



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**Avaliação físico-química, nutricional e de compostos bioativos de sete frutas nativas da
Região Sul do Brasil**

FERNANDA CAMBOIM ROCKETT

**Porto Alegre
2020**

FERNANDA CAMBOIM ROCKETT

**Avaliação físico-química, nutricional e de compostos bioativos de sete frutas nativas da
Região Sul do Brasil**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como um dos requisitos para a obtenção do grau de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof^o. Dr. Alessandro de Oliveira Rios
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Simone Hickmann Flôres

**Porto Alegre
2020**

CIP - Catalogação na Publicação

Rockett, Fernanda Camboim

Avaliação físico-química, nutricional e de compostos bioativos de sete frutas nativas da Região Sul do Brasil / Fernanda Camboim Rockett. -- 2020. 200 f.

Orientador: Alessandro de Oliveira Rios.

Coorientadora: Simone Hickmann Flôres.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Biodiversidade. 2. Frutas nativas. 3. Vitaminas. 4. Minerais. 5. Compostos bioativos. I. Rios, Alessandro de Oliveira, orient. II. Flôres, Simone Hickmann, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Autora: Fernanda Camboim Rockett

Título da Tese: Avaliação físico-química, nutricional e de compostos bioativos de sete frutas nativas da Região Sul do Brasil

Submetida como parte dos requisitos para a obtenção do grau de
DOUTOR EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Aprovada em:/...../.....

Homologada em:/...../.....

Pela Banca Examinadora:

Por:

Prof^o. Dr. Alessandro de Oliveira Rios
Orientador
Docente do Instituto de Ciência e
Tecnologia de Alimentos
PPGCTA/UFRGS

Prof^o. Dr. Eliseu Rodrigues
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos
PPGCTA/UFRGS

Prof^a. Dr^a. Simone Hickmann Flôres
Co-orientadora
Docente do Instituto de Ciência e
Tecnologia de Alimentos
PPGCTA/UFRGS

Prof^a. Dr^a. Simone Hickmann Flôres
Diretora do Instituto de Ciência e
Tecnologia de Alimentos
ICTA/UFRGS

Banca: Prof^a. Dr^a. Florencia Cladera Olivera
Doutora em Engenharia Química - UFRGS
PPGCTA/UFRGS

Banca: Prof^a. Dr^a. Rochele de Quadros
Rodrigues
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos
- UFRGS
PUCRS

Banca: Prof^a. Dr^a. Naira Poerner Rodrigues
Doutora em Ciência de Alimentos - UNICAMP
DEQUI/UFRGS

AGRADECIMENTOS

À minha família e aos meus amigos, pela paciência, pelo apoio incondicional, pelo convívio e por proporcionarem momentos de descontração ao longo desses quatro anos. Em especial aos meus pais, Maria Teresa e Paulo Roberto, por estarem sempre ao meu lado, pela dedicação, educação, pelo incentivo e por todo o amor. Às minhas irmãs Gabriela e Marina, pela parceria e ao Pedro pela compreensão nos momentos de ausência e amor. À Margot, por me fazer aproveitar cada momento do dia e a valorizar as coisas mais simples da vida.

Ao Prof. Alessandro Rios, pela oportunidade, pela orientação praticada diariamente, pelo incentivo, pelos ensinamentos e por estar sempre disponível. Obrigada pela confiança e até mesmo pelas cobranças quando foram necessárias. Você para mim é um exemplo de professor e pesquisador e eu agradeço imensamente o privilégio de ter o teu acompanhamento nessa jornada.

À profa. Simone Flôres pela co-orientação, por toda ajuda e disponibilidade. Além de ser uma professora exemplar, transborda seu amor à pesquisa e ao que faz, servindo de inspiração durante todo esse período.

Às professoras Viviani de Oliveira e Vanuska da Silva, pelas oportunidades que me deram e continuam dando, pelos ensinamentos, incentivos e pela confiança.

Aos professores Eliseu Rodrigues, Bruna Tischer e Paula Augusti por contribuírem com a minha formação, por auxiliarem na visão crítica dos achados e por todo o apoio.

Ao demais professores e funcionários do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos e do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela oportunidade de qualificação profissional, pelo conhecimento científico, apoio técnico e de infraestrutura.

Às professoras Ana Beatriz de Oliveira, Ingrid Schweigert Perry e Vera Bosa. Vocês sempre foram grandes inspirações e, mesmo sem participação direta nesse trabalho, contribuíram de forma inestimável na minha formação acadêmica e pessoal, o que com certeza influenciou na minha trajetória até aqui.

Ao Projeto "Biodiversidade para Alimentação e Nutrição" coordenado pelo Ministério do Meio Ambiente, ao Fundo Brasileiro para a Biodiversidade, ao *Bioversity International*, à FAO/ONU e ao *Global Environment Facility* (GEF) pela oportunidade de envolvimento em um projeto tão grandioso e importante, além do auxílio financeiro. Em especial, à equipe de coordenação nacional: Lidio Coradin, profa. Deborah Bastos, Daniela Beltrame e Camila Oliveira. À equipe do projeto BFN - Região Sul, em especial ao André Bazzan, Carlos Pagno, Érica Fochezatto, Graciela dos Santos, Jucelaine Possa, Juliana Severo e Patric Monteiro por todo auxílio na execução das análises.

Aos colegas do Laboratório de Compostos Bioativos, pelo acolhimento, ensinamentos, ajuda e bons momentos compartilhados. Em especial, à minha dupla, Helena Schmidt (Helen), por toda parceria e amizade que fortalecemos nesses quatro anos, pela ajuda, apoio, por estar

comigo em todas as horas. Com certeza esse trabalho é igualmente teu. Obrigada por tudo! Aos amigos Santiago Tupuna (Santi) e Aelson Brum (Aelsito) pelos bons encontros, papos e cafés. Tenho certeza que levarei a amizade do nosso “quarteto improvável” pra vida toda!

À doutoranda Luana Schmidt que não mediu esforços para que as análises dessem certo, pelos ensinamentos e também por compartilhar angústias e desabafos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela bolsa de estudos.

À banca examinadora, pelas valiosas contribuições.

Aos professores Paulo Brack, Mara Ritter e Gabriela Coelho-de-Souza, à Rosa Lia Barbieri e ao Rodrigo Franzon, da Embrapa Clima Temperado, que participaram de alguma forma na busca pela matéria prima.

Aos agricultores e pequenos produtores que venderam ou gentilmente cederam as frutas nativas incluídas nesse trabalho. Em especial, agradeço à Família Bellé, à Sandra da COOPVIVA e à Marta Bergamo que não mediram esforços em consegui-las. Igualmente, aos envolvidos com a Cadeira Solidária de Frutas Nativas, ao Centro de Estudos e Promoção da Agricultura de Grupo (Cepagro), ao Centro Ecológico, à cooperativa Ecoserra e à Rede Ecovida. Vocês fazem um lindo trabalho e são verdadeiros guardiões da biodiversidade brasileira!

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O consumo regular de frutas tem sido amplamente recomendado e já foi associado à diminuição do risco de desenvolvimento de doenças crônicas, devido à presença de compostos com efeitos benéficos à saúde. Nesse contexto, o Brasil é considerado o país com a maior biodiversidade biológica do mundo e possui um grande número de espécies frutíferas, muitas delas encontradas na Região Sul. Embora o país apresente características climáticas e geográficas favoráveis à produção dessas espécies e que elas apresentem potenciais econômicos e nutricionais, ainda não são amplamente utilizadas pela população. Isso se deve ao fato de que ainda existem lacunas no conhecimento existente em torno da biodiversidade nativa e seu valor nutricional, com dados ainda limitados ou inexistentes. Assim, uma caracterização ampla das espécies nativas é considerada crucial para estimular seu uso. Neste sentido, este trabalho visa determinar o potencial nutricional de sete espécies nativas - Butiá da Praia (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi), Butiá da Serra (*Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc.), Açaí Juçara (*Euterpe edulis* Mart.), Arumbeva (*Opuntia elata* Salm-Dyck), Maracujá do Mato (*Passiflora actinia* Hook.), Fisális (*Physalis* spp.) e Jaracatiá (*Vasconcellea quercifolia* A.St.-Hil.) - da Região Sul do Brasil. As frutas foram analisadas em relação às suas características físico-químicas, composição centesimal, teor de vitaminas e minerais, capacidade antioxidante, além da identificação e quantificação dos principais compostos bioativos. As frutas avaliadas apresentaram alto teor de umidade, baixo teor lipídico e boa quantidade de fibras, principalmente as do tipo insolúvel. O Açaí Juçara apresentou alta relação de sólidos solúveis totais e acidez total titulável (SST/ATT), excelente quantidade de fibras, teor considerável de vitaminas B5 e B6, luteína, antocianinas e alta capacidade antioxidante. Os Butiás da Praia e da Serra exibiram conteúdo elevado de vitamina C e do complexo B (B1, B2, B5, B6 e B7), além da alta capacidade antioxidante. A Arumbeva teve destaque como fonte de fibras, vitamina C e minerais (Ca, Mg, Mn e Zn). O Maracujá do Mato se destacou pelo conteúdo de vitamina B6 e o Fisális apresentou teores elevados de vitamina B3, B6 e carotenoides totais, além de apresentar perfil completo dos mesmos. Já o Jaracatiá se apresentou como uma excelente fonte de minerais (Ca, K e Zn) e proteínas; obteve alta relação SST/ATT e elevada quantidade de vitaminas A, C e do complexo B (B2 e B6), além de ter destaque no conteúdo de carotenoides totais e individuais (α e β -caroteno, β -criptoxantina e zeaxantina), apresentando um perfil completo destes compostos. O teor de nutrientes para a mesma espécie, coletada em locais diferentes variaram significativamente. Devido ao potencial interesse da indústria de alimentos,

extratos hidroetanólicos de três espécies também foram formulados e avaliados quanto a capacidade antioxidante *in vitro* e *in vivo*. Os ácidos hidroxibenzóicos e clorogênicos, a catequina e/ou a epicatequina e seus derivados e a rutina foram os compostos predominantes no Butiá da Praia. No Butiá da Serra os flavan-3-ols e os ácidos hidroxibenzóicos foram os principais grupos, com predominância de galato de epicatequina. Já na Arumbeva, destacaram-se dois ácidos hidroxibenzóicos (ácido piscídico e seu derivado), seguidos pelos derivados de isorhamnetina e o ácido caféico 4-*O*-glucuronídeo. Os extratos hidroetanólicos dessas frutas foram potentes desativadores de radicais livres, excelentes fontes de compostos fenólicos e não aumentam a geração de espécies reativas de oxigênio nem tiveram efeito tóxico *in vivo*. Por fim, o Butiá da Praia foi escolhido para ser foco do desenvolvimento de um método para prolongar o prazo de validade da fruta. As frutas foram armazenadas a 5 °C em três tratamentos diferentes: dispostos em bandejas de poliestireno expandido (aberto); embalados em nylon-poli multicamada com e sem atmosfera modificada (2% de oxigênio, 5% de dióxido de carbono e 93% de nitrogênio). As amostras foram analisadas nos dias 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 35 quanto a parâmetros de qualidade pós-colheita. Aos 15 dias, o tratamento aberto não apresentava mais condições de consumo e o uso das embalagens foi capaz de aumentar a maciez, manter os níveis de carotenoides (sendo os principais o β -caroteno e a luteína); manter a capacidade antioxidante da fruta e sofrer menos perdas significativas de ácido ascórbico. O uso de embalagens, combinado ao resfriamento, foi suficiente para prolongar a vida útil dos butiás minimamente processados por até 25 dias. As frutas nativas mostraram-se promissoras quanto a composição físico-química e nutricional, assim como quanto ao teor de compostos bioativos e a formulação de extratos pode expandir ainda mais seu uso. Além disso, práticas mínimas de processamento podem prolongar sua vida útil. Os resultados apresentados nesse trabalho podem estimular a demanda, o consumo e o cultivo dessas frutas, contribuindo para a preservação e proteção de fontes naturais de alimentos nutritivos, saudáveis e sustentáveis, trazendo benefícios à saúde da população.

Palavras-chave: Biodiversidade; Frutas nativas; Vitaminas; Minerais; Compostos bioativos.

ABSTRACT

Regular consumption of fruit has been widely recommended and has already been associated with a reduced risk of developing chronic diseases, due to the presence of compounds with beneficial health effects. In this context, Brazil is considered the country with the greatest biological biodiversity in the world and has a large number of fruit species, many of them found in the South Region. Although the country has favorable climatic and geographical characteristics for the production of these species and that they have economic and nutritional potential, they are not widely used by the population yet. This is due to the fact that there are still gaps in the existing knowledge around native biodiversity and its nutritional value, with data still limited or nonexistent. Thus, a broad characterization of native species is considered crucial to stimulate their use. In this context, this work aims to determine the nutritional potential of seven native species - Butiá da Praia (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi), Butiá da Serra (*Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc.), Açaí Juçara (*Euterpe edulis* Mart.), Arumbeva (*Opuntia elata* Salm-Dyck), Maracujá do Mato (*Passiflora actinia* Hook.), Fisális (*Physalis* spp.) e Jaracatiá (*Vasconcellea quercifolia* A.St.-Hil.) - from Southern Brazil. The fruits were analyzed in relation to their physical-chemical characteristics, chemical composition, vitamin and mineral content, antioxidant capacity, in addition to the identification and quantification of the main bioactive compounds. The evaluated fruits had a high moisture content, low lipid content and a good amount of fibers, especially the insoluble type. Açaí Juçara presented a high ratio of total soluble solids and total titratable acidity (TSS/TTA), excellent amount of fibers, considerable content of vitamins B5 and B6, lutein, anthocyanins and high antioxidant capacity. Butiás da Praia and da Serra exhibited high content of vitamin C and B complex (B1, B2, B5, B6 and B7), in addition to high antioxidant capacity. Arumbeva stood out as a source of fiber, vitamin C and minerals (Ca, Mg, Mn and Zn). Maracujá do Mato stood out for the content of vitamin B6 and Fisális presented high levels of vitamin B3, B6 and total carotenoids, besides presenting their complete profile. Jaracatiá was an excellent source of minerals (Ca, K and Zn) and proteins; obtained a high TSS/TTA ratio and a high amount of vitamins A, C and the B complex (B2 and B6), in addition to highlighting the content of total and individual carotenoids (α and β -carotene, β -cryptoxanthin and zeaxanthin), presenting a complete profile of these compounds. The nutrient content for the same species, collected in different places varied significantly. Due to the potential interest of the food industry, hydroethanolic extracts of three species were also formulated and evaluated for antioxidant

capacity *in vitro* and *in vivo*. Hydroxybenzoic and chlorogenic acids, catechin and/or epicatechin and their derivatives and rutin were the predominant compounds in Butiá da Praia. In Butiá da Serra, flavan-3-ols and hydroxybenzoic acids were the main groups, with a predominance of epicatechin gallate. In Arumbeva, two hydroxybenzoic acids (piscidic acid and its derivative) stood out, followed by isorhamnetin derivatives and caffeic acid 4-*O*-glucuronide. The hydroethanolic extracts of these fruits were potent free radical scavengers, excellent sources of phenolic compounds and did not increase the generation of reactive oxygen species nor did they have a toxic effect *in vivo*. Finally, Butiá da Praia was chosen to focus on the development of a method to extend the fruit's shelf life. The fruits were stored at 5 °C in three different treatments: arranged in expanded polystyrene trays (open); packed in multilayer nylon-poly with and without modified atmosphere (2% oxygen, 5% carbon dioxide and 93% nitrogen). The samples were analyzed on days 0, 5, 10, 15, 20, 25 and 35 for post-harvest quality parameters. At 15 days, the open treatment no longer had consumption conditions and the use of packaging was able to increase softness, maintain carotenoid levels (the main ones being β -carotene and lutein); maintain the antioxidant capacity of the fruit and suffer less significant losses of ascorbic acid. The use of packaging, combined with cooling, was sufficient to prolong the useful life of minimally processed butiás for up to 25 days. Native fruits have shown promise in terms of physical-chemical and nutritional composition, as well as in terms of bioactive compounds content and the formulation of extracts can further expand their use. In addition, minimal processing practices can extend its useful life. The results presented in this work can stimulate the demand, consumption and cultivation of these fruits, contributing to the preservation and protection of natural sources of nutritious, healthy and sustainable foods, bringing benefits to the health of the population.

Key-words: Biodiversity; Native fruits; Vitamins; Minerals; Bioactive compounds.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	14
1 INTRODUÇÃO	14
CAPÍTULO 2	16
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos Específicos	16
CAPÍTULO 3	18
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 Características da Região Sul do Brasil	18
3.2 Espécies Priorizadas da Região Sul do Brasil	19
3.2.1 <i>Butia catarinensis</i> Noblick & Lorenzi (Butiá da Praia)	20
3.2.2 <i>Butia eriospatha</i> (Mart. ex Drude) Becc. (Butiá da Serra)	20
3.2.3 <i>Euterpe edulis</i> Mart. (Juçara)	21
3.2.4 <i>Opuntia elata</i> Salm-Dyck (Arumbeva)	23
3.2.5 <i>Passiflora actinia</i> Hook. (Maracujá do Mato)	24
3.2.6 <i>Physalis pubescens</i> L. (Fisális)	24
3.2.7 <i>Vasconcellea quercifolia</i> A.St.-Hil. (Jaracatiá)	25
3.3 Análises Físico-Químicas	27
3.4 Composição Centesimal	28
3.5 Vitaminas	29
3.6 Minerais	30
3.7 Compostos Bioativos	32
3.7.1 Carotenoides	32
3.7.2 Antocianinas	34
3.7.3 Compostos Fenólicos Não-Antociânicos	36
3.8 Capacidade Antioxidante	37
3.9 Produção de frutas, desperdício, pós-colheita e manutenção da qualidade	39
CAPITULO 4	42
4 MATERIAIS E MÉTODOS	42
4.1 Espécies Seleccionadas	42
4.2 Coleta da Matéria-Prima, Preparo e Armazenamento	43
4.3 Reagentes, Padrões e Material de Referência Certificado	45
4.4 Análises Físico-Químicas	46
4.4.1 Potencial Hidrogeniônico (pH) e Acidez	46
4.4.2 Sólidos Solúveis Totais	47
4.4.3 Dimensões da Fruta	47
4.4.4 Perda de Massa	47
4.4.5 Textura	47
4.4.6 Cor	47
4.5 Composição Centesimal	48
4.5.1 Umidade	48
4.5.2 Cinzas	48
4.5.3 Proteínas	48
4.5.4 Lipídeos	49
4.5.5 Fibra Alimentar	49
4.5.6 Energia	49

4.6 Vitaminas	50
4.6.1 Vitamina A	50
4.6.2 Vitaminas do Complexo B	50
4.6.2.1 Equipamento.....	50
4.6.2.2 Vitamina B1 (tiamina) e Vitamina B3 (niacina)	50
4.6.2.3 Vitamina B2 (riboflavina) e Vitamina B6 (piridoxina).....	52
4.6.2.4 Vitamina B5 (ácido pantotênico) e Vitamina B7 (biotina)	53
4.6.3 Vitamina C	54
4.7 Minerais.....	54
4.8 Compostos Bioativos.....	55
4.8.1 Carotenoides.....	56
4.8.1.1 Extração.....	56
4.8.1.2 Condições cromatográficas	56
4.8.1.3 Identificação e Quantificação.....	56
4.8.1.4 HPLC-DAD-MS/MS.....	57
4.8.2 Antocianinas.....	58
4.8.2.1 Extração.....	58
4.8.2.2 Condições cromatográficas	58
4.8.2.3 Identificação e Quantificação.....	59
4.8.3 Compostos Fenólicos	59
4.8.3.1 Extração.....	59
4.8.3.2 Purificação.....	60
4.8.2.3 Condições cromatográficas e HPLC-DAD-MS/MS	60
4.9 Extratos hidroetanólicos.....	62
4.10 Capacidade Antioxidante	63
4.10.1 Métodos <i>in vitro</i>	63
4.10.1.1 Ensaio ABTS.....	63
4.10.1.2 Ensaio da Glutathiona (GSH).....	64
4.10.1.3 Ensaio da Desoxirribose.....	65
4.10.1.4 Ensaio Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)	66
4.10.2 Método <i>in vivo</i>	67
4.10.2.1 Experimento <i>in vivo</i> com <i>Caenorhabditis elegans</i>	67
4.11 Acurácia dos Métodos Analíticos	67
4.12 Análise Estatística	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
CAPÍTULO 5	78
5 MANUSCRITO 1 - NATIVE FRUITS FROM SOUTHERN BRAZIL: PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION, CENTESIMAL COMPOSITION AND MINERAL CONTENT	78
CAPÍTULO 6.....	102
6 MANUSCRITO 2 - POTENTIAL SOURCES OF BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANTS FROM 7 BRAZILIAN NATIVE FRUITS	102
CAPÍTULO 7	118
7 MANUSCRITO 3 - PHENOLIC COMPOUNDS AND BIOACTIVITY <i>IN VITRO</i> AND <i>IN VIVO</i> OF <i>BUTIA</i> AND <i>OPUNTIA</i> FRUITS	118
CAPÍTULO 8	165
8 MANUSCRITO 4 - APPLICATION OF REFRIGERATION AND PACKING CAN EXTEND BUTIÁ FRUIT SHELF LIFE	165

CAPÍTULO 9	194
9 DISCUSSÃO GERAL	194
CAPÍTULO 10	199
10 CONCLUSÃO GERAL	199

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

O Projeto “Conservação e Uso Sustentável da Biodiversidade para Melhoria da Nutrição e do Bem Estar Humano” ou “BFN” (sigla em inglês para *Biodiversity for Food and Nutrition*) tem como objetivo promover a conservação e o uso sustentável da biodiversidade em programas que contribuam para melhorar a segurança alimentar e nutricional, por meio da valorização da importância alimentícia, nutricional e cultural das espécies nativas. Lançado em 2012 e coordenado internacionalmente pelo *Bioversity International*, o Projeto tem como agências implementadoras o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) e a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO). A iniciativa é liderada por quatro países (Brasil, Quênia, Sri Lanka e Turquia) e financiada pelo *Global Environment Facility* (GEF), o maior financiador público de projetos ambientais internacionais do mundo.

Primeiramente, cada país onde o Projeto é executado reuniu parceiros nacionais provenientes de ministérios, comunidade científica, organizações não-governamentais, sociedade civil e comunidades locais, estabelecendo suas prioridades e planejando suas ações. No Brasil, o Projeto é gerenciado pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA) e busca mostrar a forte ligação existente entre a biodiversidade, a alimentação e a nutrição, com desenvolvimento de atividades em âmbito nacional, que envolvem parcerias com iniciativas do Governo Federal (Programa de Aquisição de Alimentos – PAA; Programa Nacional de Alimentação Escolar – PNAE; Política Nacional de Alimentação e Nutrição – PNAN; Plano Nacional de Promoção das Cadeias de Produtos da Sociobiodiversidade – PNPSB; Ação voltada ao Desenvolvimento da Agricultura Orgânica – Pró-Orgânico; Programa Saúde na Escola – PSE e Política de Garantia de Preços Mínimos para Produtos da Sociobiodiversidade – PGPM-Bio).

Um dos componentes técnicos do Projeto visa ampliar o conhecimento sobre os benefícios nutricionais da agrobiodiversidade e o papel da conservação e do uso sustentável em assegurá-los. Dentre as atividades previstas no escopo deste componente, está a determinação da composição nutricional (macro e micronutrientes) de espécies nativas do Brasil, previamente identificadas pela iniciativa “Plantas para o Futuro” do MMA.

Embora algumas espécies possuam grande potencialidade nutricional, com importância regional e local, ainda são pouco conhecidas e conseqüentemente pouco utilizadas na dieta cotidiana da população. Para estimular o consumo e valorizar a produção, as análises destas espécies podem promover o conhecimento científico da vasta biodiversidade brasileira. Assim, entre 2014 e 2016, as universidades federais do Ceará, Goiás, São Paulo, Pará e Rio Grande do Sul, bem como as universidades estaduais do Ceará e São Paulo, compilaram dados nacionais de composição nutricional de espécies priorizadas usando a metodologia da FAO-INFOODS através da revisão sistemática e quantitativa de fontes de dados secundárias (dissertações, teses, resumos, tabelas de composição, artigos científicos, etc.).

Em função dos dados escassos encontrados na literatura quanto à composição nutricional das espécies e também para aumentar o “*pool*” de dados existentes, análises laboratoriais padronizadas eram necessárias e foram realizadas entre 2016 e 2018 pelas universidades parceiras, pelo Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA) e pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), visando preencher as lacunas detectadas. Neste contexto, a presente Pesquisa se insere na parceria firmada entre o Projeto BFN e a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) para avaliar a composição físico-química, nutricional e de compostos bioativos de frutas nativas da Região Sul do Brasil. Paralelamente, também foram desenvolvidas receitas com cada uma das espécies estudadas no Projeto.

Ao contemplar as 5 regiões brasileiras, o BFN contribui para a capacitação de professores, pesquisadores e estudantes no desenvolvimento de pesquisas com espécies nativas de todo o país. Os dados de composição de alimentos de 70 espécies da flora brasileira e mais de 300 receitas culinárias gerados estão atualmente hospedados na ferramenta “Biodiversidade & Nutrição”, como parte do Sistema de Informação sobre Biodiversidade Brasileira (SiBBr), criado pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI) e disponível para consulta à toda população.

CAPÍTULO 2

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Determinar a composição físico-química, nutricional e de compostos bioativos de frutas de sete espécies nativas (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi, *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc., *Euterpe edulis* Mart., *Opuntia elata* Salm-Dyck, *Passiflora actinia* Hook., *Physalis* spp. e *Vasconcellea quercifolia* A.St.-Hil.) da Região Sul do Brasil.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Determinar as características físico-químicas (dimensões, pH, acidez e sólidos solúveis);
- b) Determinar a composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas, lipídeos, fibras – totais, solúveis e insolúveis - e carboidratos) e valores energéticos;
- c) Determinar os teores de vitamina A, vitamina B1 (tiamina), vitamina B2 (riboflavina), vitamina B3 (niacina), vitamina B5 (ácido pantotênico) vitamina B6 (piridoxina), vitamina B7 (biotina) e vitamina C;
- d) Determinar os teores de minerais (Cálcio, Cobre, Ferro, Fósforo, Magnésio, Manganês, Potássio, Selênio, Sódio e Zinco);
- e) Determinar a capacidade antioxidante das amostras pelo método ABTS;
- f) Identificar e quantificar o teor de carotenoides e antocianinas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- g) Identificar e quantificar o teor de compostos fenólicos não antociânicos das frutas do *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi, do *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc. e da *Opuntia elata* Salm-Dyck e de seus extratos hidroetanólicos por CLAE acoplada a Espectrometria de Massas;
- h) Avaliar, por diferentes ensaios, a capacidade antioxidante e o efeito sobre marcadores de estresse oxidativo e taxa de sobrevivência de *Caenorhabditis elegans* de extratos

hidroetanólicos do *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi, do *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc. e da *Opuntia elata* Salm-Dyck;

- i) Desenvolver um método simples para prolongar a vida de prateleira do *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi.

CAPÍTULO 3

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Características da Região Sul do Brasil

A Região Sul do Brasil, formada pelos estados do Paraná (PR), Santa Catarina (SC) e Rio Grande do Sul (RS), apresenta grande variedade de relevos, o que exerce forte influência no clima e na vegetação (HERRMANN; ROSA, 1990). Os biomas Mata Atlântica, Pampa e Cerrado fazem parte dessa Região e caracterizam-se por possuírem elevada riqueza de espécies, com número de plantas terrestres de 16.146, 1.458 e 12.070 espécies, respectivamente, e alto nível de endemismo (FORZZA, 2010).

Quanto à vegetação, nove tipos de formações vegetais podem ser encontradas (Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Estacional Decidual, Savana Estépica, Savana, Estepe, Áreas das Formações Pioneiras e Áreas de Tensão Ecológica) (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011; INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA IBGE, 2012), o que reforça a sua ampla diversidade e importância.

Embora apresentem grande potencial pela vasta biodiversidade, os três biomas encontram-se ameaçados pela intensa redução e fragmentação da cobertura original, causadas tanto pela expansão agropecuária quanto pela intensa ocupação humana (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011; VILELA; CALLEGARO; FERNANDES, 2019). Neste contexto, tanto a Mata Atlântica quanto o Cerrado são considerados *hotspots* mundiais, termo utilizado para designar as regiões biologicamente mais ricas e ameaçadas do planeta (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011).

Visando estimular sua utilização e conservação, pesquisadores dos três Estados da Região Sul do Brasil, após uma ampla discussão e revisão bibliográfica, bem como visitas técnicas a produtores e extrativistas, elegeram as espécies alimentícias com potencial uso imediato ou futuro, que estão listadas na publicação “Planta para o Futuro – Região Sul” (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011) e serão descritas a seguir.

3.2 Espécies Priorizadas da Região Sul do Brasil

As espécies alimentícias/frutíferas nativas da flora brasileira com valor econômico atual ou potencial listadas na publicação do MMA “Planta para o Futuro – Região Sul”, foram as priorizadas pelo Projeto BFN e estão descritas na Tabela 1:

Tabela 1. Espécies vegetais priorizadas pelo Projeto BFN para a Região Sul do Brasil

Espécie (nome científico)	Nome(s) popular(es)
1. <i>Acca sellowiana</i> (O.Berg) Burret	Goiaba serrana
2. <i>Annona crassiflora</i> Mart.	Marolo, Araticum
3. <i>Araucaria angustifolia</i> (Bertol.) Kuntze	Pinheiro do paraná, pinheiro brasileiro
4. <i>Butia catarinensis</i> Noblick & Lorenzi	Butiá da praia
5. <i>Butia eriospatha</i> (Mart. ex Drude) Becc.	Butiá da serra
6. <i>Campomanesia xanthocarpa</i> (Mart.) O. Berg	Guabiroba, guabiroba, gabirola, guabirobeira
7. <i>Eugenia involucrata</i> DC.	Cerejeira do rio grande, cerejeira do mato
8. <i>Eugenia pyriformis</i> Cambess.	Uvaia, uvalha, ubaia, uvaeira, azedinha, pome azedo
9. <i>Eugenia uniflora</i> L.	Pitanga, pitangueira, pitanga mulata, pitanga preta
10. <i>Euterpe edulis</i> Mart.	Juçara, palmito, palmito juçara, ripeiro
11. <i>Opuntia elata</i> Salm-Dyck	Arumbeva, arumbeba, palma, palmatória
12. <i>Passiflora actinia</i> Hook.	Maracujá do mato, maracujá silvestre
13. <i>Physalis pubescens</i> L.	Fisális, joá de capote, juá de capote
14. <i>Plinia peruviana</i> (Poir.) Govaerts	Jaboticaba, jaboticabeira
15. <i>Psidium cattleianum</i> Sabine	Araçá, araçá vermelho, araçá amarelo
16. <i>Vasconcellea quercifolia</i> A.St.-Hil.	Jaracatiá, mamãozinho, mamoeiro do mato

Adicionalmente, em maio de 2016, a Portaria Interministerial n° 163 (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2016), marcou um passo importante na integração da biodiversidade para melhorar a segurança alimentar e nutricional. As “Espécies alimentares brasileiras de valor nutricional da sociobiodiversidade” (negligenciadas e subutilizadas) foram oficialmente definidas e reconhecidas. Já em maio de 2018, a Portaria foi substituída pela n° 284 (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2018), que aumentou o número de espécies para 100. Muitas dessas espécies foram analisadas pelo BFN no Brasil para determinar seu valor nutricional, com o objetivo de integrar as informações nas políticas e programas nacionais relevantes. As duas ordenanças auxiliaram na compreensão e disseminação do conhecimento sobre essas espécies, melhorando, por fim, sua promoção e uso sustentável.

Neste contexto, pela grande diversidade de frutíferas nativas da Região Sul do Brasil com potencial econômico e alimentício, neste trabalho foram analisadas sete das 16 espécies listadas no “Planta para o Futuro – Região Sul”: *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi, *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc., *Euterpe edulis* Mart., *Opuntia elata* Salm-Dyck, *Passiflora actinia* Hook. e *Physalis* spp., e *Vasconcellea quercifolia* A.St.-Hil. Uma breve descrição de

cada uma delas será dada a continuação.

3.2.1 *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi (Butiá da Praia)

O *Butia catarinensis* faz parte da família Arecaceae e é conhecido popularmente no Brasil como butiá-da-praia, butiazeiro, butiá, butiá-azedo, butiá-vinagre, butiá-branco, butiá roxo, butiá-miúdo, butiá-pequeno ou butiá-grado. No exterior, pode ser denominado como *Geleepalme*, *wine-palm* ou *jelly-palm* (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011; LORENZI; LACERDA; BACHER, 2015). É uma planta nativa e ocorre de SC ao RS (JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO, [s.d.]).

A fruta é aromática e bastante utilizada na alimentação humana, com agradável sabor (um pouco ácido), formato cônico a depresso-globoso, com aproximadamente 20 mm de comprimento axial e caroço globular (Figura 1 à esquerda) (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011; REITZ, 1974). São comercializadas *in natura* em feiras e beira de estrada nas regiões de ocorrência da espécie, ou na forma de polpa congelada ou sorvete (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011; LORENZI; LACERDA; BACHER, 2015). O preço médio da fruta é de aproximadamente R\$ 9,00/kg e R\$ 19,00/kg de polpa (safra 2019/2020).



Figura 1. Fotografias das frutas e da árvore do *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi.

Fonte: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/index.php?pag=buscar_mini.php.

3.2.2 *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc. (Butiá da Serra)

Este butiá também faz parte da família Arecaceae e popularmente é conhecido como

butiá-da-serra, butiazeiro, macumá, butiá-veludo, butiá-azedo, butiá-vinagre e butiá-branco. Internacionalmente pode ser denominado *Wooly-jelly-palm*. A espécie tem também as seguintes sinónimas: *Cocos eriospatha* Mart. ex Drude, *Butia eriospatha* subsp. *punctata* Bomhard e *Syagrus eriospatha* (Mart. ex Drude) Glassman (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011). É uma palmeira (Figura 2 à direita), encontrada nos três estados da Região Sul do Brasil (SOBRAL et al., 2013).

A fruta (Figura 2 à esquerda) pode ser utilizada na alimentação humana, com polpa que serve para sucos, licores, lasanha, cocada, mousse, sorvete, geleias, iogurtes, doces, entre outros. Geralmente possui coloração amarela, com aproximadamente 20 mm de altura e caroço mono ou bisseminado (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011; LORENZI; LACERDA; BACHER, 2015). O preço médio da polpa é de aproximadamente R\$ 20,00/kg.

A maturação das frutas geralmente ocorre de novembro a maio, tendo seu pico no verão, no mês de fevereiro (ROSA; CASTELLANI; REIS, 1998).



Figura 2. Fotografias das frutas e da árvore do *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc.
Fonte: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/index.php?pag=buscar_mini.php.

3.2.3 *Euterpe edulis* Mart. (Juçara)

A *Euterpe edulis* faz parte da família Arecaceae e é conhecida popularmente como palmito-juçara, juçara, jçara, içara, palmito-doce, ençarova, ripa e palmito. Tem como sinónimas *Euterpe edulis* var. *clausa* Mattos, *Euterpe egusquizae* Bertoni ex Hauman e *Euterpe*

espiritasantensis Fernandes (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011). É uma palmeira que ocorre da Bahia ao RS (Figura 3) (SOBRAL et al., 2013).

Diferentemente da espécie da Região Amazônica (*Euterpe oleracea*), a *E. edulis* tem monocaule, e a extração do palmito implica na morte da planta, o que a colocou na lista de risco de extinção (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011; LORENZI; LACERDA; BACHER, 2015). Justamente por isso, a produção da sua fruta (açai juçara) tem vantagens e pode ser estimulada.

Aproveitando a semelhança entre espécies do Norte e a demanda crescente pelo produto, em consequência da disseminação do consumo de açai (emulsão obtida a partir do processamento do mesocarpo e epicarpo) no país, os agricultores passaram a produzir e comercializar as frutas na Região Sul (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011). O preço médio da fruta é de R\$ 5,00/kg e R\$ 16,00 a polpa. Como características botânicas, as frutas são drupáceas, esféricas, de cor roxa ou preta quando maduras, com mesocarpo carnoso muito fino (Figura 3) (LORENZI; LACERDA; BACHER, 2015; REITZ, 1974), e pesam em média 1 g, com infrutescências atingindo em média 3 kg (REIS, 1995). Além disso, sua semente compreende cerca de 90% do peso do fruto inteiro (INADA et al., 2015). Sementes e resíduos do despulpamento não são frações comestíveis, mas podem ser explorados como fontes de fibras para enriquecer os alimentos (INADA et al., 2015).



Figura 3. Fotografias das frutas e da palmeira da *Euterpe edulis* Mart.

Fonte: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/index.php?pag=buscar_mini.php.

3.2.4 *Opuntia elata* Salm-Dyck (Arumbeva)

Faz parte da família Cactaceae e é conhecida como arumbeva, arumbé, palmatória, cardo-palmatória e palma, tendo como sinônimas *Opuntia chakensis* Speg. e *Opuntia cardiosperma* K. Schum. É um cacto arbóreo (Figura 4) e no Brasil teve registro apenas no sudoeste gaúcho, no Parque Estadual do Espinilho, município de Barra do Quaraí, RS (MARCHIORI, 2004; SCHLINDWEIN, 1995). A espécie é citada também como nativa do Paraguai (ARENAS; LACOUR, 1981) e introduzida na Austrália (LEUENBERGER, 2001).

Não há exploração econômica para esta espécie (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011; LORENZI; LACERDA; BACHER, 2015). A subutilização pode ser explicada pelo desconhecimento e pela restrita ocorrência. Outro uso potencial desta espécie é para a criação de cochonilhas para a extração de corantes naturais, como o vermelho-carmim, utilizado nas indústrias, sobretudo com fins alimentícios (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011).

As frutas (acrossarcídios) amadurecem em meados de agosto, são produzidas em grande quantidade e são obcônicas com cerca de 6 a 7 cm, externamente com coloração vermelho-púrpura quando maduras, polpa verde (semelhante ao kiwi), adocicada e succulenta e possuem sementes duras de 5 a 6 mm de comprimento e subglobosas (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011; LORENZI; LACERDA; BACHER, 2015). A polpa pode ser consumida *in natura* ou utilizada no preparo de sucos, licores, geleias e sorvetes.

Um cuidado especial deve ser tomado com os gloquídeos (espinhos parecidos com pêlos ou espinhos curtos) nas frutas maduras, o que demanda também adequações e buscas por tecnologias de produção e colheita (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011).



Figura 4. Fotografia da *Opuntia elata* Salm-Dyck.

Fonte: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/index.php?pag=buscar_mini.php.

3.2.5 *Passiflora actinia* Hook. (Maracujá do Mato)

Essa espécie faz parte da família Passifloraceae e popularmente é conhecida como maracujá-do-mato, maracujá-redondinho e maracujá-redondo, tendo como sinonímia *Passiflora paulensis* Killip. Pode ser considerada como uma trepadeira e tem ampla distribuição, com registros de crescimento nos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e nos três estados da Região Sul do país, nas Florestas Ombrófilas Densa e Mista (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011).

