semente. Neste caso, o genótipo não foi um fator que exerceu influencia na concentração de fenólicos.

O extrato purificado da polpa-casca de todos os genótipos (Bicudo, AC 44 e AC 87) apresentou quantidades superiores de compostos fenólicos, quando comparado às demais frações fenólicas e ao extrato bruto. Na polpa-casca, a concentração de fenólicos do extrato purificado variou de 7120,0 a 10368,0 mg / 100 g. Na semente dos genótipos bicudo (2076,0 mg / 100 g) e AC 44 (1354,0 mg / 100 g), o extrato purificado também apresentou quantidades superiores de compostos fenólicos.

Na fração II os compostos variaram de 1388,0 a 4696,0 mg / 100 g na polpa-casca e 593,6 a 1113,6 na semente e a fração III variou de 396,8 a 2720,0 mg / 100 g na polpa-casca e de 888,0 a 2096,1 mg / 100 g na semente.

Quanto às frações, foram identificadas concentrações mais baixas de compostos fenólicos nas frações I e IV nos genótipos estudados.

Na tabela 2 está descrito o rendimento dos extratos bruto e purificado, assim como das frações fenólicas.

Tabela 2. Compostos fenólicos totais e rendimento total (%) das frações fenólicas obtidas das diferentes partes da fruta do araçá para os genótipos bicudo, AC44 e AC87.

Acesso	Parte da fruta	Extratos/frações	Compostos fenólicos totais	**Rendimento		
<i>Amarelo</i>						
Bicudo	Polpa-casca	Bruto	1954,1 c	1310		
		Purificado	8120,0 a	97,5		
		Fração I	131,2 e	60		
		Fração II	1388,0 d	267,5		
		Fração III	2720,0 b	5		
		Fração IV	942,4 d	5		
	Semente	Bruto	1418,5 b	782,5		
		Purificado	2076,0 a	75		
		Fração I	1,2 d	17,5		
		Fração II	593,6 c	117,5		
		Fração III	1268,0 b	22,5		
		Fração IV	17,2 d	1		
		<i>Vermelho</i>				
		AC 44	Polpa-casca	Bruto	1933,3 c	2495
Purificado	10368,0 a			82,5		
Fração I	156,4 d			105		
Fração II	4640,0 b			305		
Fração III	396,8 d			5		
Fração IV	45,2 d			2,5		
Semente	Bruto		1488,9 a	255		
	Purificado		1354,0 a	20		
	Fração I		1,6 c	5		
	Fração II		1113,6 b	17,5		
	Fração III		888,0 b	5		
	Fração IV		0,9 c	0		
	<i>Vermelho</i>					
	AC 87		Polpa-casca*	Bruto	2088,5 bc	2030
Purificado		7120,0 a		115		
Fração I		75,2 c		102,5		
Fração II		4496,0 b		382,5		
Fração III		571,2 c		5		
Fração IV		130,4 c		2,5		
Semente		Bruto	1533,4 b	350		
		Purificado	622,0 c	15		
		Fração I	0,9 d	5		
		Fração II	777,6 c	17,5		
		Fração III	2096,1a	5		
		Fração IV	60,8 d	2,5		

Repetições (n = 3) seguidas da mesma letra minúscula na uma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey (P <0,05). \* Compostos fenólicos totais expressos em mg



do equivalente de ácido clorogênico / 100 g base seca. \*\*Rendimento dos extratos e frações em % / 100 g de fruta em base seca.

A concentração de compostos fenólicos nos extratos brutos foi semelhante aos encontrados por Vinholes et al., (2017), que verificou um teor de  $603,1 \pm 18,9$  mg / 100 g de fruta fresca para o araçá amarelo e  $606,1 \pm 15,3$  mg / 100 g de fruta fresca para o araçá vermelho. Concentrações inferiores aos deste estudo foram verificadas por Vanin (2015), que encontrou teor de  $154,20 \pm 1,55$  mg / 100g em araçá amarelo.

### 3.2 Compostos fenólicos individuais

A identificação e quantificação fenólica do extrato bruto, purificado e das frações dos genótipos de araçá foi realizada através de espectrometria de massas, comparando tempos de retenção, dados espectrais UV-visíveis e massas moleculares de compostos conhecidos em araçá. Esta comparação evidenciou a presença de cianidina-3-glicosídeo, malvidina-3-glicosídeo, quercetina, kaempferol, catequina, miricetina e os ácidos elágico, 4-hidroxibenzóico, p-cumárico, siríngico e vanílico (Tabela 3), compostos estes já reportados na literatura para o araçá (Medina et al., 2011; Ribeiro et al., 2014; Silva et al., 2014).