O uso atual dessa espécie é local, popular e restrito, devido ao desconhecimento ou inexistência de cultivo. Sua fruta (Figura 5) amadurece entre novembro e abril, tem de 3,5 a 4,0 cm, subglobosa, de cor amarelo-pálida quando madura e semente obobal e foveolada (BERNACCI; VITTA, 2003). A polpa é succulenta e abundante, sendo que a casca tem potencial utilização no preparo de farinhas, a exemplo do maracujá azedo (*Passiflora edulis* Sims), e a entrecasca na extração de pectina para formulação de espessantes (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011; LORENZI; LACERDA; BACHER, 2015).



Figura 5. Fotografia da fruta da *Passiflora actinia* Hook.
Fonte: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=14203

3.2.6 *Physalis pubescens* L. (Fisális)

O *Physalis pubescens* faz parte da família Solanaceae e popularmente é conhecido por fisális, joá-de-capote, joá, tomatinho-de-capucho, tomatinho-de-capote, balãozinho, camapu, camapum, bucho-de-rã, juá-poca e camarú. Tem como sinónimas *Physalis pruinosa* L. e *Physalis barbadensis* Jacq. Se distribui desde a América do Norte até a Argentina e tem ampla distribuição no Brasil, sendo comum em áreas abertas e barrancos nos três estados da Região

Sul (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011).

As frutas são bagas globosas do tipo solanídio, com 0,8 a 1,8 cm de diâmetro, biloculares, coloração amarelo-alaranjada, sabor doce e levemente ácido, e com muitas sementes pequenas (Figura 6) (KISSMAN; GROTH, 2000; LORENZI; LACERDA; BACHER, 2015). São comercializados em nichos de supermercados e em feiras de produtos orgânicos, com preço médio de aproximadamente R\$ 24,00/kg. Como a oferta do produto é pequena, este se torna caro, dificultando a comercialização e a divulgação. Além do consumo *in natura*, a fruta pode ser cristalizada ou cozida e usada em preparos como conservas, doces, geleias, licores e sorvetes (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011; LORENZI; LACERDA; BACHER, 2015).

A fruta também tem aspecto decorativo por ser envolvida por uma membrana (cálice persistente). Pela versatilidade, sabor e forma atraente, sua utilização na cozinha internacional merece destaque, sendo servida em acompanhamento a chás, cobertas por chocolate e na confeitaria, demonstrando assim a versatilidade e o grande potencial desta espécie. Além disso, apresenta uma boa duração no pós-colheita e é comercializada protegida pelo próprio cálice (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011).



Figura 6. Fotografia das frutas, da flor e das folhas do *Physalis pubescens* L.

Fonte: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/index.php?pag=buscar_mini.php.

3.2.7 *Vasconcellea quercifolia* A.St.-Hil. (Jaracatiá)

O Jaracatiá pertence à família Caricaceae, sendo conhecido como jaracatiá, mamute,

mamãozinho-do-mato, mamoeiro-do-mato, mamoeirinho, mamãozinho ou mamoeiro-bravo. Tem como sinónímias *Carica acuta* Heilborn, *Carica hastata* Brign., *Carica lanceolata* (A. DC.) Benth. & Hook. ex Hieron., *Papaya lanceolata* (A. DC.) Kuntze, *Papaya quercifolia* (A. St.-Hil.) Kuntze, *Vasconcellea hastata* (Brign.) Caruel e *Vasconcellea lanceolata* A. DC (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011). É uma árvore que atinge 4-8 metros de altura e ocorre nos estados de Minas Gerais, Goiás, Rio de Janeiro, São Paulo e nos três estados da Região Sul do Brasil (SANTOS, 1970), além de já ser cultivada em outros países, como Espanha e Itália (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011).

O seu uso é local e popular, tanto da medula caulinar quanto da fruta, que podem ser utilizadas, em forma de doces (do caule, conhecido como doce-do-pau, côco-de-pobre ou pau-ralado – semelhante à cocada –, e da fruta), cozidas como hortaliças ou salada crua se deixada de molho (caule) ou *in natura*, geleias, sucos, licores e sorvetes (fruta) (KINUPP, 2007; LORENZI; LACERDA; BACHER, 2015). Na região sul do país o doce é vendido a R\$ 33,00/kg.

As frutas amadurecem de outubro a janeiro no Sul do país e são elipsoides ou piriformes, com aproximadamente 5 cm, alaranjadas quando maduras, glabros e com muitas sementes (Figura 7) (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011; LORENZI; LACERDA; BACHER, 2015).

Para o uso em particular dessa fruta se destaca a produção da enzima papaína, a qual o Brasil importa e é muito utilizada na indústria alimentícia e farmacêutica, com produção superior a da *Carica papaya* L. (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011).



Figura 7. Fotografia das frutas e da árvore da *Vasconcellea quercifolia* A.St.-Hil.

Fonte: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/index.php?pag=buscar_mini.php.

3.3 Análises Físico-Químicas

A determinação de acidez pode indicar o estado de conservação de um produto alimentício, uma vez que os processos de decomposição (por hidrólise, oxidação ou fermentação), alteram quase sempre a concentração dos íons de hidrogênio (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Os métodos de determinação da acidez podem ser os que avaliam a acidez titulável ou fornecem a concentração de íons de hidrogênio livres, por meio do pH (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Já a determinação de sólidos solúveis pode ser estimada pela medida do índice de refração (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Os teores de pH, sólidos solúveis totais (SST) e acidez total titulável (ATT) já relatados na literatura para as sete espécies nativas são apresentados na Tabela 2. O Açaí Juçara apresentou o maior pH (DA SILVA et al., 2014; INADA et al., 2015), embora conteúdos de SST encontrados tenham variado de 3,0 a 11,6 °Brix (DA SILVA et al., 2014; INADA et al., 2015). O °Brix das espécies tiveram valores variando de 6,4 a 13,46 °Brix (Tabela 2).

Na análise da ATT, os valores encontrados para as espécies variaram de 0,35% a 2,20% para o Butiá da Serra (DAL MAGRO et al., 2006; RIGO; BEZZERA; CÓRDOVA, 2010). O estudo realizado por Sganzerla (2010) caracterizou os frutos de Butiá da Praia e da Serra determinando a composição nutricional, a presença de compostos fitoquímicos e a capacidade antioxidante da polpa. As análises físico-químicas de pH, teor de sólidos solúveis e acidez também são apresentadas na Tabela 2.

A relação °Brix/Acidez Total (expressa em ácido orgânico) pode ser aplicada para sucos de frutas integrais e polpas de frutas, e é utilizada como uma indicação do grau de maturação da matéria prima (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Pereira et al. (2013), encontraram a razão entre SST/ATT de 7,48 para o Butiá da Praia, enquanto que El Sheikha et al. (2008) encontraram $11,27 \pm 0,11$ para a fruta e $7,59 \pm 0,49$ para o suco do Fisális.

Tabela 2. Teores de pH, sólidos solúveis totais (SST) e acidez total titulável (ATT) de espécies nativas da Região Sul do Brasil

Fruta	pH	SST (°Brix)	ATT (% ácido cítrico)	Referência
Açaí Juçara	$5,5 \pm 0,0$	3,0	-	Inada et al. (2015)

Fruta	pH	SST (°Brix)	ATT (% ácido cítrico)	Referência
Butiá da Praia	5,6±0,4	11,6±0,1	-	Da Silva et al. (2014)
	2,45	11	1,92	Sganzerla (2010)
Butiá da Serra	-	10,32±0,0	1,38±0,01	Pereira et al. (2013)
	2,93 a 3,06	6,4 a 7,7	1,91 a 2,20	Dal Magro et al. (2006)
	2,36	9	1,88	Sganzerla (2010)
Fisális	3,01	9,25	0,35	Rigo et al. (2010)
	3,74±0,02 (fruta)	13,46±0,05 (fruta)	1,23±0,01 (fruta)	El Sheikha et al. (2008)
	3,54±0,005 (suco)	10,65±0,10 (suco)	1,43±0,08 (suco)	
Mamãozinho	-	-	0,36±0,03	Schmeda-Hirschmann et al. (2005)

3.4 Composição Centesimal

A composição centesimal de um alimento corresponde a proporção em que cada constituinte majoritário encontra-se presente em 100 g de produto considerado. Tais constituintes são: umidade, cinzas, lipídios, proteínas, carboidratos e fibras. A partir destes dados, o valor energético total do alimento também pode ser calculado, usando os fatores de conversão de 4 kcal.g⁻¹ para o conteúdo de proteína ou carboidrato e 9 kcal.g⁻¹ para o conteúdo lipídico. A revisão bibliográfica da composição centesimal das sete espécies nativas da Região Sul do Brasil incluídas neste estudo estão apresentadas na Tabela 3.

O Açaí Juçara apresentou 66 Kcal.100g⁻¹ em base úmida, alto conteúdo lipídico e de fibras (DA SILVA et al., 2014; INADA et al., 2015). Da Silva et al. (2014) encontraram o valor de 400,0±23,9 Kcal.100g⁻¹ em base seca.

O teor de lipídeos totais para o Butiá da Praia foi elevado (17,81%), se comparado com frutas normalmente consumidas (FARIA et al., 2008), assim como a polpa de Butiá da Praia apresentou média de 17,93% de lipídios (LOPES et al., 2012). Quanto ao valor energético, o Butiá da Praia e da Serra apresentaram, respectivamente, 53,21 e 43,30 Kcal.100g⁻¹, decorrentes principalmente do teor de carboidratos (SGANZERLA, 2010).

O Fisális apresentou valor de 49 Kcal.100g⁻¹ em base seca e 16 Kcal.100g⁻¹ no suco (EL SHEIKHA et al., 2008).

A espécie do Mamãozinho obteve o valor de 70,55 Kcal.100g⁻¹ em base úmida (KINUPP, 2007) e pode ser considerada fonte de fibra alimentar por possuir > 3g.100g⁻¹ (base úmida) (MENDES, 2015).

Para os valores de umidade, o Mamãozinho foi a espécie com o mais alto valor (95,0%)

(Tabela 3).

Tabela 3. Composição centesimal de espécies nativas da Região Sul do Brasil

Fruta	Umidade (%)	Cinzas (%)	Lipídeos (%)	Proteína (%)	Carboidratos (%)	Fibras (%)	Referência
Açaí Juçara	51,9±0,3	2,5±0,0	6,9±0,3	5,0±0,3	85,7±0,4	71,8±0,6	Inada et al. (2015)
	88,7±3,8 B.U	8,8±0,8	29,2±0,9	6,0±0,3	28,3±3,5	28,3±0,3	Da Silva et al. (2014)
Butiá da Praia	84,99 B.U	4,20	0,73	6,26	80,68	8,13	Sganzerla (2010)
	85,4 B.U	6,16	17,81	2,05	73,97	42,47 (FDN) 26,71 (FDA)	Faria et al. (2008)
	-	-	-	4,14	-	-	Kinupp & Barros (2008)
	82,48±0,06 a 86,43±0,06 B.U	-	15,24 a 20,63	-	-	-	Lopes et al. (2012)
	87,82±0,08 B.U	0,25±0,01	0,61±0,02	5,79±0,09	10,55±0,06	4,89±0,04 (FDT) 4,08±0,005 (FIT)	Pereira et al. (2013)
Butiá da Serra	84,21 a 86,78 B.U	-	-	-	-	-	Dal Magro et al. (2006)
	88,15 B.U	4,98	1,27	9,03	77,30	7,43	Sganzerla (2010)
Fisális	-	-	-	10,35	-	-	Kinupp & Barros (2008)
	81,34±1,59 B.U (fruta)	5,58±0,52 (fruta)	15,59±0,13 (fruta)	13,18±0,97 (fruta)	17,24±1,33 (fruta)	5,78±0,21 (fruta)	El Sheikha et al. (2008)
	89,34±0,14 B.U (suco)	7,01±0,81 (suco)	1,61±0,27 (suco)	9,11±0,16 (suco)			
Mamãozinho	81,31±0,49 B.U	6,96	17,71	16,96	-	20,76	Kinupp (2007)
	95,00 B.U	5,2	22,83	22,2	24,8	25	Schmeda-Hirschmann et al. (2005)

Resultados expressos em base seca, exceto quando especificado. B.U: base úmida; FDA: fibra detergente ácido; FDN: fibra detergente neutro; FDT: fibra dietética total; FIT: fibra insolúvel total.

3.5 Vitaminas

As vitaminas são substâncias orgânicas essenciais ao metabolismo dos seres humanos, sendo a presença destas na dieta recomendada. Além disso, as vitaminas A, C e E, assim como carotenoides e compostos fenólicos, agem como antioxidantes naturais e podem efetivamente eliminar radicais livres (ZANG et al., 2017). Os resultados encontrados para estas vitaminas nas espécies nativas incluídas neste trabalho são apresentados na Tabela 4.

Para Inada et al. (2015), o Açaí Juçara pode ser considerado fonte de vitaminas A e E.

Quando comparado com outras frutas da Mata Atlântica (Uvaia, Araçá e Grumixama), o valor da atividade de vitamina A do Açaí foi o segundo mais elevado (DA SILVA et al., 2014).

Segundo Faria et al. (2008), a concentração de fibras, pró-vitamina A, vitamina C e potássio confere potencial à polpa de Butiá da Praia no uso como complemento alimentar de populações locais. O valor de Equivalente de Atividade de Retinol (RAE) é semelhante aos valores encontrados para frutas convencionalmente consumidas e consideradas ricas em carotenóide pró-vitamina A, como a manga (60-215 RAE.100g⁻¹) e a acerola (42-225 RAE.100g⁻¹) (FARIA et al., 2008).

O conteúdo de ácido ascórbico do Butia da Serra foi aproximadamente 73 vezes maior que outras espécies nativas estudadas, como o araçá e a pitanga (DENARDIN et al., 2015). Já sobre o fruto do fisális, estudo anterior reportou altos níveis de niacina (vitamina B3) (EL SHEIKHA et al., 2010).

Tabela 4. Conteúdo de vitaminas de espécies nativas da Região Sul do Brasil

Fruta	Vitamina A ($\mu\text{g RAE.100g}^{-1}$)	Vitamina C (mg.100g^{-1})	Vitamina E (mg.100g^{-1})	Referência
Açaí Juçara	7	5,2	β -tocoferol: 0,03 \pm 0,00 α -tocoferol: 0,59 \pm 0,06 γ -tocoferol: 0,06 \pm 0,00	Inada et al. (2015)
Butiá da Praia	246,02	-	-	Da Silva et al. (2014)
	-	23,86	δ -tocoferol: 0,066 γ + β -tocoferol: 0,361 Total: 0,426	Sganzerla (2010)
Butiá da Serra	146,2	53,0 \pm 18	-	Faria et al. (2008)
	-	32	-	Pereira et al. (2013)
	-	17,61 a 70,44	-	Dal Magro et al. (2006)
Fisális	-	21,34	δ -tocoferol: 0,053 γ + β -tocoferol: 0,099 Total: 0,152	Sganzerla (2010)
	-	9,351 \pm 0,06	-	Denardin et al. (2015)
	-	212,65 (fruta) 363,70 (suco)	-	El Sheikha et al. (2008)

Resultados expressos em base seca, exceto quando especificado. RAE: Equivalente de atividade de retinol (do inglês *retinol activity equivalent*).

3.6 Minerais

Embora apresentem-se, geralmente, em baixas quantidades relativas, os minerais desempenham funções vitais nos organismos vivos e devem ser ingeridos pelos seres humanos na dieta. Os valores encontrados nas sete espécies nativas priorizadas para a Região Sul do

Brasil para esses elementos são apresentados na Tabela 5.

Foram quantificados nos frutos de Juçara quatorze minerais, sendo a polpa a parte comestível que apresentou os maiores conteúdos (INADA et al., 2015). Os autores concluem ainda que o Açaí Juçara pode ser considerado fonte de Mn e Cu (INADA et al., 2015).

O teor de potássio (K) na polpa do Butiá da Praia foi maior do que no abacate (em média 206 mg.100g⁻¹) e na banana (em média 300 mg.100g⁻¹), que são consideradas frutas ricas nesse mineral (FARIA et al., 2008; KINUPP; BARROS, 2008; NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO, 2011; PEREIRA et al., 2014). Ainda, o estudo de Pereira et al. (2014), encontrou predominância de cálcio (Ca) nesta espécie.

Cabe destacar também os teores consideráveis de fósforo (P) nos fisális nativos (KINUPP; BARROS, 2008). O fruto fisális, bem como o seu suco, são fontes nutritivas, contendo particularmente altos níveis de minerais (EL SHEIKHA et al., 2010).

O Mamãozinho também se destaca pelo conteúdo de ferro (Fe) (média 1,8 mg.100g⁻¹ em base úmida) e Ca (média 89,5 mg.100g⁻¹ em base úmida) quando comparado a outras espécies nativas da biodiversidade brasileira (KINUPP, 2007; MENDES, 2015). Além disso, o teor de Ca é maior que de frutas muito adquiridas como banana prata, laranja, pêra e mamão, assim como o teor de Mg de seu correspondente comumente adquirido (MENDES, 2015).

Tabela 5. Conteúdo de minerais de espécies nativas da Região Sul do Brasil

Fruta	Minerais (mg.100g ⁻¹)		Referência
Açaí Juçara	Ca: 63,8±3,3	Mn: 2,8±0,9	Inada et al. (2015)
	Cd: 0,0011,1±0,0002	Na: 21,8±2,5	
	Co: 0,0136±0,0019	Ni: 0,5±0,0	
	Cu: 0,3±0,0	P: 69,2±12,2	
	Fe: 1,67±0,4	S: 26,9±2,9	
	K: 361,0±42,0	Se: 0,001±0,0001	
	Mg: 32,1±4,2	Zn: 0,6±0,1	
Butiá da Praia	Al: <18	Mn: <18	Faria et al. (2008)
	Ca: 16,8	Na: <18	
	Fe: <18	P: 19,9	
	K: 462,4	S: 7,3	
	Mg: 12,5	Zn: <18	
	B: 1,4	Mn: 2,2	Kinupp & Barros (2008)
	Ca: 90	Na: 15,4	
	Cu: 0,6	P: 120	
	Fe: 3,3	S: 160	
	K: 1800	Zn: 0,8	
Mg: 80		Pereira et al. (2014)	
Al: 2,12	In: não detectado		

	Ba: 0,03	K: 811,34	
	Bi: 0,04	Mg: 56,96	
	Ca: 44,02	Mn: 3,05	
	Cd: 0,01	Na: 8,84	
	Co: 0,01	Ni: 0,50	
	Cr: 0,12	Pb: não detectado	
	Cu: 1,15	Sr: 1,00	
	Fe: 1,61	Tl: não detectado	
	Ga: 0,06	Zn: 3,89	
Fisális	B: 0,4	Mn: 0,8	Kinupp & Barros (2008)
	Ca: 50,0	Na: 10,4	
	Cu: 1,0	P: 340	
	Fe: 4,8	S: 140	
	K: 2300	Zn: 2,0	
	Mg: 160		
	Suco	Mg: 19	El Sheikha et al. (2008)
	B: 1	Mn: 0,6	
	Ca: 70	Na: 35	
	Cu: 1,5	P: 578	
	Fe: 1,2	Zn: 2,4	
	K: 1196		
Mamãozinho	B: 2,4	Mn: 1,4	Kinupp (2007)
	Ca: 480	N: 4000	
	Cu: 0,6	Na: 6,5	
	Fe: 5,8	P: 570	
	K: 4000	S: 440	
	Mg: 470	Zn: 2,1	
	Ca: 115	Na: 11	Schmeda-Hirschmann et al. (2005)
	Fe: traço	P: 445	
	K: 240		

Resultados expressos em base seca.

3.7 Compostos Bioativos

3.7.1 Carotenoides

Os carotenoides são compostos lipofílicos amplamente distribuídos na natureza, presentes em alimentos de origem vegetal. Apresentam propriedades benéficas importantes para a saúde humana, como a atividade antioxidante pela capacidade em desativar ou inativar espécies reativas de oxigênio (em especial o oxigênio singlete) e pela capacidade de atuar como precursor da vitamina A (β e α -caroteno, β -criptoxantina, etc). Mais de 700 estruturas já foram identificadas, mas os carotenoides de ocorrência comum são: β -caroteno, β -criptoxantina, Luteína, Zeaxantina, Neoxantina, Capsantina, Violaxantina, Bixina e Licopeno (SRINIVASAN DAMODARAN, KIRK L. PARKIN, 2010).

Os teores de carotenoides encontrados na literatura para as frutas incluídas neste estudo estão descritos na Tabela 6.

O conteúdo de carotenoides totais foi alto para o Açaí Juçara, sendo que 13 tipos foram separados utilizando-se Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com coluna C₃₀ (DA SILVA et al., 2014). O all-*trans*-luteína foi o principal carotenoide (39%, m/m) seguido por todos os all-*trans*-β-Caroteno (36%, m/m). Além disso, o teor de carotenoides totais encontrado por Da Silva et al. (2014) foi 2,6 vezes menor do que o encontrado anteriormente em outro estudo realizado em Santa Catarina (1900 µg.100g⁻¹ de matéria fresca) (RUFINO et al., 2010). Inada et al. (2015) identificaram apenas o β-caroteno na polpa desta fruta.

A presença de carotenoides em *V. quercifolia*, detectada por cromatografia de camada delgada, desperta atenção com respeito à sua capacidade antioxidante e os autores sugerem, em estudos futuros, diferenciar aqueles com atividade pró-vitáminica A (FERREIRA, 2015).

O fruto do fisális também contém altos níveis de carotenoides (EL SHEIKHA et al., 2010).

Tabela 6. Conteúdo de carotenoides em espécies nativas da Região Sul do Brasil

Fruta	Carotenoides (µg.g ⁻¹)	Referência
Açaí Juçara	β-caroteno: 0,86±0,12	Inada et al. (2015)
	Carotenoides totais: 65,26	Da Silva et al. (2014)
Butiá da Praia	Luteína: 25,90	
	β-caroteno: 23,58	
	β-criptoxantina: não detectado	
	α-caroteno: 5,32	
	Zeaxantina: 0,47	
	Carotenoides totais: 14,80	Sganzerla (2010)
	β-caroteno: 19,50	
	β-criptoxantina: 183,90	
	Licopeno: 0	
	Luteína + Zeaxantina: 0,07	
Butiá da Serra	Carotenoides totais: 39,77±4,16	Pereira et al. (2013)
	α-caroteno: não detectado	
	β-caroteno: 21,67±3,07	
	9- <i>cis</i> -β-caroteno: 10,17±0,74	
	Criptoxantina: 0,24±0,03	
	13- <i>cis</i> -β-caroteno: 1,99±0,19	
	Luteína: 4,68±0,51	
	Zeaxantina: 0,099±0,01	
	5,6-Epoxy-β-caroteno: 0,92±0,11	
	Carotenoides totais: 17,27	Sganzerla (2010)
Fisális	β-caroteno: 0,13	
	β-criptoxantina: 263,42	
	Licopeno: 0,133	
Fisális	Luteína + Zeaxantina: 1,19	
	Carotenoides totais: 3,85±0,74 B.U	Denardin et al. (2015)
Fisális	Carotenoides totais: 69,55±0,70	El Sheikha et al. (2008)

Resultados expressos em base seca, exceto quando especificado. B.U: base úmida.

3.7.2 Antocianinas

As antocianinas ou compostos antociânicos pertencem ao grupo dos flavonoides e são responsáveis por uma ampla gama de cores nas plantas como o azul, o roxo, violeta, magenta, vermelho e laranja (SRINIVASAN DAMODARAN, KIRK L. PARKIN, 2010). Mais de 400 antocianinas já foram descritas em outras frutas e hortaliças, sendo as mais comuns: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina (SRINIVASAN DAMODARAN, KIRK L. PARKIN, 2010).

Foram encontrados na literatura teores de antocianinas apenas para três espécies incluídas neste trabalho (Butiás e Açai Juçara), que são apresentados na Tabela 7.

Onze compostos fenólicos foram determinados no Açai Juçara, dos quais predominaram formas solúveis, sendo as antocianinas os fenólicos mais abundantes (INADA et al., 2015).

A Cianidina-3-*O*-rutinosídeo foi a antocianina mais abundante encontrada na polpa de Juçara (70%), seguido por cianidina-3-glicosídeo (24%). Esta espécie ainda apresentou níveis elevados de compostos fenólicos 415 mg *gallic acid equivalents* (GAE).100g⁻¹ em base úmida, com separação de sete antocianinas, particularmente (cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo) (DA SILVA et al., 2014).

O estudo de Sganzerla (2010) identificou e quantificou as antocianinas por análise cromatográfica, nos Butiás da Praia e da Serra, encontrando resultados diferentes entre as duas espécies.

Tabela 7. Conteúdo de antocianinas em sete espécies nativas da Região Sul do Brasil

Fruta	Antocianinas (mg.100g ⁻¹)	Referência
Açai Juçara	Cianidina 3- <i>O</i> -glicosídeo: 61±1	Inada et al. (2015)
	Cianidina 3- <i>O</i> -rutinosídeo: 195±20	
	Cianidina 3,5-hexose pentose: 1,43±0,05	Da Silva et al. (2014)
	Cianidina 3-glicosídeo: 47,93±1,52	
	Cianidina 3-rutinosídeo: 179,60±5,77	
	Pelargonidina 3-glicosídeo: 1,66±0,05	
	Pelargonidina 3-rutinosídeo: 2,87±0,09	
	Peonidina 3-rutinosídeo: 3,59±0,11	
	Cianidina 3-rhamnosídeo: 0,30±0,01	
	Antocianinas monoméricas: 239,16 ± 7,6	
	Antocianinas totais: 91,52 a 236,19	
	Cianidina 3,5-diglicosídeo: 0,11 a 0,33	
	Cianidina 3-glicosídeo: 29,09 a 108,97	
	Cianidina 3-rutinosídeo: 42,77 a 137,27	
Pelargonidina 3-rutinosídeo: 0,04 a 0,07		
Peonidina 3-glicosídeo: 0,33 a 1,27		
Peonidina 3-rutinosídeo: 0,47 a 0,83		
Butiá da Praia	Antocianinas totais: 2,20	Sganzerla (2010)

Butiá da Serra	Keracianina: 6,890 Kuromanina: 0,493 Antocianinas totais: 0,73 Keracianina: 0 Kuromanina: 0,054	Sganzerla (2010)
----------------	---	------------------

Resultados expressos em base seca.

Ainda dentre os flavonoides, os compostos não antociânicos também fazem parte deste grupo, como flavanona, flavononóis ou di-hidroflavonol e flavan-3,4-dióis (proantocianidina) (SRINIVASAN DAMODARAN, KIRK L. PARKIN, 2010). Além disso, cinco outros compostos são incluídos neste grupo mesmo sem ter o esqueleto básico flavonoide, como é o caso da di-hidrochalconas, chalconas, isoflavonas, neoflavonas e auronas (SRINIVASAN DAMODARAN, KIRK L. PARKIN, 2010). Estes compostos são responsáveis pelas cores brancas ou amarelas e seus produtos de oxidação que contém um grupamento fenólico contribuem para as cores marrons e pretas encontradas na natureza (SRINIVASAN DAMODARAN, KIRK L. PARKIN, 2010).

Os flavonoides encontrados nas espécies nativas incluídas neste trabalho são apresentados na Tabela 8.

Denardin et al. (2015) identificaram quercetina (Quercetina-3-glicosídeo) na espécie de Butiá da Serra, embora não tenham quantificado este composto.

Fitoquimicamente, o Mamãozinho apresentou os compostos fenólicos manghaslina e rutina (flavonoides derivados da quercetina); assim como glicosídeos cianogênicos e glicosinolatos. Embora não tenham sido quantificados, suas características nutracêuticas são de grande valor (FERREIRA, 2015).

Tabela 8. Conteúdo de flavonoides em espécies nativas da Região Sul do Brasil

Fruta	Flavonoides (mg.100g ⁻¹)	Referência
Butiá da Praia	Epicatequina: 9,69 Quercetina: 1,44	Sganzerla (2010)
Butiá da Serra	Epicatequina: 8,97 Quercetina: 1,98	Sganzerla (2010)
Fisális	Quercetina-3-b-D-glicosídeo Miricetina: 0,104 µg.100 mL ⁻¹ do suco Rutina: 0,449 µg.100 mL ⁻¹ do suco Quercetina e Kaempferol: não detectados	Denardin et al. (2015) El Sheikha et al. (2008)
Mamãozinho	Principais compostos fenólicos: quercetina diglicosídeo rutina (derivado da quercetina) e o triglicosídeo manghaslina (derivado triglicosilado da quercetina). Flavonóides menores foram identificados: kaempferol, quercetina, isorhamnetina e metoxicimicetina glicosídeos.	Quispe et al. (2013)

Resultados expressos em base seca.

3.7.3 Compostos Fenólicos Não-Antociânicos

Os ácidos fenólicos formam um grupo diversificado que inclui os ácidos benzoicos e derivados (hidroxibenzoico, gálico, elágico, etc.) e os ácidos cinâmicos e derivados (cumárico, caféico, ferúlico, clorogênico, etc.) (SRINIVASAN DAMODARAN, KIRK L. PARKIN, 2010).

Os ácidos fenólicos encontrados na literatura para as espécies estudadas neste trabalho são apresentados na Tabela 9.

A análise dos ácidos fenólicos no Açaí Juçara por HPLC-MS/MS indicou a presença dos ácidos gálico, protocateico, p-hidroxibenzoico, vanílico, clorogênico, caféico, sinérgico, p-cumárico, sinapínico e ferúlico, com valores que variaram conforme o período da colheita (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014).

Tabela 9. Conteúdo de ácidos fenólicos em espécies nativas da Região Sul do Brasil

Ácidos fenólicos	Ácido Fenólico (mg.100g ⁻¹)	Referência
Açaí Juçara	Gálico: 3,8±0,0 3,4-dihidroxidobenzoico: não detectado 4-hidroxibenzoico: não detectado <i>trans</i> -cinâmico: não detectado <i>m</i> -cumárico: 0,03±0,01 4-hidroxifenilacético: 2,9±0,3 Total: 30,95 a 44,27	Inada et al. (2015)
	Gálico: 0,31 a 0,98 Protocateico: 2,54 a 3,80 <i>p</i> -hidroxibenzoico: 6,47 a 14,75 Vanílico: 2,66 a 3,97 Clorogênico: 1,31 a 2,51 Caféico: 0,21 a 0,85 Sinérgico: 4,70 a 9,84 <i>p</i> -cumárico: 1,03 a 3,11 Sinapínico: 2,44 a 3,22 Ferúlico: 3,54 a 5,92	Bicudo, Ribani & Beta (2014)
Butiá da Praia	Gálico: 85,98 <i>p</i> -hidroxibenzoico: 54,18 Ferúlico: 0,44	Sganzerla (2010)
Butiá da Serra	Gálico: 51,43 <i>p</i> -hidroxibenzoico: 25,58 Ferúlico: 0,75	Sganzerla (2010)
Fisális	Ácido tânico: 125,04±0,56 (fruta) e 116,57±0,76 (suco)	El Sheikha et al. (2008)
	µg.100 mL ⁻¹ do suco Protocateico: 0,932 <i>p</i> -hidroxibenzoico: 0,561 Clorogênico: 2,086 Vanílico: 2,727	

Ácidos fenólicos	Ácido Fenólico (mg.100g ⁻¹)	Referência
	<i>p</i> -cumárico: 5,368 Ferúlico: 10,036 Salicílico: 7,341 Cumárico 0,176	
	Pirogálico, Hidroquinona, Gálico, Resorcinol, Ácido orto-cumárico, Ácido cinâmico: não detectados	

3.8 Capacidade Antioxidante

Os radicais livres são normalmente produzidos como um subproduto do metabolismo celular (LI et al., 2016). As classes mais importantes das espécies radicais geradas nos sistemas vivos são espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ROS e RNS), cuja produção excessiva pode desempenhar um papel fundamental em muitas doenças crônicas humanas, incluindo aterosclerose, diabetes mellitus, câncer, artrite reumatóide, catarata e doença de Parkinson (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990). Isso acontece porque, quando em excesso, as ROS e RNS promovem estresse oxidativo no corpo, reagindo com componentes estáveis (lipídios, proteínas e DNA), o que pode resultar em dano a enzimas e ao DNA, bem como oxidação de lipídios e proteínas (HALLIWELL, 2015).

Produtos de origem vegetal, como as frutas, são ricas fontes de compostos bioativos que, por sua vez, são potencialmente antioxidantes e com efeitos benéficos para a saúde (KALAYCIOĞLU; ERIM, 2017). Por isso, seu consumo regular tem sido amplamente recomendado (SERAGLIO et al., 2018).

A avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* é realizada por meio de reações químicas para determinar a capacidade da amostra de reagir com estruturas reativas, sendo elas radicais livres presentes ou não no organismo (MAGALHÃES et al., 2008). No ensaio ABTS, por exemplo, ocorre a captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) que é um dos mais utilizados para medir a capacidade antioxidante de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica com absorvância em 734 nm (KUSKOSKI et al., 2005; RUFINO et al., 2007). Já o método DPPH é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorvância a 515 nm, que pode implicar em interferências quando aplicado a antocianinas e carotenoides (RUFINO et al., 2007). Apesar da diferença dos métodos, estudos relatam uma forte correlação positiva entre os ensaios ABTS e

DPPH (DUDONNÉ et al., 2009; FLOEGEL et al., 2010). No entanto, as determinações realizadas *in vitro* nos dão apenas uma ideia aproximada do que acontece em situações complexas *in vivo* (KUSKOSKI et al., 2005).

Já para a avaliação da capacidade antioxidante *in vivo*, o uso do nematoide *Caenorhabditis elegans*, está se consolidando pelas inúmeras vantagens que apresenta, tais como: facilidade de manipulação, curto ciclo de vida (cerca de 20 dias), alta reprodutibilidade e genoma totalmente sequenciado, no qual apresenta uma alta homologia aos mamíferos, sistema nervoso relativamente simples e sua eficácia em simular diferentes patologias em nível molecular, em especial o efeito das ROS (MIRANDA-VIZUETE; VEAL, 2017).

Apesar da dificuldade em se comparar a capacidade antioxidante das espécies, uma vez que os estudos utilizam diferentes métodos de análise, além de expressarem os resultados de maneiras distintas, sem uma padronização, os estudos que apresentaram a capacidade antioxidante de algumas das sete espécies incluídas no presente trabalho são apresentados na Tabela 10.

Dentre os resultados, a capacidade antioxidante da polpa de Juçara destacou-se independentemente do ensaio utilizado (INADA et al., 2015). Houve também uma correlação positiva entre estes valores e compostos fenólicos totais, indicando que esses são os principais contribuintes para a capacidade antioxidante (INADA et al., 2015).

A capacidade antioxidante do Butiá da Praia foi maior quando comparada a outras frutas nativas brasileiras, como o araticum-do-mato (6,74 vezes) e mandacaru-de-três-quinhas (1,32 vezes) pelo método ABTS (PEREIRA et al., 2013). O estudo de Sganzerla (2010), comparou as duas espécies de Butiá quanto à diversos parâmetros, incluindo a capacidade antioxidante, e encontrou resultados semelhantes para ambos.

Tabela 10. Capacidade antioxidante de espécies nativas da Região Sul do Brasil

Fruta	Capacidade Antioxidante	Método	Referência
Açaí Juçara	1,2±0,1 g GAE.100g ⁻¹	Folin–Ciocalteu	Inada et al. (2015)
	15,9±0,3 mmol Fe ²⁺ .100g ⁻¹	FRAP	
	33,6±0,9 mmol Trolox.100g ⁻¹	ORAC	
	14,3±0,8 mmol Trolox.100g ⁻¹	TEAC	
	655,89 a 745,32 μmol Trolox.g ⁻¹	DPPH	
Butiá da Praia	1088,10 a 2071,55 μmol Trolox.g ⁻¹	ORAC	Bicudo, Ribani & Beta (2014)
	211,92 mg de Trolox.100g ⁻¹	DPPH	
	25,96±0,07 M equivalente de Trolox.g ⁻¹ B.U	ABTS	
	3847,54±468,28 g amostra fresca.g ⁻¹ DPPH	DPPH	Pereira et al. (2013)

Fruta	Capacidade Antioxidante	Método	Referência
Butiá da Serra	237,22 mg de Trolox.100g ⁻¹	DPPH	Sganzerla (2010)
	253,80±25,4 IC ₅₀ mg fruta fresca.L ⁻¹ do extrato	DPPH	Denardin et al. (2015)
	9,32±0,9 µmol FeSO ₄ ·7H ₂ O.g ⁻¹ B.U	FRAP	
	25,73±0,23 área sob a curva	TRAP	
	72,05±0,01 (I ₀ /I)	TAR	
Mamãozinho	15±2 e 13±2	DPPH	Schmeda-Hirschmann et al. (2005)

DPPH: hidrato de 2,2-difenil-2-picril-hidrazila; FRAP: poder antioxidante redutor de ferro; GAE: equivalentes de ácido gálico; TAR: reatividade antioxidante total; TEAC: capacidade antioxidante equivalente a Trolox; TRAP: potencial antioxidante reativo total; ORAC: capacidade antioxidante de radicais de oxigênio.

Não foram encontrados estudos sobre a composição específica das espécies *Passiflora actinia* Hook. e *Opuntia elata* Salm-Dyck.

3.9 Produção de frutas, desperdício, pós-colheita e manutenção da qualidade

O Brasil é o 3º maior produtor de frutas no mundo, ficando atrás apenas da China e da Índia (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Apesar da alta produção, o país aparece em 10º lugar no *ranking* de consumo, com per capita de 57 kg ao ano (ou 160 g por dia) (CHITARRA; CHITARRA, 2005), valor abaixo do recomendado pela Organização Mundial da Saúde, que é de 400 g por dia de frutas e vegetais (WHO, 2003).

Nos últimos anos, embora a produção tenha aumentado, a qualidade das frutas produzidas não é adequada (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Um dos grandes desafios enfrentados pelos produtores envolve perdas pós-colheita, que atingem até 50% do volume produzido para alguns produtos. As perdas podem ocorrer em todas as etapas da cadeia produtiva, e estimativas apontam que 10% ocorra ainda na colheita, 50% durante o transporte e manuseio, 30% nas centrais de abastecimento e 10% em mercados ou pelos consumidores (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2011; PORAT et al., 2018). As perdas no campo geralmente ocorrem por técnicas de pós-colheita ou armazenamento inadequados. Já no manuseio e transporte, as causas são pelo processamento ou embalagem inadequada ou pelo sistema de transporte e distribuição deficiente ou, ainda, pela ausência da cadeia de frio (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

As alterações que ocorrem no produto após a colheita que depreciam a qualidade e impedem seu consumo podem ser classificadas quanto ao tipo em qualitativas (sabor, aroma, textura, aparência, valor nutricional) ou quantitativas (redução no peso) e; quanto às causas em

intrínsecas (respiração, amadurecimento, senescência, brotamento, transpiração) ou extrínsecas (dano mecânico, doenças e pragas, temperatura, umidade relativa, etileno, contaminações) (CHITARRA; CHITARRA, 2005). As principais causas apontadas para o grande percentual de perdas na pós-colheita são a deficiência de recursos humanos qualificados; o uso de tecnologias inadequadas do plantio ao armazenamento; o descuido no manuseio dos produtos; o ataque de pragas e doenças e; a deficiência da infraestrutura para o atendimento das necessidades do setor agrícola (CHITARRA; CHITARRA, 2005; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2013).