Tabela 3. Características dos compostos fenólicos nas amostras analisadas.

Compostos	Formula molecular	Massa molar	Tempo de retenção	[M-H]- Experimental	[M-H]- Teórica	Erro (ppm)	m sigma
Catequina	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	290,26	13.4	289,0721	289,0748	-2,2	5,1
Kaempferol	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	286,23	17.9	285,0393	285,0356	4,1	14,9
Miricetina	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>	318,235	15.60	317,296	317,0256	3,3	12,6
Quercetina	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	302,236	10.50	301,0343	301,0295	4,8	20,1
Cianidina-3-glicosídeo	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub> <sup>+</sup>	449,388	8.57	449,1087	449,1078	-1,9	6,3
Malvidina-3-glicosídeo	C <sub>23</sub> H <sub>25</sub> O <sub>12</sub> <sup>+</sup>	493,441	8.24	493,1335	493,1341	1,2	57,6
Ácido vanílico	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	168,14	8.32	167,0339	167,0323	0,0	22,3
Ácido elágico	C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub>	302,197	10.48	300,9978	300,9963	2,1	7,0
Ácido siríngico	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	198,17	8.66	197,0445	197,0429	-1,3	158,1
Ácido p-cumárico	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	164,047	9.47	163,0590	163,0574	-0,9	100,9
Ácido 4-hidroxibenzóico	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	138,12	8.43	137,0233	137,0217	-1,3	1,2

No extrato bruto da polpa-casca foi identificado a catequina, o ácido elágico, o ácido 4-hidroxibenzóico e, em menores quantidades o kaempferol (somente no genótipo amarelo) (Tabela 4). Já no extrato bruto das sementes, além dos compostos encontrados na polpa-casca, também foi identificado a miricetina, exceto no genótipo AC 87. O composto fenólico predominante no extrato bruto foi a catequina.

No extrato purificado da polpa-casca de todos os genótipos foram identificados cianidina-3-glicosídeo, malvidina-3-glicosídeo, ácido vanílico, ácido elágico, ácido siríngico e ácido p-cumárico, e apenas nas polpas-cascas do bicudo e AC 87 foi identificado ainda, o ácido 4-hidroxibenzóico. A quercetina foi identificada apenas na polpa-casca do AC 44. Na semente, a quercetina e as antocianinas foram detectadas em todos os genótipos estudados, além do ácido elágico. Outros ácidos como o vanílico foi verificado apenas na semente do bicudo e do AC 87; o siríngico apenas no bicudo; e o p-cumárico apenas no AC 44.

Na fração I deveriam constar todos os ácidos fenólicos, porém com o método e padrões utilizados nenhum composto foi detectado nesta fração. Como alguns ácidos fenólicos foram identificados no extrato bruto e no purificado, acredita-se que no processo de fracionamento estes foram perdidos.

Na fração II foram detectadas as antocianinas já reportadas na literatura para o araçá, cianidina-3-glicosídeo e malvidina-3-glicosídeo. A primeira está em maior quantidade na polpa-casca dos genótipos de cor vermelha (AC 44 e AC 87), e traços são verificados no de cor amarela (bicudo). A segunda está em menor quantidade em todos os genótipos. Na semente foram identificados apenas traços destes compostos.

Na fração III foi detectada a presença de quercetina na polpa-casca do bicudo e no AC 87. Além desta, o ácido elágico foi verificado no AC 87. Na semente os mesmos compostos foram identificados em todos os genótipos.

Na fração IV apenas traços de cianidina-3-glicosídeo e malvidina-3-glicosídeo foram detectados na polpa-casca e semente de todos os genótipos.

Tabela 4. Compostos fenólicos totais e individuais identificados nos extratos bruto e purificado e nas frações e extratos purificado e bruto de araçá vermelho

e amarelo.