As perdas são especialmente relacionadas com produtos altamente perecíveis como as frutas e as hortaliças (ERIKSSON; STRID; HANSSON, 2016; PORAT et al., 2018). Por apresentarem atividade metabólica elevada, especialmente após a colheita, produzindo processos de deterioração, as frutas se enquadram nesta classificação (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A redução das perdas e do desperdício nesses grupos de alimentos, em especial, é essencial pela importância que ambos têm para a nutrição humana, contendo vitaminas, minerais, fibras e outros nutrientes, além de ter impactos ambientais, econômicos e sociais (PORAT et al., 2018). Um conjunto de atributos de qualidade podem determinar o grau de aceitação pelo consumidor e incluem, dentre outros, aparência (tamanho, forma, peso, cor, defeito); textura (firmeza, suculência, granulosidade, fibrosidade); sabor (aroma e gosto - doçura, acidez, adstringência, aroma); valor nutritivo (lipídios, vitaminas, minerais, fibras, carboidratos) e segurança (resíduos de defensivos, contaminações microbianas). Com o manuseio cuidadoso e a aplicação de tecnologias adequadas é possível manter sua qualidade.

Técnicas como o armazenamento a frio (principal método para retardar ou reduzir a deterioração de frutas e vegetais) e, de forma complementar, o uso da atmosfera modificada ou controlada são essenciais para a manutenção da qualidade de frutas (USALL et al., 2016). Na atmosfera modificada, a composição do gás atmosférico é diferente do normal, incluindo aumento do dióxido de carbono (CO_2), redução do oxigênio (O_2) ou ambos, o que afeta a fisiologia da fruta, prolongando a vida pós-colheita (USALL et al., 2016). Apesar dos tratamentos físicos disponíveis, o uso comercial deles é limitado em relação ao mercado em potencial (USALL et al., 2016).

A conservação pós-colheita de frutas e hortaliças tem efeitos em diversos setores da sociedade, como: custos ao consumidor, lucro do produtor, possibilidade de aumento nas

exportações de produtos frescos, modernização da logística de transportes, investimento em treinamentos e pesquisas, além da preservação do meio ambiente. A exploração pelo mercado de frutas nativas com o apelo de produto saudável e limpo, destinado para uma população urbana cada vez mais preocupada com a saúde, faz com que cresça a pesquisa de algumas espécies que até o momento têm sido pouco estudadas, como o butiazeiro (MEGGUER, 2006). Com colheita geralmente manual e vida pós-colheita curta (DA SILVA; SCARIOT, 2013), a produção comercial pode ser ampliada, possuindo grande potencial de geração de renda (HOFFMANN et al., 2014).

Neste contexto, estudos que abordem o metabolismo respiratório ou efeitos da refrigeração e modificação ou controle de gases podem propiciar maior vida de prateleira com manutenção da qualidade de alguns produtos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Assim, a adoção de tecnologias que reduzam as perdas pós-colheita e agreguem valor aos produtos podem permitir que um maior número de pessoas tenha acesso à esses alimentos, estimulando especialmente o consumo de frutas *in natura*.

Com base nestas informações, nota-se a grande potencialidade nutricional e comercial destas espécies nativas da Região Sul, o que reflete na importância do estímulo ao seu consumo e valorização. Além disso, tabelas de composição fornecem médias representativas mas os alimentos individualmente podem variar muito em relação a esses valores, especialmente por influência da sua localização.

CAPITULO 4

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Espécies Seleccionadas

Dentre as 16 espécies nativas da Região Sul do Brasil priorizadas pelo Projeto BFN e contempladas na iniciativa “Plantas para o Futuro – Região Sul”, sete frutas foram analisadas: *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi, *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc., *Euterpe edulis* Mart., *Opuntia elata* Salm-Dyck, *Passiflora actinia* Hook., *Physalis* spp. e *Vasconcellea quercifolia* A.St.-Hil.. As famílias, nomes científicos e populares estão descritos na Tabela 11:

Tabela 11. Sete espécies vegetais priorizadas pelo Projeto BFN para a região Sul do Brasil que foram analisadas

Espécie (nome científico)	Família	Nome(s) popular(es)
<i>Butia catarinensis</i> Noblick & Lorenzi	Arecaceae	Butiá, butiá cabeçudo, butiazeiro, coquinho azedo, coco cabeçudo, coquinho, butiá da praia, cabeçudo, aricuri, alicuri, nicuri, ouricuri, coco coronata, coco babão
<i>Butia eriospatha</i> (Mart. ex Drude) Becc.	Arecaceae	Butiá da serra, butiá serrano, butiazeiro serrano, butiá vermelho, butiá peludo
<i>Euterpe edulis</i> Mart.	Arecaceae	Juçara, palmito, palmito juçara, ripeiro, açaí da mata atlântica
<i>Opuntia elata</i> Salm- Dyck	Cactaceae	Arumbeva, arumbeba, palma, palmatória, palmado espinilho, figo da índia verde, figo da índia
<i>Passiflora actinia</i> Hook.	Passifloraceae	Maracujá do mato, maracujá silvestre, maracujá redondinho
<i>Physalis pubescens</i> L.	Solanaceae	Fisális, joá de capote, juá de capote, tomate de capote, canapu, camapu, bucho de rã, bate testa, juápoca, joá poca, <i>golden berry</i> (inglês)
<i>Vasconcellea quercifolia</i> A.St.-Hil.	Caricaceae	Jaracatiá, mamãozinho, mamoeiro do mato, mamute, mamão brabo, figo de índio, coco de pobre

Por se tratarem de espécies nativas, foi obtida a “Autorização de Acesso e de Remessa de Componente do Patrimônio Genético” junto ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), nos termos da Deliberação 246/2009, do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, autorizando o acesso e a remessa de componentes do Patrimônio Genético com a finalidade de pesquisa científica (protocolo número nº 010813/2015-2). Posteriormente, a pesquisa também foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos (Cadastro nº A53C7B9).

4.2 Coleta da Matéria-Prima, Preparo e Armazenamento

Ao considerar que diferentes localidades (posições geográficas) interferem na composição química das frutas e que esta sofre alterações devido ao tipo de solo, clima, insolação, temperatura média anual da região, adubação, quantidade de água, grau de domesticação da planta e índice pluviométrico, foram coletadas pelo menos duas amostras de regiões diferentes para cada espécie nativa da Região Sul do Brasil (englobando coletas nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná), totalizando 21 amostras, conforme Tabela 12. Além da coleta em regiões diferentes, as amostras foram coletadas em mais de um ponto da cidade, com no mínimo 3 lotes em diferentes árvores/plantas. Para a realização do estudo sobre pós colheita do Butiá da Praia uma nova coleta foi realizada em Torres/RS (29°18'52.20"S e 49°45'36.19"W) em fevereiro de 2019.

As frutas foram adquiridas em feiras, mercados ou diretamente com os produtores rurais e foram colhidas após serem devidamente identificadas e a espécie botânica confirmada por biólogo especialista. As exsiccatas foram coletadas e depositadas no herbário do Instituto de Biociências/UFRGS.

Durante a coleta/compra das amostras, foram observados e documentados os seguintes parâmetros: nome comum e científico - espécie botânica, variedade e cultivar (se houvesse); data de coleta/compra; local de coleta/compra - município, mercado/loja/produtor; quantidade adquirida (kg); grau de maturação; local de cultivo (com coordenadas geográficas) e data de colheita pelo produtor/extrativista. Todas as amostras coletadas estavam visualmente em estágio de maturação completa, o que foi posteriormente cuidadosamente confirmado pelo °Brix.

Após a coleta, as amostras foram transportadas sob refrigeração até o Laboratório de Compostos Bioativos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS (ICTA/UFRGS), em Porto Alegre/RS, identificadas, selecionadas visualmente, lavadas em água corrente e sanitizadas por imersão em solução clorada (200 mg.L⁻¹ por 15 min), com posterior enxágue em água corrente para remoção do cloro residual seguindo os procedimentos de higienização dos alimentos hortifrutigranjeiros da Portaria nº 78/2009 (SECRETARIA DA SAÚDE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, 2009).

Procedeu-se então ao processamento das amostras para obtenção da parte comestível: a Arumbeva, o Fisális e o Jaracatiá foram analisados de forma integral (casca, polpa e sementes);

para o Açaí Juçara e os Butiás, foram selecionadas a casca e a polpa, retirando-se o caroço; e para o Maracujá a polpa e as sementes foram selecionadas, retirando-se a casca.

As amostras foram então despulpadas (quando aplicável) (DES-20, Braesi[®], Caxias do Sul, RS, Brasil), homogêneas em processador de alimentos e acondicionadas em freezer a -80 °C para liofilização (L101, Liotop[®], São Carlos, SP, Brasil). Após serem liofilizadas, as amostras foram maceradas com gral e pistilo até a formação de um pó, homogêneas e acondicionadas em embalagens plásticas a vácuo (F200 flash, Fastvac[®], Santo André, SP, Brasil) e armazenadas em freezer a -18 °C até a realização das análises. Todos os parâmetros desta etapa (tempo de transporte; temperatura - refrigerado ou não; forma de acondicionamento; descrição do processamento dos frutos - etapas do processamento empregadas, como lavagem, retirada de casca, retirada de semente/caroço, etc.) foram documentados.

A amostragem e preparação das amostras teve como base as metodologias apresentadas no livro *Food Composition Data* (GREENFIELD; SOUTHGATE, 2003).

Tabela 12. Nome científico, nome comum no Brasil, localização, época, quantidade adquirida e número tombo das amostras coletadas

Nome Científico / Nome comum no Brasil	Nº da amostra	Origem (Cidade, Estado)	Coordenada Geográfica (GPS)	Quantida de coletada	Época da Colheita Mês/Ano	Nº tombo no Herbário*
<i>Euterpe edulis</i> Mart. / Açaí Juçara	1	Maquiné, RS	29°39'1.02"S 50°8'55.07"W	7,5 kg	Fev/2016	185666
	2	Florianópolis, SC	27°37'57.84"S 48°28'40.20"W	8,0 kg	Mai/2016	187149
	3	Dom Pedro de Alcântara, RS	29°22'37.78"S 49°51'54.61"W	12,0 kg	Mai/2016	185673
<i>Opuntia elata</i> Salm- Dyck / Arumbeva	1	Caçapava do Sul, RS	30°49'49.87"S 53°29'56.64"W	6,0 kg	Ago/2016	187673
	2	Caçapava do Sul, RS	30°50'34.45"S 53°30'12.34"W	6,0 kg	Ago/2016	187674
	3	Caçapava do Sul, RS	30°53'27.92"S 53°28'15.69"W	6,0 kg	Ago/2016	187675
	4	Bagé, RS	30°51'51.72"S 53°42'10.13"W	5,0 kg	Set/2016	187676
<i>Butia catarinensis</i> Noblick & Lorenzi / Butiá da Praia	1	Torres, RS	29°18'52.20"S 49°45'36.19"W	8,5 kg	Fev/2016	185667
	2	Osório, RS	29°85'24.66"S 50°22'76.86"W	7,0 kg	Mar/2016	185665
	3	Laguna, SC	28°25'27.86"S 48°47'20.87"W	6,0 kg	Mar/2016	185664
	**	Torres, RS	29°18'52.20"S 49°45'36.19"W	6,5 kg	Fev/2019	185667
<i>Butia eriospatha</i> (Mart. ex Drude) Becc. / Butiá da Serra	1	Pinhal da Serra, RS	27°49'37.28"S 51°14'26.15"W	12,0 kg	Abr/2016	185670
	2	Pelotas, RS	31°67'80.74"S	5,5 kg	Abr/2016	187145

Nome Científico / Nome comum no Brasil	Nº da amostra	Origem (Cidade, Estado)	Coordenada Geográfica (GPS)	Quantida de coletada	Época da Colheita Mês/Ano	Nº tombo no Herbário*
<i>Physalis</i> spp. / Fisális	3	Curitibanos, SC	52°44'32.71"W 27°11'40.63"S 50°37'04.97"W	14,0 kg	Mar/2016	194091
	1	Morro Reuter, RS	29°32'3.93"S 51°5'37.67"W	3,0 kg	Set/2016	193949
	2	Viamão, RS	30°5'50.71"S 50°49'58.73"W	2,0 kg	Out/2016	193950
	3	São Francisco de Paula, RS	29°25'02.50"S 50°33'35.56"W	0,6 kg	Mai/2017	194853
	4	Jaraguá do Sul, SC	26°17'51.09"S 49°09'19.65"W	3,4 kg	Ago/2017	194854
<i>Vasconcellea quercifolia</i> A.St.-Hil. / Jaracatiá	1	Garibaldi, RS	29°18'44.63"S 51°36'52.58"W	2,3 kg	Mar/2017	194092
	2	Planalto Alegre, SC	27°04'28.73"S 52°51'00.65"W	1,1 kg	Fev/2017	194093
<i>Passiflora actinia</i> Hook. / Maracujá do Mato	1	Curitiba, PR	25°26'49.39"S 49°14'22.55"W	5,0 kg	Dez/2016	193972
	2	São José dos Pinhais, PR	25°30'45.14"S 49°12'6.94"W	5,0 kg	Dez/2016	193973 e 193974

RS: Rio Grande do Sul; SC: Santa Catarina; PR: Paraná. * ICN Herbário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). ** coleta específica para experimentos de pós-colheita.

4.3 Reagentes, Padrões e Material de Referência Certificado

Acetato, carbonato, bicarbonato, cloreto, hidróxido e sulfato de sódio, fosfato de sódio ou potássio monobásico e bibásico, hidróxido de potássio, persulfato de potássio, ácido ascórbico, cloreto de ferro, cloreto e cálcio, sulfato de magnésio, sulfato de sódio anidro e reagente Folin-Ciocalteu foram obtidos da Neon Comercial[®] (Suzano, SP, Brasil). Ácido clorídrico, ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), ácido fórmico, acetato e etila, dimetilsulfóxido (DMSO), sacarose, ácido sulfúrico suprapuro, ácido ortofosfórico 85%, acetona, clorofórmio, éter de petróleo, éter etílico, álcool etílico, álcool metílico e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foram obtidos pela Dinâmica Química Contemporânea LTDA.[®] (Diadema, SP, Brasil). Reagentes grau HPLC como éter terc-metil-butílico (MTBE), acetonitrila, dimetilformamida e metanol foram obtidos da Panreac AppliChem[®] (Barcelona, Espanha).

O padrão de ácido ascórbico foi obtido pela Neon Comercial[®] (Suzano, SP, Brasil). Os padrões de cloridrato de tiamina (B1), riboflavina (B2), ácido nicotínico (B3), ácido D-pantotênico (hemicálcico) (B5), cloridrato de piridoxina (B6), D-biotina (B7), (all-*E*)-β-caroteno, (all-*E*)-β-criptoxantina, enzima Taka-diaestase de *Aspergillus oryzae*, radical ABTS [2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolona-6-sulfônico)] (≥98%), Trolox ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (≥ 97%), 2-desoxi-D-ribose (≥99%), L-glutationa

cristalizada em forma reduzida (GSH) ($\geq 99.0\%$), 5,5'-ditio-bis-(ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), kit para análise de fibra dietética, radical AAPH dicloridato 2,2'-Azobis(2-metilpropionamida) 97%, diacetato de 2'-7'-diclorofluorescina (DCFH-DA) e fluoresceína de sódio foram adquiridos a Sigma-Aldrich Chemical Co.[®] (St. Louis, MO, EUA).

Padrões de outros carotenoides como (all-*E*)- α -caroteno e zeaxantina foram obtidos da Fluka Analytical[®] (Munique, Alemanha) e de (all-*E*)-luteína da Indofine Chemical Company[®] (Hillsborough Township, Nova Jersey, EUA).

Os padrões de compostos fenólicos (ácidos ferúlico, gálico, cumárico, elágico, hidroxibenzóico, clorogênico e caféico, catequina, epicatequina, galato de epigallocatequina, kaempferol, luteolina, miricetina, quercetina, quercetina 3-glucosídeo, resveratrol e rutina) e de antocianinas (cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3,5-glicosídeo, cianidina 3-rutinosídeo, delphinidina-3- β -glicosídeo, pelargonidina-3-glicosídeo e pelargonidina-3,5-glicosídeo) foram obtidos da Sigma-Aldrich Chemical Co.[®] (St. Louis, MO, EUA). Cartuchos strata SPE C18 (Phenomenex) foi obtido pela empresa Allcrom[®] (São Paulo, SP, Brasil).

O material de referência certificado *Baby Food Composition* (NIST 2383a) foi adquirido do *National Institute of Standards and Technology*[®] (NIST) (Gaithersburg, MD, Estados Unidos).

A água foi purificada pelo sistema Milli-Q[®] Integral 10 da Merck Millipore (Millipore, Milford, MA, EUA). As amostras e solventes foram filtrados por membranas de politetrafluoretileno (PTFE) Millipore 0,45 μ m (Millex LCR 0,45 μ m, 13 mm) antes de serem injetadas no cromatógrafo.

4.4 Análises Físico-Químicas

4.4.1 Potencial Hidrogeniônico (pH) e Acidez

Em triplicata, aproximadamente 10 g da parte comestível da fruta *in natura* (polpa) foi homogeneizada com 50 mL de água destilada no Ultra-Turrax[®] (T 25 digital, IKA, Staufen, Alemanha) por 1 min.

O pH foi determinado por método eletrométrico potenciométrico com pH-metro (modelo Q400AS, Quimis[®], Diadema, SP, Brasil). A acidez das soluções (polpa de fruta com

água destilada) foi determinada por titulação com NaOH (0,1 N) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008) até atingirem pH 8,2.

4.4.2 Sólidos Solúveis Totais

Em triplicata, aproximadamente 10 g da parte comestível da fruta *in natura* (polpa) foi homogeneizada com 50 mL de água destilada no Ultra-Turrax[®] (T 25 digital, IKA, Staufen, Alemanha) por 1 min.

As leituras do grau Brix (°Brix) foram feitas por refratometria, utilizando o refratômetro digital (PAL-3, ATAGO[®] U.S.A., Inc., Bellevue, WA, EUA), corrigido para 20 °C. O aparelho foi calibrado a temperatura ambiente com água destilada (Índice de refração = 1,3330 e 0 °Brix a 20 °C) e foram realizadas leituras das amostras em triplicata (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.4.3 Dimensões da Fruta

Foram avaliadas individualmente 10 frutas que estivessem visualmente uniformes no mesmo estágio de maturação, conforme °Brix. Foi realizada a pesagem da fruta inteira em balança analítica (AY220, Shimadzu[®], Quioto, Japão). Para os diâmetros longitudinal e transversal foi utilizado paquímetro de aço inoxidável (Brasfort[®], Guarulhos, SP, Brasil).

4.4.4 Perda de Massa

Dez unidades uniformes do Butiá da Praia foram avaliadas individualmente e no mesmo estágio de maturação. O peso foi avaliado em uma balança analítica (AY220, Shimadzu[®], Kyoto, Japão) para determinar o progresso da perda de massa. Os resultados foram expressos em porcentagem e foram obtidos pela diferença entre a massa inicial e a massa final de cada amostra.

4.4.5 Textura

A medição da textura do Butiá da Praia foi realizada com um penetrômetro digital, PCE-FM 200, e os resultados foram expressos em Newtons (N).

4.4.6 Cor

As medições da cor da casca e da polpa foram realizadas com 10 unidades do Butiá da Praia usando um colorímetro portátil (Modelo CR-400, Konica Minolta Sensing Americas, Inc.,

Cingapura) usando o sistema da *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIELAB), determinando os valores de L* (luminosidade; 0 = escuro e 100 = branco), a* (componente vermelho-verde; <a* = verde e >a* = vermelho) e b* (componente amarelo-azul; <b* = azul e >b* = amarelo). Uma cerâmica branca foi usada para calibração.

4.5 Composição Centesimal

As análises de umidade, cinzas, proteínas, lipídios e fibra alimentar foram determinadas segundo a AOAC (2012) e o teor de carboidratos foi estimado por diferença entre 100 e a soma das porcentagens de água, proteínas, lipídeos, cinza e fibra alimentar total.

Todas as análises estão de acordo com as recomendações da *International Network of Food Data Systems* (INFOODS) da *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO).

4.5.1 Umidade

A umidade foi determinada por gravimetria em estufa de ar forçado a 105 °C até peso constante, de acordo com AOAC (2012) e métodos analíticos do Instituto Adolfo Lutz (2008). Para esta análise, inicialmente foram pesados aproximadamente 5 g da parte comestível da fruta *in natura* (polpa). A análise do teor de umidade também foi realizada com a amostra liofilizada, a fim de se obter o valor da umidade residual, posteriormente descontada nos resultados expressos em base seca.

4.5.2 Cinzas

A determinação de cinza ou resíduo mineral fixo foi realizada por incineração em mufla controlada a 550 °C (Linn High Therm, Elektro, Eschenfelden, Alemanha), de acordo com a AOAC (2012). Para esta análise, inicialmente foram pesados aproximadamente 1 g da parte comestível da fruta *in natura* (polpa).

4.5.3 Proteínas

As proteínas foram determinadas nas amostras liofilizadas (0,5 g) pelo método de Kjeldahl utilizando destilador de nitrogênio (NT 415, Novatécnica, São Paulo, SP, Brasil). Inicialmente foi feita a etapa da digestão, adicionando-se 5 g da mistura catalítica e 20 mL de ácido sulfúrico à amostra, que permaneceu no bloco digestor a 400 °C por aproximadamente 1,5 horas. Em seguida, a destilação foi feita com adição de NaOH concentrado (40%) e aquecimento, ocorrendo a liberação da amônia. O gás então reagiu com uma solução de ácido

bórico (4%), formando borato de amônio. A etapa final consistiu na titulação do borato de amônio com uma solução de ácido sulfúrico padronizada (0,1 N). Para a conversão do nitrogênio total em proteínas utilizou-se o fator médio de 6,25 (AOAC, 2012).

4.5.4 Lipídeos

O teor de lipídeos totais foi determinado pela extração a frio com clorofórmio:metanol, de acordo com o método de Bligh & Dyer (1959). Aproximadamente 2 g da amostra liofilizada foram homogeneizados com 10 mL de metanol, 4 mL de água destilada e 5 mL de clorofórmio por 1 hora. Após, adicionaram-se 5 mL de clorofórmio e 5 mL de sulfato de sódio (1,5%), agitando-se vigorosamente por 2 min. A amostra foi centrifugada a 1000 g por 2 min e 2,5 mL da camada inferior foi filtrada. O solvente foi evaporado com auxílio da chapa de aquecimento e estufa e os lipídeos foram posteriormente pesados.

4.5.5 Fibra Alimentar

Os teores de fibra alimentar total, solúvel e insolúvel foram determinados pelo método enzimático gravimétrico da AOAC (2012) e Prosky et al. (1984). O método consiste em tratar o alimento com enzimas fisiológicas, simulando condições do intestino humano, permitindo separar e quantificar o conteúdo total da fração de fibra e as frações solúveis e insolúveis. Aqueceu-se em banho maria com agitação (99 °C por 30 min) 50 mL de tampão fosfato de sódio, 100 µL da enzima α -amilase e 1 g da amostra liofilizada. Após, a amostra foi resfriada, o pH foi ajustado para 7,5 com NaOH (0,275 N) e foram adicionados 100 µL da enzima protease. A mistura permaneceu no banho maria (60 °C) por 30 min. Em seguida, a amostra foi novamente resfriada, o pH foi ajustado para 4,3 com HCl (0,325 N) e foram adicionados 100 µL da enzima amiloglicosidase. A mistura permaneceu no banho maria (60 °C) por 30 min. Na análise das fibras totais, foram adicionados 280 mL de álcool etílico (95%) para precipitação das fibras solúveis. Posteriormente, foi realizada uma filtração em cadinho de vidro (contendo celite, previamente incinerado em mufla e tarado), e lavagens com álcool etílico (78 e 95%) e acetona. Após secagem em estufa, o resíduo foi analisado quanto ao teor de proteínas e cinzas, conforme os métodos previamente descritos e o teor de fibra foi calculado.

4.5.6 Energia

O valor energético foi calculado a partir dos teores de proteínas, lipídios e carboidratos, utilizando-se os coeficientes específicos que levam em consideração o calor de combustão 4,0; 9,0 e 4,0 Kcal, respectivamente de acordo com sistema Atwater.

4.6 Vitaminas

As vitaminas analisadas foram: vitamina A (carotenoides pró-vitamínicos), vitamina B1 (tiamina), vitamina B2 (riboflavina), vitamina B3 (niacina), vitamina B5 (ácido pantotênico), vitamina B6 (piridoxina), vitamina B7 (biotina) e vitamina C (ácido ascórbico).

4.6.1 Vitamina A

A atividade da vitamina A foi calculada de acordo com o fator preconizado pelo Instituto Americano de Medicina (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001), relacionado ao equivalente de atividade de retinol (μg EAR). Esse sistema de conversão de carotenoides pró-vitamínicos A em vitamina A considera 1 equivalente de atividade retinol = 12 μg de β -caroteno e 24 μg de outros carotenoides pró-vitamínicos A da dieta (α -caroteno, β -criptoxantina e γ -caroteno). Para obtenção dos valores de carotenoides individualizados as amostras foram analisadas por CLAE, seguindo a metodologia descrita detalhadamente no item 4.8.1. A partir dos padrões disponíveis, foram identificados compostos pró-vitamínicos (α e β -caroteno e β -criptoxantina).

4.6.2 Vitaminas do Complexo B

4.6.2.1 Equipamento

As análises das vitaminas do complexo B foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência Agilent[®] (série 1100, Santa Clara, CA, Estados Unidos), equipado com um sistema solvente quaternário de bombeamento (G1311A – DE14917573 Agilent[®] 1100 Series, Waldbronn, Alemanha) acoplado a um detector UV-Visível (G1314B – DE71358944 Agilent[®] 1200 Series, Waldbronn, Alemanha) e um detector de fluorescência (G1321A – DE14903876, Agilent[®] 1100 Series, Waldbronn, Alemanha).

4.6.2.2 Vitamina B1 (tiamina) e Vitamina B3 (niacina)

A determinação das vitaminas foi realizada segundo Abe-Matsumoto, Sampaio, Bastos (ABE-MATSUMOTO; SAMPAIO; BASTOS, 2016) com adaptações. Foi realizada uma extração ácida, seguida por reação enzimática. Foi pesado 1 g de amostra liofilizada e adicionados 10 mL de ácido clorídrico 0,1 N, sendo essa mistura mantida em banho maria (Dubnoff NT 232 – Novatecnica[®], Piracicaba, SP, Brasil) com agitação (100 °C por 30 minutos). Após, as amostras foram resfriadas e o pH foi ajustado para 4,0-4,5 com acetato de sódio 5,0 M (412,4 g de fosfato de sódio em 1 litro de água destilada). Foi adicionado às amostras 0,5 g da enzima Taka-Diastase e colocado em banho maria sob agitação (47 °C por 2 horas). As amostras foram resfriadas e filtradas com papel filtro plissado para um balão volumétrico de 25 mL. O filtro foi lavado com tampão fosfato de sódio 0,05 M e o volume do balão completado com o mesmo tampão. Os extratos foram armazenados em frascos âmbar até o momento da análise por HPLC.

Foi utilizada uma coluna C18 ODS Phenomenex HyperCloneTM, 5µm, 120 A, 250 × 4,6 mm, Allcrom[®] (São Paulo, SP, Brasil). A corrida cromatográfica foi realizada em gradiente, com eluição inicial de tampão fosfato de sódio (pH 3,0):metanol de 98:2, no tempo de 9 minutos proporção de 40:60, e no tempo de 15 minutos 98:2. Para este tampão pesou-se 6,9 g de fosfato de sódio monobásico em 1 litro de água Milli-Q[®], e quando necessário, ajustado com ácido ortofosfórico 85%. O fluxo da corrida foi de 0,6 mL.min⁻¹ a 27 °C, e o tempo total foi de 15 minutos. O volume de injeção foi de 20 µL e a detecção foi por UV-visível, com absorção em 254 nm.

Para quantificação dessas vitaminas, foram construídas curvas analíticas com concentrações de 5 a 100 µg.mL⁻¹. Os padrões (cloridrato de tiamina e ácido nicotínico), foram diluídos em solução tampão fosfato de sódio 0,05 M pH 3,0.

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados conforme descrito por Ertaş et al. (2007) e estão apresentados na Tabela 13, assim como a faixa de concentração e o coeficiente de correlação (R²). Os valores foram determinados utilizando as curvas analíticas com 10 injeções do branco de cada amostra, conforme as seguintes fórmulas:

$$LOD = \text{valor médio} + 3 \times \text{desvio padrão}$$

$$LOQ = \text{valor médio} + 10 \times \text{desvio padrão}$$

Onde valor médio = zero.

Tabela 13. Faixas de concentração, coeficiente de correlação (R²), limites de detecção e limites

de quantificação dos padrões de vitaminas

Vitamina	Faixa de concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Coefficiente de correlação (R^2)	LOD ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Tiamina (B1)	1 a 100	0,9919	$4,48 \times 10^{-2}$	$1,49 \times 10^{-1}$
Riboflavina (B2)	0,006 a 0,506	0,9982	$6,64 \times 10^{-8}$	$2,21 \times 10^{-7}$
Niacina (B3)	1 a 100	0,9936	$1,28 \times 10^{-2}$	$4,28 \times 10^{-2}$
Ácido pantotênico (B5)	5 a 100	0,9984	$6,97 \times 10^{-2}$	$2,32 \times 10^{-1}$
Piridoxina (B6)	0,0192 a 1,6	0,9992	$1,08 \times 10^{-6}$	$3,60 \times 10^{-6}$
Biotina (B7)	5 a 100	0,9944	$2,45 \times 10^{-8}$	$8,17 \times 10^{-8}$

LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação.

4.6.2.3 Vitamina B2 (riboflavina) e Vitamina B6 (piridoxina)

A determinação das vitaminas foi realizada conforme metodologia proposta por Moreschi (2006) e Presoto e Almeida-Muradin (2008). Foi realizada uma extração ácida através da autoclave (Digitale 2L AV30, BS equipments[®], São Paulo, Brasil), seguida por reação enzimática. Para isso, foram pesadas 2,5 g de amostra liofilizada em frasco erlenmeyer e adicionados 25 mL ácido clorídrico 0,1 N (volume adicionado deveria ser igual ou maior a 10 vezes o peso seco da amostra) e mantido na autoclave (121 °C por 45 min). Após, o pH foi ajustado para 4,6 ($\pm 0,1$) com acetato de sódio 2,5 M e adicionada a enzima Taka-Diastase (0,5 g). Essa mistura foi mantida sob agitação em banho maria (Dubnoff NT 232 – Novatecnica[®], Piracicaba, São Paulo, Brasil) a 42 °C por 2 horas. Os extratos foram avolumados com água Milli-Q[®] para 100 mL em balão volumétrico e filtrados com papel filtro plissado. O filtrado foi armazenado em frasco âmbar até o momento da análise.

A coluna utilizada foi C18 Nova- Pak[®], 4 μm , 300 \times 3,9 mm (Waters[®], Massachusetts, EUA). Para a determinação vitamina B2 foi realizada uma corrida isocrática, com a seguinte fase móvel: mistura de tampão fosfato de potássio pH 7,2 com dimetilformamida 85:15 (v/v). O tampão foi preparado, pesando-se 8,7 g de tampão fosfato de potássio bibásico e 6,8 g do monobásico dissolvidos em água Milli-Q[®] com volume ajustado em balão volumétrico para 1 litro. Quando necessário, o pH foi ajustado com ácido ortofosfórico 85%. O fluxo da corrida foi de 1 mL.min⁻¹ a 25 °C, com tempo total de 10 minutos. O volume de injeção foi de 10 μL e a detecção foi por fluorescência, com excitação de 450 nm e emissão de 530 nm.

Para a vitamina B6 foi realizada uma corrida isocrática, sendo a fase móvel o tampão fosfato de potássio pH 2,5 e acetonitrila, na proporção de 96:4 (v/v). Para o ajuste do pH do tampão foi utilizado ácido ortofosfórico 85%. Utilizou-se também o fluxo de 1 mL.min⁻¹ a 25

°C, e tempo total de corrida de 6 min. O volume de injeção foi de 10 µL e a detecção foi por fluorescência, com excitação de 296 nm e emissão de 390 nm.

Para quantificação dessas vitaminas, foram construídas curvas analíticas com concentrações de 6 a 500 ng.mL⁻¹ para a riboflavina (B2) e de 19,2 a 1600 ng.mL⁻¹ para a piridoxina (B6). Os padrões (riboflavina e cloridrato de piridoxina), foram preparados conforme descrito por Presoto e Almeida-Muradin (2008).

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados utilizando as curvas analíticas conforme descrito por Ertaş et al. (2007) e estão apresentados na Tabela 13, assim como a faixa de concentração e o coeficiente de correlação (R²).

4.6.2.4 Vitamina B5 (ácido pantotênico) e Vitamina B7 (biotina)

A determinação das vitaminas foi realizada segundo Abe-Matsumoto, Sampaio, Bastos (ABE-MATSUMOTO; SAMPAIO; BASTOS, 2016) com adaptações. Foi realizada uma extração ácida, seguida por reação enzimática. Foi pesado 1 g de amostra liofilizada e adicionados 10 mL de ácido clorídrico 0,1 N, sendo essa mistura mantida em banho maria (Dubnoff NT 232 – Novatecnica[®], Piracicaba, SP, Brasil) com agitação (100 °C por 30 minutos). Após, as amostras foram resfriadas e o pH foi ajustado para 4,0-4,5 com tampão fosfato de sódio pH 9,0 (21 g de fosfato de sódio bibásico em 1 litro de água Milli-Q[®]). Foi adicionado às amostras 0,5 g da enzima Taka-Diastase e colocado em banho maria sob agitação (47 °C por 4 horas). As amostras foram resfriadas e filtradas com papel filtro plissado para um balão volumétrico de 25 mL. O filtro foi lavado com tampão fosfato de sódio 0,05 M e o volume do balão completado com o mesmo tampão. Os extratos foram armazenados em frascos âmbar até o momento da análise no HPLC.

Foi utilizada uma coluna C18 ODS Phenomenex HyperCloneTM, 5µm, 120 Å, 250 × 4,6 mm, Allcrom[®] (São Paulo, SP, Brasil). A corrida isocrática teve como fase móvel o tampão fosfato de sódio pH 3,0 e acetonitrila, na proporção de 85:15 (v/v). Para este tampão foi pesado 6,9 g de fosfato de sódio monobásico em 1 litro de água Milli-Q[®], e quando necessário, ajustado com ácido ortofosfórico 85%. O fluxo da corrida foi de 0,6 mL.min⁻¹ a 27 °C e um tempo total de 15 minutos. O volume de injeção foi de 20 µL e a detecção foi por UV-visível, com absorção em 209 nm.

Para quantificação dessas vitaminas, foram construídas curvas analíticas com concentrações de 5 a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ dos padrões (ácido D-pantotênico hemicálcico e D-biotina). O padrão de ácido pantotênico (B5) foi diluído em solução tampão fosfato de sódio 0,05 M pH 3,0 e a biotina (B7) na mistura de solução tampão fosfato de sódio com acetonitrila 50:50 (v/v).

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados utilizando as curvas analíticas conforme descrito por Ertaş et al. (2007) e estão apresentados na Tabela 13, assim como a faixa de concentração e o coeficiente de correlação (R^2).

4.6.3 Vitamina C

A determinação da vitamina C foi baseada na metodologia proposta por Rosa et al. (2007) com modificações. Cada amostra de 2 g foi homogeneizada em um Ultra-Turrax[®] (T 25 digital, IKA, Staufen, Alemanha) com 20 mL de ácido sulfúrico suprapuro 0,05 M durante 1 min, centrifugada (Himac CR21 GIII, Hitachi Koki Co., Tóquio, Japão) a 25.400 g durante 15 min e, em seguida, filtrada através de uma unidade de filtro hidrofílico de teflon.

As amostras foram analisadas por CLAE utilizando um cromatógrafo Waters Alliance[®] (2695, Milford, MA, USA) equipado com um sistema solvente binário de bombeamento conectado a um detector de arranjo diodos (DAD 2996). Foi utilizada uma coluna polimérica C18 (250 mm \times 4,6 mm i.d., 5 μm). A fase móvel foi de ácido sulfúrico suprapuro 0,05 M, com fluxo de 1,0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. O volume de injeção foi de 10 μL e a detecção foi por UV-visível, comprimento de onda de 254 nm.

A vitamina C foi quantificada pela injeção do padrão de ácido ascórbico no dia da análise.

4.7 Minerais

Os teores de minerais foram determinados nas amostras liofilizadas por espectrometria de absorção atômica no Laboratório de Análises Inorgânicas da Fundação de Ciência e Tecnologia – CIENTEC, que é certificada pela ISO/IEC 17025/2005. Os seguintes elementos minerais foram quantificados Cálcio (Ca), Potássio (K), Sódio (Na), Magnésio (Mg), Ferro (Fe), Zinco (Zn), Manganês (Mn), Cobre (Cu), Fósforo (P) e Selênio (Se).

As amostras liofilizadas foram homogeneizadas em um multiprocessador. Para a digestão, aproximadamente 0,3 g foram pesadas em triplicata, adicionando-se 5 mL de água Milli-Q®, 5 mL de ácido nítrico P.A e 1 mL de peróxido de hidrogênio. As amostras foram aquecidas por 5 min à 90 °C, 10 min à 150 °C, 5 min à 200 °C e 10 min à 200 °C (potência 1000 W) e, após resfriadas, transferidas para um balão volumétrico de 25 mL.

Cu, Mn, K, Na, Ca, Mg, Fe e Zn foram determinados por espectrometria de emissão atômica com plasma por micro-ondas, com exceção do Zn nas amostras de Açaí Juçara; Arumbeva, Butiá da Serra 1 e 3 e Butiá da Praia 2 e 3 que foram determinados por espectrometria de absorção atômica com chama. O P foi determinado por absorciometria molecular (método amarelo de molibdovanadato) e o Se por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados e estão apresentados na Tabela 14, assim como a faixa de concentração e o coeficiente de correlação. Os LOD foram determinados pela CIENTEC, multiplicando-se pelo fator de diluição utilizado, levando em conta também o sinal do branco para Na e Zn). Os LOQ foram calculados em função dos LOD e dependiam da curva de calibração utilizada.