Acesso	Parte da fruta	Extratos/ frações	Catequina	Kaempferol	Miricetina	Quercetina	Cianidina-3-glicosídeo	Malvidina-3-glicosídeo	Acido vanílico	Acido elágico	Acido siríngico	Acido p-cumárico	Acido 4-hidroxibenzóico		
<i>Amarelo</i>															
Bicudo	Polpa-casca	Bruto	46485,2±376,0	22,0±1,7	-	-	-	-	-	808,7±5,7	-	-	462,5±9,2		
		Purificado	-	-	-	-	717,5±6,2	35,7±0,6	434,5±12,7	57,2±0,04	168,1±0,5	14,5±0,04	22,4±0,3		
		Fração I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		Fração II	-	-	-	-	14,7±0,03	20,1±0,7	-	-	-	-	-		
		Fração III	-	-	-	310,5±0,4	-	-	-	-	-	-	-		
		Fração IV	-	-	-	-	744,2±0,6	1495,5±36,4	-	-	-	-	-		
	Semente	Bruto	3505,2±372,5	-	148,2±13,3	-	-	-	-	-	1143,5±16,8	-	-	230,9±5,2	
		Purificado	-	-	-	95,3±1,0	71,3±0,06	165,1±3,7	734,8±0,3	201,3±0,1	157,6±1,4	-	-		
		Fração I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		Fração II	-	-	-	-	89,8±0,1	80,3±4,9	-	-	-	-	-		
		Fração III	-	-	-	727,6±5,7	-	-	-	1418,8±17,2	-	11,0±0,4	-		
		Fração IV	-	-	-	-	4724,6±4,1	10462,9±24,3	-	-	-	-	-		
		<i>Vermelho</i>													
		AC 44	Polpa-casca	Bruto	34617,2±614,5	-	-	-	-	-	-	3781,2±12,3	-	-	349,95±6,00
Purificado	-			-	-	44,7±0,6	12865,6±0,5	45,5±2,8	182,5±1,4	95,9±1,5	77,7±0,3	44,9±0,1	-		
Fração I	-			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Fração II	-			-	-	-	3414,3±1,7	30,4±0,1	-	-	-	-	-		
Fração III	-			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Fração IV	-			-	-	-	24375,3±21,0	1753,5±18,2	-	-	-	-	-		
Semente	Bruto		1156,6±194,9	19,68±4,38	73,49±3,96	-	-	-	-	-	3151,07±294,5	-	-	106,04±19,84	
	Purificado		-	-	-	445,8±1,6	234,7±2,2	323,7±26,6	-	-	854,7±2,4	-	10,0±0,3	-	
	Fração I		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Fração II		-	-	-	-	232,7±47,4	266,2±192,6	-	-	-	-	-		
	Fração III		-	-	-	1455,9±10,6	-	-	-	2813,0±11,3	-	-	-		
	Fração IV		-	-	-	-	12354,7±240,3	10591,9±241,9	-	-	-	-	-		
	<i>Vermelho</i>														
	AC 87		Polpa-casca	Bruto	27215,4±1874,7	-	-	-	-	-	-	4566,9±217,6	-	-	307,30±15,91
Purificado		-		-	-	-	11563,8±43,1	56,8±0,02	192,0±1,3	158,5±0,7	117,7±0,5	40,8±0,04	35,0±0,1		
Fração I		-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Fração II		-		-	-	-	2264,7±6,4	21,0±0,05	-	-	-	-	-		
Fração III		-		-	-	506,6±2,9	-	-	-	1179,1±0,6	-	-	-		

	Fração IV	-	-	-	-	70337,7±337 3,6	2964,3±1,0	-	-	-	-	-
Semente	Bruto	953,1±70,4	-	-	-	-	-	-	4344,2±67,06	-	-	88,49±16,18
	Purificado	-	-	-	201,2±0,04	309,4±119,2	337,6±10,1	390,7±9,3	1986,6±3,8	-	-	-
	Fração I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fração II	-	-	-	-	240,8±8,6	157,5±3,6	-	-	-	-	-
	Fração III	-	-	-	1993,6±2,7	-	-	-	4060,4±2,6	-	119,4±0,8	-
	Fração IV	-	-	-	-	2889,5±7,5	2464,8±114,1	-	-	-	-	-

\* Desvio padrão (n=2). Extratos brutos expressos em  $\mu\text{g} / 100\text{g}$  e extrato purificado e frações fenólicas expressos em  $\mu\text{g} / \text{mL}$ .

Alguns compostos como a catequina, o kaempferol e a miricetina foram identificados nos extratos brutos, porém após o fracionamento eles não foram mais encontrados. Isso pode acontecer devido à característica antioxidante dos compostos fenólicos, que pode torná-los susceptíveis à degradação por oxidação, pela presença de oxigênio, luz, calor e íons metálicos.

Assim como identificado neste estudo, a presença de quercetina na fruta inteira de araçá também foi verificada por Biegelmeyer et al., (2011), que reportou quantidades elevadas em genótipos vermelhos (200,20 mg de quercetina / 100 g) e menores em amarelos (35,12 mg de quercetina / 100 g). Há relatos na literatura de que a quercetina é um bom inibidor da alfa-glucosidase e alfa-amilase, principais enzimas no controle do diabetes *mellitus* tipo II (Tadera et al., 2006).