Tabela 14. Faixas de concentração, coeficiente de correlação (R^2), limites de detecção e limites de quantificação dos minerais

Mineral	Faixa de concentração	Coefficiente de correlação (R^2)	LOD	LOQ
Cálcio	0,10-1,5 mg.L ⁻¹	0,99980	0,3 (mg.Kg ⁻¹)	4 (mg.Kg ⁻¹)
Cobre	0,025-1,0 mg.L ⁻¹	0,99980	0,08 (mg.Kg ⁻¹)	0,8 (mg.Kg ⁻¹)
Ferro	0,025-1,0 mg.L ⁻¹	0,99980	0,2 (mg.Kg ⁻¹)	0,8 (mg.Kg ⁻¹)
Fósforo	1,0-10,0 mg.L ⁻¹	0,99980	0,014 (g.100g ⁻¹)	0,018 (g.100g ⁻¹)
Magnésio	0,10-1,5 mg.L ⁻¹	0,99980	0,3 (mg.Kg ⁻¹)	4 (mg.Kg ⁻¹)
Manganês	0,025-1,0 mg.L ⁻¹	0,99980	0,04 (mg.Kg ⁻¹)	0,8 (mg.Kg ⁻¹)
Potássio	0,10-1,5 mg.L ⁻¹	0,99980	0,02 (mg.Kg ⁻¹)	4 (mg.Kg ⁻¹)
Selênio	2,0-20,0 µg.L ⁻¹	0,99268	0,09 (mg.Kg ⁻¹)	0,25 (mg.Kg ⁻¹)
Sódio	0,10-1,5 mg.L ⁻¹	0,99980	0,1 (mg.Kg ⁻¹)	20 (mg.Kg ⁻¹)
Zinco	0,025-1,0 mg.L ⁻¹	0,99957	0,97 (mg.Kg ⁻¹)	3 (mg.Kg ⁻¹)

LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação.

4.8 Compostos Bioativos

4.8.1 Carotenoides

4.8.1.1 Extração

O extrato exaustivo de carotenoides foi preparado de acordo com Rodriguez-Amaya (2001), utilizando acetona como solução extratora dos pigmentos com homogeneização em Ultra-Turrax[®] (T 25 digital, IKA, Staufen, Alemanha). Após, foi realizado o particionamento com éter de petróleo e éter etílico e posteriormente saponificação com KOH 10% em metanol durante uma noite à temperatura ambiente. Após a remoção do álcali, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Q334.2, Quimis[®], Diadema, São Paulo, Brasil) ($T < 25\text{ }^{\circ}\text{C}$), seco em um fluxo de nitrogênio e armazenado em frascos âmbar no freezer ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) para posterior quantificação por CLAE. Para a análise, o extrato concentrado foi diluído em éter terc-metil-butílico (MTBE), colocado em ultrassom (Unique, modelo USC 1400A) por 15 minutos e filtrado em filtro PTFE (Millex LCR 0,45 μm , 13 mm) para posterior injeção no cromatógrafo.

4.8.1.2 Condições cromatográficas

As análises foram realizadas em um cromatógrafo Agilent[®] (série 1100, Santa Clara, CA, EUA), equipado com um sistema solvente quaternário de bombeamento (G1311A – DE14917573 Agilent 1100 Series, Waldbronn, Alemanha) e um detector UV-Visível (G1314B – DE71358944 Agilent 1200 Series, Waldbronn, Alemanha). A coluna usada foi de 250 mm \times 4,6 mm ID, 3 μm , de fase reversa C30 polimérica (YMC, modelo CT99SO3-2546WT). A fase móvel constitui um gradiente de eluição inicial de água:metanol:MTBE de 5:90:5, em 12 min a concentração foi para 0:95:5; em 25 min, 0:89:11, em 40 minutos foi para 0:75:25, e, finalmente, 00:50:50 em 60 min, com uma taxa de fluxo de $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ a $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ e volume de injeção de 5 μL . Os espectros foram obtidos em um comprimento de onda fixo de 450 nm para carotenoides.

4.8.1.3 Identificação e Quantificação

A identificação e quantificação foi efetuada por comparação dos tempos de retenção dos picos da amostra e seus respectivos padrões, sob as mesmas condições cromatográficas. Para a quantificação, foi construída uma curva padrão para carotenoides nas faixas mostradas na

Tabela 15. Os LOD e LOQ foram calculados utilizando as curvas analíticas conforme descrito por Ribani et al. (2004).

Tabela 15. Faixas de concentração, coeficiente de correlação (R^2), limites de detecção e limites de quantificação dos padrões de carotenoides e antocianinas

Composto Bioativo	Faixa de concentração	Coefficientes de correlação (R^2)	LOD	LOQ
Luteína ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	1-65	0,9993	1,76	5,33
Zeaxantina ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	1-40	0,9997	0,99	3,01
Criptoxantina ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	4-29	0,9978	1,85	5,62
α -caroteno ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	2-26	0,9998	0,41	1,24
β -caroteno ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	4-49	0,9934	5,41	16,40
Licopeno ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	10-100	0,9977	6,13	18,56
Cianidina-3-glicosídeo (mg.mL^{-1})	0.003-0.037	0,9987	$1,69 \times 10^{-1}$	$5,65 \times 10^{-1}$
Cianidina 3-rutinosídeo (mg.mL^{-1})	0.001-0.025	0,9919	$9,55 \times 10^{-1}$	$9,67 \times 10^{-1}$
Cianidina-3,5-diglicosídeo (mg.mL^{-1})	16-84	0,9983	$2,05 \times 10^{-1}$	$3,5 \times 10^{-1}$
Delfinidina-3 β -glicosídeo (mg.mL^{-1})	5-100	0,9944	$1,16 \times 10^{-1}$	$1,93 \times 10^{-1}$
Pelargonidina-3-glicosídeo (mg.mL^{-1})	5-50	0,9923	$2,35 \times 10^{-3}$	$7,85 \times 10^{-2}$
Pelargonidina-3,5-diglicosídeo (mg.mL^{-1})	40-100	0,9937	$2,37 \times 10^{-4}$	$7,9 \times 10^{-4}$

LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação.

4.8.1.4 HPLC-DAD-MS/MS

A confirmação dos carotenoides identificados no Butiá da Praia foi realizada na análise por HPLC-DAD-MS/MS nas mesmas condições descritas por Rodrigues et al. (2013) com algumas modificações. Os compostos foram separados em uma coluna polimérica C30 de fase reversa YMC ($5 \mu\text{m}$, $250 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm}$, Waters, Wilmington, Estados Unidos), com vazão de $0,9 \text{ mL.min}^{-1}$, volume de injeção de $20 \mu\text{L}$ e forno temperatura a $29 \text{ }^\circ\text{C}$. Utilizou-se um gradiente linear a partir da mistura de metanol-MTBE 95:5 (v/v) como fase móvel, atingindo 70:30 ao longo de 30 min, seguido de 50:50 ao longo de 20 min e mantendo essa proporção por 10 min. Aos 62 minutos, a condição inicial foi restabelecida e permaneceu por mais 5 minutos. Os espectros foram medidos entre 200 e 600 nm e os cromatogramas foram processados a 450 nm.

O eluato da coluna foi injetado diretamente em uma fonte de ionização química por pressão atmosférica (APCI), e os parâmetros do espectrômetro de massa seguiram as mesmas condições descritas anteriormente por de Rosso e Mercadante (2007). Os parâmetros do espectrômetro de massa foram definidos da seguinte forma: modo positivo, corona atual 4.000 nA, temperatura da fonte a $450 \text{ }^\circ\text{C}$, gás N_2 (White Martins SA, Porto Alegre, Brasil), grau

cromatográfico) com temperatura de 350 °C e vazão de 4 L.min⁻¹, nebulizador a 60 psi. Os experimentos MS/MS foram realizados no modo automático, com energia de fragmentação de 1,4 V. Os espectros de massa foram adquiridos com faixa de varredura de m/z de 100 a 2.200.

Os carotenoides foram identificados com base na ordem de eluição, características espectrais UV-Vis [comprimento de onda de absorção máxima (λ_{max}), estrutura fina espectral (% III/II) e intensidade *cis* máxima (% AB/AII)] e características do espectro de espectrometria de massa. Esses parâmetros foram comparados aos padrões analisados nas mesmas condições e dados disponíveis na literatura e foram utilizados como parâmetros para a identificação. Os cromatogramas foram processados a 450 nm.

Para esta análise, foi utilizado um cromatógrafo (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com duas bombas (Shimadzu LC-20AD), um degaseificador on-line (Shimadzu DGU-20A3R), forno de coluna (Shimadzu CTO-20A), detector de matriz de diodos (Shimadzu SPD-M20A) conectado em série a um espectrômetro de massa com uma fonte de ionização química por pressão atmosférica (APCI) e um analisador de captura de íons (modelo micrOTOF-QIII, Esquire 4000, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha).

4.8.2 Antocianinas

4.8.2.1 Extração

As antocianinas foram extraídas seguindo a metodologia proposta por Zanatta et al. (2005), utilizando 0,5 g da amostra liofilizada diluídas com metanol acidificado (1% HCl) e homogeneizadas em Ultra-Turrax[®] (T 25 digital, IKA, Staufen, Alemanha). A extração foi repetida, exaustivamente, até as amostras não apresentarem mais cor. Após, a solução foi filtrada à vácuo. O extrato de antocianinas foi filtrado em filtro PTFE (Millex LCR 0,45 μ m, 13 mm) para posterior injeção no cromatógrafo. O extrato bruto de antocianinas foi armazenado em frascos âmbar e em freezer sob atmosfera de nitrogênio até o momento das análises, que ocorreram no mesmo dia da extração.

4.8.2.2 Condições cromatográficas

As antocianinas foram analisadas seguindo metodologia proposta por Zanatta et al. (2005), por cromatógrafo Agilent[®] (série 1100, Santa Clara, Estados Unidos) equipado com um

sistema de bomba quaternária (G1311A – DE14917573 Agilent 1100 Series, Waldbronn, Alemanha) e um detector UV-visível (G1314B – DE71358944 Agilent 1200 Series, Waldbronn, Alemanha). Os pigmentos foram separados em uma coluna de fase reversa C18 Shim-pak CLC-ODS (5 µm, 250 × 4,6 mm). A fase móvel constituiu um gradiente de eluição linear de ácido fosfórico 4% e acetonitrila na proporção de 85:15 (v/v) a 20:80 no decorrer de 30 minutos. O fluxo da fase móvel foi de 0,2 mL.min⁻¹, o volume de injeção foi de 5 µL e a temperatura da coluna mantida à 29 °C. Os cromatogramas foram processados a 520 nm.

4.8.2.3 Identificação e Quantificação

A identificação e quantificação foi efetuada por comparação dos tempos de retenção dos picos da amostra e seus respectivos padrões, sob as mesmas condições cromatográficas. Para a quantificação, foi construída uma curva padrão nas faixas mostradas na Tabela 15.

4.8.3 Compostos Fenólicos

Para a identificação dos compostos fenólicos foram escolhidas três frutas em que, no momento da pesquisa, possuíam menos informações nas bases de dados científicas pesquisadas. As espécies analisadas foram o Butiá da Praia, o Butiá da Serra e a Arumbeva. Os compostos fenólicos das espécies selecionadas foram identificados e quantificados, inicialmente, nas frutas de origem (Arumbeva, Butiá da Praia e Butiá da Serra) e, após, em extratos hidroetanólicos formulados com essas frutas.

4.8.3.1 Extração

A extração dos compostos não antociânicos seguiu a metodologia descrita por Rodrigues et al. (2013), com modificações. Foi feita uma extração exaustiva por 2 minutos no Ultra-Turrax® (T 25 digital, IKA, Staufen, Alemanha) adicionando-se 20 mL de uma mistura de metanol com água destilada (80:20%; v/v) à 0,5 g da amostra liofilizada à temperatura ambiente (22±3 °C). Após, o extrato foi centrifugado (Himac CR21 GIII, Hitachi Koki Co., Tóquio, Japão) a 10.000 g durante 10 minutos a 20 °C e o sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico âmbar. Esse procedimento foi realizado em triplicata e repetido quatro vezes (extração exaustiva, conforme testes prévios com o reagente Folin-Ciocateu). Os sobrenadantes foram combinados obtendo-se um volume final de 80 mL (extrato de compostos fenólicos).

Para a quantificação, os extratos foram rotaevaporados (Q334.2, Quimis[®], Diadema, São Paulo, Brasil) e avolumados com a fase móvel A não antociânica (água Milli-Q[®] e ácido fórmico, na proporção de 99,5: 0,5%, v/v) para 25 mL em balão volumétrico.

A ausência de compostos fenólicos no sobrenadante será verificada previamente utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, seguindo a metodologia proposta por Borbalán et al. (2003) e Castagna et al. (2014), com modificações. Foram adicionados 1375 µL do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Chemical[®], St. Louis, EUA) preparado (375 mL de água para 37,5 mL do reagente) à 25 µL da amostra, que reagiram por 8 minutos. Em seguida, foram adicionados 600 µL de água destilada e 500 µL de carbonato de sódio a 20%. A solução foi homogeneizada e deixada em repouso durante 30 min ao abrigo da luz. A absorbância foi lida a 750 nm à temperatura ambiente no espectrofotômetro (Shimadzu UV-Vis 1800/08302).

4.8.3.2 Purificação

Os extratos foram purificados conforme descrito por Rodriguez-Saona & Wrolstad (2001), com modificações. Os cartuchos de extração em fase sólida (SPE) C18 (Strata, Phenomenex, Torrance, CA) foram previamente condicionados com metanol e água acidificada com HCl 0,01% e, após, o cartucho foi carregado com a amostra. Os compostos polares foram eluídos com dois volumes de solução aquosa com HCl 0,01%. Os compostos fenólicos não-antociânicos foram eluídos usando acetato de etila e os antociânicos com metanol acidificado (com HCl 0,01%). Os extratos foram concentrados em rotaevaporador rotativo (36 °C), e as amostras foram reconstituídas em 1 mL da fase móvel A não antociânica (água Milli-Q[®] e ácido fórmico, na proporção de 99,5: 0,5%, v/v). Após, as amostras foram filtradas por membranas Millipore 0,45µm (Millex LCR 0,45 µm, 13 mm) e imediatamente injetadas no aparelho HPLC-DAD-MS/MS.

4.8.2.3 Condições cromatográficas e HPLC-DAD-MS/MS

A identificação dos compostos fenólicos foi realizada em cromatógrafo (Shimadzu[®], Quioto, Japão), equipado com duas bombas (Shimadzu LC-20AD), um desgaseificador (Shimadzu DGU-20A) e forno de coluna (Shimadzu CTO-20A), conectado em série a um detector de arranjo de diodos (Shimadzu SPD-20A) e conectado a um espectrofotômetro de massas (MS) com analisador quadrupolo por tempo de voo (Q-Tof) e fonte de ionização por eletrospray (ESI) (Bruker Daltonics, modelo micrOTOF-QIII, Bremen, Alemanha). A coluna

utilizada foi a C18 Phenomenex Synergi™, 250 × 4,6 mm, 4µm (Allcrom®, São Paulo, Brasil).

Para os compostos não-antociânicos a fase móvel A foi constituída por uma mistura de água Milli-Q® e ácido fórmico (99,5:0,5%, v/v) e a fase móvel B por uma mistura de acetonitrila e ácido fórmico, nas mesmas proporções (99,5:0,5%, v/v), em um gradiente linear de 99:1 (v/v) fase móvel A/B para 50:50 (v/v) A/B por 50 minutos, e então 50:50 (v/v) A/B para 1:99 (v/v) A/B por 5 minutos. Essa razão foi mantida por mais 5 minutos. A taxa de fluxo da corrida foi de 0,7 mL.min⁻¹ a 29 °C e o volume de injeção de 5 µL.

Os espectros UV-Vis foram obtidos entre 200 e 600 nm, e os cromatogramas processados a 280, 320 e 360 nm. Os espectros de massas foram adquiridos com uma varredura de *m/z* 100 a 1000. Os parâmetros de MS foram definidos da seguinte forma: fonte de ESI em modo negativo; tensão capilar, 3000 V; temperatura do dry gas (N₂), 310 °C; taxa de fluxo, 8 L.min⁻¹; gás de nebulização, 30 psi. MS/MS configurado no modo automático.

Os compostos fenólicos foram identificados com base na ordem de eluição e no tempo de retenção na coluna; características do espectro UV-Vis e de MS em comparação com padrões analisados nas mesmas condições e; dados disponíveis na literatura. Além disso, os compostos foram quantificados por HPLC-DAD-MS/MS, utilizando uma curva analítica de sete pontos, conforme Tabela 16. LOD e LOQ foram calculados conforme descrito por Ribani et al. (2004).

Tabela 16. Faixas de concentração, coeficiente de correlação (R²), limites de detecção e limites de quantificação dos padrões de compostos fenólicos

Composto Fenólico	Faixa de concentração (mg.L ⁻¹)	Coefficiente de correlação (R ²)	LOD (mg.L ⁻¹)	LOQ (mg.L ⁻¹)
Ácido caféico	0.36 – 12.02	0.9961	0.97	2.94
Ácido clorogênico	0.74 – 24.00	0.9960	0.77	2.34
Ácido cumárico	0.05 – 12.00	0.9935	0.28	0.86
Ácido elágico	0.05 – 12.00	0.9925	0.55	1.67
Ácido ferúlico	0.05 – 12.00	0.9940	0.85	2.56
Ácido gálico	0.75 – 24.00	0.9963	0.62	1.87
Ácido hidroxibenzóico	0.75 – 22.71	0.9952	2.21	6.71
Catequina	0.70 – 69.00	0.9905	1.50	4.53
Galato de Epigallocatequina	0.10 – 69.00	0.9964	0.09	0.26
Kampferol	0.05 – 12.00	0.9925	0.03	0.11
Luteolina	0.10 – 50.00	0.9931	0.34	1.04
Miricetina	0.28 – 50.05	0.9938	1.23	3.71
Quercetina	0.40 – 50.00	0.9942	0.71	2.15
Quercetina 3-glicosídeo	0.11 – 51.98	0.9997	0.07	0.20

Composto Fenólico	Faixa de concentração (mg.L ⁻¹)	Coefficiente de correlação (R ²)	LOD (mg.L ⁻¹)	LOQ (mg.L ⁻¹)
Resveratrol	0.70 – 50.00	0.9969	1.94	5.89
Rutina	0.11 – 15.99	0.9931	0.18	0.54

LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação.

Baseando-se na identificação dos compostos fenólicos das frutas, os mesmos foram quantificados nos extratos hidroetanólicos. Para isso, 0,0400 g do extrato liofilizado foi pesado em microtubos e suspenso em 2 mL de água Milli-Q. Os extratos foram homogeneizados com vórtex (Multifunctional vortex K40-1020, Kasvi) por 1 min e colocados em ultrassom (Unique, modelo USC 1400A) por 2 min. Em seguida, os extratos foram centrifugados (Hettich® MIKRO 200R, Alemanha) a 25.000 g durante 5 min, retirando-se o sobrenadante. Esse processo foi repetido com o sobrenadante para, após, se obter o extrato com concentração final de 20.000 mg.L⁻¹. As amostras foram filtradas em membranas PTFE Millipore 0,45µm (Millex LCR 0,45 µm, 13 mm) e imediatamente injetadas no aparelho HPLC-DAD-MS/MS.

4.9 Extratos hidroetanólicos

A formulação de um extrato utilizando água e etanol como solução extratora foi escolhida por apresentar boa eficiência na extração de compostos fenólicos, além de possibilitar futuras aplicações destes extratos em produtos alimentícios e/ou farmacêuticos. O uso do etanol como solvente é uma boa alternativa, já que a extração usual de compostos bioativos envolve solventes orgânicos com alta toxicidade (como metanol e acetona, por exemplo) e não necessitaria de etapas complexas de purificação. Além disso, tem como vantagem o baixo custo e é considerado ecológico devido à sua baixa toxicidade (BLIDI et al., 2015; TORMA et al., 2017).

Para a formulação de extratos hidroetanólicos foram selecionadas espécies que se destacaram quanto aos resultados obtidos na análise da capacidade antioxidante, pelo ensaio ABTS e, além disso, após revisão da literatura, aquelas que possuíam menos informações nas bases de dados científicas. Assim, três espécies foram incluídas: a Arumbeva (*Opuntia elata* Salm-Dyck), o Butiá da Praia (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi) e o Butiá da Serra (*Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc).

O extrato hidroetanólico foi obtido de forma exaustiva. Para a formulação dos extratos, foi seguido o método utilizado por Rockenbach et al. (2008), com modificações. Foram adicionados 20 mL da solução extratora (etanol P.A em água a 50%) à amostra liofilizada (0,5

g) e a mistura foi homogeneizada em Ultra-Turrax[®] (T 25 digital, IKA, Staufen, Alemanha) por 2 minutos. A concentração escolhida baseou-se no estudo de Torma et al. (2017) que avaliou a capacidade antioxidante e os efeitos neuroprotetores de extratos hidroetanólicos de Açai (*Euterpe oleracea*). Após, o extrato foi centrifugado (4K15, Sigma Laborzentrifugen GmbH, Osterode am Harz, Alemanha) a 3.000 g por 5 minutos a 20 °C e o sobrenadante foi armazenado em frasco âmbar. O processo foi repetido 4 vezes e os sobrenadantes combinados para obtenção do volume total de 80 mL. O extrato foi concentrado em rotaevaporador (Q334.2, Quimis[®], Diadema, São Paulo, Brasil) para remoção do etanol, congelado a -80 °C e, após, liofilizado (L101, Liotop[®], São Carlos, SP, Brasil). A ausência de compostos fenólicos no sobrenadante foi verificada previamente utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, seguindo a metodologia proposta por Borbalán et al. (2003) e Castagna et al. (2014), com modificações. Foram adicionados 1375 µL do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Chemical[®], St. Louis, EUA) preparado (375 mL de água para 37,5 mL do reagente) à 25 µL da amostra, que reagiram por 8 minutos. Em seguida, foram adicionados 600 µL de água destilada e 500 µL de carbonato de sódio a 20%. A solução foi homogeneizada e deixada em repouso durante 30 min ao abrigo da luz. A absorbância foi lida a 750 nm à temperatura ambiente no espectrofotômetro (Shimadzu UV-Vis 1800/08302).

4.10 Capacidade Antioxidante

4.10.1 Métodos *in vitro*

4.10.1.1 Ensaio ABTS

A determinação da capacidade antioxidante total das espécies foi feita pela captura do radical livre [2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico)] (ABTS) segundo a metodologia utilizada por Rufino et al. (2007). O ensaio foi feito com a fruta liofilizada e com o extrato hidroetanólico descrito no item 4.9.

Para a extração na fruta, 1 g da amostra liofilizada foi homogeneizada em Ultra-Turrax[®] (T 25 digital, IKA, Staufen, Alemanha) com 20 mL de metanol 50%, deixando a mistura em repouso por 60 minutos em ambiente escuro. Após, o extrato foi centrifugado (Himac CR21 GIII, Hitachi Koki Co., Tóquio, Japão) a 25.400 g por 15 minutos e o sobrenadante foi

armazenado em balão volumétrico âmbar de 50 mL. Esse processo foi repetido com acetona 70% substituindo o metanol e, ao final, o extrato foi avolumado para 50 mL com água destilada.

A partir do extrato obtido foram preparados tubos de ensaio, com no mínimo, três diluições diferentes, em triplicata. Em ambiente escuro, foi transferido uma alíquota de 100 µL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 1,0 mL do radical ABTS^{•+}, os tubos foram homogeneizados em agitador e foi realizada a leitura a 734 nm em espectrofotômetro (Shimadzu[®] UV-1800A), após 6 minutos da mistura. Os resultados foram expressos como µM.g⁻¹ de Trolox.

Com os extratos hidroetanólicos liofilizados, foram preparadas soluções estoque e, a partir delas, três diluições foram feitas para cada espécie, em triplicata. Para as soluções estoque, os extratos foram pesados (0,0400 g para os Butiás e 0,0800 g para a Arumbeva) em microtubos de centrifugação e diluídos com 2 mL de água Milli-Q. Os extratos foram homogeneizados com vórtex (Multifunctional vortex K40-1020, Kasvi) por 1 min e colocados em ultrassom (Unique, modelo USC 1400A) por 2 min. Após, os extratos foram centrifugados (Hettich[®] MIKRO 200R, Alemanha) a 25.000 g durante 5 min, retirando-se o sobrenadante. Esse processo foi repetido com o sobrenadante. Foram obtidas soluções com concentração final de 20.000 mg.L⁻¹ para os Butiás e 40.000 mg.L⁻¹ para a Arumbeva.

Foram preparados tubos de ensaio, com no mínimo, três diluições diferentes (a partir das estoques, pontos de 20.000, 10.000 e 5.000 mg.L⁻¹ para os Butiás e de 40.000, 30.000 e 20.000 mg.L⁻¹ para a Arumbeva), em triplicata. Em ambiente escuro, uma alíquota de 30 µL de cada diluição do extrato foi transferida para tubos de ensaio com 3,0 mL do radical ABTS^{•+}, os tubos foram homogeneizados em agitador e foi realizada a leitura a 734 nm em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1800) após 6 minutos da mistura. Os resultados foram expressos como µM.g⁻¹ de Trolox.

4.10.1.2 Ensaio da Glutathiona (GSH)

A capacidade de proteção dos extratos hidroetanólicos foi testada contra a oxidação da GSH na presença de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) pela quantificação do desaparecimento dos grupos sulfidril (-SH) da GSH. Nos tubos de ensaio foram adicionados 100 µL de água destilada, 100 µL de H₂O₂ (5 mM), 120 µL tampão fosfato de potássio pH 6,8 (1 mM), 100 µL

de GSH (6 mM) e diferentes concentrações dos extratos hidroetanólicos (concentrações finais no meio de 200, 300 e 400 mg.L⁻¹ para a Arumbeva e 50, 100 e 200 mg.L⁻¹ para os Butiás).

Os tubos de ensaio foram homogeneizados com vórtex (Multifunctional vortex K40-1020, Kasvi) e incubados ao abrigo da luz e à temperatura ambiente por 60 minutos. Após o término da incubação, 100 µL dessa solução incubada foram adicionados em um tubo com 2 mL de 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico) (DTNB 0,01 mM). A mistura foi agitada em vórtex e a intensidade da coloração amarela foi avaliada por espectrofotômetro a 412 nm (ELLMAN, 1959). Os resultados foram calculados a partir de 4 replicatas.

4.10.1.3 Ensaio da Desoxirribose

A capacidade dos extratos hidroetanólicos em remover o radical hidroxil ($\cdot\text{OH}$) formado a partir da reação de Fenton foi avaliada também pelo método da degradação da desoxirribose, segundo metodologia descrita por Halliwell, Gutteridge e Aruoma (1987). O radical $\cdot\text{OH}$ gerado pela reação do cloreto férrico (FeCl_3) e do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) na presença de ácido ascórbico, forma $\text{Fe}^{2+}\text{EDTA}$ que, por sua vez, reage com H_2O_2 para formar $\text{Fe}^{3+}\text{EDTA}$ e $\cdot\text{OH}$ através da reação de Fenton. O radical $\cdot\text{OH}$, após formado, reage com o 2-desoxirribose formando malondialdeído, que sob aquecimento com o ácido tiobarbitúrico (TBA) apresenta uma coloração rosa que é quantificável por espectrofotometria a 532 nm. Portanto, substâncias antioxidantes que forem adicionadas podem competir com 2-desoxirribose pelo $\cdot\text{OH}$ reduzindo a formação da coloração rosa.

Em tubos de ensaio foram adicionados tampão fosfato de potássio pH 7,4 (50 mM), 100 µL de FeCl_3 (1 mM), 100 µL de EDTA (1 mM), 100 µL de água destilada, 100 µL da 2-desoxirribose (60 mM) e diferentes concentrações dos extratos hidroetanólicos (concentrações finais no meio de 200, 300 e 400 mg.L⁻¹ para a Arumbeva e 50, 100 e 200 mg.L⁻¹ para os Butiás). Após, foram adicionados 100 µL de ácido ascórbico (2 mM) e 100 µL de H_2O_2 (10 mM). Os tubos de ensaio foram mantidos em aquecimento no banho maria (De Leo B45 Digital, Porto Alegre, RS, Brasil) a 37 °C por 1 h para ocorrer a reação. Após, 1 mL de TBA e 1 mL de ácido clorídrico (25%) foram adicionados aos tubos, e foram mantidos sob aquecimento em banho maria (Dubnoff NT 232 – Novatecnica[®], Piracicaba, SP, Brasil) a 100 °C por 15 min. Após esse período, foram resfriados à temperatura ambiente e a absorbância foi medida a 532 nm. Os resultados foram calculados utilizando a fórmula a seguir:

$$\text{Geração de } \cdot\text{OH} = A1 - A2 \times 100 \div A0$$

Onde $A0$ é a absorbância na ausência de extrato e presença da desoxirribose; $A1$ é a absorbância na presença de extrato e presença da desoxirribose e $A2$ é a absorbância na presença de extrato e ausência da desoxirribose (branco da amostra).

4.10.1.4 Ensaio Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)

A capacidade antioxidante foi determinada de acordo com a metodologia de Huang et al. (2005), com adaptações. Este método verifica a capacidade sequestradora de um antioxidante frente a um radical peroxila ($\text{ROO}\cdot$) produzido pela decomposição térmica do AAPH a 37 °C. O método ORAC é diferenciado por ser conduzido em condições próximas às fisiológicas (temperatura 37 °C e pH 7,4) e com um radical livre que ocorre naturalmente nos alimentos (peroxila). Em cada poço de microplaca foram adicionados 25 uL dos extratos previamente diluídos em tampão fosfato de potássio 75 mM (pH 7,4) e 150 uL da solução de trabalho de fluoresceína (81 nM). A placa (SPL Life Science, Gyeonggi-do, Coréia) foi incubada por 10 min a 37 °C, sendo os últimos 3 min sob agitação constante. Após, foram adicionados 25 uL da solução de AAPH (152 mM). Para o monitoramento do decaimento da fluorescência foi utilizado um leitor de fluorescência (Enspire 2300, Multimode Plate Reader, Perkin Elmer, USA) a 37 °C por 90 min ou até atingir menos de 0,5% do valor inicial. Foram usados comprimentos de onda de excitação e emissão de 485 nm e 528 nm, respectivamente (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

Após, foi calculada a área sob a curva (AUC) e o valor do branco (sem antioxidante) foi subtraído para se obter a AUC líquida. A AUC é dada pela seguinte fórmula:

$$AUC = 1 + \frac{f1}{f0} + \frac{f2}{f0} + \frac{f3}{f0} + \dots + \frac{fn}{f0}$$

Onde fn é a fluorescência relativa em um ciclo de leitura (1 min) e $f0$ a fluorescência no tempo zero.

Foi confeccionada uma curva padrão com Trolox (8 - 96 μM) e os resultados foram expressos como μmol de equivalente ao Trolox por g de extrato seco da fruta ($\mu\text{mol TE g}^{-1}$ extrato seco).

4.10.2 Método *in vivo*

4.10.2.1 Experimento *in vivo* com *Caenorhabditis elegans*

As cepas de *C. elegans* N2 (tipo selvagem) e emissoras de fluorescência (TJ356 DAF-16:GFP), foram obtidas do Centro Genético *Caenorhabditis* (Twin Cities, Minnesota, Estados Unidos). A cultura foi mantida a 20 °C em placas contendo *Escherichia coli* OP50 (substrato) em meio de crescimento de nemátodos (NGM) (60 × 10 mm), conforme metodologia de Brenner (1974).

Para o processo de sincronização, uma população de L1 (primeiro estágio larval) foi obtida pelo isolamento de embriões de hermafroditas grávidos usando uma solução de branqueamento (NaCl a 1% e NaOH a 0,25 M) e uma solução de sacarose a 30% para separar os ovos por flotação. Os ovos foram lavados com solução tampão M9 (KH₂PO₄ 0,02 M, Na₂HPO₄ 0,04 M, NaCl 0,08 M e MgSO₄ 0,001 M) e incubados durante a noite (12h) em placas de ágar NGM estéreis, como descrito anteriormente por Avila et al. (2012).

Para avaliação do estresse oxidativo, os nematoides foram expostos aos extratos em diferentes concentrações por 30 min à 20 °C. Em seguida, foram submetidos a determinação da taxa de sobrevivência, seguindo as metodologias descritas por Avila et al. (2012) e geração de ROS conforme metodologia descrita por Charão et al. (2015). Todos os resultados foram expressos em % do grupo controle.

Para a determinação da taxa de sobrevivência, 2.500 nematoides foram expostos aos extratos e colocados em placas contendo meio NGM semeadas com *E. Coli* OP50 (60 mm × 10 mm). Após 24 horas, com auxílio de lupa, foi verificado o número de *C. elegans* sobreviventes. A geração de ROS foi avaliada utilizando 1.500 nematoides e as condições descritas anteriormente. Ao final da exposição, os *C. elegans* foram lavados e suspensos em 100 µL de solução NaCl (0.9 %), adicionando-se em seguida o DCFH-DA (2'-7'- diacetato diclorofluoresceína). O composto fluorescente formado a partir da oxidação do DCFH-DA pela ação das ROS (DCF), foi quantificado em leitor de microplacas (Enspire 2300, Multimode Plate Reader, Perkin Elmer, USA) a 485 nm de excitação e 530 nm de emissão.

4.11 Acurácia dos Métodos Analíticos

O material de referência certificado *Baby Food Composition* (NIST 2383a) foi adquirido do *National Institute of Standards and Technology*[®] (NIST) (Gaithersburg, Estados Unidos).

Esse tipo de material serviu como base para verificar a exatidão de algumas medições analíticas, objetivando garantir a sua confiabilidade. Os materiais de referência geralmente são caracterizados baseados na exatidão de todo o processo experimental e, dessa forma, o valor certificado da propriedade representa a melhor estimativa do valor verdadeiro (CARDOSO et al., 2010). Considerando que não existiam materiais para todas as análises químicas realizadas e que os alimentos são considerados matrizes complexas, optou-se pelo material mais semelhante à amostra, devido a composição da “comida de bebê” ser uma mistura de frutas, legumes, macarrão, farinha de arroz e leite em pó.

Os métodos analíticos foram avaliados quanto aos parâmetros de validação de Exatidão e Precisão (ICH, 1996; INMETRO, 2007). Avaliou-se a exatidão (acurácia) em 3 replicatas do material de referência certificado composição centesimal e carotenoides. O valor obtido estava dentro da faixa de variação aceitável para os analitos. A precisão (coeficiente de variação) avaliou a repetibilidade pela análise de 3 replicatas do material de referência certificado. Ambos os parâmetros foram calculados com base nas mesmas análises. A Tabela 17 apresenta a faixa de valores certificado aceitáveis para o material de referência e os resultados obtidos nas análises.

Tabela 17. Comparação dos valores obtidos nas análises e certificados do material de referência certificado (MRC) *Baby Food Composition*.

Análise	Análise do MRC			Valores certificados MRC		
	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação	Média	Mínimo	Máximo
Umidade (g.100g ⁻¹)	78,79	0,14	0,18	77,55	75,51	79,59
Cinzas (g.100g ⁻¹)	0,73	0,02	3,17	0,71	0,642	0,768
Proteínas (g.100g ⁻¹)	1,91	0,04	2,28	1,96	1,78	2,14
Fibra dietética total (g.100g ⁻¹)	0,89	0,005	0,55	1,00	0,34	1,66
Carboidratos	17,69	-	-	19,42	17,32	21,52
Luteína (mcg.100g ⁻¹)	41,18	3,05	7	89	29	149
Zeaxantina (mcg.100g ⁻¹)	67,00	14,65	22	67	34	100
Criptoxantina (mcg.100g ⁻¹)	92,25	3,73	4	96	0	279
α-caroteno (mcg.100g ⁻¹)	73,44	3,00	4	82	31	133
β-caroteno (mcg.100g ⁻¹)	351,61	17,59	5	347	197	497

Resultados expressos em base úmida. MRC: material de referência certificado; ND: não detectado. Carboidratos foram calculados por diferença: $100 - \text{umidade} - \text{cinzas} - \text{proteína} - \text{lipídeo} - \text{fibra total}$.

Todos os valores estavam dentro dos limites máximo e mínimo estipulados pelo material de referência, indicando a precisão dos métodos analíticos e a confiabilidade dos resultados obtidos.

Para as vitaminas, a exatidão, que representa o grau de concordância entre os resultados

encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro, foi verificada por ensaio de recuperação e por adição padrão (RIBANI et al., 2004). A recuperação é definida como a proporção da quantidade da substância de interesse, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada (RIBANI et al., 2004). As medições foram expressas em termos de porcentagem da quantidade medida da substância em relação à quantidade adicionada na matriz e em comparação com o teor encontrado no rótulo de determinado material, em nove determinações envolvendo três diferentes níveis de concentração.

Tabela 18. Resultados dos ensaios de recuperação e adição padrão para as vitaminas analisadas.

Vitamina	Material analisado	% Recuperação do padrão	% Recuperação conforme rótulo
Tiamina (B1)	Aveia Quaker®	96	91,1
Riboflavina (B2)	Aveia Quaker®	101	90,4
Niacina (B3)	Aveia Quaker®	95	81,8
Ácido pantotênico (B5)	Ninho®	97	70,8
Piridoxina (B6)	Arrozina Maizena®	114	84,2
Biotina (B7)	Arrozina Maizena®	75	119

Os intervalos aceitáveis de recuperação para análise geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Assim, os valores encontrados estão de acordo com o aceitável.

4.12 Análise Estatística

Os parâmetros físico-químicos, composição centesimal, minerais, vitaminas, quantificação dos teores de compostos bioativos, assim como capacidade antioxidante nas diferentes espécies foram avaliados em triplicata e os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão. A análise estatística foi realizada utilizando a análise de variância ANOVA, com teste de comparação das médias pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância; assim, em todos os casos foram consideradas diferenças significativas quando $p \leq 0,05$. Adicionalmente, foram realizadas análises de componentes principais (ACP). As análises estatísticas foram realizadas utilizando os softwares GraphPad Prism® 10.0 (La Jolla, CA, EUA) para análise de *C. elegans*, OriginPro® 8.0 (Northampton, MA, EUA) para o teste ORAC e Statistica 12.0 (Statsoft Inc., Tulsa, USA) para as demais comparações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE-MATSUMOTO, Lucile Tiemi; SAMPAIO, Geni Rodrigues; BASTOS, Deborah Helena Markowicz. Validation and application of chromatographic methods for determination of vitamins in supplements. [s. l.], p. 1–14, 2016.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists. Official methods of Analysis.** 19th. ed. [s.l: s.n.].

ARENAS, Pastor; LACOUR, Josefina. **Etnobotánica Lengua-Maskoy.** Buenos Aires: Fundación para La Educación, La Ciencia y La Cultura, 1981.

AVILA, Daiana Silva et al. Organotellurium and organoselenium compounds attenuate Mn-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans* by preventing oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 52, n. 9, p. 1903–1910, 2012.

BERNACCI, Luís C.; VITTA, Fábio A. Passifloraceae. In: WANDERLEY, Maria das Graças Lapa et al. (Eds.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo.** São Paulo: RiMa, 2003. v. 3p. 251–252.

BICUDO, Milene Oliveira Pereira; RIBANI, Rosemary Hoffmann; BETA, Trust. Anthocyanins, Phenolic Acids and Antioxidant Properties of Juçara Fruits (*Euterpe edulis* M.) Along the On-tree Ripening Process. **Plant Foods for Human Nutrition**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 142–147, 2014.

BLIDI, Slim et al. A Comparative Evaluation of Bio-solvents for the Efficient Extraction of Polyphenolic Phytochemicals: Apple Waste Peels as a Case Study. **Waste and Biomass Valorization**, [s. l.], v. 6, p. 1125–1133, 2015.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, [s. l.], v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959.