Neste estudo o ácido elágico foi identificado nos extratos bruto e purificado em todos os genótipos. Este composto já foi reportado em quantidades elevadas em frutas nativas da família *Myrtaceae* (Abe et al., 2012), entre eles o araçá (2,21 µg - 3,82 µg / 100 g de fruta fresca) (Ribeiro et al., 2014), e é descrito por possuir propriedades quelantes, atuar na inibição da peroxidação lipídica, responsável pela manutenção do sistema de defesa antioxidante endógeno, antiinflamatórios, antiproliferativos e antimicrobianos entre outros (Tadera et al., 2006; Chanwitheesuk et al., 2007; Jagan et al., 2008; Kaur et al., 2009; Badhani et al., 2015; García-Niño and Zazueta, 2015; Shay et al., 2015; Long et al., 2016; Wang et al., 2016). Outros compostos como o derivado de ácido elágico desoxihexídeo (1,48 µg - 2,07 µg / 100 g de fruta fresca), um composto elagitanino (0,08 µg - 1,02 µg / 100 g ex), hexosídeo de ácido vanílico (8.1 mg GAE / 100 g fruta fresca) e quercetina-hexosídeo (6,4

mg GAE / 100 g fw) também já foram reportados para o araçá (Ribeiro et al., 2014; Silva et al., 2014). Quantidade inferiores aos deste estudo das antocianinas cianidina-3-O-glicosídeo (0,35  $\mu\text{g}$  / 100 g de massa seca) e malvidina-3-O-glucosídeo (0,24  $\mu\text{g}$  / 100 g de massa seca) foram reportadas por Dalla Nora et al., (2014b).

### 3.3 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada através da capacidade de neutralização de radicais livres. Todos os extratos e frações, em base seca, foram capazes de eliminar DPPH, sendo que os extratos brutos da polpa-casca tiveram maior atividade antioxidante, com concentrações de 1277,0; 1097,7 e 1260,4  $\mu\text{g}$  / g para o bicudo, AC 44 e AC 87, respectivamente (Tabela 5).

O extrato purificado do AC 87/semente demonstrou elevada atividade antioxidante (7776,5  $\mu\text{g}$  / g), e foi a mais efetiva dentre as demais, seguida da fração I do bicudo/semente (5791,3  $\mu\text{g}$  / g) e da fração II dos AC 44/semente (3501,0  $\mu\text{g}$  / g) e bicudo/semente (2858,3  $\mu\text{g}$  / g).

Alguns dos compostos fenólicos presentes no araçá estão relacionados com a inibição de enzimas específicas (Valko et al., 2007), entre elas estão as alfa-amilase e alfa-glicosidase, enzimas de interesse neste trabalho (Tabela 5).

### 3.4 Inibição da alfa-amilase e alfa-glicosidase

A inibição das enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase demonstra grande importância visando o possível controle da hiperglicemia. Os extratos brutos, purificados e as diferentes frações foram testados na inibição destas enzimas a fim de verificar qual grupo de compostos é responsável pelo potencial descrito para o araçá. Também foram comparadas as partes da fruta

(polpa-casca e semente), identificando qual porção exerce maior influência sobre o potencial de inibição das enzimas.

Na análise de inibição da alfa-amilase, os extratos brutos de araçá acarretaram valores mais elevados de  $IC_{50}$ , com concentrações que variaram de  $1897 \pm 257,5$  a  $2551 \pm 445,2$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  para a polpa-casca, enquanto que nenhum genótipo atingiu o  $IC_{50}$  para a semente (Tabela 5). O extrato purificado atingiu o  $IC_{50}$  para a alfa-amilase em quantidades mais baixas, entre  $21 \pm 0,0014$  e  $868 \pm 0,0641$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  para a polpa-casca, e entre  $36 \pm 0,0053$  e  $336 \pm 0,0028$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  para a semente.

Os valores de  $IC_{50}$  para a fração I foram de  $301 \pm 71,3$  a  $768 \pm 43,2$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  para a polpa-casca. Para a semente, no bicudo se verificou inibição da alfa-amilase, em concentração de  $85 \pm 1,3$   $\mu\text{g} / \text{mL}$ . Na fração II os valores foram mais elevados para as polpas-cascas do bicudo ( $1722 \pm 0,3$ ) e AC 44 ( $2014 \pm 1026,6$ ) e inferiores para o AC 87 ( $177 \pm 3,9$ ), assim como na semente: bicudo ( $530 \pm 2,9$ ), AC 44 ( $149 \pm 10,6$ ) e AC 87 ( $56 \pm 3,2$ ). A fração III foi muito eficiente para todos os genótipos, tanto para a polpa-casca quanto para a semente, e a fração IV atingiu o  $IC_{50}$  apenas para a polpa-casca dos genótipos vermelhos (AC 44 e AC 87).