BORBALÁN, Ángeles M. Alonso et al. Study of the polyphenol content of red and white grape varieties by liquid chromatography-mass spectrometry and its relationship to antioxidant power. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1012, n. 1, p. 31–38, 2003.

BRENNER, S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. **Genetics**, [s. l.], v. 77, p. 71–94, 1974.

CARDOSO, Maria Helena Wohlers Morelli et al. Preparação de um material de referência certificado para controle de agrotóxicos em hortifrutigranjeiros: Estudo da estabilidade. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 439–446, 2010.

CASTAGNA, Antonella et al. Effect of Post-harvest UV-B Irradiation on Polyphenol Profile and Antioxidant Activity in Flesh and Peel of Tomato Fruits. **Food and Bioprocess Technology**, [s. l.], v. 7, n. 8, p. 2241–2250, 2014.

CHARÃO, Mariele Feiffer et al. *Caenorhabditis elegans* as an alternative in vivo model to determine oral uptake, nanotoxicity, and efficacy of melatonin-loaded lipid-core nanocapsules

on paraquat damage. **International Journal of Nanomedicine**, [s. l.], v. 10, p. 5093–5106, 2015.

CHITARRA, Maria Isabel Fernandes; CHITARRA, Adimilson Bosco. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2a. ed. [s.l.] : Editora UFLA, 2005.

CORADIN, Lidio; SIMINSKI, Alexandre; REIS, Ademir. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas pra o futuro**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2011.

DA SILVA, Nathalia Azevedo et al. Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 62, n. 22, p. 5072–5084, 2014.

DA SILVA, Priscila Albertasse Dutra; SCARIOT, Aldicir. Phenology, biometric parameters and productivity of fruits of the palm *Butia capitata* (Mart.) Beccari in the Brazilian cerrado in the north of the state of Minas Gerais. **Acta Botanica Brasilica**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 580–589, 2013.

DAL MAGRO, Naissara Gris et al. Comparação físico-química de frutos congelados de *Butia eriospatha* (Mart.) Becc. do Paraná e Santa Catarina - Brasil. **Revista Varia Scientia**, [s. l.], v. 06, n. 11, p. 33–42, 2006.

DE ROSSO, Veridiana V.; MERCADANTE, Adriana Z. Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 55, n. 13, p. 5062–5072, 2007.

DENARDIN, Cristiane C. et al. Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. **Journal of Food and Drug Analysis**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 387–398, 2015.

DUDONNÉ, Stéphanie et al. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 57, p. 1768–1774, 2009.

EL SHEIKHA, Aly et al. Physico-chemical properties and biochemical composition of *Physalis* (*Physalis pubescens* L.) fruits. **Global Science Books Ltd.**, [s. l.], v. 2, n. Randall 2001, p. 124–130, 2008.

EL SHEIKHA, Aly F. et al. Biochemical and sensory quality of *physalis pubescens* l.) juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 541–555, 2010.

ELLMAN, George L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [s. l.], v. 82, p. 70–77, 1959.

ERIKSSON, Mattias; STRID, Ingrid; HANSSON, Per Anders. Food waste reduction in supermarkets - Net costs and benefits of reduced storage temperature. **Resources, Conservation and Recycling**, [s. l.], v. 107, p. 73–81, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.resconrec.2015.11.022>>

ERTAŞ, Erdal; ÖZER, Hayrettin; ALASALVAR, Cesarettin. A rapid HPLC method for determination of Sudan dyes and Para Red in red chilli pepper. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 105, n. 2, p. 756–760, 2007.

FARIA, Juliana Pereira et al. Caracterização química da amêndoa de coquinho-azedo (*Butia capitata* var *capitata*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 549–552, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452008000200049&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>

FERREIRA, Emerson Bittencourt. **Análise fitoquímica preliminar de *Vasconcellea quercicolia* A.St.-Hil. (Mamoeiro-do-mato)**. 2015. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, [s. l.], 2015.

FLOEGEL, Anna et al. Development and validation of an algorithm to establish a total antioxidant capacity database of the US diet. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, [s. l.], v. 61, n. 6, p. 600–623, 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Global Food Losses and Food Waste - Extent, causes and prevention**. [s.l: s.n.].

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food wastage footprint**. [s.l: s.n.].

FORZZA, Rafaela Campostrini. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.

GREENFIELD, H.; SOUTHGATE, D. A. T. **Food composition data - production, management and use**. [s.l.] : FAO Publishing Management Service, 2003. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/008/y4705e/y4705e00.htm>>

HALLIWELL, Barry. Free Radicals and Other Reactive Species in Disease. In: **eLS**. [s.l: s.n.].

HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. **Methods in Enzymology**, [s. l.], v. 186, p. 1–85, 1990.

HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John M. C.; ARUOMA, Okezie I. The deoxyribose method: A simple “test-tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], v. 165, n. 1, p. 215–219, 1987.

HERRMANN, MLP; ROSA, RO. Relevô. In: **Geografia do Brasil: Região Sul**. Rio de Janeiro: IBGE – Diretoria de Geociências, 1990. p. 55–84.

HOFFMANN, Jessica F. et al. *Butia* spp. (Arecaceae): An overview. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 179, p. 122–131, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2014.08.011>>

HUANG, Dejian; OU, Boxin; PRIOR, Ronald L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 2005.

ICH. Guidance for Industry Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology. [s. l.], v. 20857, n. November, p. 301–827, 1996. Disponível em:
<<http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm%5Cnhttp://www.fda.gov/cber/guidelines.htm>>

INADA, Kim Ohanna Pimenta et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 17, p. 422–433, 2015. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.002>>

INMETRO. Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. [s. l.], p. 25, 2007.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc**. Washington (DC): National Academies Press, 2001.

Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.02.006%5Cnhttp://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643895800085%5Cnhttp://www.cnpat.embrapa.br/download_publicacao.php?id=209%0Ahttp://ebooks.cambridge.org/ref/id/CBO9781107415324A009>

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA IBGE. **Manual Técnico da Vegetação Brasileira**. [s.l: s.n.]. Disponível em:

<<http://www.bcb.gov.br/pec/GCI/PORT/readout/readout.asp>>.

JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Areaceae in Flora do Brasil 2020 em construção**. [s.d.]. Disponível em:

<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB53>>. Acesso em: 30 set. 2018.

KALAYCIOĞLU, Zeynep; ERIM, F. Bedia. Total phenolic contents, antioxidant activities, and bioactive ingredients of juices from pomegranate cultivars worldwide. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 221, p. 496–507, 2017. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.084>>

KINUPP, Valdely Ferreira. **Plantas Alimentícias Não-Convencionais da Região Metropolitana de Porto Alegre, RS**. 2007. [s. l.], 2007.

KINUPP, Valdely Ferreira; BARROS, Ingrid Bergman Inchausti De. Protein and mineral contents of native species, potential vegetables, and fruits. **Ciênc. e Tecnol. de Aliment.**, [s. l.], v. 28, n. 4, p. 846–857, 2008.

KISSMAN, Kurt Gottfried; GROTH, Doris. **Plantas infestantes e nocivas - Tomo III**. São Paulo.

KUSKOSKI, E. Marta et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 726–732, 2005.

LEUENBERGER, Beat Ernst. *Opuntia paraguayensis* (Cactaceae) reassessed. **Willdenowia**,

[s. l.], v. 31, n. 42, p. 181–187, 2001.

LI, Ya et al. Bioactivities and health benefits of wild fruits. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 17, n. 8, p. E1258, 2016.

LOPES, Renata Miranda et al. Composição De Ácidos Graxos Em Polpa De Frutas Nativas Do Cerrado. **Revista Brasileira Fruticultura**, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 635–640, 2012.

LORENZI, Harri; LACERDA, Marco; BACHER, Luis. **Frutas no Brasil Nativas e Exóticas (de consumo in natura)**. São Paulo.

MAGALHÃES, Luís M. et al. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 613, p. 1–19, 2008.

MARCHIORI, JNC. **Fitogeografia do Rio Grande do Sul: campos sulinos**. Porto Alegre.

MEGGUER, C. A. Fisiologia e Preservação da Qualidade Pós-Colheita de Frutos de Butiá (*Butia Eriostpatha Martius Beccari*). [s. l.], p. 59, 2006.

MENDES, Ricardo Jorge Silva. **Biodiversidade e composição de alimentos: dados nutricionais de frutas nativas subutilizadas da flora brasileira**. 2015. Universidade de São Paulo, [s. l.], 2015. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6138/tde-02122015-115143/en.php>>

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Portaria Interministerial nº 163, de 11 de maio de 2016. p. 58–60.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Portaria Interministerial nº 284, de 30 de maio de 2018. p. 1677–7042.

MIRANDA-VIZUETE, Antonio; VEAL, Elizabeth A. *Caenorhabditis elegans* as a model for understanding ROS function in physiology and disease. **Redox Biology**, [s. l.], v. 11, p. 708–714, 2017.

MORESCHI, Elaine Cristina Pinto. **Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos e avaliação da estabilidade de vitaminas hidrossolúveis em alimentos**. 2006. Universidade de São Paulo, [s. l.], 2006.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. **Tabela brasileira de composição de alimentos NEPA - Unicamp**. Campinas. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco/>>.

PEREIRA, Marina C. et al. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 19–24, 2013.

PEREIRA, Marina Couto et al. Mineral characterization of native fruits from the southern region of Brazil. **Food Science and Technology**, [s. l.], v. 34, n. June, p. 258–266, 2014.

PORAT, Ron et al. Postharvest losses of fruit and vegetables during retail and in consumers'

homes: Quantifications, causes, and means of prevention. **Postharvest Biology and Technology**, [s. l.], v. 139, n. November, p. 135–149, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.11.019>>

PRESOTO, Elisa Ana Ferreira; ALMEIDA-MURADIAN, Ligia Bicudo. Validation of hplc methods for analysis of vitamins B1, B2, B6 and niacin naturally present in cereal flours. **Quimica Nova**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 498–502, 2008.

PROSCKY, L. et al. Determination of total dietary fiber in foods, food products and total diets: Interlaboratorial study. **J Assoc Off Anal Chem**, [s. l.], v. 67, n. 6, p. 1044–1052, 1984.

QUISPE, Cristina et al. High speed centrifugal countercurrent chromatography (HSCCC) isolation and identification by LC-MS analysis of the polar phenolics from *Vasconcellea Quercifolia*. **Journal of the Chilean Chemical Society**, [s. l.], v. 58, n. 3, p. 1830–1835, 2013.

REIS, MS. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmito (*Euterpe edulis Martius*)**. 1995. Universidade de São Paulo, [s. l.], 1995.

REITZ, R. Palmeiras. In: REITZ, R. (Ed.). **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues (HBR), 1974. p. 55–59.

RIBANI, Marcelo et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quimica Nova**, [s. l.], v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

RIGO, Maurício; BEZZERA, José Raniere Mazile Vida; CÓRDOVA, Katielle Rosalva Voncik. Study of temperature effect on rheological parameters of the butia pulp (*Butia eriospatha*). **Ambiência Guarapuava**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 25–36, 2010.

RODRIGUES, Eliseu; MARIUTTI, Lilian R. B.; MERCADANTE, Adriana Z. Carotenoids and phenolic compounds from *Solanum sessiliflorum*, an unexploited amazonian fruit, and their scavenging capacities against reactive oxygen and nitrogen species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 61, n. 12, p. 3022–3029, 2013.

RODRIGUEZ-AMAYA, Delia B. **A guide to carotenoids analysis in foods**. ILSI Human ed. Campinas, SP, Brazil.

ROSA, Jeane Santos Da et al. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 837–846, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000400025&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>

ROSA, Liége; CASTELLANI, Tania Tarabini; REIS, Ademir. Biologia reprodutiva de *Butia capitata* (Martius) Beccari var. *odorata* (Palmae) na restinga do município de Laguna, SC. **Brazilian Journal of Botany**, [s. l.], v. 21, n. 3, p. 281–287, 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-84041998000300007>

RUFINO, Maria do Socorro M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 121, n. 4, p. 996–1002,

2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>>

RUFINO, Maria do Socorro Moura et al. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. **Comunicado Técnico 128**, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 1–4, 2007. Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/download_publicacao.php?id=209%0Ahttp://ebooks.cambridge.org/ref/id/CBO9781107415324A009>

SANTOS, E. Caricáceas. In: REITZ, R. (Ed.). **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues (HBR), 1970. p. 22.

SCHLINDWEIN, Clemens. Melittophilous plants, their pollen and flower visiting bees in Southern Brazil. 2. Cactaceae. **Biociências**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 35–71, 1995. Disponível em: <<http://www3.ufpe.br/plebeia/arquivos/Pollen Cactaceae Biociencias 1995.pdf>>

SCHMEDA-HIRSCHMANN, Guillermo et al. Proximate composition and free radical scavenging activity of edible fruits from the Argentinian Yungas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 85, n. 8, p. 1357–1364, 2005.

SECRETARIA DA SAÚDE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL. Portaria N° 78/20092009. p. 1–6.

SERAGLIO, Siluana Katia Tischer et al. Nutritional and bioactive potential of Myrtaceae fruits during ripening. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 239, p. 649–656, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.118>>

SGANZERLA, Marla. **Caracterização físico-química e capacidade antioxidante do butiá**. 2010. Universidade Federal de Pelotas, [s. l.], 2010.

SOBRAL, Marcos et al. **Flora Arbórea e Arborescente do Rio Grande do Sul, Brasil**. 2. ed. São Carlos: Novo Ambiente, 2013.

SRINIVASAN DAMODARAN, KIRK L. PARKIN, Owen R. Fennema. **Química de Alimentos de Fennema**, 2010.

TORMA, Priscila do Carmo Marchioro Raupp et al. Hydroethanolic extracts from different genotypes of açaí (*Euterpe oleracea*) presented antioxidant potential and protected human neuron-like cells (SH-SY5Y). **Food Chemistry**, [s. l.], v. 222, p. 94–104, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.006>>

USALL, Josep et al. Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, [s. l.], v. 122, p. 30–40, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.05.002>>

VILELA, Evaldo Ferreira; CALLEGARO, Geraldo Magela; FERNANDES, Geraldo Wilson. **Biomass e agricultura: oportunidades e desafios**. Rio de Janeiro.

WHO. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. **World Health Organization technical report series**, [s. l.], v. 916, p. i-viii-1-149- backcover, 2003. Disponível em: <<http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=12768890&retm>>

ode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers3://publication/uuid/734F6B31-260B-4545-A8E4-57F7D35DDEB8>

ZANATTA, Cinthia Fernanda et al. Determination of anthocyanins from Camu-camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 53, n. 24, p. 9531–9535, 2005.

ZANG, Shuang et al. Determination of antioxidant capacity of diverse fruits by electron spin resonance (ESR) and UV–vis spectrometries. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 221, p. 1221–1225, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.036>>

CAPÍTULO 5

5 MANUSCRITO 1 - NATIVE FRUITS FROM SOUTHERN BRAZIL: PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION, CENTESIMAL COMPOSITION AND MINERAL CONTENT

Manuscrito submetido ao periódico
JOURNAL OF FOOD PROCESSING AND PRESERVATION
* formatado de acordo as normas da revista

NATIVE FRUITS FROM SOUTHERN BRAZIL: PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION, CENTESIMAL COMPOSITION AND MINERAL CONTENT

Fernanda Camboim Rockett¹, Helena de Oliveira Schmidt¹, Carlos Henrique Pagno¹, Érica Salvador Fochezatto², Viviani Ruffo de Oliveira², Vanuska Lima da Silva², Simone Hickmann Flôres¹, Alessandro de Oliveira Rios^{1*}

¹ Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). Bento Gonçalves Ave., 9500, Campus do Vale, Porto Alegre, RS, ZIP CODE 91501-970, Brazil.

² Department of Nutrition, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Ramiro Barcelos St., 2400, Santa Cecília, Porto Alegre, RS, ZIP CODE: 90040-060, Brazil.

* Corresponding author:

E-mail address: alessandro.rios@ufrgs.br

Telephone and fax numbers: + 55 51 3308 9787 +55 51 3308 7048

ABSTRACT

The present study aimed to analyze the nutritional composition of Brazilian native fruits - Butiá da Praia, Butiá da Serra, Açaí Juçara, Arumbeva, Maracujá do Mato, Fisális and Jaracatiá. Fresh pulps were evaluated for their pH, titratable acidity, soluble solids, moisture, ash, protein, lipid, dietary fiber and mineral contents. The value obtained for soluble solids of Butiá da Praia was higher. For ash and protein, Jaracatiá was highlighted. Açaí Juçara and Arumbeva can be considered an excellent source of dietary fibers and all fruits had a high percentage of insoluble

fibers. Arumbeva was especially noted in calcium, magnesium, manganese and zinc, and Jaracatiá in calcium and potassium contents. The results also showed variation among the different harvests. The use of these native species can be considered as an alternative to improve the Brazilian population diet and the results of this work can stimulate the demand, consumption and cultivation of these fruits, contributing to sustainable development.

KEYWORDS: Biodiversity; Brazilian fruits; Food analysis; Food composition; Nutrients.

1. INTRODUCTION

The Biodiversity for Food and Nutrition Project (BFN) is a multi-country and multi-partner initiative that aims to conserve biodiversity to improve nutrition in Kenya, Sri Lanka, Turkey, and Brazil (BFN, 2018). BFN is funded by the Global Environment Facility and coordinated by Bioversity International with implementation support from the United Nations Environment Programme and the Food and Agriculture Organization of the United Nations (BFN, 2018; Hunter et al., 2016). Relevant ministries, scientific community, non-governmental organizations, civil society and local communities are the national partners (BFN, 2018; Hunter et al., 2016).

The Project addresses the decline of diversity as follows: a) Providing evidences - demonstrating the nutritional value of agrobiodiversity and its role in promoting healthy diets and strengthening livelihoods; b) Influencing policies - using the evidence generated by the Project to impact strategies, programs and markets that support the preservation and sustainable use of agrobiodiversity with nutritional potential for improving nutrition and human well-being and; c) Raising awareness - providing tools, knowledge and best practices for intensifying the use of biodiversity for food and nutrition in development programs, value chains and local community initiatives (BFN, 2018).

In Brazil, to strengthen the evidence and knowledge base for the nutritional value of

native biodiversity, partnerships were established with universities and research institutes in order to compile existing data in the scientific literature and to analyze the nutritional composition of 70 edible plants species previously identified as underutilized and with economic potential by the "Plants for the Future" initiative, a project of the Brazilian Ministry of the Environment (Beltrame et al., 2016; BFN, 2018; Coradin, Siminski, & Reis, 2011; Hunter et al., 2016).

Brazil is considered to be a country with the highest biological biodiversity in the world, and it has a large number of plant species, many of them found in the Southern Region that includes the states of Paraná, Santa Catarina, and Rio Grande do Sul (Bvenura & Sivakumar, 2017; Coradin et al., 2011). Although the country has climatic and geographical characteristics favorable to the production of these species and they present excellent economic and nutritional potentials, they are still not widely used by the population (Coradin et al., 2011; Schiassi, Souza, Lago, Campos, & Queiroz, 2018). This biodiversity is potentially highly nutritious and exploring this underutilized food source could provide sustainable solutions to diversifying food production and tackling nutritional disorders and other malnutrition issues (Beltrame et al., 2016; Moura de Oliveira Beltrame et al., 2018). Thus, a nutritional characterization of the native species is considered crucial to increase its use (Schiassi et al., 2018).

Many barriers and obstacles prevent further integration of biodiversity and food security (Hunter et al., 2016), including the knowledge and the evidence gap existent around native biodiversity and its nutritional value with still limited or non-existent data (Beltrame et al., 2016; Moura de Oliveira Beltrame et al., 2018; Oliveira, Yamada, Fagg, & Brandão, 2012). In addition, there is divergence in some published data, since there are papers which use unofficial or non-standardized methodologies. Using quality control materials and reporting the results are vital for work related to biodiversity, so that variability due to methodology may be separated from biological variability (Burlingame, Charrondiere, & Mouille, 2009). The use of

food composition data depends on its reliability and, to ensure this, aspects such as the collection and preparation of the sample; choice of the analytical method and its validation; proper execution of the method (which implies the use of quality control procedures) and; critical review of the values obtained are essential (Greenfield & Southgate, 2003).

Native Brazilian fruits received more attention from researchers because of its potential to improve human health (de Siqueira, Rosa, Fustinoni, de Sant'Ana, & Arruda, 2013). Despite this, in recent years, the patterns of food purchases by the Brazilian population have changed significantly. The evaluation of the individual food consumption of the Family Budget Survey (IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística & Coordenação de Trabalho e Rendimento, 2011) showed that, on average, Brazilians consume less than 120 g of fruit per day (including fruit juice), which is considerably lower than the intake recommended by World Health Organization guidelines of 400 g per day (WHO, 2003) and recommendations published in the Dietary Guidelines for the Brazilian Population (BRASIL. Ministerio da Saúde, 2014). In addition, several international guidelines recommend the consumption of two servings of fruits and three servings of vegetables per day, but their intake is thought to be low worldwide (Miller et al., 2016).

In this context, in order to disseminate the nutritional potential of native species, this study aimed to analyze the physicochemical and nutritional composition of 7 Brazilian native fruits - *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi, *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc., *Euterpe edulis* Mart., *Opuntia elata* Salm-Dyck, *Passiflora actinia* Hook., *Physalis* spp. and *Vasconcellea quercifolia* A.St.-Hil.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Chemical reagents

All reagents used in the experiments were with analytical grade purity. Sodium

phosphate monobasic and bibasic, sodium hydroxide and anhydrous sodium sulfate were obtained from Neon Comercial[®] (Suzano, SP, Brazil). Hydrochloric acid (HCl), supra pure sulfuric acid, chloroform, acetone, ethanol and methyl alcohol were purchased from Dinâmica Química Contemporânea LTDA.[®] (Diadema, SP, Brazil). The total dietary fiber assay kit was purchased from Sigma-Aldrich Chemical Co.[®] (St. Louis, MO, USA). Water was purified by Milli-Q[®] Integral 10 system by Merck Millipore. The certified reference material SRM 2383a (*Baby Food Composition*) was acquired from the National Institute of Standards and Technology (NIST) (NIST, n.d.).

2.2 Samples

The samples were obtained from different cities of the Brazil southern region (Paraná, Rio Grande do Sul and Santa Catarina states) after being properly identified and the botanical species confirmed by a specialist biologist. The exsiccatas were collected and deposited in the Institute of Biosciences Herbarium of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). Each specie was collected at the ripe stage in at least two harvests, from February 2016 to August 2017. Table 1 shows detailed information for each harvest.

Table 1. Detailed information on the species harvested.

Scientific name / Common name in Brazil	Sample number	Origin (City, State)	Geographical coordinate (GPS)	Quantity harvested	Harvest Month/year	Herbarium number †
<i>Euterpe edulis</i> Mart. / Açaí Juçara	1	Maquiné, RS	29°39'1.02"S 50°8'55.07"W	7.5 kg	Feb/2016	185666
	2	Florianópolis, SC	27°37'57.84"S 48°28'40.20"W	8.0 kg	May/2016	187149
	3	Dom Pedro de Alcântara, RS	29°22'37.78"S 49°51'54.61"W	12.0 kg	May/2016	185673
<i>Opuntia elata</i> Salm- Dyck / Arumbeva	1	Caçapava do Sul, RS	30°49'49.87"S 53°29'56.64"W	6.0 kg	Aug/2016	187673
	2	Caçapava do Sul, RS	30°50'34.45"S 53°30'12.34"W	6.0 kg	Aug/2016	187674
	3	Caçapava do Sul, RS	30°53'27.92"S 53°28'15.69"W	6.0 kg	Aug/2016	187675
	4	Bagé, RS	30°51'51.72"S	5.0 kg	Sep/2016	187676

Scientific name / Common name in Brazil	Sample number	Origin (City, State)	Geographical coordinate (GPS)	Quantity harvested	Harvest Month/year	Herbarium number †
			53°42'10.13"W			
<i>Butia catarinensis</i> Noblick & Lorenzi / Butiá da Praia	1	Torres, RS	29°18'52.20"S 49°45'36.19"W	8.5 kg	Feb/2016	185667
	2	Osório, RS	29°85'24.66"S 50°22'76.86"W	7.0 kg	Mar/2016	185665
	3	Laguna, SC	28°25'27.86"S 48°47'20.87"W	6.0 kg	Mar/2016	185664
<i>Butia eriospatha</i> (Mart. ex Drude) Becc. / Butiá da Serra	1	Pinhal da Serra, RS	27°49'37.28"S 51°14'26.15"W	12.0 kg	Apr/2016	185670
	2	Pelotas, RS	31°67'80.74"S 52°44'32.71"W	5.5 kg	Apr/2016	187145
	3	Curitibanos, SC	27°11'40.63"S 50°37'04.97"W	14.0 kg	Mar/2016	194091
<i>Physalis</i> spp. / Fisális	1	Morro Reuter, RS	29°32'3.93"S 51°5'37.67"W	3.0 kg	Sep/2016	193949
	2	Viamão, RS	30°5'50.71"S 50°49'58.73"W	2.0 kg	Oct/2016	193950
	3	São Francisco de Paula, RS	29°25'02.50"S 50°33'35.56"W	0.6 kg	May/2017	194853
	4	Jaraguá do Sul, SC	26°17'51.09"S 49°09'19.65"W	3.4 kg	Aug/2017	194854
<i>Vasconcellea quercifolia</i> A. St.-Hil. / Jaracatiá	1	Garibaldi, RS	29°18'44.63"S 51°36'52.58"W	2.3 kg	Mar/2017	194092
	2	Planalto Alegre, SC	27°04'28.73"S 52°51'00.65"W	1.1 kg	Feb/2017	194093
<i>Passiflora actinia</i> Hook. / Maracujá do Mato	1	Curitiba, PR	25°26'49.39"S 49°14'22.55"W	5.0 kg	Dec/2016	193972
	2	São José dos Pinhais, PR	25°30'45.14"S 49°12'6.94"W	5.0 kg	Dec/2016	193973 and 193974

RS: Rio Grande do Sul; SC: Santa Catarina; PR: Paraná. † Institute of Natural Sciences (ICN) Herbarium of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS).

Samples were initially selected by visual inspection (removing the damaged units) and underwent a washing process. After washing, the samples were depulped and homogenized (DES-20, Braesi[®], Caxias do Sul, RS, Brazil). The samples were processed to obtain the edible part: Arumbeva, Fisális, and Jaracatiá were analyzed in an integral way (peel, pulp and seeds); the Açaí Juçara and the Butiás, the peel and the pulp were selected, removing the core and; for passion fruit the pulp and the seeds were selected, removing the peel.

The pulps were then lyophilized (L101, Liotop[®], São Carlos, SP, Brazil), packed in sealed vacuum plastic bags (F200 flash, Fastvac[®], Santo André, SP, Brazil) and stored below

freezing temperature (-18 °C).

2.3 Physicochemical analyses

Ten uniform units of each species and harvest were evaluated individually and at the same maturation stage. Height and length measurements were performed with a steel caliper (Brasfort[®], Guarulhos, SP, Brazil) and the weight was evaluated on an analytical balance (AY220, Shimadzu[®], Kyoto, Japan).

All analyses were performed in triplicate. Fresh pulps of the samples were evaluated for their pH by potentiometric electrometric method with pH-meter (model Q400AS, Quimis[®], Diadema, SP, Brazil), total titratable acidity (TTA) by titration with sodium hydroxide - NaOH 0.1 N, and total soluble solids (TSS) by direct reading in portable pocket digital refractometer (PAL-3, ATAGO[®] U.S.A., Inc., Bellevue, WA, USA).

2.4 Centesimal Composition

The samples were also quantified for their moisture, ash, protein, lipid and dietary fiber contents according to the methodology described by the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (AOAC, 2012).

Moisture and ash contents were determined by the gravimetric method in a chamber at 105 °C and by incineration at 550 °C, respectively; protein content was estimated using the Kjeldahl method, and the protein concentration was estimated using a nitrogen conversion factor of 6.25; and lipid content was measured by the Bligh-Dyer method using a cold extraction with chloroform and methanol (Bligh & Dyer, 1959).

The carbohydrate levels were calculated using the following formula: $100 - (\% \text{ protein} + \% \text{ lipid} + \% \text{ total dietary fiber} + \% \text{ ash})$ all in dry basis.

Total dietary fiber (TDF) and insoluble dietary fiber (IDF) were determined according to

the gravimetric enzymatic method in dry matter. In the digestion process, the samples were heated at 100 °C with the α -amylase and incubated at 60 °C with protease and amyloglucosidase enzymes. The soluble dietary fiber (SDF) was calculated as the difference between the total and insoluble fractions.

The total energy value was estimated using the conversion factors of 4 kcal.g⁻¹ for protein or carbohydrate content and 9 kcal.g⁻¹ for the lipid content: Energy (kcal) = 4 × (g protein + g carbohydrate) + 9 × (g lipid).

2.5 Minerals

The lyophilized samples were homogenized in a multiprocessor. For digestion, approximately 0.3 g were weighed in triplicate, adding 5 mL of Milli-Q[®] water, 5 mL of nitric acid P.A and 1 mL of hydrogen peroxide. The samples were heated for 5 min at 90 °C, 10 min at 150 °C, 5 min at 200 °C and 10 min at 200 °C (power 1000 W) and, after cooling, transferred to a 25 mL volumetric flask.

Calcium (Ca), Potassium (K), Sodium (Na), Magnesium (Mg), Iron (Fe), Zinc (Zn), Manganese (Mn), Copper (Cu), Phosphorus (P) and Selenium (Se) analyzes were performed at the Laboratory of Inorganic Analysis of the Science and Technology Foundation (CIENTEC, Porto Alegre, Brazil).

Ca, K, Na, Mg, Fe, Mn and Cu and were determined by atomic emission spectrometry with microwave plasma. Zn was determined by atomic emission spectrometry with microwave plasma in Açaí Juçara; Arumbeva, Butiá da Serra 1 and 3 and Butiá da Praia 2 and 3 samples and by flame atomic absorption spectrometry in the other samples. P was determined by molecular absorptiometry (yellow vanadomolybdate method) and Se was determined by atomic absorption spectrometry with graphite furnace.

The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) of minerals were as follows:

Ca: 0.3 and 4.0 mg.Kg⁻¹; Cu: 0.08 and 0.8 mg.Kg⁻¹; Fe: 0.2 and 0.8 mg.Kg⁻¹; K: 0.02 and 4.0 mg.Kg⁻¹; Mg: 0.3 and 4.0 mg.Kg⁻¹; Mn: 0.04 and 0.8 mg.Kg⁻¹; Na: 0.1 and 20.0 mg.Kg⁻¹; P: 0.014 and 0.018 g.100g⁻¹; Se: 0.09 and 0.25 mg.Kg⁻¹ and Zn were 0.97 and 3.0 mg.Kg⁻¹.

2.6 Evaluation of Method Accuracy

The evaluation of method accuracy for centesimal composition was performed using certified reference material from the National Institute of Standards and Technology (NIST, Gaithersburg, MD, USA) of Baby Food Composition (NIST 2383a) (NIST, n.d.; Phillips, Sharpless, & Wise, 2013). Average (minimum-maximum) values of certified material expressed in g.100g⁻¹ of fresh weight were: 77.55 (75.51-79.59) for moisture; 0.71 (0.642-0.768) for ash; 1.96 (1.78-2.14) for protein; zero for lipids; 1.00 (0.34-1.66) for total fiber and 19.42 (17.32-21.52) for carbohydrate.

Also, mineral content was determined in a laboratory certified by the ISO/IEC 17025 (International Organization for Standardization, n.d.).

2.7 Statistical analysis

Principal component analysis (PCA) was applied to improve the visualization of the results. Thus, the data were arranged in an array of rows (21 samples) and columns (12 chemical parameters and 9 minerals). The data were standardized (correlation matrix) and submitted to PCA.

The statistic was performed using the analysis of variance (ANOVA) with a test of comparison of the means by applying a Tukey test at a significance level of 5% using Statistica 12.0 software (StatSoft Inc.).

3. RESULTS AND DISCUSSION

PCA is used to reduce the dimensionality of a data set containing a large number of inter-related variables. The generated image allows global analysis of the results and suggests which attributes characterize the sample, and therefore becomes a suitable tool when the system has many variables and it is necessary to find the most influential for the result. Figure 1 shows PCA with the samples and the evaluated attributes (chemical composition) of spatial distribution to simplify the results visualization, as represented by Principal Components 1, 2 and 3, which make up 81.14% of the totality.

Fig 1 Principal Component Analysis (PCA) of chemical composition of Açai Juçara (AJ), Arumbeva (AR), Butiá da Praia (BP), Butiá da Serra (BS), Fisális (F), Jaracatiá (J) and Maracujá do Mato (M). IDF: insoluble dietary fiber; SDF: soluble dietary fiber; TDF: Total dietary fiber; TSS: total soluble solids; TTA: total titratable acidity

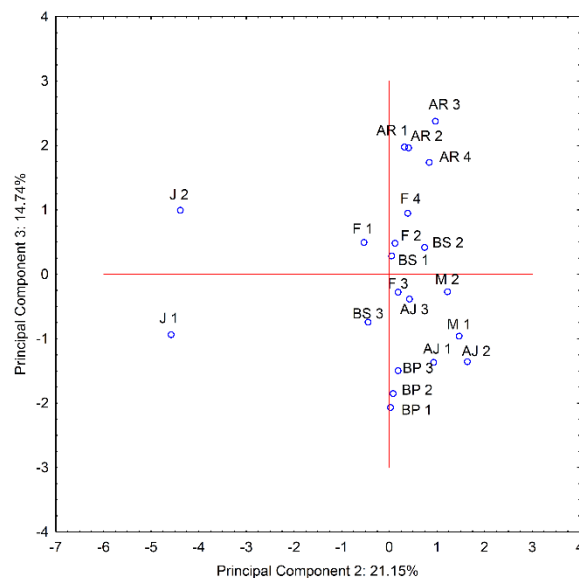
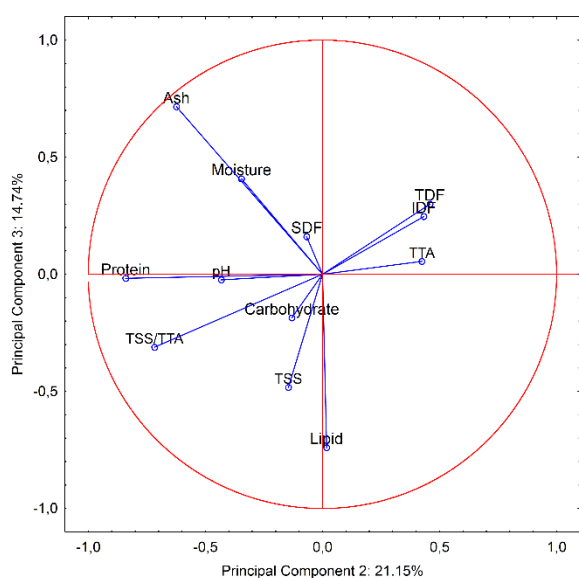
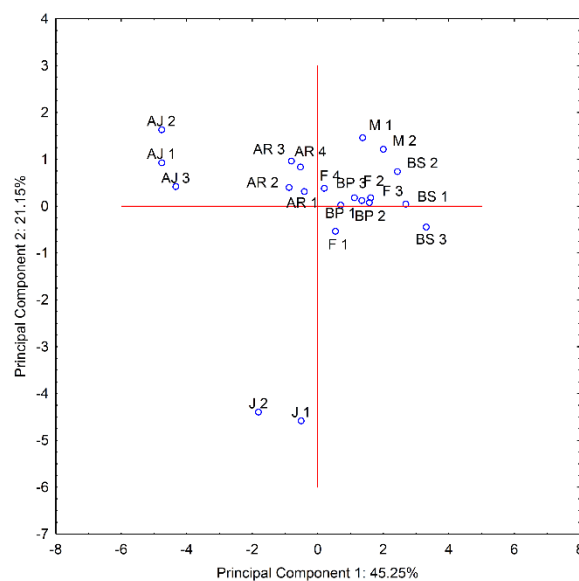
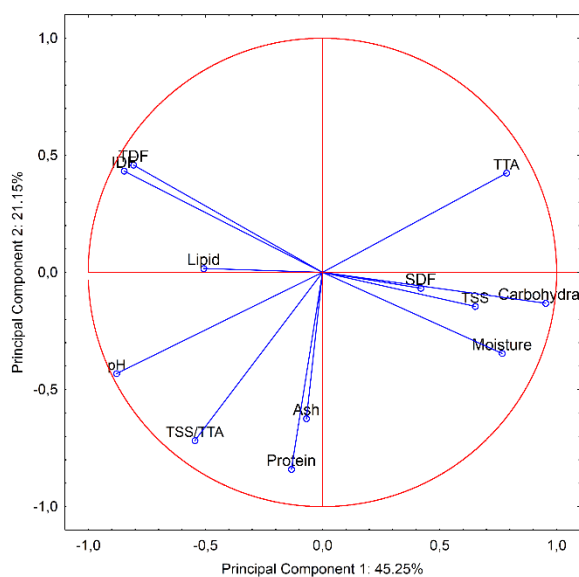


Table 2 shows the physicochemical results obtained for the species assessed. The parameters of weight, height and length give an idea of the dimensions of the studied species. pH values ranged from 2.75 (Butiá da Serra 2) to 5.28 (Jaracatiá 2), and the acidity level ranged from 0.28 to 2.92 g citric acid.100g⁻¹ (Açaí Juçara 3 and Maracujá do Mato 2, respectively). The TSS is related to sugar content, which is an important feature when correlated to sweetness. Species with higher sweetness are more likely to be accepted by consumers (Schiassi et al., 2018). In this parameter the average value obtained for all collections of Butiá da Praia was

higher (12.87° Brix). The TSS/TTA ratio was high for Jaracatiás as well as for 2 samples of Açaí Juçara. The pH and TSS values found are in agreement with other studies that analyzed some of these same species, although the values of the TTA, expressed as percentage of citric acid, found in our study were higher than found by other studies (da Silva, Rodrigues, Mercadante, & De Rosso, 2014; Dal Magro, Coelho, Haida, Berté, & Moraes, 2006; El Sheikha, Zaki, Bakr, El Habashy, & Montet, 2008; Inada et al., 2015; Pereira et al., 2013; Rigo, Bezzera, & Córdova, 2010; Schmeda-Hirschmann, Feresin, Tapia, Hilgert, & Theoduloz, 2005; Sganzerla, 2010).

Table 2. Physicochemical parameters of Açai Juçara, Arumbeva, Butiá da Praia, Butiá da Serra, Fisális, Jaracatiá and Maracujá do Mato.

Common name in Brazil and sample number	Weight (g)	Height (cm)	Length (cm)	pH	TSS (° Brix)	TTA (% citric acid)	TSS/TTA
Açai Juçara 1	2.22 ± 0.07 ^a	1.47 ± 0.06 ^a	1.50 ± 0.00 ^a	5.25 ± 0.04 ^a	8.25 ± 0.00 ^a	0.42 ± 0.02 ^a	19.85
Açai Juçara 2	1.41 ± 0.15 ^b	1.25 ± 0.09 ^a	1.33 ± 0.05 ^{a,b}	5.02 ± 0.08 ^b	3.67 ± 0.33 ^c	0.39 ± 0.03 ^a	9.43
Açai Juçara 3	1.49 ± 0.16 ^b	1.29 ± 0.14 ^a	1.32 ± 0.10 ^b	5.12 ± 0.01 ^b	5.33 ± 0.29 ^b	0.28 ± 0.02 ^b	19.31
Arumbeva 1	34.69 ± 3.27 ^a	5.04 ± 0.26 ^{a,b}	3.70 ± 0.24 ^a	3.79 ± 0.01 ^b	7.00 ± 0.00 ^a	1.12 ± 0.02 ^b	6.24
Arumbeva 2	38.11 ± 4.15 ^a	5.19 ± 0.32 ^a	3.73 ± 0.16 ^a	3.84 ± 0.04 ^b	7.06 ± 0.10 ^a	1.15 ± 0.02 ^b	6.16
Arumbeva 3	37.04 ± 2.51 ^a	4.82 ± 0.14 ^b	3.72 ± 0.16 ^a	3.79 ± 0.01 ^b	7.17 ± 0.29 ^a	1.11 ± 0.01 ^b	6.43
Arumbeva 4	35.49 ± 3.47 ^a	4.74 ± 0.28 ^b	3.70 ± 0.24 ^a	4.05 ± 0.01 ^a	7.67 ± 0.50 ^a	1.38 ± 0.04 ^a	5.55
Butiá da Praia 1	3.41 ± 0.07 ^b	1.90 ± 0.00 ^{a,b}	1.69 ± 0.16 ^b	3.46 ± 0.13 ^a	12.00 ± 0.00 ^a	1.10 ± 0.02 ^c	10.89
Butiá da Praia 2	4.11 ± 0.14 ^a	2.14 ± 0.21 ^a	1.98 ± 0.15 ^a	3.36 ± 0.21 ^a	13.25 ± 1.30 ^a	1.28 ± 0.05 ^b	10.37
Butiá da Praia 3	2.46 ± 0.16 ^c	1.77 ± 0.08 ^b	1.63 ± 0.17 ^b	3.18 ± 0.02 ^a	13.38 ± 0.63 ^a	1.45 ± 0.07 ^a	9.20
Butiá da Serra 1	12.71 ± 1.33 ^a	2.84 ± 0.27 ^a	2.68 ± 0.08 ^a	3.07 ± 0.03 ^a	9.33 ± 0.17 ^b	2.11 ± 0.03 ^a	4.43
Butiá da Serra 2	11.31 ± 1.23 ^b	2.18 ± 0.05 ^b	2.68 ± 0.07 ^a	2.75 ± 0.03 ^c	6.42 ± 0.14 ^c	1.98 ± 0.05 ^a	3.24
Butiá da Serra 3	5.32 ± 0.53 ^c	1.84 ± 0.20 ^c	2.09 ± 0.07 ^b	3.00 ± 0.00 ^b	12.83 ± 0.44 ^a	1.60 ± 0.07 ^b	8.01
Fisális 1	3.59 ± 0.29 ^b	1.75 ± 0.09 ^a	1.82 ± 0.07 ^b	3.77 ± 0.02 ^a	9.33 ± 0.29 ^b	1.58 ± 0.03 ^b	5.92
Fisális 2	4.56 ± 0.32 ^a	1.82 ± 0.07 ^a	1.94 ± 0.07 ^a	3.72 ± 0.09 ^a	8.58 ± 0.72 ^b	1.93 ± 0.02 ^a	4.44
Fisális 3	3.67 ± 0.26 ^b	1.78 ± 0.06 ^a	1.80 ± 0.08 ^b	3.36 ± 0.03 ^b	13.89 ± 0.54 ^a	1.59 ± 0.01 ^b	8.73
Fisális 4	3.84 ± 0.37 ^b	1.74 ± 0.08 ^a	1.84 ± 0.12 ^{a,b}	3.29 ± 0.02 ^b	10.17 ± 0.93 ^b	1.59 ± 0.04 ^b	6.41
Jaracatiá 1	7.89 ± 0.79 ^a	4.36 ± 0.43 ^a	1.86 ± 0.16 ^b	5.16 ± 0.05 ^b	12.17 ± 0.76 ^a	0.42 ± 0.01 ^a	28.93
Jaracatiá 2	7.71 ± 0.82 ^a	3.95 ± 0.13 ^b	2.09 ± 0.14 ^a	5.28 ± 0.03 ^a	6.50 ± 0.17 ^b	0.29 ± 0.02 ^b	22.37
Maracujá do Mato 1	12.36 ± 1.01 ^b	3.21 ± 0.12 ^a	2.95 ± 0.08 ^b	3.04 ± 0.01 ^a	11.22 ± 0.25 ^a	2.68 ± 0.00 ^b	4.19
Maracujá do Mato 2	13.98 ± 1.36 ^a	3.26 ± 0.17 ^a	3.04 ± 0.08 ^a	3.03 ± 0.01 ^a	11.61 ± 0.95 ^a	2.92 ± 0.08 ^a	3.97

TSS: total soluble solids; TTA: total titratable acidity.

Results expressed as wet basis. For weight, height, length: values are the mean of 10 replications (\pm standard deviation). For pH, TSS, TTA: values are the mean of 3 replications (\pm standard deviation).

Different lowercase superscript in the same column indicate statistically significant difference for the same species (between harvests) by Tukey test ($p < 0.05$).

Centesimal composition of the different species analyzed is presented in Table 3. High moisture values were observed in most samples with total content varying from 61.41% (Açaí Juçara 2) to 89.29% (Butiá da Serra 2). The ash content evaluation showed values between 2.82% (Maracujá do Mato 1) and 9.78% (Jaracatiá 2). Regarding protein content, the values varied from 3.56% (Arumbeva 3) to 19.66% (Jaracatiá 2).

Table 3. Centesimal composition of Açai Juçara, Arumbeva, Butiá da Praia, Butiá da Serra, Fisális, Jaracatiá and Maracujá do Mato.

Common name in Brazil and sample number	Moisture (%)	Ash (%)	Protein (%)	Lipid (%)	TDF (%)	IDF (%)	SDF (%)	Carbohydrate (%)	Total energy (kcal.100g ⁻¹)
Açai Juçara 1	62.07 ± 0.50 ^b	3.07 ± 0.09 ^b	6.15 ± 0.13 ^b	8.25 ± 0.80 ^b	66.53 ± 1.00 ^a	67.43 ± 0.22 ^a	ND	16.00	61.75
Açai Juçara 2	61.41 ± 0.99 ^b	3.12 ± 0.09 ^b	5.92 ± 0.48 ^b	13.42 ± 0.55 ^a	60.83 ± 0.95 ^b	60.84 ± 2.16 ^b	ND	16.71	81.54
Açai Juçara 3	67.39 ± 0.54 ^a	4.00 ± 0.06 ^a	6.85 ± 0.02 ^a	6.98 ± 0.13 ^b	64.05 ± 0.54 ^{a,b}	60.97 ± 0.23 ^b	3.08 ± 0.32	18.12	53.05
Arumbeva 1	84.96 ± 1.98 ^a	7.72 ± 0.45 ^{a,b}	4.64 ± 0.07 ^{a,b}	0.91 ± 0.04 ^a	50.00 ± 0.47 ^b	45.04 ± 1.11 ^a	4.96 ± 0.64 ^b	36.74	26.12
Arumbeva 2	83.80 ± 1.66 ^a	8.23 ± 0.47 ^a	4.72 ± 0.41 ^a	0.89 ± 0.06 ^a	49.31 ± 2.10 ^b	52.30 ± 5.94 ^a	ND	36.84	28.22
Arumbeva 3	81.99 ± 1.60 ^a	7.09 ± 0.25 ^{b,c}	3.56 ± 0.20 ^c	0.59 ± 0.06 ^b	62.69 ± 3.59 ^a	52.49 ± 0.84 ^a	13.21 ± 1.50 ^a	26.07	22.31
Arumbeva 4	82.05 ± 0.54 ^a	6.69 ± 0.17 ^c	3.89 ± 0.42 ^{b,c}	0.55 ± 0.04 ^b	53.82 ± 3.96 ^{a,b}	47.61 ± 3.17 ^a	6.21 ± 0.79 ^b	35.04	28.83
Butiá da Praia 1	83.02 ± 1.18 ^a	3.70 ± 0.35 ^{a,b}	4.75 ± 0.10 ^b	11.52 ± 1.24 ^a	30.39 ± 0.94 ^b	25.30 ± 0.78 ^b	5.10 ± 0.16 ^a	49.64	54.53
Butiá da Praia 2	80.96 ± 0.12 ^b	3.29 ± 0.24 ^b	4.59 ± 0.33 ^b	6.76 ± 0.08 ^c	27.41 ± 0.65 ^c	21.35 ± 0.24 ^c	6.07 ± 0.42 ^a	57.94	59.23
Butiá da Praia 3	84.51 ± 0.20 ^a	4.24 ± 0.28 ^a	5.69 ± 0.30 ^a	9.10 ± 0.54 ^b	33.97 ± 0.25 ^a	28.84 ± 0.18 ^a	5.13 ± 0.07 ^a	47.01	45.35
Butiá da Serra 1	86.72 ± 0.26 ^b	5.41 ± 0.12 ^a	6.12 ± 0.54 ^a	1.53 ± 0.14 ^{a,b}	24.24 ± 0.08 ^b	17.94 ± 0.15 ^b	6.30 ± 0.08 ^b	62.69	38.39
Butiá da Serra 2	89.29 ± 0.10 ^a	3.73 ± 0.06 ^c	5.62 ± 0.12 ^a	1.36 ± 0.12 ^b	27.31 ± 0.13 ^a	22.28 ± 0.77 ^a	5.03 ± 0.64 ^b	61.98	30.29
Butiá da Serra 3	85.52 ± 0.25 ^c	4.79 ± 0.04 ^b	4.68 ± 0.23 ^b	1.75 ± 0.01 ^a	17.79 ± 0.37 ^c	9.83 ± 0.22 ^c	7.97 ± 0.15 ^a	70.99	46.09
Fisális 1	84.17 ± 0.37 ^a	5.42 ± 0.13 ^{a,b}	12.48 ± 0.50 ^a	1.07 ± 0.04 ^a	35.91 ± 1.67 ^b	34.48 ± 1.68 ^{a,b}	1.43 ± 0.01 ^b	45.11	37.98
Fisális 2	82.56 ± 0.17 ^{a,b}	4.77 ± 0.00 ^b	8.73 ± 0.12 ^b	0.89 ± 0.08 ^b	34.26 ± 2.72 ^b	27.46 ± 1.79 ^b	6.81 ± 0.93 ^a	51.35	43.30
Fisális 3	82.15 ± 1.17 ^b	5.25 ± 0.14 ^b	4.75 ± 0.20 ^d	1.17 ± 0.02 ^a	36.29 ± 1.99 ^b	29.10 ± 0.22 ^b	4.86 ± 0.68 ^a	53.56	42.77
Fisális 4	81.34 ± 0.28 ^b	6.88 ± 1.16 ^a	7.12 ± 0.45 ^c	0.71 ± 0.04 ^c	45.31 ± 0.46 ^a	40.85 ± 5.04 ^a	ND	39.98	70.22
Jaracatiá 1	80.73 ± 0.53 ^b	7.99 ± 0.16 ^b	17.13 ± 0.74 ^a	4.91 ± 0.01 ^a	22.51 ± 1.77 ^b	17.68 ± 0.05 ^b	7.34 ± 1.82 ^a	47.46	58.30
Jaracatiá 2	87.02 ± 0.45 ^a	9.78 ± 0.41 ^a	19.66 ± 1.56 ^a	3.84 ± 0.38 ^b	31.02 ± 0.41 ^a	30.20 ± 0.65 ^a	0.82 ± 0.24 ^b	35.70	33.23
Maracujá do Mato 1	73.56 ± 1.47 ^b	2.82 ± 0.08 ^b	8.18 ± 0.43 ^a	1.84 ± 0.08 ^a	33.14 ± 1.25 ^a	37.16 ± 0.39 ^a	ND	54.02	70.16
Maracujá do Mato 2	79.67 ± 0.92 ^a	3.61 ± 0.13 ^a	7.83 ± 0.37 ^a	1.45 ± 0.01 ^b	36.85 ± 0.26 ^a	31.91 ± 0.75 ^b	4.94 ± 0.48	50.26	49.88

IDF: insoluble dietary fiber; ND: not detected; SDF: soluble dietary fiber; TDF: Total dietary fiber.

Results expressed as dry basis (except for moisture and Kcal, expressed as wet basis). Values are the mean of 3 replications (± standard deviation).

Different lowercase superscript in the same column indicate statistically significant difference for the same species (between harvests) by Tukey test (p<0.05).

For ash and protein, Jaracatiá was highlighted, with higher mean values. The highest values found for Jaracatiás indicate that this fruit presents itself as an excellent protein source, which stands out from the other fruits studied (on average 3 times more) and since this food group does not necessarily represent a source of this nutrient (Fitzpatrick et al., 2012).

Most species have a low-fat content ranging from 0.59% (Arumbeva 3) to 13.42% (Açaí Juçara 2). In general, the lipid content of the Açaí Juçara and Butiá da Praia samples were high and, on the other hand, Arumbeva samples had the lowest values. The high values of moisture and low lipid values are characteristic of foods with plant origin (especially fruits and vegetables), composed mainly of a high content of carbohydrates, fibers and minerals (Fulton, McKinley, Young, Cardwell, & Woodside, 2016). The energy value of species ranged from 22.31 kcal.100g⁻¹ (Arumbeva 3) to 81.54 kcal.100g⁻¹ (Açaí Juçara 2), with carbohydrate contents (on dry basis) ranging from 16.00% (Açaí Juçara 1) to 70.99% (Butiá da Serra 3).

For the total fiber content, levels between 17.79% and 66.53% (Butiá da Serra 3 and Açaí Juçara 1, respectively) were found, most of which were of the insoluble type. According to the World Health Organization (WHO), it is necessary to consume 25 g to 40 g dietary fiber daily. The consumption of dietary fibers has many health benefits and the increased consumption of fruits and vegetables is linked with reduced risk of major diseases, such as cardiovascular disease, stroke and several cancers (Dai & Chau, 2017; Fulton et al., 2016). Therefore, Açaí Juçara and Arumbeva can be considered excellent dietary fibers sources (INSTITUTE OF MEDICINE, 2002). Insoluble dietary fiber consists mainly of cell wall components (e.g., cellulose, lignin, hemicellulose) and have the ability to improve the gastrointestinal tract of humans in distinct ways, for instance, providing bulking effect, hence increasing stool mass, alleviating constipation, and improving regularity (Dai & Chau, 2017; Macagnan, da Silva, & Hecktheuer, 2016).

Table 4 and Figure 2 shows the mineral composition and the relationship among the

mineral concentration for the species. The assessed species showed significant amounts of minerals. The PCA is represented by Principal Components 1, 2 and 3, which make up 80.05% of the totality.

Table 4. Mineral composition of Açai Juçara, Arumbeva, Butiá da Praia, Butiá da Serra, Fisális, Jaracatiá and Maracujá do Mato.

Common name in Brazil and sample number	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Zn
Açai Juçara 1	249.51 ± 6.30 ^b	1.15 ± 0.06 ^b	2.27 ± 0.10 ^b	1138.83 ± 17.93 ^a	105.77 ± 2.45 ^c	13.53 ± 0.62 ^a	19.83 ± 1.92 ^b	92.49 ± 0.60 ^c	2.74 ± 0.22 ^a
Açai Juçara 2	243.59 ± 1.55 ^b	1.28 ± 0.03 ^a	2.59 ± 0.07 ^b	979.10 ± 5.87 ^b	183.96 ± 1.02 ^b	12.77 ± 0.65 ^a	33.51 ± 1.90 ^a	111.12 ± 1.17 ^b	2.79 ± 0.34 ^a
Açai Juçara 3	322.82 ± 2.13 ^a	0.91 ± 0.04 ^c	3.77 ± 0.23 ^a	1085.18 ± 36.91 ^a	205.77 ± 3.69 ^a	6.11 ± 0.10 ^b	20.13 ± 2.57 ^b	116.71 ± 2.71 ^a	2.63 ± 0.36 ^a
Arumbeva 1	1356.93 ± 28.72 ^a	0.56 ± 0.09 ^a	2.11 ± 0.16 ^c	2417.14 ± 61.73 ^a	463.89 ± 8.15 ^a	66.72 ± 5.21 ^a	7.96 ± 0.60 ^a	84.31 ± 1.66 ^c	4.38 ± 0.45 ^a
Arumbeva 2	1123.17 ± 21.19 ^b	0.61 ± 0.06 ^a	5.66 ± 0.15 ^a	1845.50 ± 60.99 ^b	373.53 ± 11.20 ^b	48.46 ± 1.88 ^b	5.46 ± 0.36 ^b	113.68 ± 2.56 ^b	2.59 ± 0.19 ^b
Arumbeva 3	1056.19 ± 39.29 ^b	0.48 ± 0.06 ^a	2.78 ± 0.25 ^b	1710.74 ± 79.15 ^b	310.16 ± 16.09 ^c	30.57 ± 1.35 ^c	5.99 ± 0.28 ^b	123.47 ± 6.14 ^{a,b}	2.50 ± 0.09 ^b
Arumbeva 4	927.06 ± 7.34 ^c	0.55 ± 0.03 ^a	2.38 ± 0.12 ^{b,c}	1829.68 ± 12.45 ^b	489.59 ± 4.31 ^a	66.11 ± 1.79 ^a	5.01 ± 0.05 ^b	130.85 ± 6.93 ^a	2.61 ± 0.15 ^b
Butiá da Praia 1	54.58 ± 2.89 ^a	0.88 ± 0.01 ^{a,b}	2.09 ± 0.12 ^a	1758.21 ± 23.87 ^a	79.54 ± 1.33 ^a	3.88 ± 0.08 ^a	60.01 ± 1.75 ^c	170.85 ± 2.29 ^b	0.93 ± 0.04 ^b
Butiá da Praia 2	49.51 ± 1.46 ^a	0.79 ± 0.12 ^b	2.01 ± 0.04 ^a	1183.89 ± 6.66 ^b	74.57 ± 0.88 ^b	1.98 ± 0.02 ^c	80.55 ± 0.06 ^a	219.10 ± 1.15 ^a	0.93 ± 0.07 ^b
Butiá da Praia 3	53.20 ± 3.61 ^a	1.05 ± 0.05 ^a	1.74 ± 0.01 ^b	1707.56 ± 26.23 ^a	74.66 ± 0.68 ^b	3.43 ± 0.05 ^b	71.94 ± 0.40 ^b	174.16 ± 5.60 ^b	1.29 ± 0.13 ^a
Butiá da Serra 1	42.84 ± 1.80 ^a	1.09 ± 0.02 ^b	3.57 ± 0.20 ^b	2336.67 ± 41.92 ^b	47.93 ± 1.65 ^b	3.24 ± 0.11 ^a	3.14 ± 0.53 ^b	165.85 ± 3.55 ^a	1.48 ± 0.11 ^a
Butiá da Serra 2	44.18 ± 2.29 ^a	1.19 ± 0.03 ^a	1.34 ± 0.08 ^c	1415.69 ± 6.79 ^c	66.94 ± 0.51 ^b	1.45 ± 0.03 ^c	9.41 ± 1.18 ^a	169.41 ± 0.00 ^a	0.79 ± 0.02 ^b
Butiá da Serra 3	42.97 ± 2.23 ^a	0.96 ± 0.03 ^c	7.37 ± 0.30 ^a	2410.65 ± 13.21 ^a	537.82 ± 13.20 ^a	1.88 ± 0.02 ^b	8.09 ± 0.24 ^a	172.03 ± 4.02 ^a	1.62 ± 0.29 ^a
Fisális 1	44.74 ± 2.37 ^a	1.21 ± 0.05 ^a	4.87 ± 0.02 ^b	2374.42 ± 47.60 ^a	162.74 ± 0.66 ^b	1.58 ± 0.01 ^a	14.48 ± 0.66 ^b	302.23 ± 3.30 ^b	2.13 ± 0.06 ^a
Fisális 2	49.69 ± 5.33 ^a	0.63 ± 0.03 ^c	4.20 ± 0.15 ^c	2068.26 ± 49.26 ^b	156.34 ± 4.57 ^b	1.38 ± 0.07 ^b	25.62 ± 1.31 ^a	339.44 ± 9.61 ^a	1.57 ± 0.10 ^c
Fisális 3	33.11 ± 0.46 ^b	1.09 ± 0.00 ^b	4.27 ± 0.15 ^c	2138.67 ± 34.49 ^b	140.85 ± 0.57 ^c	0.99 ± 0.05 ^c	<LOD	182.82 ± 8.05 ^d	1.51 ± 0.01 ^c
Fisális 4	33.08 ± 3.91 ^b	1.22 ± 0.02 ^a	5.39 ± 0.19 ^a	2500.78 ± 64.46 ^a	177.12 ± 4.73 ^a	1.28 ± 0.06 ^b	<LOD	206.38 ± 11.78 ^c	1.77 ± 0.05 ^b
Jaracatiá 1	515.16 ± 16.52 ^a	0.92 ± 0.04 ^b	5.04 ± 0.47 ^a	3774.17 ± 26.96 ^a	399.60 ± 4.42 ^a	2.09 ± 0.02 ^a	8.13 ± 1.01	489.09 ± 2.02 ^a	2.97 ± 0.06 ^a

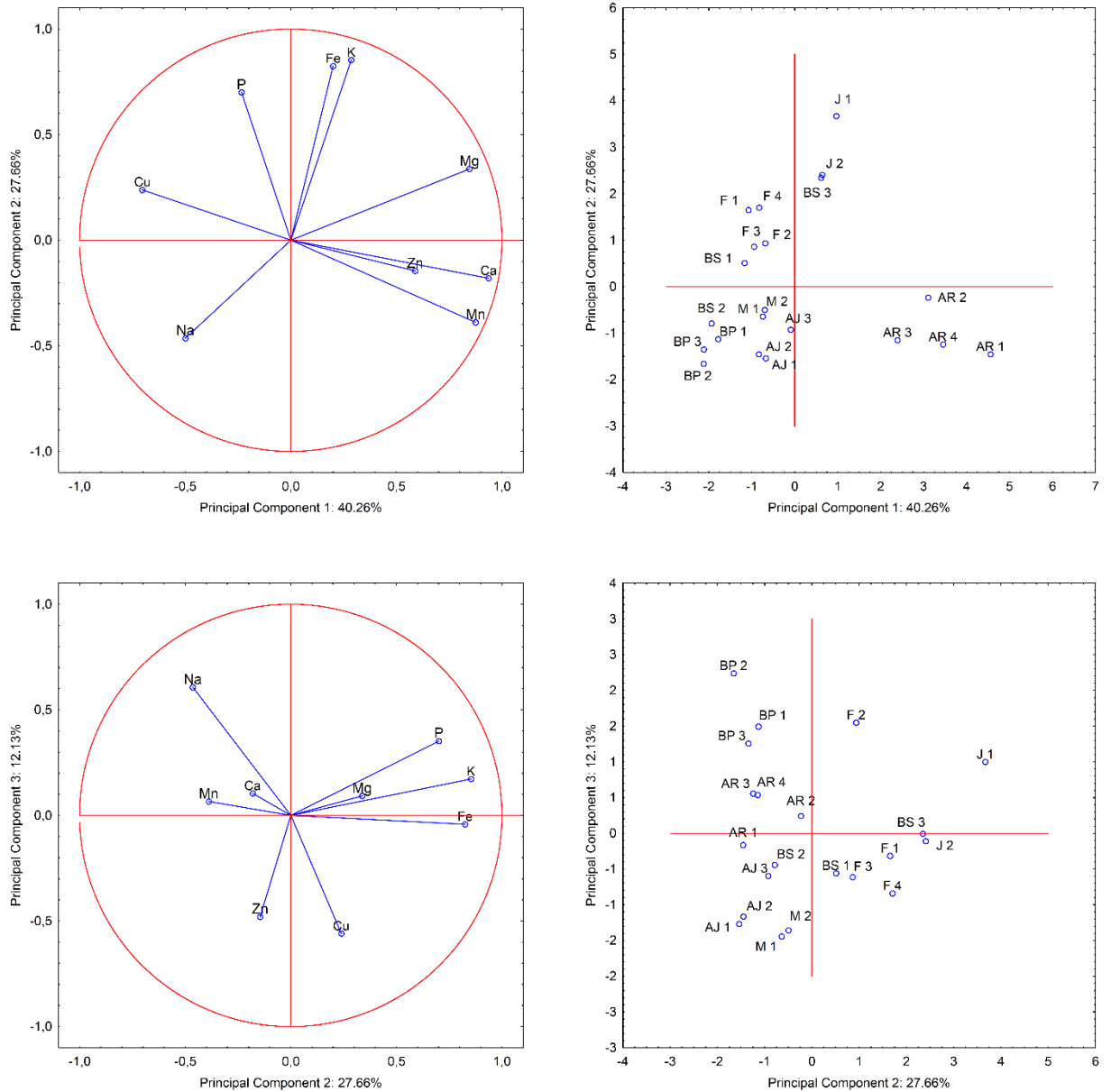
Common name in Brazil and sample number	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Zn
Jaracatiá 2	531.80 ± 1.16 ^a	1.10 ± 0.02 ^a	5.45 ± 0.23 ^a	3342.60 ± 17.38 ^b	385.24 ± 12.17 ^a	1.71 ± 0.01 ^b	<LOD	196.58 ± 2.68 ^b	1.56 ± 0.03 ^b
Maracujá do Mato 1	29.45 ± 2.27 ^b	1.08 ± 0.02 ^a	2.36 ± 0.06 ^a	1430.89 ± 32.70 ^b	108.73 ± 0.00 ^b	1.11 ± 0.03 ^a	11.33 ± 0.00 ^a	192.17 ± 2.62 ^b	3.73 ± 0.15 ^a
Maracujá do Mato 2	38.17 ± 0.66 ^a	1.07 ± 0.04 ^a	2.32 ± 0.07 ^a	1507.69 ± 17.49 ^a	114.89 ± 1.75 ^a	0.99 ± 0.01 ^b	9.89 ± 0.24 ^b	208.02 ± 0.66 ^a	3.70 ± 0.04 ^a

LOD: limit of detection.

Results expressed as dry basis and in mg.100g⁻¹. Values are the mean of 3 replications (± standard deviation).

Different lowercase superscript in the same column indicate statistically significant difference for the same species (between harvests) by Tukey test (p<0.05).

Fig 2 Principal Component Analysis (PCA) for mineral content of Açaí Juçara (AJ), Arumbeva (AR), Butiá da Praia (BP), Butiá da Serra (BS), Fisális (F), Jaracatiá (J) and Maracujá do Mato (M)



The samples of Arumbeva presented high content of calcium, magnesium, manganese, and zinc. The calcium content also stood out in Jaracatiá, which obtained the highest values for potassium. It is known that calcium intake is one of the many factors that affect the development of peak bone mass and the preservation of bone mass in adults, being an essential mineral in

the composition of bones (Balk et al., 2017). Furthermore, Brazil is included among the countries with the lowest calcium intake index (Balk et al., 2017). The Butiá da Serra exhibited the highest and lowest values for magnesium (harvest 3 and 1, respectively). Selenium was not detected in any of the samples analyzed in this study. The nutritional value of fruits is directly correlated with their mineral profile as minerals play an important role in the prevention of numerous diseases (Benevide Sereno et al., 2018). These micronutrients are involved in processes of human physiological metabolism, and proper intake is essential for the prevention of diseases related to the deficiency (Leterme, Buldgen, Estrada, & Londoño, 2006).

The significant differences between physico-chemical, centesimal composition and mineral content found in this study among different samples harvested from different locations can be explained by aspects such as soil, climate, time of the year, and genetic variability that may have influenced the outcomes (Leterme et al., 2006; Schiassi et al., 2018).

The accuracy of a method is preferably determined by the analysis of certified reference materials that have been analyzed, often using several compatible methods, by a group of skilled analysts to provide certified values together with the confidence limits of that value (Greenfield & Southgate, 2003). The results obtained for the centesimal composition of the certified reference material were (g.100g⁻¹ of fresh weight): 78.79 ± 0.14 for moisture, 0.73 ± 0.02 for ash, 1.91 ± 0.04 for protein, 0 for lipids, 0.89 ± 0.005 for total fibers and 17.69 for carbohydrates. All values were within the maximum and minimum range stipulated by the reference material, indicating the accuracy of the analytical methods and the reliability of the obtained results. In addition, the use of different methods of analysis makes it difficult to compare results between studies. Thus, the use of AOAC methodologies and the accuracy verified with the use of NIST are positive aspects of this study.

The results obtained for the composition of the native Brazilian fruits showed variation among the different harvests. In general, the fruits evaluated presented high moisture content,

low lipid content and a good amount of fiber, especially the insoluble type, which indicates high commercial potential due to their nutritional and functional properties. Regarding protein content, the highest values found for Jaracatiás indicate that this fruit represents an excellent protein source and, for lipid content, samples of Açaf Juçara and Butiá da Praia stand out.

Mineral content evaluation showed that the fruits included in this study could contribute to the adequate intake of these essential elements. Arumbeva was especially noted in calcium, magnesium, manganese and zinc, and Jaracatiá in calcium and potassium contents.

The use of the studied native species can be considered an alternative to improve the Brazilian population diet and the results of this study can stimulate the demand, consumption and cultivation of these fruits contributing to sustainable development.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Biodiversity for Food and Nutrition Project, Ministry of the Environment (MMA), Brazilian Biodiversity Fund (FUNBIO), Bioversity International, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and Global Environment Facility (GEF) by financial support and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for fellowships.

DECLARATION OF CONFLICTING INTERESTS

The Authors declare that there is no conflict of interest.

REFERENCES

AOAC. (2012). *Association of Official Analytical Chemists. Official methods of Analysis*. (19th ed.). Balk, E. M., Adam, G. P., Langberg, V. N., Earley, A., Clark, P., Ebeling, P. R., ... Dawson-Hughes, B. (2017).

- Global dietary calcium intake among adults: a systematic review. *Osteoporosis International*, 28(12), 3315–3324. <https://doi.org/10.1007/s00198-017-4230-x>
- Beltrame, D. M. O., Oliveira, C. N. S., Borelli, T., Santiago, R. A. C., Monego, E. S., Rosso, V. V., ... Hunter, D. (2016). Diversifying institutional food procurement – opportunities and barriers for integrating biodiversity for food and nutrition in Brazil. *Raizes*, 36(2), 55–69. Retrieved from <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/80207>
- Benevide Sereno, A., Bampi, M., Eloise dos Santos, I., Mary Rodrigues Ferreira, S., Labronici Bertin, R., Carneiro Hecke uger, C. K., ... Carneiro, C. (2018). Title: Mineral profile, carotenoids and composition of cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal), a wild Brazilian fruit. *Journal of Food Composition and Analysis*. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.06.001>
- BFN. (2018). BIODIVERSITY FOR FOOD AND NUTRITION PROJECT WEBSITE. Retrieved from <http://www.b4fn.org>
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917. <https://doi.org/dx.doi.org/10.1139/cjm2014-0700>
- BRASIL. Ministerio da Saúde. (2014). *Guia alimentar para a população brasileira*.
- Burlingame, B., Charrondiere, R., & Mouille, B. (2009). Food composition is fundamental to the cross-cutting initiative on biodiversity for food and nutrition. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(5), 361–365. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.05.003>
- Bvenura, C., & Sivakumar, D. (2017). The role of wild fruits and vegetables in delivering a balanced and healthy diet. *Food Research International*, 99, 15–30. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.046>
- Coradin, L., Siminski, A., & Reis, A. (2011). *Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas pra o futuro. Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial Plantas para o Futuro - Região Sul*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. <https://doi.org/978-85-7738-153-1>
- da Silva, N. A., Rodrigues, E., Mercadante, A. Z., & De Rosso, V. V. (2014). Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(22), 5072–5084. <https://doi.org/10.1021/jf501211p>
- Dai, F. J., & Chau, C. F. (2017). Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.09.006>
- Dal Magro, N. G., Coelho, S. R. M., Haida, K. S., Berté, S. D., & Moraes, S. S. de. (2006). Comparação físico-química de frutos congelados de *Butia eriospatha* (Mart.) Becc. do Paraná e Santa Catarina - Brasil. *Revista Varia Scientia*, 06(11), 33–42.
- de Siqueira, E. M. A., Rosa, F. R., Fustinoni, A. M., de Sant'Ana, L. P., & Arruda, S. F. (2013). Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional Red Delicious Apple. *PLoS ONE*, 8(8), 2–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072826>
- El Sheikha, A., Zaki, M., Bakr, A., El Habashy, M., & Montet, D. (2008). Physico-chemical properties and biochemical composition of *Physalis* (*Physalis pubescens* L.) fruits. *Global Science Books Ltd.*, 2(Randall 2001), 124–130.
- Fitzpatrick, T. B., Basset, G. J. C., Borel, P., Carrari, F., DellaPenna, D., Fraser, P. D., ... Fennie, A. R. (2012). Vitamin Deficiencies in Humans: Can Plant Science Help? *The Plant Cell Online*, 24(2), 395–414. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.093120>
- Fulton, S. L., McKinley, M. C., Young, I. S., Cardwell, C. R., & Woodside, J. V. (2016). The Effect of Increasing Fruit and Vegetable Consumption on Overall Diet: A Systematic Review and Meta-analysis. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(5), 802–816. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.727917>
- Greenfield, H., & Southgate, D. A. T. (2003). *Food composition data - production, management and use*. FAO Publishing Management Service. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3544-7>
- Hunter, D., Özkan, I., Moura de Oliveira Beltrame, D., Samarasinghe, W. L. G., Wasike, V. W., Charrondière, U. R., ... Sokolow, J. (2016). Enabled or Disabled: Is the Environment Right for Using Biodiversity to Improve Nutrition? *Frontiers in Nutrition*, 3(June), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fnut.2016.00014>
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, & Coordenação de Trabalho e Rendimento. (2011). *Pesquisa de Orçamentos Familiares: 2008-2009. Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil. Biblioteca do Ministerio do Planejamento, Orçamento e Gestão*. <https://doi.org/ISSN 0101-4234>
- Inada, K. O. P., Oliveira, A. A., Revorêdo, T. B., Martins, A. B. N., Lacerda, E. C. Q., Freire, A. S., ... Monteiro, M. C. (2015). Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. *Journal of Functional Foods*, 17, 422–433. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.002>
- INSTITUTE OF MEDICINE. (2002). Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. *Washington: National Academies Press*.

- International Organization for Standardization. (n.d.). ISO/IEC 17025:2017 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Retrieved from <https://www.iso.org/standard/66912.html>
- Leterme, P., Buldgen, A., Estrada, F., & Londoño, A. M. (2006). Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. *Food Chemistry*, 95(4), 644–652. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.003>
- Macagnan, F. T., da Silva, L. P., & Hecktheuer, L. H. (2016). Dietary fibre: The scientific search for an ideal definition and methodology of analysis, and its physiological importance as a carrier of bioactive compounds. *Food Research International*, 85, 144–154. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.04.032>
- Miller, V., Yusuf, S., Chow, C. K., Dehghan, M., Corsi, D. J., Lock, K., ... Mente, A. (2016). Availability, affordability, and consumption of fruits and vegetables in 18 countries across income levels: findings from the Prospective Urban Rural Epidemiology (PURE) study. *The Lancet Global Health*, 4(10), e695–e703. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(16\)30186-3](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(16)30186-3)
- Moura de Oliveira Beltrame, D., Neves Soares Oliveira, C., Borelli, T., Andrade Cardoso Santiago, R., Coradin, L., & Hunter, D. (2018). Brazilian underutilised species to promote dietary diversity, local food procurement, and biodiversity conservation: a food composition gap analysis. *The Lancet Planetary Health*, 2, S22. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(18\)30107-4](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(18)30107-4)
- NIST. (n.d.). National Institute of Standards and Technology – NIST - Standard Reference Material. Retrieved from https://www-s.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=2383a
- Oliveira, V. B., Yamada, L. T., Fagg, C. W., & Brandão, M. G. L. (2012). Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. *Food Research International*, 48(1), 170–179. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.03.011>
- Pereira, M. C., Steffens, R. S., Jablonski, A., Hertz, P. F., Rios, A. de O., Vizzotto, M., & Flôres, S. H. (2013). Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29(1), 19–24. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.07.013>
- Phillips, M. M., Sharpless, K. E., & Wise, S. A. (2013). Standard reference materials for food analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(13), 4325–4335. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-6890-5>
- Rigo, M., Bezzera, J. R. M. V., & Córdova, K. R. V. (2010). Study of temperature effect on rheological parameters of the butia pulp (*Butia eriopatha*). *Ambiência Guarapuava*, 6(1), 25–36.
- Schiassi, M. C. E. V., Souza, V. R. de, Lago, A. M. T., Campos, L. G., & Queiroz, F. (2018). Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. *Food Chemistry*, 245(June 2017), 305–311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.104>
- Schmeda-Hirschmann, G., Feresin, G., Tapia, A., Hilgert, N., & Theoduloz, C. (2005). Proximate composition and free radical scavenging activity of edible fruits from the Argentinian Yungas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(8), 1357–1364. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2098>
- Sganzerla, M. (2010). *Caracterização físico-química e capacidade antioxidante do butiá*. Universidade Federal de Pelotas.
- WHO. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *World Health Organization Technical Report Series*, 916, i-viii-1-149-backcover. [https://doi.org/ISBN 92 4 120916 X ISSN 0512-3054](https://doi.org/ISBN%2092%204%20120916%20X%20ISSN%200512-3054) (NLM classification: QU 145)

CAPÍTULO 6

6 MANUSCRITO 2 - POTENTIAL SOURCES OF BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANTS FROM 7 BRAZILIAN NATIVE FRUITS

Manuscrito aceito pelo periódico
CURRENT BIOACTIVE COMPOUNDS
* formatado de acordo as normas da revista

POTENTIAL SOURCES OF BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANTS FROM 7 BRAZILIAN NATIVE FRUITS

Fernanda Camboim Rockett^a, Helena de Oliveira Schmidt^a, Carlos Henrique Pagno^a, Jucelaine Possa^b, Renato Queiroz Assis^a, Viviani Ruffo de Oliveira^b, Vanuska Lima da Silva^b, Simone Hickmann Flôres^a, Alessandro de Oliveira Rios^{a*}

^aInstitute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). 9500 Bento Gonçalves Ave., Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Zip Code: 91501-970, Brazil.

^b Department of Nutrition, UFRGS, 2400 Ramiro Barcelos St., Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Zip Code: 90040-060, Brazil.

* Corresponding author:

Prof. Alessandro de Oliveira Rios

Full postal address: Institute of Food Science and Technology, UFRGS. 9500 Bento Gonçalves Ave., Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Zip Code: 91501-970, Brazil.

Telephone/Fax: +55 51 3308 9787 / +55 51 3308 7048

E-mail address: alessandro.rios@ufrgs.br

ABSTRACT:

Background: Brazil is considered a country with the highest biological biodiversity in the world and exploring this underutilized food source could diversify food production and reduce nutritional problems.

Objective: This study aimed to determine the antioxidant capacity and the bioactive compounds of seven native fruits from Brazil.