Para a inibição da enzima digestiva alfa-glicosidase, a maioria dos extratos se mostrou eficiente. Os extratos brutos variaram de  $14 \pm 1,0$  a  $18 \pm 6,7$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  (polpa-casca) e  $51 \pm 5,4$  a  $73 \pm 10,5$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  (semente), e o purificado de  $6 \pm 1,4$  a  $32 \pm 2,9$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  para a polpa-casca e de  $6 \pm 0,6$  a  $32 \pm 5,9$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  para a semente. As frações I e II apresentaram  $IC_{50}$  mais elevado que as demais frações para a polpa-casca. Porém, para a semente, a fração I atingiu 50 % de inibição apenas no bicudo ( $101 \pm 19,41$ ) e no AC 44 ( $22 \pm 4,0$ )



e a fração II apenas no bicudo ( $72 \pm 13,7$ ) e no AC 87 ( $30 \pm 6,0$ ). As frações III e IV foram as mais eficientes, com valores de  $IC_{50}$  até 10 vezes menor que a maioria dos genótipos. A primeira variou de  $3 \pm 0,5$  a  $9 \pm 0,6$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  para a polpa-casca e de  $2 \pm 3233,8$  a  $3 \pm 2,1$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  para a semente, enquanto a fração IV obteve variação de  $1 \pm 0,5$  a  $4 \pm 0,7$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  e  $5 \pm 0,7$  a  $7 \pm 0,4$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  para a polpa-casca e a semente, respectivamente.

Tabela 5. Atividade antioxidante e valores de IC<sub>50</sub> para alfa-amilase e alfa-glicosidase para os extratos bruto e purificado e frações fenólicas obtidas das diferentes partes da fruta do araçá para os genótipos bicudo, AC44 e AC87.

Acesso	Parte da fruta	Extratos/ Frações	<sup>1</sup> DPPH	Alfa-amilase IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Alfa-glicosidase IC <sub>50</sub> (µg/mL)		
<i>Amarelo</i>							
Bicudo	Polpa-casca	Bruto	1277,0 a	2425 ± 213,0	18 ± 6,7		
		Purificado	818,9 b	295 ± 191,6	26 ± 2,0		
		Fração I	254,0 d	301 ± 71,3	642 ± 19,0		
		Fração II	697,0 bc	1722 ± 0,3	248 ± 77,0		
		Fração III	565,7 c	13 ± 7,3	3 ± 0,5		
		Fração IV	375,4 d	Não atingiu	1 ± 0,5		
	Semente	Bruto	327,1 c	Não atingiu	51 ± 5,4		
		Purificado	186,7 c	336 ± 2,8	32 ± 5,9		
		Fração I	5791,3 a	85 ± 1,3	101 ± 19,4		
		Fração II	2858,3 b	530 ± 2,9	72 ± 13,7		
		Fração III	411,6 c	141±0,5	3 ± 2,1		
		Fração IV	1034,4 c	Não atingiu	7 ± 0,4		
		<hr/>					
		<i>Vermelho</i>					
AC 44	Polpa-casca	Bruto	1097,7 a	2551 ± 445,2	14 ± 1,0		
		Purificado	818,9 b	868 ± 64,1	32 ± 2,9		
		Fração I	180,0 cd	628 ± 80,4	1187 ± 39,1		
		Fração II	782,0 b	2014 ± 1026,6	266 ± 31,0		
		Fração III	267,7 c	82 ± 0,5	9 ± 0,6		
		Fração IV	14,9 d	41 ± 1,9	Não atingiu		
	Semente	Bruto	330,3 c	Não atingiu	67 ± 11,3		
		Purificado	103,4 d	170 ± 8,2	10 ± 1,4		
		Fração I	466,6 b	Não atingiu	22 ± 4,0		
		Fração II	3501,0 a	149 ± 10,6	Não atingiu		
		Fração III	436,8 b	12 ± 0,5	Não atingiu		
		Fração IV	28,7 d	Não atingiu	Não atingiu		
		<hr/>					
		<i>Vermelho</i>					
AC 87	Polpa-casca*	Bruto	1260,4 a	1897 ± 257,5	15 ± 2,6		
		Purificado	951,4 b	21 ± 1,4	6 ± 1,4		
		Fração I	180,4 e	768 ± 43,2	538 ± 44,6		
		Fração II	596,0 c	177 ± 3,9	161 ± 20,1		
		Fração III	365,2 de	10 ± 1,2	3 ± 6151,0		
		Fração IV	496,5 cd	17 ± 0,6	4 ± 0,7		
	Semente	Bruto	154,9 d	Não atingiu	73 ± 10,5		
		Purificado	7776,5 a	36 ± 5,3	6 ± 0,6		
		Fração I	171,2 d	Não atingiu	Não atingiu		
		Fração II	189,5 cd	56 ± 3,2	30 ± 6,0		
		Fração III	603,4 b	5 ± 2,2	2 ± 3233,8		
		Fração IV	458,0 bc	Não atingiu	5 ± 0,7		
		<hr/>					
		<i>Controles positivos</i>					
Acarbose				141 ± 18,0	840 ± 100,2		

Quercetina

661 ± 7,0

Repetições (n = 3) seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey (P <0,05). <sup>1</sup>Atividade antioxidante pelo radical DPPH expressa em µg de equivalentes de trolox / g base seca.