Method: The samples were obtained from different cities of Brazil after confirmation of the botanical species. Carotenoids and anthocyanins were exhaustively extracted and injected into high-performance liquid chromatography. The antioxidant capacity was determined by the capture of the free radical ABTS. Vitamin A activity was calculated based on retinol activity equivalent. Complex B and C vitamins were determined by high-performance liquid chromatography.

Result: The main carotenoid for all species was β -carotene, and Jaracatiá showed the highest amount of β -cryptoxanthin, zeaxanthin, α - and β -carotene. Açaí Juçara and the Butiás stood out among fruits analyzed with the highest antioxidant capacity (trolox equivalent). Concerning the anthocyanins, in the Açaí Juçara were identified the compounds Cyanidin 3-glucoside and Cyanidin 3-rutinoside. The values of all the compounds vary according to the harvest location. Jaracatiá is distinguished by the high vitamin A, C, B2, and B6 content, as well the Butiás (Praia and Serra), for B1, B2, B5 and B7. Vitamin B3 was only detected in Fisális fruits and Açaí showed higher content of B5.

Conclusion: Fruits included in this study had considerable amounts of bioactive compounds, vitamins and antioxidant capacity showing that they can contribute to the improvement of the population diet.

Keywords: Anthocyanins; Carotenoids; High Performance Liquid Chromatography; Native fruit; Vitamins.

1. INTRODUCTION

In Brazil, many native fruit species can be found and countless are underexploited. These fruits can be consumed in natura or used by the agroindustry for its potential, which can also benefit the health of the population and contributing to sustainable development [1]. Native species are fundamental to the ecosystem and information about their nutritional composition can stimulate consumption, including their introduction into the international market [2, 3]. Due to their antioxidant potential and because they can be considered functional foods, many native fruits have been studied by the growing interest in sustainably produced foods [4]. These fruits can be excellent nutritional sources of bioactive compounds, such as anthocyanins, carotenoids, phenolic compounds and vitamins [2, 5].

Vitamins are organic substances present in small quantities in food, involved in the metabolism of humans, and their presence in the diet is essential although, at a global population level, the vitamin status is far from being adequate [6].

Considered an important antioxidant in food, vitamin C perform primordial functions of the human organism reducing, for example, susceptibility to infections and acting on the healing and iron absorption [7, 8]. This vitamin cannot be synthesized by human, being vegetables and fruits the main sources [7–9]. Besides, a variety of B-complex vitamins (biotin, folic acid, pantothenic acid, riboflavin and thiamine) are found in fruits [9]. However, when compared to other food groups, both in animal and vegetable sources, generally the amount of these vitamins are low [9, 10], but its content should not be unvalued. This group includes compounds mostly involved in several biochemical reactions and be act like enzyme cofactors or carriers between enzymes [6].

Among the natural pigments the carotenoids have beneficial properties that are important for human health, such as antioxidant activity due to the ability to scavenging reactive oxygen species (especially singlet oxygen) and the ability

to act as a precursor of vitamin A [11, 12]. In fruits, the composition of carotenoids is complex and variable, both qualitatively and quantitatively [13] and this food group, together with the vegetables, are the ones that contribute most to the consumption of carotenoids in the general population [12].

Anthocyanins or anthocyanin compounds are the responsible flavonoids for a wide range of colors in plants such as blue, purple, violet, magenta and red. Cyanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin, and petunidin are the compounds commonly found in fruits [11, 14, 15]. This class of compounds also has potent antioxidant properties and beneficial effects on human health [14, 15].

In this context, vitamins as well as carotenoids and anthocyanins, act as natural antioxidants and can effectively eliminate free radicals [16] that are naturally produced as a by-product of human metabolism [17]. The overproduction of reactive oxygen and nitrogen species, which are the most important classes generated in living systems, can play a key role in many human chronic diseases [17].

There is a current need for individual identification and quantification of compounds present in foods [12, 13]. The determination of the total carotenoids, for example, through visible absorption at λ_{\max} of the main carotenoid, although still made and attractive for its simplicity, produces insufficient information [13]. Individual identification avoids under or overestimations and also considers the different physicochemical properties and bioactivities [12, 13]. In this context, it is important for consumers that information on the levels of compounds present in foods, especially those beneficial to human health, is available. Furthermore, the provision of nutritional information can assist health professionals in assessing the dietary intake of these compounds as well as providing information directly to consumers [18].

Based on this context, to spread the nutritional potentialities and provide novel compositional data, this research aimed to determine the antioxidant capacity and the bioactive compounds of seven native fruits from Brazil.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Chemicals and Equipment

All reagents used were of analytical grade or suitable for high-performance liquid chromatography (HPLC). Most of the chromatographic analyzes were performed on an Agilent[®] chromatograph (1100 series, Santa Clara, USA), equipped with a quaternary solvent pumping system (G1311A – DE14917573 Agilent 1100 Series, Waldbronn, Germany) with a UV-Vis detector (G1314B – DE71358944 Agilent 1200 Series, Waldbronn, Germany), and a fluorescence detector (G1321A – DE14903876 Agilent 1100 Series, Waldbronn, Germany). Vitamin C was analyzed in Waters Alliance[®] chromatograph (2695, Milford, USA) equipped with a binary solvent pump system connected to a diode-array detector (DAD 2996). Water was purified by Milli-Q[®] Integral 10 system by Merck Millipore (Millipore, Milford, USA). Millipore

membranes (Millex LCR 0.45 µm, 13 mm) were used for filtering samples and solvents. Other details can be found in the previously published work [19].

2.2 Fruits samples

The samples were obtained from different cities of the South region of Brazil after confirmation of the botanical species by a biologist. The exsiccates were deposited in the Institute of Biosciences Herbarium of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). For each species, at least two harvests were made and, when possible, up to four, from February 2016 to August 2017 at ripe stage. Table 1 shows detailed information for each harvest.

Table 1. Detailed information on the seven native fruits harvested.

Scientific name / Common name in Brazil	Edible part	Sampl e numbe r	Origin (City, State)	Geographical coordinate (GPS)	Quantity harvested	Harvest Month/yea r	Herbarium number*
<i>Euterpe edulis</i> Mart. / Açaí Juçara	Peel and pulp	1	Maquiné, RS	29°39'1.02"S 50°8'55.07"W	7.5 kg	Feb/2016	185666
		2	Florianópolis, SC	27°37'57.84"S 48°28'40.20"W	8.0 kg	May/2016	187149
		3	Dom Pedro de Alcântara, RS	29°22'37.78"S 49°51'54.61"W	12.0 kg	May/2016	185673
<i>Opuntia elata</i> Salm- Dyck / Arumbeva	Whole fruit (peel, pulp and seeds)	1	Caçapava do Sul, RS	30°49'49.87"S 53°29'56.64"W	6.0 kg	Aug/2016	187673
		2	Caçapava do Sul, RS	30°50'34.45"S 53°30'12.34"W	6.0 kg	Aug/2016	187674
		3	Caçapava do Sul, RS	30°53'27.92"S 53°28'15.69"W	6.0 kg	Aug/2016	187675
		4	Bagé, RS	30°51'51.72"S 53°42'10.13"W	5.0 kg	Sep/2016	187676
<i>Butia catarinensis</i> Noblick & Lorenzi / Butiá da Praia	Peel and pulp	1	Torres, RS	29°18'52.20"S 49°45'36.19"W	8.5 kg	Feb/2016	185667
		2	Osório, RS	29°85'24.66"S 50°22'76.86"W	7.0 kg	Mar/2016	185665
		3	Laguna, SC	28°25'27.86"S 48°47'20.87"W	6.0 kg	Mar/2016	185664
<i>Butia eriospatha</i> (Mart. ex Drude) Becc. / Butiá da Serra	Peel and pulp	1	Pinhal da Serra, RS	27°49'37.28"S 51°14'26.15"W	12.0 kg	Apr/2016	185670
		2	Pelotas, RS	31°67'80.74"S 52°44'32.71"W	5.5 kg	Apr/2016	187145
		3	Curitibanos, SC	27°11'40.63"S 50°37'04.97"W	14.0 kg	Mar/2016	194091
<i>Physalis</i> spp. / Fisális	Whole fruit (peel,	1	Morro Reuter, RS	29°32'3.93"S 51°5'37.67"W	3.0 kg	Sep/2016	193949
		2	Viamão, RS	30°5'50.71"S 50°49'58.73"W	2.0 kg	Oct/2016	193950

Scientific name / Common name in Brazil	Edible part	Sampl e numbe r	Origin (City, State)	Geographical coordinate (GPS)	Quantity harvested	Harvest Month/yea r	Herbarium number*
<i>Vasconcellea quercifolia</i> A. St.-Hil. / Jaracatiá	pulp and seeds)	3	São Francisco de Paula, RS	29°25'02.50"S 50°33'35.56"W	0.6 kg	May/2017	194853
		4	Jaraguá do Sul, SC	26°17'51.09"S 49°09'19.65"W	3.4 kg	Aug/2017	194854
	Whole fruit (peel, pulp and seeds)	1	Garibaldi, RS	29°18'44.63"S 51°36'52.58"W	2.3 kg	Mar/2017	194092
		2	Planalto Alegre, SC	27°04'28.73"S 52°51'00.65"W	1.1 kg	Feb/2017	194093
<i>Passiflora actinia</i> Hook. / Maracujá do Mato	Pulp and the seeds	1	Curitiba, PR	25°26'49.39"S 49°14'22.55"W	5.0 kg	Dec/2016	193972
		2	São José dos Pinhais, PR	25°30'45.14"S 49°12'6.94"W	5.0 kg	Dec/2016	193973 and 193974

RS: Rio Grande do Sul; SC: Santa Catarina; PR: Paraná. * Institute of Natural Sciences (ICN) Herbarium of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS).

After collection, the ripeness state was carefully checked by visual inspection (size, color, and firmness), damaged units were removed, and the only ones proper for consumption were selected (ripe). Samples underwent into a washing process in running water and were processed to obtain the edible part and homogenized (DES-20, Braesi, Caxias do Sul, RS, Brazil). The pulps were then lyophilized (L101, Liotop®, São Carlos, SP, Brazil), packed in sealed vacuum plastic bags (F200 flash, Fastvac®, Santo André, SP, Brazil) and stored below freezing temperature (-18 °C).

2.3 Carotenoids and Anthocyanins

The carotenoids were exhaustively extracted according to Rodriguez-amaya [13] methodology with acetone in Ultra-Turrax® (T 25 digital, IKA, Staufen, Germany). The chromatograms were processed at 450 nm on an Agilent® chromatograph (1100 series, Santa Clara, USA). Identification were performed by comparing sample retention times and their respective patterns under the same conditions. For quantification, a standard curve for carotenoids was constructed. The analytical curve was linear for all standards and the limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were respectively ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$): 6.90×10^{-3} and 1.15×10^{-2} for lutein; 9.56×10^{-2} and 1.59×10^{-2} for zeaxanthin; 2.11×10^{-2} and 3.51×10^{-2} for cryptoxanthin; 1.97×10^{-2} and 3.28×10^{-2} for α -carotene; 6.53×10^{-2} and 10.89×10^{-2} for β -carotene, and 7.0×10^{-3} and 33.0×10^{-3} for lycopene.

Anthocyanins were exhaustively extracted and analyzed following Zanatta et al. [20] methodology using the lyophilized sample diluted with a methanolic solution of 1% HCl and homogenized in Ultra-Turrax®. The extract was filtered and immediately injected into HPLC. The spectrum was processed at 520 nm on an Agilent® chromatograph

(1100 series, Santa Clara, USA). The identification and quantification were performed in the same way as for carotenoids. The LOD and LOQ were respectively ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$): 1.69×10^{-1} and 5.65×10^{-1} $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ to cyanidin-3-glycoside; 9.55×10^{-1} and 9.67×10^{-1} $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ to cyanidin 3-rutinoside; 2.05×10^{-1} and 3.5×10^{-1} to cyanidin-3,5-glycoside; 1.16×10^{-1} and 1.93×10^{-1} to delphinidin-3 β -glycoside; 2.35×10^{-3} and 7.85×10^{-2} to pelargonidin-3-glycoside; and 2.37×10^{-4} and 7.9×10^{-4} to pelargonidin-3,5-glycoside.

The detailed procedure including the chromatographic conditions and analysis for carotenoids and anthocyanins were previously described by Schmidt et al. [19].

2.4 Antioxidant capacity (ABTS \cdot + method)

The antioxidant capacity of the species was determined by the capture of the free radical ABTS [21]. 1 g of the lyophilized sample was homogenized in Ultra-Turrax[®] with 20 mL of methanol/water (50%) leaving the mixture to stand for 60 minutes in the dark. The extract was then centrifuged at 25,400 g/15 minutes (Himac CR21GIII, Hitachi Koki Co., Tokyo, Japan) and the supernatant was stored in a 50 mL amber volumetric flask. The same procedure was repeated with acetone (70%) and the flask was filled distilled water. In triplicate, 100 μL of each extract in three different dilutions were transferred to test tubes with 1 mL of the ABTS (diluted with ethanol) radical, which were homogenized and, after 6 minutes, read in a UV-Vis spectrophotometer (Shimadzu UV-1800) at 734 nm. During the preparation of the samples and analyzes, the degradation of the compounds was minimized by maintaining the dark environment and the temperature between 20 and 22 $^{\circ}$ C.

2.5 Vitamins

Vitamin A activity was calculated based on retinol activity equivalent (RAE) [22]. For Complex B Vitamins, the methodology of Moreschi [23] and Presoto & Almeida-Muradian [24] for B2 and B6; and Abe-Matsumoto et al. [25] for B1, B3, B5 and B7 were followed with some adaptations already described [19]. The samples were stored in amber flasks and filtered before HPLC analysis. A C₁₈ ODS Phenomenex HyperClone[™] column (120 A, 250 \times 4.6 mm, 5 μm , Allcrom[®], São Paulo, Brazil) was used following the chromatographic conditions used by Schmidt et al. [19] on an Agilent[®] chromatograph (1100 series, Santa Clara, USA). The UV-vis spectrum was obtained at 254 nm for B1 and B3 and at 209 nm for B5 and B7. For B2 and B6 the detection was done by fluorescence (excitation of 450 or 296 nm and emission of 530 or 390 nm, respectively). The analytical curve was linear for all standards and the LOD and LOQ were respectively ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$): 4.48×10^{-2} and 1.49×10^{-1} to B1; 1.28×10^{-2} and 4.28×10^{-2} to B3; 6.64×10^{-8} and 2.21×10^{-7} to B2; 1.08×10^{-6} and 3.60×10^{-6} to B6; 6.97×10^{-2} and 2.32×10^{-1} to B5; and 2.45×10^{-8} and 8.17×10^{-8} to B7. Based

on Rosa et al. [26] methodology with some modifications the determination of vitamin C was performed. 2 g of the lyophilized sample and 20 mL of 0.05 M sulfuric acid were homogenized in an Ultra-Turrax® and centrifuged (25,400 g/15 minutes). In the Waters Alliance® chromatograph (2695, Milford, USA), the vitamin was separated using a C18 polymer column (250 mm × 4.6 mm, 5 µm), 0.05 M sulfuric acid as mobile phase, a flow rate of 1 mL.min⁻¹, and an injection volume of 10 µL. The UV-vis spectrum was obtained at 254 nm and the vitamin was quantified compared to the same day injected standard.

2.6 Statistical analysis

Samples were analyzed in triplicate and the results expressed as the mean ± standard deviation. One-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test were used assuming significant differences when $p < 0.05$. When applicable, principal component analysis (PCA) was performed. All analyzes were performed on Statistica 12.0 software (StatSoft Inc.).

3. RESULTS AND DISCUSSION

Table 2 shows the carotenoid profile and antioxidant capacity of seven species evaluated. As precursors of vitamin A, carotenoids play an essential role in the diet, especially those from sources such as vegetables and fruits [5, 14].

Table 2. Carotenoid composition and antioxidant capacity of seven native fruits from Brazil.

Common name in Brazil and sample number	Lutein	Zeaxanthin	β -cryptoxanthin	α -carotene	β -carotene	Total Carotenoids	ABTS 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoli ne-6-sulfonic acid
Açaí Juçara 1	2228.02 ± 287.67 ^a	76.89 ± 11.72 ^a	<LOD	678.62 ± 47.77 ^a	3820.61 ± 248.42 ^a	6804.14 ± 522.02 ^a	355.31 ± 23.04 ^a
Açaí Juçara 2	1641.25 ± 6.04 ^b	74.39 ± 1.76 ^a	<LOD	374.44 ± 55.65 ^b	2385.41 ± 122.44 ^c	4475.49 ± 156.94 ^b	104.83 ± 12.19 ^c
Açaí Juçara 3	1146.56 ± 18.56 ^c	63.71 ± 1.67 ^a	<LOD	91.51 ± 10.82 ^c	2965.26 ± 422.91 ^b	4267.04 ± 417.98 ^b	230.80 ± 14.35 ^b
Arumbeva 1	999.31 ± 128.95 ^a	211.37 ± 15.40 ^a	<LOD	103.18 ± 5.90 ^a	1497.75 ± 124.92 ^a	2811.62 ± 164.57 ^a	65.41 ± 1.87 ^c
Arumbeva 2	996.52 ± 106.69 ^a	189.55 ± 5.65 ^b	<LOD	96.85 ± 5.16 ^a	1379.95 ± 99.42 ^a	2662.87 ± 189.67 ^a	89.14 ± 3.82 ^a
Arumbeva 3	746.06 ± 29.97 ^b	117.13 ± 3.46 ^c	<LOD	59.03 ± 4.78 ^b	1108.98 ± 103.45 ^b	2031.19 ± 74.99 ^b	46.96 ± 0.53 ^d
Arumbeva 4	581.36 ± 68.63 ^b	61.22 ± 3.10 ^d	<LOD	55.92 ± 1.70 ^b	877.64 ± 114.48 ^b	1540.47 ± 163.24 ^c	72.23 ± 2.91 ^b
Butiá da Praia 1	947.55 ± 89.40 ^a	<LOD	<LOD	<LOD	26944.90 ± 1330.41 ^a	27892.45 ± 1241.14 ^a	103.41 ± 9.15 ^a
Butiá da Praia 2	549.26 ± 68.01 ^b	<LOD	<LOD	<LOD	16722.33 ± 2518.43 ^b	17271.59 ± 2518.43 ^b	102.46 ± 12.33 ^a
Butiá da Praia 3	785.74 ± 32.05 ^a	<LOD	<LOD	<LOD	8753.76 ± 231.16 ^c	9539.49 ± 230.66 ^c	66.71 ± 7.99 ^b
Butiá da Serra 1	841.50 ± 2.37 ^a	133.31 ± 1.21 ^a	<LOD	<LOD	8658.66 ± 1228.42 ^b	9633.46 ± 1225.61 ^b	219.44 ± 4.94 ^a
Butiá da Serra 2	837.31 ± 70.81 ^a	91.48 ± 3.33 ^b	<LOD	<LOD	10764.96 ± 401.75 ^a	11693.75 ± 413.07 ^a	152.04 ± 17.35 ^b
Butiá da Serra 3	927.43 ± 86.74 ^a	129.32 ± 9.01 ^a	<LOD	<LOD	3733.17 ± 471.76 ^c	4789.93 ± 439.93 ^c	186.09 ± 21.19 ^{a,b}
Fisális 1	806.18 ± 40.49 ^b	198.85 ± 17.68 ^a	266.66 ± 4.48 ^a	319.25 ± 23.73 ^b	9499.73 ± 865.62 ^a	11090.67 ± 947.79 ^a	5.27 ± 0.57 ^c
Fisális 2	587.08 ± 31.30 ^c	86.32 ± 9.29 ^b	140.10 ± 18.62 ^c	164.99 ± 5.23 ^c	4607.66 ± 66.99 ^b	5586.15 ± 54.13 ^b	26.36 ± 1.68 ^b
Fisális 3	566.94 ± 53.72 ^c	205.48 ± 14.60 ^a	202.70 ± 22.50 ^b	337.18 ± 16.13 ^b	10258.25 ± 1077.84 ^a	11519.18 ± 1247.60 ^a	8.47 ± 1.09 ^c
Fisális 4	1111.39 ± 124.11 ^a	183.13 ± 5.59 ^a	247.98 ± 16.93 ^a	413.39 ± 14.99 ^a	9556.09 ± 310.12 ^a	11511.98 ± 458.55 ^a	33.19 ± 4.31 ^a
Jaracatiá 1	941.02 ± 73.19 ^b	303.27 ± 36.36 ^a	310.62 ± 2.34 ^b	280.03 ± 15.02 ^b	25526.83 ± 3736.14 ^b	27361.77 ± 3821.20 ^b	69.99 ± 3.47 ^a
Jaracatiá 2	1326.42 ± 155.53 ^a	324.00 ± 20.53 ^a	453.76 ± 63.15 ^a	781.18 ± 74.55 ^a	44209.10 ± 4622.10 ^a	47094.47 ± 4931.03 ^a	75.28 ± 6.17 ^a
Maracujá do Mato 1	82.77 ± 3.17 ^a	23.72 ± 1.08 ^b	29.65 ± 4.00 ^b	<LOD	613.55 ± 35.43 ^a	749.69 ± 37.39 ^a	27.08 ± 1.38 ^b
Maracujá do Mato 2	94.54 ± 9.48 ^a	47.28 ± 2.08 ^a	43.34 ± 5.56 ^a	<LOD	538.41 ± 14.56 ^b	709.20 ± 24.52 ^a	43.51 ± 1.67 ^a

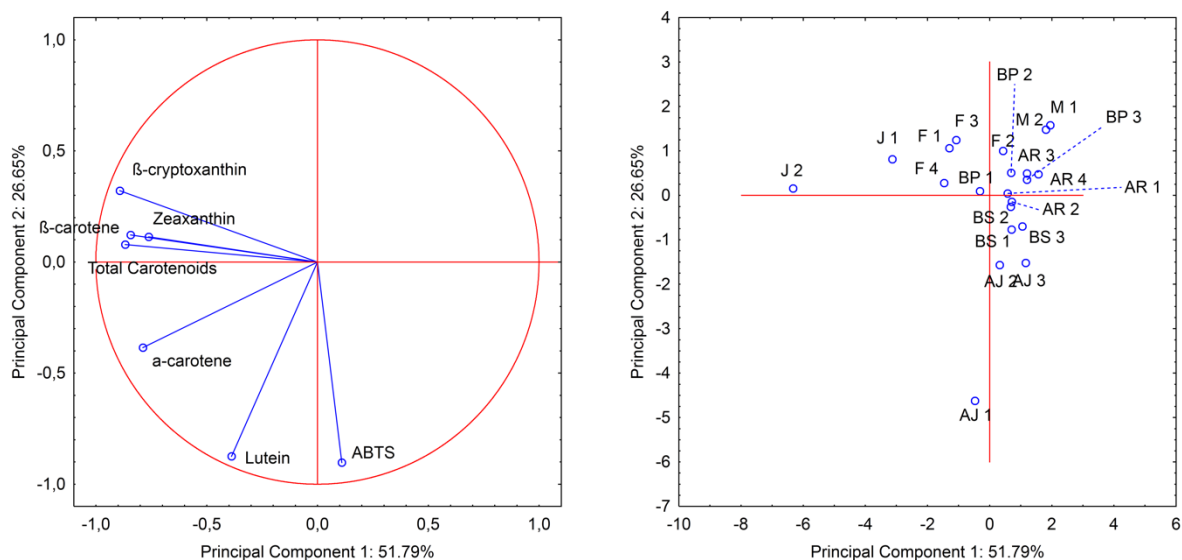
LOD: limit of detection. Lycopene was not found in any of the fruits analyzed.

Results expressed as dry basis and in $\mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ (Carotenoids) and in Trolox equivalent $\mu\text{Mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (ABTS). Values are the mean of 3 replications (\pm standard deviation).

Different lowercase superscript letters in the same column indicate statistically significant difference for the same species (between harvests) by Tukey test ($p < 0.05$).

In order to facilitate the visualization of the results, the Principal Components (PC) 1 and 2 include carotenoids profile and the antioxidant capacity and represent the PCA in 78.43% of the total (Fig. 1). According to Table 2 and Figure 1, the sample 2 of Jaracatiá showed the highest amount of α - and β -carotene, β -cryptoxanthin and zeaxanthin thus obtaining the highest total carotenoids content.

Figure 1. Bioactive compounds of Açai Juçara (AJ), Arumbeva (AR), Butiá da Praia (BP), Butiá da Serra (BS), Fisális (F), Jaracatiá (J) and Maracujá do Mato (M) in the Principal Component Analysis (PCA). ABTS: 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid).



Despite the variation of content between the different harvests, the main carotenoid for all species was β -carotene, which has the highest potential of vitamin A and is usually the major one in fruits [13]. The results were also calculated on a wet basis for comparison with other species. Jaracatiá presented similar amounts of β -carotene (average data $34868 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ dry weight (dw) and $5329 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fresh weight (fw)) when compared to carrot ($5360 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [5] and higher to other fruits, such as mango ($2500 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [27] and papaya ($610 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [27]. However showed a lower value when compared to apricot ($17000 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [5] and buriti ($36400 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) - Brazilian food with the highest known β -carotene concentration [27]. For α -carotene the amount found in Jaracatiá (average data $531 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ dw and $78 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) was higher than cashew ($50 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [27], but lower than in acerola ($110 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) and carrots ($4500 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [5].

For β -cryptoxanthin, the value found in Jaracatiá was also high (average data $382.19 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ dw and $59 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw), but lower when compared to papaya ($700\text{-}860 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [27, 28], peach ($640 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [28] and nectarine ($420 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [27], fruits that are sources of this compound. In particular, lutein, present in all fruits studied, and zeaxanthin can prevent age-related ocular diseases (mainly macular degeneration) [13, 18, 29]. Both xanthophylls, commonly available in yellow and orange fruits/vegetables or green leafy vegetables, can potentially prevent or delay the onset of these diseases and contribute substantially to eye health if consumed regularly [18, 29]. Açaí Juçara presented higher amounts of lutein (average data $1671 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ dw and $617 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) which is lower than that found in sources such as kale ($6522 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [5] and other fruit such as mango ($3170 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [5], but higher when compared to acerola ($130 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [5]. The amount of zeaxanthin was higher in Jaracatiá (average data $314 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ dw and $50 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) when compared to a native Amazon fruit camu-camu ($30 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [27] but lower when compared to mango ($80\text{-}150 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [5, 27] and buriti ($2000 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [27]. Fisális and Jaracatiá were the fruits that presented a complete profile of the analyzed carotenoids. It is known that carotenoids act together with other chemical constituents and may be associated with fatty acids, proteins, sugars or other compounds and as a consequence may alter chemical and physical properties, influencing their biological function [30, 31]. Knowledge about the composition of carotenoids may be useful in the selection of plants rich in a particular compound for the adequacy of dietary recommendation and of the foods fortification, indicating prospects for the use of these species and their by-products [5].

The ABTS discoloration test is an *in vitro* method applicable to lipophilic and hydrophilic antioxidants and is one of the most popular assays [16, 32]. Vitamins, phenolic compounds and carotenoids, abundantly present in fruits in our daily diet, are the main natural antioxidants responsible for the human body defensive effects [3, 16]. In this work, the Açaí Juçara and the Butiás stood out among fruits analyzed with the highest values of Trolox equivalent. The relationship between antioxidant capacity and some of the bioactive compounds analyzed (carotenoids, vitamin C and / or anthocyanins) was also evident for these three species, although the high content of total carotenoids (in Fisális and Jaracatiá) and vitamin C (in Arumbeva and Jaracatiá) did not reflect high values in ABTS. These results may demonstrate some limitation of the chosen method. The antioxidant capacity of Açaí Juçara stands out in several studies, regardless of the assay used, presenting important functional properties [33, 34]. The high antioxidant capacity of Açaí Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) is due the anthocyanins and studies show that it is higher than in *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria* [35]. Other study also emphasized the antioxidant capacity of Butiá when compared to other Brazilian native fruits [36]. Comparatively, the average value of Açaí Juçara ($230 \mu\text{Mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$) and Butiá da Serra ($186 \mu\text{Mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$) surpassed the values found in the other açaí - *Euterpe oleracea* - ($95 \mu\text{M Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ dw) [1], cashew ($85 \mu\text{Mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$

dw) [1] and uvaia (168 $\mu\text{Mol Trolox.g}^{-1}$ dw) [1]. However, they showed lower values than the ones found in jaboticaba (266 $\mu\text{Mol Trolox.g}^{-1}$ dw) [1], acerola (1073 $\mu\text{Mol Trolox.g}^{-1}$ dw) [1] and camu-camu (1500 $\mu\text{Mol Trolox.g}^{-1}$ dw) [1].

As expected, only Açai Juçara presented anthocyanins and two were identified. The amounts found in samples 1, 2 and 3 were, respectively (mg.100g^{-1} dw): 11320.21 ± 394.02 , 6356.60 ± 698.25 and 3578.16 ± 36.09 for Cyanidin 3 glucoside; 15804.06 ± 777.84 , 8932.72 ± 981.23 and 5188.60 ± 52.33 for Cyanidin 3 rutinoside; 27124.27 ± 1171.86 , 15289.32 ± 1679.49 and 8766.76 ± 88.42 for total anthocyanins. Sample 1 showed the higher amounts, and all values differed significantly between harvests. The species analyzed are very similar to another one found in the country (*Euterpe oleracea*); however, in contrast to the use of the fruit, the extraction of the palm heart is the main commercial activity, which in an illegal way contributes to the species being endangered [33, 34]. In other studies that analyzed Açai Juçara, lower values were found (47-61 mg.100g^{-1} and for cyanidin 3-glucoside and 179-195 mg.100g^{-1} for Cyanidin 3-rutinoside) although Cyanidin-3-O-rutinoside has also been the main compound [33, 37].

The co-presence of different phytochemicals may result in synergism or antagonism in biological activities such as inhibition of oxidation, inflammation and proliferation of cancer cells [31]. Although the combined activities of carotenoids and anthocyanins have not yet been elucidated [31], the presence of both pigments in Açai Juçara deserves attention because, in general, fruits have only one class of pigments.

The influence of the edaphoclimatic factors is clear since the values of all the compounds vary according to the location of the harvest. The chemical composition of the fruits is strongly determined by local environmental factors, mainly by the influence of climate and soil, radiation, temperature, humidity, air current, as well as fruit characteristics, such as maturation and storage conditions. When combined, these factors can influence the nutrient content of the plant by altering its phytochemical metabolism [38, 39].

Table 3 shows the results of the vitamins. In the Figure 2, vitamins are represented by PC 1 and 2, with the exception of vitamin B5, which is represented by PC 3. The three components represent 75.18. % of total. According to these results, the samples of Jaracatiá are distinguished by the high vitamin A, vitamin C, B2 and B6 content (Fig. 2), as well as the Butiás (Praia and Serra) presented high values for some B vitamins (B1, B2, B5 and B7). Vitamin B3 was detected only in the Fisális samples. For vitamin B5, the samples of Açai showed the higher content.

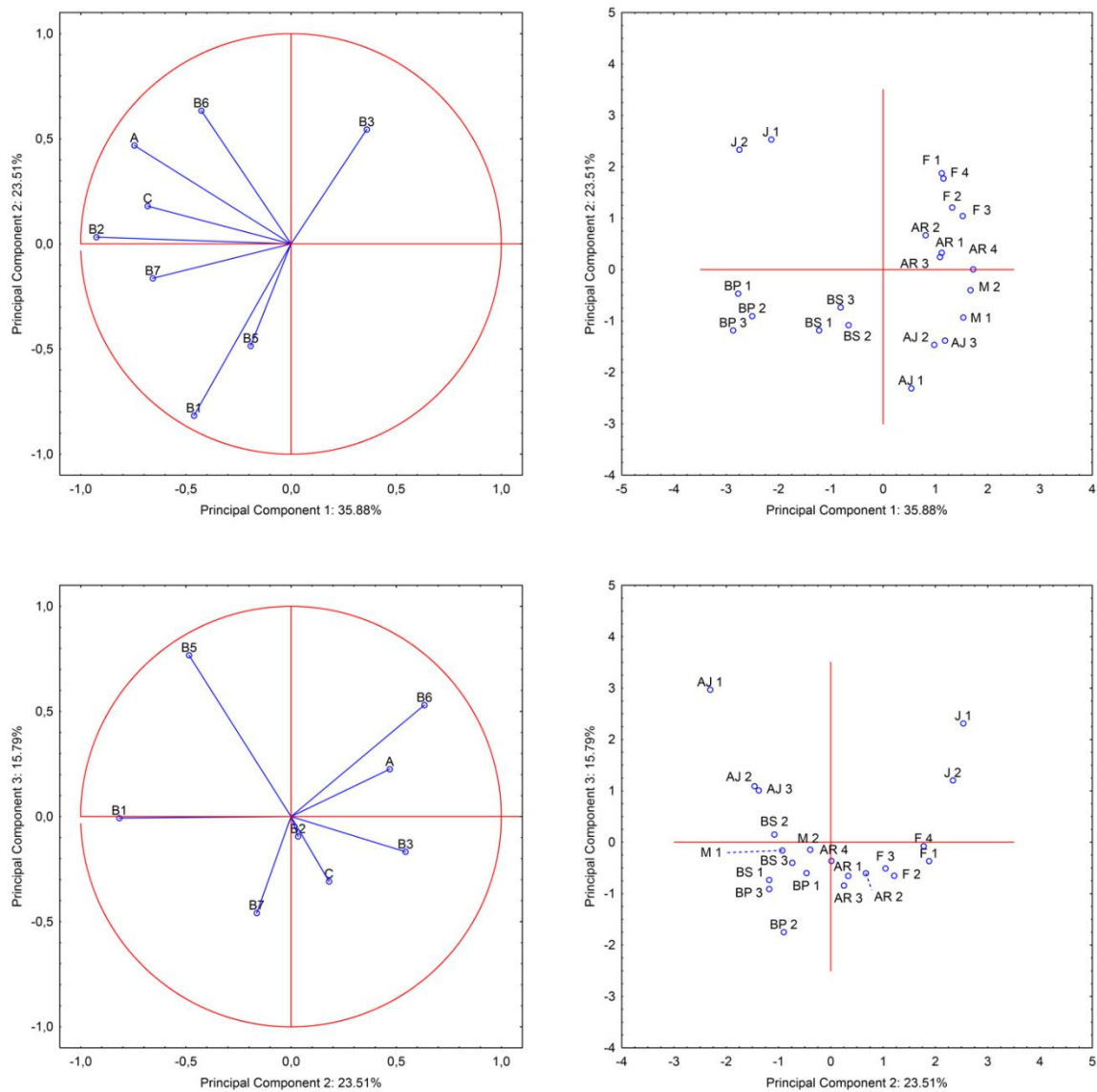
Table 3. Vitamins of seven native fruits from Brazil.

Common name in Brazil and sample number	Vitamin A	Thiamine (B1)	Riboflavin (B2)	Niacin (B3)	Pantothenic Acid (B5)	Pyridoxine (B6)	Biotin (B7)	Vitamin C
Açaí Juçara 1	346.66 ± 22.65 ^a	0.060 ± 0.001 ^a	0.07 ± 0.00 ^b	<LOD	8.20 ± 0.07 ^a	2.34 ± 0.03 ^a	0.006 ± 0.001 ^a	8.66 ± 0.19 ^a
Açaí Juçara 2	214.39 ± 11.86 ^b	0.056 ± 0.002 ^b	0.08 ± 0.01 ^b	<LOD	3.94 ± 0.11 ^b	2.15 ± 0.10 ^b	0.002 ± 0.000 ^b	2.87 ± 0.51 ^c
Açaí Juçara 3	250.92 ± 35.66 ^b	0.033 ± 0.001 ^c	0.15 ± 0.01 ^a	<LOD	4.63 ± 0.49 ^b	1.56 ± 0.04 ^c	0.004 ± 0.001 ^b	6.11 ± 0.50 ^b
Arumbeva 1	129.11 ± 10.50 ^a	0.013 ± 0.002 ^b	0.06 ± 0.01 ^a	<LOD	0.92 ± 0.01 ^b	2.05 ± 0.15 ^a	0.002 ± 0.000 ^c	382.96 ± 1.98 ^c
Arumbeva 2	119.03 ± 8.49 ^a	0.010 ± 0.000 ^c	0.04 ± 0.00 ^b	<LOD	0.99 ± 0.03 ^a	2.41 ± 0.25 ^a	0.005 ± 0.000 ^b	537.76 ± 9.19 ^a
Arumbeva 3	94.87 ± 8.55 ^b	0.013 ± 0.000 ^{a,b}	0.03 ± 0.00 ^c	<LOD	0.93 ± 0.03 ^b	1.96 ± 0.18 ^a	0.030 ± 0.001 ^a	418.52 ± 9.38 ^b
Arumbeva 4	75.00 ± 10.53 ^b	0.016 ± 0.001 ^a	0.05 ± 0.00 ^{a,b}	<LOD	0.91 ± 0.00 ^b	1.95 ± 0.17 ^a	0.004 ± 0.000 ^{b,c}	60.47 ± 10.48 ^d
Butiá da Praia 1	2245.41 ± 110.87 ^a	0.055 ± 0.005 ^b	0.57 ± 0.00 ^b	<LOD	2.66 ± 0.23 ^a	2.38 ± 0.02 ^a	0.374 ± 0.040 ^a	253.29 ± 8.27 ^c
Butiá da Praia 2	1395.70 ± 210.11 ^b	0.057 ± 0.004 ^b	0.49 ± 0.01 ^c	<LOD	2.27 ± 0.07 ^b	1.52 ± 0.05 ^b	0.304 ± 0.016 ^b	731.84 ± 30.74 ^a
Butiá da Praia 3	729.48 ± 19.26 ^c	0.069 ± 0.004 ^a	0.70 ± 0.01 ^a	<LOD	2.97 ± 0.05 ^a	2.59 ± 0.16 ^a	0.371 ± 0.020 ^{a,b}	410.09 ± 31.79 ^b
Butiá da Serra 1	721.55 ± 102.37 ^b	0.067 ± 0.002 ^b	0.37 ± 0.01 ^c	<LOD	2.56 ± 0.07 ^a	1.76 ± 0.12 ^b	0.092 ± 0.016 ^a	620.78 ± 5.63 ^a
Butiá da Serra 2	897.08 ± 33.48 ^a	0.076 ± 0.003 ^a	0.43 ± 0.01 ^b	<LOD	2.04 ± 0.02 ^b	2.29 ± 0.15 ^a	0.021 ± 0.003 ^b	168.17 ± 3.11 ^c
Butiá da Serra 3	314.61 ± 39.57 ^c	0.052 ± 0.002 ^c	0.58 ± 0.01 ^a	<LOD	2.11 ± 0.05 ^b	2.08 ± 0.14 ^{a,b}	0.030 ± 0.006 ^b	379.27 ± 68.12 ^b
Fisális 1	816.06 ± 73.20 ^a	0.008 ± 0.000 ^b	0.17 ± 0.01 ^b	0.08 ± 0.01 ^a	1.70 ± 0.03 ^a	2.66 ± 0.10 ^a	0.100 ± 0.008 ^b	129.20 ± 8.39 ^a
Fisális 2	396.68 ± 6.57 ^b	0.008 ± 0.000 ^d	0.21 ± 0.01 ^a	0.06 ± 0.00 ^b	1.41 ± 0.02 ^b	2.30 ± 0.05 ^{a,b}	0.126 ± 0.002 ^a	16.26 ± 1.33 ^c
Fisális 3	851.42 ± 91.82 ^a	0.008 ± 0.000 ^c	0.16 ± 0.02 ^b	0.05 ± 0.00 ^c	1.30 ± 0.00 ^b	1.80 ± 0.01 ^b	0.016 ± 0.000 ^d	99.30 ± 12.78 ^b
Fisális 4	823.90 ± 26.93 ^a	0.009 ± 0.000 ^a	0.18 ± 0.01 ^{a,b}	0.06 ± 0.00 ^b	1.48 ± 0.14 ^b	2.76 ± 0.43 ^a	0.039 ± 0.004 ^c	111.83 ± 10.80 ^{a,b}
Jaracatiá 1	2151.85 ± 311.63 ^b	0.008 ± 0.000 ^a	0.48 ± 0.00 ^b	<LOD	3.39 ± 0.21 ^a	5.16 ± 0.20 ^a	0.019 ± 0.001 ^b	471.86 ± 57.35 ^b
Jaracatiá 2	3735.55 ± 390.82 ^a	0.008 ± 0.000 ^b	0.56 ± 0.05 ^a	<LOD	2.80 ± 0.28 ^b	3.45 ± 0.04 ^b	0.025 ± 0.002 ^a	599.32 ± 28.84 ^a
Maracujá do Mato 1	54.54 ± 2.87 ^a	0.036 ± 0.002 ^a	0.03 ± 0.00 ^b	<LOD	2.01 ± 0.20 ^a	1.61 ± 0.04 ^b	0.015 ± 0.001 ^a	73.29 ± 3.57 ^b
Maracujá do Mato 2	46.67 ± 0.98 ^b	0.016 ± 0.001 ^b	0.05 ± 0.00 ^a	<LOD	1.98 ± 0.17 ^a	1.69 ± 0.01 ^a	0.016 ± 0.002 ^a	85.93 ± 4.14 ^a

LOD: limit of detection. Results expressed as dry basis and in mg.100g⁻¹ (Complex B and C vitamins) and in µg.100g⁻¹ retinol activity equivalent - RAE (vitamin A). Values are the mean of 3 replications (± standard deviation).