Frutas nativas, como a pitanga, já foram descritas com propriedade de inibição da alfa-glicosidase (Correia, Borges, Medeiros, & Genovese, 2012), porém o araçá tem-se mostrado mais efetivo quando comparado à pitanga roxa, vermelha ou laranja (Vinholes et al., 2017). Vinholes et al., (2017) também encontrou valores de IC<sub>50</sub> semelhantes em araçá vermelho e amarelo, porém em fruta fresca (1.8 ± 0.7 µg / mL e 25.4 ± 0.7 µg / mL, respectivamente).

Em geral, os valores de IC<sub>50</sub> para alfa-amilase foram maiores do que os de alfa-glicosidase. O ideal é um inibidor enzimático que tenha atividade inibidora leve para a-amilase, e uma inibição mais efetiva para a-glicosidase. Isso porque a inibição completa da alfa-amilase não é desejada, pois se o amido não for digerido, ele será utilizado pela microflora intestinal para produção de gás, causando distúrbios intestinais como diarreia, dores abdominais e flatulência (Cho et al., 2011). Portanto, o araçá pode ser considerado um bom inibidor de enzimas digestivas que controlam a hiperglicemia pós-prandial.

A fração III, onde se encontram em maior concentração os flavonoides, foi bastante efetiva na inibição das enzimas. Para a alfa-amilase essa fração foi mais eficiente na polpa-casca do Bicudo (13 ± 7,3), assim como na semente (12 ± 0,5) e polpa-casca (10 ± 1,2) do AC44 e semente (5 ± 2,2) do AC87. Para a alfa-glicosidase a fração III proporcionou maior inibição na semente do Bicudo (3 ± 0,4), polpa-casca do AC44 (9 ± 0,6) e polpa-casca (3 ± 61515,0) e

semente ( $2 \pm 3233,8$ ) do AC87. Nessa fração foram detectados alguns ácidos, como o elágico, p-cumárico e quercetina (Tabela 4). Esta última é relacionada com a inibição das enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase (Tadera et al., 2006).

A quercetina e o ácido elágico foram exibidos como possuindo forte capacidade de inibição da alfa-glicosidase (You, et al., 2012), assim como em um estudo *in vivo*, onde verificou-se que estes mesmos compostos demonstraram atividade antihiperglicêmica, porém ainda sem explicação para o mecanismo de ação (Jadhav et al., 2012)

Contudo, o araçá pode ser considerado uma fruta com ótimo potencial para o controle da glicemia. Ao verificar as porções da fruta que teriam maior influência sobre esta atividade, pôde-se concluir que tanto a polpa-casca quanto a semente proporcionaram resultados promissores. O genótipo também não influenciou de forma significativa. A inibição da alfa-glicosidase foi maior frente à fração III (flavonoides) para todos os genótipos. A presença de compostos não identificados ou em quantidades abaixo do limite de quantificação da técnica podem ter influenciado os resultados obtidos para as atividades avaliadas.

Tais resultados podem fornecer evidências importantes para a potencial atividade antihiperglicêmica de diferentes genótipos de araçá e os possíveis compostos bioativos envolvidos.

### 3.5 Considerações finais

Diversos estudos indicam propriedades farmacológicas promissoras no araçá, principalmente relacionadas às suas propriedades químicas. Os compostos fenólicos presentes no araçá, como ácido gálico, ácido elágico,

epicatequina e quercetina, são descritos pela manutenção do sistema de defesa antioxidante endógeno, anti-inflamatório, antiproliferativo e antimicrobiano.

Neste estudo foi possível fornecer evidências importantes para a potencial atividade antihiperglicêmica de diferentes genótipos de araçá e os possíveis compostos bioativos envolvidos.

Os resultados obtidos validam o potencial de utilização de compostos presentes no araçá na prevenção e tratamento de patologias associadas ao estresse oxidativo e no controle da glicemia.

#### **4. Conclusão**

Os extratos dos três genótipos de araçá (bicudo, AC44 e AC87) apresentam ação de inibição sobre as enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase, sem diferenças significativas entre eles;

Os extratos da polpa-casca e da semente exercem atividade inibitória sobre as enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase de forma semelhante;

Os compostos presentes na fração III (flavonoides) destacaram-se pela inibição da alfa-glicosidase e também da alfa-amilase, enquanto os compostos presentes na fração IV (antocianinas poliméricas) e no extrato não fracionado, destacaram-se pela inibição da alfa-glicosidase, com pouca inibição da alfa-amilase.

Nas frações estudadas, e também no extrato não fracionado, verificou-se maior concentração de ácido elágico, e menores concentrações de quercetina, cianidina-3-glicosídeo, malvidina-3-glicosídeo, e de ácidos vanílico, siríngico, p-cumárico e 4-hidroxibenzóico.

Estes resultados contribuem para o conhecimento sobre os benefícios de compostos antioxidantes presentes no araçá, e o uso de frutas nativas como aliadas na prevenção e tratamento de diversas doenças, como o diabetes.

## 5. Referências bibliográficas

- Akkarachiyasit, S., Charoenlertkul, P., Yibchok-anun, S., & Adisakwattana, S. (2010). Inhibitory activities of cyanidin and its glycosides and synergistic effect with acarbose against intestinal  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic  $\alpha$ -amylase. *International journal of molecular sciences*, 11(9), 3387-3396.
- Abe, L. T., Lajolo, F. M., & Genovese, M. I. (2012). Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(8), 1679-1687.
- Badhani, B., Sharma, N., Kakkar, R., (2015). Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *RSC Adv.* 5, 27540–27557. doi:10.1039/C5RA01911G
- Biegelmeier, R., Maria, J., Andrade, M., Ana, L., Apel, M.A., Dresch, R.R., Marin, R., (2011). Comparative Analysis of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Red ( *Psidium cattleianum* ) and Yellow ( *Psidium cattleianum* var . lucidum ) Strawberry Guava Fruit. doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02319.x
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Cardoso, J.S., Oliveira, P. S., Bona, N. P., Vasconcellos, F. A., Baldissarelli, J., Vizzotto, M., Soares, M. S. P, Ramos, V. P., Spanevello, R. M., Lencina, C. L., Tavares, R. G., & Stefanello, F. M. (2017). Antioxidant, antihyperglycemic, and antidyslipidemic effects of Brazilian-native fruit extracts in an animal model of insulin resistance. *Redox Report: Communications in Free Radical Research*, 1–6.
- Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., Kilburn, J.D., Rakariyatham, N., (2007). Antimicrobial gallic acid from *Caesalpinia mimosoides* Lamk. *Food Chemistry* 100, 1044–1048. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.008

- Cho, M., Han, J. H., & You, S. (2011). Inhibitory effects of fucan sulfates on enzymatic hydrolysis of starch. *LWT-Food Science and Technology*, 44(4), 1164-1171.
- Contreras-Calderón, J., Calderón-Jaimes, L., Guerra-Hernández, E., & García-Villanova, B. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food research international*, 44(7), 2047-2053.
- Correia, R. T. P., Borges, K. C., Medeiros, M. F., & Genovese, M. I. (2012). Bioactive compounds and phenolic-linked functionality of powdered tropical fruit residues. *Food Science and Technology International = Ciencia Y Tecnología de Los Alimentos Internacional*, 18(6), 539–547.
- Dalla Nora, C., Jablonski, A., Rios, A. de O., Hertz, P.F., de Jong, E.V., & Flôres, S.H. (2014b). The characterisation and profile of the bioactive compounds in red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand). *International Journal of Food Science & Technology* 49, 1842–1849. doi:10.1111/ijfs.12493
- De Vicente, M. C., Lopez, C., & Fulton, T. (2004). Genetic diversity analysis with molecular marker data: learning module. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI).
- Farhadi, K., Esmaeilzadeh, F., Hatami, M., Forough, M., & Molaie, R. (2016). Determination of phenolic compounds content and antioxidant activity in skin, pulp, seed, cane and leaf of five native grape cultivars in West Azerbaijan province, Iran. *Food chemistry*, 199, 847-855.
- García-Niño, W.R., Zazueta, C., (2015). Ellagic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in liver protection. *Pharmacological Research* 97, 84–103. doi:<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.04.008>
- Jagan, S., Ramakrishnan, G., Anandakumar, P., Kamaraj, S., Devaki, T., (2008). Antiproliferative potential of gallic acid against diethylnitrosamine-induced rat hepatocellular carcinoma. *Molecular and Cellular Biochemistry* 319, 51. doi:10.1007/s11010-008-9876-4



- Jadhav, R., Puchchakayala, G. (2012). Hypoglycemic and antidiabetic activity of flavonoids: boswellic acid, ellagic acid, quercetin, rutin on streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *Group*, 1.
- Kaur, M., Velmurugan, B., Rajamanickam, S., Agarwal, R., Agarwal, C., (2009). Gallic acid, an active constituent of grape seed extract, exhibits anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-tumorigenic effects against prostate carcinoma xenograft growth in nude mice. *Pharmaceutical Research* 26, 2133–2140. doi:10.1007/s11095-009-9926-y
- Kubola, J., & Siriamornpun, S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food chemistry*, 127(3), 1138-1145.
- Long, M., Yang, S.H., Han, J.X., Li, P., Zhang, Y., Dong, S., Chen, X., Guo, J., Wang, J., He, J. Bin, (2016). The protective effect of grape-seed proanthocyanidin extract on oxidative damage induced by zearalenone in kunming mice liver. *International Journal of Molecular Sciences* 17. doi:10.3390/ijms17060808
- Oszmianski, J., Ramos, T., & Bourzeix, M. (1988). Fractionation of phenolic compounds in red wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39(3), 259-262.
- Ribeiro, A.B., Chisté, R.C., Freitas, M., Da Silva, A.F., Visentainer, J.V., & Fernandes, E. (2014). *Psidium cattleianum* fruit extracts are efficient in vitro scavengers of physiologically relevant reactive oxygen and nitrogen species. *Food Chemistry* 165, 140–148. doi:10.1016/j.foodchem.2014.05.079
- Shay, J., Elbaz, H.A., Lee, I., Zielske, S.P., Malek, M.H., Hüttemann, M., (2015). Molecular mechanisms and therapeutic effects of (-)-epicatechin and other polyphenols in cancer, inflammation, diabetes, and neurodegeneration. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015. doi:10.1155/2015/181260
- Soares S.E. (2002). Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista Nutrição*, 15(1), 71-81.

- Swain, T., & Hillis, W. E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10(1), 63-68.
- Sun, C.D.; Zhang, B.; Zhang, J.K.; Xu, C.J.; Wu, Y.L.; Li, X.; Chen, K.S. (2012). Cyanidin-3-glucoside-rich extract from Chinese bayberry fruit protects pancreatic  $\beta$  cells and ameliorates hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *J. Med. Food*, 15, 288–298.
- Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., Matsuoka, T., (2006). Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 52, 149–153. doi:10.3177/jnsv.52.149
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39, 44–84. doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001
- Vanin, C. D. R. (2015). Araça amarelo: atividade antioxidante, composição nutricional e aplicação em barra de cereais (Master's thesis, Universidade Tecnológica Federal do Paraná).
- Vinholes, J., Grosso, C., Andrade, P. B., Gil-Izquierdo, A., Valentão, P., de Pinho, P. G., & Ferreres, F. (2011). In vitro studies to assess the antidiabetic, anti-cholinesterase and antioxidant potential of *Spergularia rubra*. *Food Chemistry*, 129(2), 454-462.
- Vinholes, J., Lemos, G., Barbieri, R.L., Franzon, R.C., & Vizzotto, M. (2017). In vitro assessment of the antihyperglycemic and antioxidant properties of araçá, butiá and pitanga. *Food Bioscience* 19, 92-100.
- Vizzotto, M., Porter, W., Byrne, D., & Cisneros-Zevallos, L. (2014). Polyphenols of selected peach and plum genotypes reduce cell viability and inhibit proliferation of breast cancer cells while not affecting normal cells. *Food chemistry*, 164, 363-370.
- Wang, W., Sun, C., Mao, L., Ma, P., Liu, F., Yang, J., Gao, Y., (2016). The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of

quercetin: A review. *Trends in Food Science & Technology* 56, 21–38.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.004>

Yan, S., Zhang, X., Wen, X., Lv, Q., Xu, C., Sun, C., & Li, X. (2016). Purification of Flavonoids from Chinese Bayberry (*Morella rubra* Sieb. et Zucc.) Fruit Extracts and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activities of Different Fractionations. *Molecules*, 21(9), 1148.

You, Q., Chen, F., Wang, X., Jiang, Y., & Lin, S. (2012). Anti-diabetic activities of phenolic compounds in muscadine against alpha-glucosidase and pancreatic lipase. *LWT-Food science and technology*, 46(1), 164-168.

Zhang, X.N., Huang, H.Z., Zhao, X.Y., Lv, Q., Sun, C.D., Li, X., Chen, K.S. (2015). Effects of flavonoids-rich Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) pulp extracts on glucose consumption in human HepG2 cells. *J. Functional Foods*, 14, 144–153.