Different lowercase superscript letters in the same column indicate statistically significant difference for the same species (between harvests) by Tukey test (p<0.05).

Figure 2. Vitamins of Açai Juçara (AJ), Arumbeva (AR), Butiá da Praia (BP), Butiá da Serra (BS), Fisális (F), Jaracatiá (J) and Maracujá do Mato (M) in the Principal Component Analysis (PCA).



When compared to acerola ($124 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [40], papaya ($64.2 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [40] and mango ($59 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [40], Jaracatiá showed higher contents of Vitamin A (average data $2943 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ dw and $450 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) although less than the carrot ($663 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ fw) [40].

Even though the values found for vitamins are low compared to other sources, fruits have outstanding amounts that cannot be neglected, as these nutrients are essential for human nutrition, even in small amounts. The quantification of vitamin C becomes important by the potential application of this compound in different industries (cosmetic, food, nutraceutical and pharmaceutical) [7]. Significant differences in total vitamin C content between different locations were observed for all fruits (Table 3 and Fig. 2). On average amount for different harvests, Arumbeva, Butiá da Praia, Butiá da

Serra and Jaracatiá are distinguished by the vitamin C content (349, 465, 389 and 508 mg.100g⁻¹ dw, respectively). These results are superior to lemon (304 mg.100g⁻¹ dw) [41], and comparable to uvaia (367 mg.100g⁻¹ dw) [1], kiwi (501 mg.100g⁻¹ dw) [41], açai (528 mg.100g⁻¹ dw) [1], red guava (537 mg.100g⁻¹ dw) [41]. Nevertheless, when compared to orange [41], strawberry [41], cashew [1], acerola [1] and camu-camu [1] (731, 751, 1450, 15078 and 18451 mg.100g⁻¹ dw, respectively), these fruits have superior values of vitamin C [1].

For thiamine (B1), the values found in the samples of Açai Juçara and Butiás (Praia e Serra) are similar to other fruits such grape and mango (0.02 mg.100g⁻¹ fw) [41] and for riboflavin (B2) the values found in the samples Butiás da Praia are similar to other fruits such as acerola, pitanga, graviola and pomegranate (0.1 mg.100g⁻¹ fw) [41]. For vitamin B6, Açai Juçara and Jaracatiá samples obtained higher values than plum (> 0.7 vs. 0.37 mg.100g⁻¹ fw) [41] and for vitamin B5, concentrations in Açai Juçara (2.0 mg.100g⁻¹ fw) are lower than those found for a rich source like chicken egg (2.3 mg.100g⁻¹ fw) but higher when compared with avocado (0.89 mg.100g⁻¹ fw) [42]. For Butiá da Praia, the biotin content was lower than in bananas (0.05 vs. 0.09 mg.100g⁻¹ fw) [43].

The vitamin contribution of each fruit concerning the Dietary Reference Intake [22] for a healthy male adult was calculated in % per 100 g. The consumption of 100 g of fresh fruit makes up 45% of the daily requirements for vitamin A (Jaracatiá), 50% for vitamin C (Arumbeva, Butiá da Praia, Butiá da Serra and Jaracatiá), approximately 7% for vitamin B2 (Butiá da Praia and Jaracatiá), above 30% for vitamin B5 (Açai Juçara) and vitamin B6 (Açai Juçara, Butiá da Praia, Fisális, Jaracatiá, Maracujá do Mato) and achieve the recommendations of vitamin B7 (Butiá da Praia).

4. CONCLUSION

Our results indicate that the fruits included in this study presented in their composition considerable amounts of bioactive compounds and antioxidant capacity, which may represent a potential commercial value for its nutritional and functional properties. For species that are underutilized, detailed information on its composition can be used in the selection of nutrient rich plants and subsequent food formulation. In addition, the consumption of some of these fruits reaches a considerable percentage of the daily recommendations of vitamin intake, showing that they can contribute to the improvement of the population diet. Due to their content in nutritionally valuable compounds, their use and consumption might be encouraged.

CONFLICT OF INTEREST

None of the authors have any conflicts of interest to declare.

AVAILABILITY OF DATA AND MATERIALS

The data supporting the findings of the article is available in the Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira at <https://ferramentas.sibbr.gov.br/ficha/bin/view/FN>.

ACKNOWLEDGEMENTS

The Biodiversity for Food and Nutrition Project, Ministry of the Environment (MMA), Brazilian Biodiversity Fund (FUNBIO), Bioversity International, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and Global Environment Facility (GEF) by financial support and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for fellowships.

REFERENCES

- [1] Rufino M do SM, Alves RE, de Brito ES, et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chem* **2010**; 121: 996–1002.
- [2] Schiassi MCEV, Souza VR de, Lago AMT, et al. Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. *Food Chem* **2018**; 245: 305–311.
- [3] Silva KDRR, Sirasa MSF. Antioxidant properties of selected fruit cultivars grown in Sri Lanka. *Food Chem* **2018**; 238: 203–208.
- [4] Fuentes L, Valdenegro M, Gómez MG, et al. *Characterization of fruit development and potential health benefits of arrayan (Luma apiculata), a native berry of South America*. Elsevier Ltd. Epub ahead of print **2016**. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.10.003.
- [5] Saini RK, Nile SH, Park SW. *Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities*. Elsevier B.V. Epub ahead of print **2015**. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.07.047.
- [6] Fitzpatrick TB, Basset GJC, Borel P, et al. Vitamin Deficiencies in Humans: Can Plant Science Help? *Plant Cell Online* **2012**; 24: 395–414.
- [7] Cunha-Santos ECE, Viganó J, Neves DA, et al. Vitamin C in camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh]: evaluation of extraction and analytical methods. *Food Res Int* **2019**; 115: 160–166.
- [8] Phillips KM, Tarragó-Trani MT, Gebhardt SE, et al. Stability of vitamin C in frozen raw fruit and vegetable homogenates. *J Food Compos Anal* **2010**; 23: 253–259.
- [9] Pither R. *Food and Nutritional Analysis/Fruits and Fruit Products*. 2005. Epub ahead of print **2005**. DOI: 10.1007/978-3-540-69934-7_19.
- [10] Pennington JAT, Fisher RA. Food component profiles for fruit and vegetable subgroups. *J Food Compos Anal* **2010**; 23: 411–418.
- [11] Srinivasan Damodaran, Kirk L, Parkin ORF. *Química de Alimentos de Fennema*. **2010**; 611–660.
- [12] Vargas-Murga L, de Rosso V V., Mercadante AZ, et al. Fruits and vegetables in the Brazilian Household Budget Survey (2008-2009): Carotenoid content and assessment of individual carotenoid intake. *J Food Compos Anal* **2016**; 50: 88–96.
- [13] Rodriguez-amaya DB. *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. ILSI Human. Campinas, SP, Brazil, <http://beauty-review.nl/wp-content/uploads/2014/11/A-guide-to-carotenoid-analysis-in-foods.pdf> (**2001**).
- [14] Rodriguez-Amaya DB. Update on natural food pigments - A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Res Int* **2019**; 124: 200–205.
- [15] Dini C, Zaro MJ, Vina S. Bioactivity and functionality of anthocyanins: A review. *Curr Bioact Compd* **2018**; 15: 507–523.
- [16] Zang S, Tian S, Jiang J, et al. Determination of antioxidant capacity of diverse fruits by electron spin resonance (ESR) and UV–vis spectrometries. *Food Chem* **2017**; 221: 1221–1225.
- [17] Li Y, Zhang JJ, Xu DP, et al. Bioactivities and health benefits of wild fruits. *Int J Mol Sci* **2016**; 17: E1258.
- [18] Bernstein PS, Li B, Vachali PP, et al. Lutein, zeaxanthin, and meso-zeaxanthin: The basic and clinical science underlying carotenoid-based nutritional interventions against ocular disease. *Prog Retin Eye Res* **2016**; 50: 34–66.
- [19] Schmidt H de O, Rockett FC, Pagno CH, et al. Vitamin and bioactive compound diversity of seven fruit species from south Brazil. *J Sci Food Agric* **2019**; 99: 3307–3317.

- [20] Zanatta CF, Cuevas E, Bobbio FO, et al. Determination of anthocyanins from Camu-camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR. *J Agric Food Chem* **2005**; 53: 9531–9535.
- [21] Rufino M do SM, Alves RE, Brito ES de, et al. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. *Comun Técnico I28* **2007**; 23: 1–4.
- [22] Institute of Medicine. *Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Dietary Allowances and Adequate Intakes, Vitamins*. **2011**.
- [23] Moreschi ECP. *Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos e avaliação da estabilidade de vitaminas hidrossolúveis em alimentos*. Universidade de São Paulo, **2006**.
- [24] Presoto EAF, Almeida-Muradian LB. Validation of hplc methods for analysis of vitamins B1, B2, B6 and niacin naturally present in cereal flours. *Quim Nova* **2008**; 31: 498–502.
- [25] Abe-Matsumoto LT, Sampaio GR, Bastos DHM. Validation and application of chromatographic methods for determination of vitamins in supplements. **2016**; 1–14.
- [26] Rosa JS da, Godoy RL de O, Oiano Neto J, et al. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. *Ciência e Tecnol Aliment* **2007**; 27: 837–846.
- [27] Rodriguez-Amaya D, Kimura M, Amaya-Farfan J. *Fontes Brasileiras de Carotenoides. Tabela Brasileira de Composição de Carotenóides em Alimentos*. **2008**.
- [28] Sentanin M, Rodriguez-Amaya D. Teores de carotenóides em mamão e pêssego determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. *Ciênc Tecnol Alim* **2007**; 27: 13–19.
- [29] Nwachukwu ID, Udenigwe CC, Aluko RE. Lutein and zeaxanthin: Production technology, bioavailability, mechanisms of action, visual function, and health claim status. *Trends Food Sci Technol* **2016**; 49: 74–84.
- [30] Rodriguez-Concepcion M, Avalos J, Bonet ML, et al. A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. *Prog Lipid Res* **2018**; 70: 62–93.
- [31] Phan MAT, Paterson J, Bucknall M, et al. Interactions between phytochemicals from fruits and vegetables: Effects on bioactivities and bioavailability. *Crit Rev Food Sci Nutr* **2018**; 58: 1310–1329.
- [32] Alam MN, Bristi NJ, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm J* **2013**; 21: 143–152.
- [33] Inada KOP, Oliveira AA, Revorêdo TB, et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. *J Funct Foods* **2015**; 17: 422–433.
- [34] Raupp P, Monteiro P, Carvalho A, et al. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of acai (*Euterpe oleracea*) genotypes. *Curr Bioact Compd*. Epub ahead of print **2018**. DOI: 10.2174/1573407214666180926124149.
- [35] Schulz M, da Silva Campelo Borges G, Gonzaga LV, et al. Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): Sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. *Food Res Int* **2016**; 1–13.
- [36] Pereira MC, Steffens RS, Jablonski A, et al. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. *J Food Compos Anal* **2013**; 29: 19–24.
- [37] da Silva NA, Rodrigues E, Mercadante AZ, et al. Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic forest. *J Agric Food Chem* **2014**; 62: 5072–5084.
- [38] Assanga SI, Luján LL, Rivera-Castañeda E, et al. Effect of maturity and harvest season on antioxidant activity, phenolic compounds and ascorbic acid of *Morinda citrifolia* L. (noni) grown in Mexico (with track change). *African J Biotechnol* **2013**; 12: 4630–4639.
- [39] Björkman M, Klingen I, Birch ANE, et al. Phytochemicals of Brassicaceae in plant protection and human health - Influences of climate, environment and agronomic practice. *Phytochemistry* **2011**; 72: 538–556.
- [40] Grande F, Giuntini EB, Lajolo FM, et al. How do calculation method and food data source affect estimates of vitamin A content in foods and dietary intake? *J Food Compos Anal* **2016**; 46: 60–69.
- [41] Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. *Tabela brasileira de composição de alimentos*. Campinas, <http://www.unicamp.br/nepa/taco/> (**2011**).
- [42] Pakin C, Bergaentzlé M, Hubscher V, et al. Fluorimetric determination of pantothenic acid in foods by liquid chromatography with post-column derivatization. *J Chromatogr A* **2004**; 1035: 87–95.
- [43] Hayakawa K, Katsumata N, Hirano M, et al. Determination of biotin (vitamin H) by the high-performance affinity chromatography with a trypsin-treated avidin-bound column. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci* **2008**; 869: 93–100.

CAPÍTULO 7

7 MANUSCRITO 3 - PHENOLIC COMPOUNDS AND BIOACTIVITY *IN VITRO* AND *IN VIVO* OF *BUTIA* AND *OPUNTIA* FRUITS

Manuscrito em preparação para submissão ao periódico
FOOD RESEARCH INTERNATIONAL
* formatado de acordo as normas da revista

PHENOLIC COMPOUNDS AND BIOACTIVITY *IN VITRO* AND *IN VIVO* OF *BUTIA* AND *OPUNTIA* FRUITS

Fernanda Camboim Rockett¹, Helena de Oliveira Schmidt¹, Luana Schmidt¹, Eliseu Rodrigues¹, Paula Rossini Augusti¹, Bruna Tischer¹, Viviani Ruffo de Oliveira², Vanuska Lima da Silva², Simone Hickmann Flôres¹, Alessandro de Oliveira Rios^{1*}

¹ Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). Bento Gonçalves Ave., 9500, Porto Alegre, RS, Zip Code: 91501-970, Brazil.

² Department of Nutrition, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Ramiro Barcelos St., 2400, Porto Alegre, RS, Zip Code: 90040-060, Brazil.

* Corresponding author: Alessandro de Oliveira Rios, Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). Bento Gonçalves Ave., 9500, Porto Alegre, RS, Zip Code: 91501-970, Brazil. E-mail: alessandro.rios@ufrgs.br.

ABSTRACT: Despite the consumption recommendations and the potential health benefits, Brazilian biodiversity has a large number of fruit species that are still unexplored, such as *Butia catarinensis* (Butiá da Praia), *Butia eriospatha* (Butiá da Serra) and *Opuntia elata* (Arumbeva). The phenolic compounds of these fruits were determined by HPLC-DAD-MS/MS. Moreover, *in vitro* assays evaluated the antioxidant capacity of hydroethanolic extracts against hydrogen peroxide (H₂O₂), hydroxyl (*OH), peroxy (ROO*) and ABTS radicals. *In vivo* assays evaluating the survival of worms and reactive oxygen species (ROS) generation were performed using the nematode *Caenorhabditis elegans*. Eighteen, twenty-eight and seventeen phenolic compounds were identified in Butiá da Praia, Butiá da Serra and Arumbeva, respectively. The main groups of phenolic compounds found in the fruits were hydroxybenzoic acids, flavan-3-ols and flavonols. The hydroethanolic extracts of these fruits were a potent free radical scavenger, excellent sources of phenolic compounds and did not cause toxic effects *in vivo*. Besides the

health benefits, these proved to be promising sources of natural antioxidants, with phenolic composition varying among species and collection site. The obtained results enable future applications of studied fruits extracts in food and/or pharmaceutical products, encouraging and valuing the sustainable use of biodiversity.

Keywords: Antioxidant capacity; Bioactive compound; Brazilian fruits; Food composition; Mass spectrometry; Oxidative stress.

1. INTRODUCTION

Free radicals are generally produced as a by-product of cellular metabolism (Li et al., 2016). The most important classes of radical species generated in living systems are reactive oxygen and nitrogen species (ROS and RNS), whose overproduction can play a crucial role in many chronic human diseases, including atherosclerosis, diabetes mellitus, cancer, rheumatoid arthritis, cataracts and neurodegenerative diseases (Halliwell, 2015; Halliwell & Gutteridge, 1990). When in excess, ROS and RNS promote oxidative stress in the body, reacting with stable components (lipids, proteins, and DNA) and resulting in damage to these biomolecules (Halliwell, 2015).

The excess of reactive species can be combated by endogenous antioxidant factors (such as the enzymes superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase; or reduced glutathione) or by the action of exogenous antioxidants contained in the diet (Li et al., 2016; Torma et al., 2017). In this context, potentially antioxidant bioactive compounds such as vitamins, carotenoids, and phenolic compounds play an essential role (Li et al., 2016; Saini, Nile, & Park, 2015; Schiassi, Souza, Lago, Campos, & Queiroz, 2018).

Regular consumption of plant products, such as fruits, has been widely recommended (Seraglio et al., 2018; Soares et al., 2019) and has already been associated with decreased risk for the development of chronic diseases, due to the presence of antioxidant compounds with beneficial health effects (Ahmad, Zuo, Lu, Anwar, & Hameed, 2016; Kalaycıoğlu & Erim, 2017; Saini et al., 2015). Among the bioactive compounds, phenolic compounds constitute a heterogeneous group of molecules with a diversity of chemical structures and are one of the main classes of secondary metabolites in plants commonly classified as flavonoids (flavon-3-ols, flavones, flavonols, flavanones, dihydroflavonols, anthocyanins, isoflavones, and chalcones) and non-flavonoids, including phenolic alcohols, phenolic acids and derivatives (for

example, hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids), stilbenes and lignans (Santos-Buelga, González-Paramás, Oludemi, Ayuda-Durán, & González-Manzano, 2019). These compounds are found combined with mono- and polysaccharides, linked to one or more phenolic groups, or they can occur as derivatives, such as esters or methyl esters (Santos-Buelga et al., 2019).

Despite the consumption recommendations and the health benefits, Brazil has a large number of native fruit species with not explored potential (Soares et al., 2019; Teixeira et al., 2019). Most of them are still unexplored and can be consumed *in natura* or may arouse interest of the agro-industry (Maria do Socorro M Rufino et al., 2010; Seraglio et al., 2018). Thus, their bioactive compounds and antioxidant properties remain unknown (Soares et al., 2019).

Investigating the richness of Brazilian fruits can contribute to the preservation and protection of natural sources of nutritious, healthy, and sustainable foods (Soares et al., 2019). Fruits have several bioactive components, in addition to sensory characteristics that contribute to their direct consumption and product development, whose commercialization can contribute to the conservation of biodiversity (Teixeira et al., 2019). Due to the potential interest of the food industry, extracts of these native fruits can also be formulated. In this case, the use of a solvent with low cost and toxicity is essential. The extraction of bioactive compounds using ethanol as a solvent is a good alternative, as the usual extraction involves organic solvents with high toxicity and ethanolic extracts could be an alternative in food and cosmetic products without complicated purification steps (Torma et al., 2017).

The three species selected for this study stood out as to the preliminary results obtained in the analysis of antioxidant capacity by the ABTS test and, in addition, after reviewing the literature, they had less information in the scientific databases. Thus, were included three valuable fruit species: Arumbeva (*Opuntia elata* Salm-Dyck), Butiá da Praia (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi) and Butiá da Serra (*Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc).

Butia catarinensis is part of the Arecaceae family, and its fruit is widely used in human food, with a pleasant slightly acidic flavor and appreciated nutritional characteristics, conical to depression-globular shape, with approximately 20 mm of axial length and globular core (Coradin, Siminski, & Reis, 2011; Reitz, 1974). It is commercialized *in natura* at fairs and roadsides in the regions where the species occur or in the form of frozen pulp or ice cream (Coradin et al., 2011). The *Butia eriospatha* species belongs to the same family and the fruit can be used in juices, liqueurs, mousse, ice cream, jellies, yogurts, sweets, among others. It is generally yellow in color, depressed, approximately 20 mm high and has mono or bi-semen core (Coradin et al., 2011). *Opuntia elata* is part of the Cactaceae family and has fruits with

about 6 to 7 cm with purple-red color when ripe, green pulp (similar to kiwi), sweet and succulent and hard seeds of 5 to 6 mm in length (Coradin et al., 2011). The pulp can be consumed fresh or used in the preparation of juices, liquors, jellies and ice cream. Its current underutilization can be explained by the little knowledge about the species (Coradin et al., 2011).

The evaluation of antioxidant capacity *in vitro* is performed using chemical reactions to determine the sample's ability to react with reactive structures (free radicals present or not in the body) (Magalhães, Segundo, Reis, & Lima, 2008). However, *in vitro* determinations allows only simpler results than occurs in complex situations *in vivo* (Kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini-Filho, & Fett, 2005). For the antioxidant capacity *in vivo* evaluation, the use of the nematode *Caenorhabditis elegans* is being consolidated due to the numerous advantages, such as easy manipulation, short life cycle (about 20 days) and fully sequenced genome, which shows a high homology to mammals, a relatively simple nervous system and its effectiveness in simulating different pathologies at the molecular level, especially the effect of ROS (Miranda-Vizuet & Veal, 2017).

Thus, this study aimed to identify and quantify the phenolic compounds present in 3 native Brazilian fruits species *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi, *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc. and *Opuntia elata* Salm-Dyck. and evaluate the bioactivity of its hydroethanolic extracts *in vitro* and *in vivo*.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Chemicals

Analytical grade reagents as sodium carbonate, Folin-Ciocalteu reagent, sodium phosphate bibasic, ascorbic acid, iron chloride, sodium bicarbonate, sodium hydroxide, sodium chloride, calcium chloride, magnesium sulfate, potassium persulphate, potassium phosphate monobasic and bibasic were obtained from Comercial Neon[®] (São Paulo, Brazil). Hydrochloric acid (HCl), 2-thiobarbituric acid (TBA), dimethyl sulfoxide (DMSO), sucrose, formic acid, ethyl acetate, ethyl alcohol, methyl alcohol, and hydrogen peroxide (H₂O₂) were obtained by Dinâmica Química Contemporânea[®] (São Paulo, Brazil). High-performance liquid chromatography (HPLC) grade reagents such as acetonitrile were acquired from Panreac AppliChem[®] (Barcelona, Spain). ABTS radical [2,2-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), Trolox[®] (±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid), 2-deoxy-D-ribose, L-glutathione reduced (GSH), 5,5'-

dithiobis- (2-nitrobenzoic acid) (DTNB), ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 2,2'-azobis(2-methylpropanimidamide) dihydrochloride (AAPH), 2'-7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA), sodium fluorescein, caffeic acid, catechin, chlorogenic acid, coumaric acid, ellagic acid, epicatechin, epigallocatechin gallate, ferulic acid, gallic acid, hydroxybenzoic acid, kaempferol, luteolin, myricetin, quercetin, quercetin 3-glucoside, resveratrol, and rutin were purchased from Sigma-Aldrich® (St Louis, USA) and solid-phase extraction (SPE) cartridge strata C₁₈, Phenomenex® from Allcrom (Sao Paulo, Brazil). Water was purified by Milli-Q® Integral 10 system by Merck (Millipore, Milford, MA, USA).

2.2 Samples collection

The samples of *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi, *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) and *Opuntia elata* Salm-Dyck were harvested from at least three lots of different trees from different cities of the South region of Brazil after confirmation of the botanical species by a biologist. Different samples of each species were harvested to observe the local effect on the phenolic compounds. The exsiccates were deposited in the Institute of Biosciences Herbarium of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). For each species, at least three harvests were made and, when possible, four. **Table 1** shows detailed information for each.

Table 1. Information on species *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi, *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) and *Opuntia elata* Salm-Dyck harvested in different locations.

Scientific name / Common name in Brazil	Common name	Edible part	Origin (City, State)	Geographical coordinate (GPS)	Quantity harvested	Harvest Month/year	Herbarium number*
<i>Butia catarinensis</i> Noblick & Lorenzi	Butiá da Praia 1		Torres, RS	29°18'52.20"S 49°45'36.19"W	8.5 kg	Feb/2016	185667
	Butiá da Praia 2	Peel and pulp	Osório, RS	29°85'24.66"S 50°22'76.86"W	7.0 kg	Mar/2016	185665
	Butiá da Praia 3		Laguna, SC	28°25'27.86"S 48°47'20.87"W	6.0 kg	Mar/2016	185664
<i>Butia eriospatha</i> (Mart. ex Drude) Becc.	Butiá da Serra 1		Pinhal da Serra, RS	27°49'37.28"S 51°14'26.15"W	12.0 kg	Apr/2016	185670
	Butiá da Serra 2	Peel and pulp	Pelotas, RS	31°67'80.74"S 52°44'32.71"W	5.5 kg	Apr/2016	187145
	Butiá da Serra 3		Curitibanos, SC	27°11'40.63"S 50°37'04.97"W	14.0 kg	Mar/2016	194091
<i>Opuntia elata</i> Salm-Dyck	Arumbeva 1		Caçapava do Sul, RS	30°49'49.87"S 53°29'56.64"W	6.0 kg	Aug/2016	187673
	Arumbeva 2	Whole fruit (peel, pulp and seeds)	Caçapava do Sul, RS	30°50'34.45"S 53°30'12.34"W	6.0 kg	Aug/2016	187674
	Arumbeva 3		Caçapava do Sul, RS	30°53'27.92"S 53°28'15.69"W	6.0 kg	Aug/2016	187675
	Arumbeva 4		Bagé, RS	30°51'51.72"S 53°42'10.13"W	5.0 kg	Sep/2016	187676

RS: Rio Grande do Sul; SC: Santa Catarina. * Institute of Natural Sciences (ICN) Herbarium of the Federal University of Rio Grande do Sul.

After collection, the ripeness state was carefully checked according to the °Brix and the samples were transported to the laboratory under refrigeration. Samples were washed in water and were immersed in a 200 mg.L⁻¹ sodium hypochlorite solution for 10 min to surface disinfection with subsequent rinsing and were processed to obtain the edible part and homogenized (DES-20, Braesi, Caxias do Sul, RS, Brazil). The pulps were then lyophilized (L101, Liotop[®], São Carlos, SP, Brazil), packed in sealed vacuum plastic bags (F200 flash, Fastvac[®], Santo André, SP, Brazil) and stored at -18 °C.

2.3 Hydroethanolic extract

The hydroethanolic extract was obtained by exhaustive extraction. For the hydroethanolic extract formulation, the method used by Rockenbach et al. (2008) was followed, with some modifications. Briefly, 20 mL of extraction solution (50% ethanol:50% distilled water) was added to the lyophilized sample (0.5 g) and homogenized in Ultra-Turrax[®] (digital T 25, IKA, Staufen, Germany) for 2 minutes. The concentration chosen was based on the study by Torma et al. (2017) that evaluated the antioxidant capacity and the neuroprotective effects of hydroethanolic extracts of Açai (*Euterpe oleracea*). Thereafter, the solution was centrifuged (4K15, Sigma Laborzentrifugen GmbH, Osterode am Harz, Germany) at 3,000 g for 5 minutes at 20 °C and the supernatant was stored in an amber flask. The process was repeated 4 times and the supernatants were combined to obtain a total volume of 80 mL. The extract was then concentrated on a rotary evaporator (Q334.2, Quimis[®], São Paulo, SP, Brazil) at <25 °C to remove ethanol, lyophilized (L101, Liotop[®], São Carlos, SP, Brazil) and stored at -18 °C. The absence of phenolic compounds in the supernatant was previously verified, following the methodology proposed by Borbalán et al. (2003) and Castagna et al. (2014), with modifications. 1375 µL of the prepared Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich Chemical[®], St. Louis, USA) (375 mL of water to 37.5 mL of reagent) was added to 25 µL of the sample, which reacted for 8 minutes. Then 600 µL of distilled water and 500 µL of 20% sodium carbonate were added. The solution was homogenized and rested for 30 min in the dark. The absorbance was measured at 750 nm at room temperature (21 ± 2 °C) on the spectrophotometer (Shimadzu UV-Vis 1800/08302).

The extracts were used for the analysis of ROS scavenging effects, *in vivo* acute toxicity and ROS generation, as well as for determination of the phenolic composition.

2.4 Extraction and purification of phenolic compounds

The phenolic compounds of the selected species were initially identified and quantified in the fruits. Extraction of non-anthocyanic compounds followed the methodology described by Rodrigues et al. (2013), with modifications. Exhaustive extraction was performed for 2 minutes in Ultra-Turrax[®] (T 25 digital, IKA, Staufen, Germany) by adding 20 mL of a mixture of methanol with distilled water (80:20%; v/v) at 0.5 g of the lyophilized sample at room temperature (21 °C). The extract was centrifuged (Himac CR21 GIII, Hitachi Koki Co., Tokyo, Japan) at 10,000 g for 10 minutes at 20 °C and the supernatant was transferred to an amber volumetric flask. This procedure was performed in triplicate, repeated four times and after the supernatants were combined (extract of phenolic compounds). The absence of phenolic compounds in the supernatant was previously verified using the Folin–Ciocalteu reagent following the methodologies previously described.

For the quantification of phenolic compounds, the extracts were concentrated on a rotary evaporator (Q334.2, Quimis[®], Diadema, São Paulo, Brazil) and added with the non-anthocyanic mobile phase A (Milli-Q[®] water and formic acid, in the proportion of 99.5:0.5%, v/v) to a 25 mL volumetric flask.

For qualitative analysis the extracted phenolic compounds were previously purified by SPE following the methodology described by Rodriguez-Saona & Wrolstad (2001), with modifications. The C18 SPE cartridges (Strata, Phenomenex[®], Torrance, CA, USA) were previously activated and conditioned with methanol and acidified water (0.01% HCl). The cartridge was loaded with the sample and the polar compounds were eluted with two volumes of 12 mL acidified water. Non-anthocyanic phenolic compounds were eluted using ethyl acetate and anthocyanic compounds with acidified methanol (0.01% HCl). The extracts were concentrated on a rotary evaporator (<36 °C), and the samples were reconstituted in 1 mL of mobile phase A (Milli-Q[®] water and formic acid, at a ratio of 99.5:0.5%, v/v). Afterward, the samples were filtered with Millipore 0.45 µm polytetrafluoroethylene (PTFE) membranes (Millex LCR 0.45 µm, 13 mm) and immediately injected into the HPLC-DAD-MS/MS.

The phenolic compounds identification was performed on a chromatograph (Shimadzu[®], Kyoto, Japan), equipped with two pumps (Shimadzu LC-20AD), a degasser (Shimadzu DGU-20A3R), column oven (Shimadzu CTO-20A), diode array detector (DAD) (Shimadzu SPD-M20A) and connected to a mass spectrophotometer (MS) with quadrupole flight time analyzer (Q-Tof) and electrospray ionization source (ESI) (model micrOTOF-QIII, Bruker Daltonics, Bremen, Germany). The column used was a C₁₈ Phenomenex Synergi[™], 250 x 4.6 mm, 4µm (Allcrom[®], São Paulo, Brazil).

The mobile phase A consisted of a mixture of Milli-Q[®] water and formic acid (99.5:0.5%, v/v) and mobile phase B a mixture of acetonitrile and formic acid in the same proportion. A linear gradient was used, starting at 99:1 (v/v) mobile phase A/B to 50:50 (v/v) A/B in 50 minutes, and then 50:50 (v/v) A/B to 1:99 (v/v) A/B for 5 minutes. This ratio was maintained for 5 minutes. The initial proportion was restored at 62 minutes and maintained for 5 min. The flow rate was 0.7 mL.min⁻¹ at 29 °C, and the injection volume was 5 µL.

UV-Vis spectra were obtained between 200 and 600 nm, and the chromatograms processed at 280, 320 and 360 nm. The mass spectra were acquired over a mass range of *m/z* 100 to 1000. MS parameters were defined as follows: ESI source in negative ion mode; capillary voltage, 3000 V; dry gas temperature (N₂), 310 °C; flow rate, 8 L.min⁻¹; nebulizer gas, 30 psi. MS/MS was set to automatic mode.

The phenolic compounds were identified based on the elution order and retention time on the column, UV-Vis spectral features [maximal absorption wavelength (λ_{max})], and mass spectrometry spectral characteristics. These parameters were compared to standards analyzed under the same conditions and data available in the literature and were used as parameters for the identification. For HPLC-DAD-MS/MS quantification, a seven-point analytical curve was used, as shown in **Table 2**.

Table 2. Work range, determination coefficients (r^2), limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of phenolic compounds standards.

Phenolic Compounds	Work range (mg.L ⁻¹)	r^2	LOD (mg.L ⁻¹)	LOQ (mg.L ⁻¹)
Caffeic acid	0.36 – 12.02	0.9961	0.97	2.94
Catechin	0.70 – 69.00	0.9905	1.50	4.53
5-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid)	0.74 – 24.00	0.9960	0.77	2.34
Coumaric acid	0.05 – 12.00	0.9935	0.28	0.86
Ellagic acid	0.05 – 12.00	0.9925	0.55	1.67
Epigallocatechin gallate	0.10 – 69.00	0.9964	0.09	0.26
Ferulic acid	0.05 – 12.00	0.9940	0.85	2.56
Gallic acid	0.75 – 24.00	0.9963	0.62	1.87
Hydroxybenzoic acid	0.75 – 22.71	0.9952	2.21	6.71
Kaempferol	0.05 – 12.00	0.9925	0.03	0.11
Luteolin	0.10 – 50.00	0.9931	0.34	1.04
Myricetin	0.28 – 50.05	0.9938	1.23	3.71
Quercetin	0.40 – 50.00	0.9942	0.71	2.15
Quercetin 3-glucoside	0.11 – 51.98	0.9997	0.07	0.20
Resveratrol	0.70 – 50.00	0.9969	1.94	5.89

Quercetin 3-O-rutinoside (rutin)	0.11 – 15.99	0.9931	0.18	0.54
-------------------------------------	--------------	--------	------	------

Based on the phenolic compounds identified in fruits, they were quantified in hydroethanolic extracts. The lyophilized extract (0.04 g) was diluted with 2 mL of Milli-Q® water. The extracts were vortexed (Multifunctional vortex K40-1020, Kasvi) for 1 min and ultrasound (Unique, USC 1400A) for 2 min. The extracts were then centrifuged (Hettich® MIKRO 200R, Germany) at 25,000 g for 5 min, removing the supernatant. This process (centrifugation and removal of the supernatant) was repeated with the supernatant to obtain the extract with a final concentration of 20,000 mg.L⁻¹. The samples were filtered through Millipore 0.45 µm PTFE membranes (Millex LCR 0.45 µm, 13 mm) and immediately injected into the HPLC-DAD-MS/MS.

2.5 Antioxidant capacity *in vitro*

2.5.1 ABTS^{•+} assay

The antioxidant capacity of the hydroethanolic extracts was analyzed by [2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] (ABTS) scavenging activity according to the methodology used by Rufino et al. (2007).

Stock solutions were prepared with the lyophilized extracts and, from them, three dilutions for each species in triplicate. The extracts were weighed (0.0400 g for Butiás and 0.0800 g for Arumbeva) in centrifuge microtubes and diluted with 2 mL of Milli-Q® water. The extracts were vortexed (Multifunctional vortex K40-1020, Kasvi) for 1 min and sonicated (Unique, USC 1400A) for 2 min. Thereafter, the extracts were centrifuged (Hettich® MIKRO 200R, Germany) at 25,000 g for 5 min, removing the supernatant. This process was repeated with the supernatant. Solutions with final concentrations of 20,000 mg.L⁻¹ were obtained for Butiás and 40,000 mg.L⁻¹ for Arumbeva.

Test tubes with different dilutions (20,000, 10,000 and 5,000 mg.L⁻¹ for the Butiás and 40,000, 30,000 and 20,000 mg.L⁻¹ for Arumbeva) were prepared. In a dark environment, a 30 µL aliquot of each dilution was transferred to test tubes with 3.0 mL of ABTS^{•+} radical, the tubes were homogenized on a shaker and read at 734 nm on a spectrophotometer (Shimadzu® UV-1800) after 6 minutes of mixing. The antioxidant capacity was calculated by the following formula:

$$\% \text{ ABTS} \cdot + \text{generation} = \text{abs sample} \div \text{abs control} \times 100$$

2.5.2 Reduced glutathione (GSH) assay

The protection ability of hydroethanolic extracts was tested against GSH oxidation in the presence of hydrogen peroxide (H₂O₂) by quantifying the disappearance of GSH sulfhydryl groups (-SH). 100 μ L of distilled water, 100 μ L H₂O₂ (5 mM), 120 μ L potassium phosphate buffer pH 6.8 (1 mM), 100 μ L GSH (6 mM) and different concentrations of hydroethanolic extracts were placed in test tubes (final concentrations: 200, 300 and 400 mg.L⁻¹ for Arumbeva and 50, 100 and 200 mg.L⁻¹ for Butiás).

The test tubes were vortex homogenized (Multifunctional vortex K40-1020, Kasvi) and incubated in the dark at room temperature (21 \pm 2°C) for 1 hour. After, 100 μ L of the incubated solution was transferred to a tube containing 2 mL 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic) (0.01 mM DTNB). The mixture was vortexed and the intensity of the yellow color was evaluated by spectrophotometer at 412 nm following the methodology proposed by Ellman (1959). Results were calculated from 4 replicates.

2.5.3 Deoxyribose assay

The ability of hydroethanolic extracts to remove the hydroxyl radical (\cdot OH) formed from the Fenton reaction was evaluated by the deoxyribose degradation according to Halliwell, Gutteridge, and Aruoma (1987) methodology. The \cdot OH radical was generated by the reaction of ferric chloride (FeCl₃) and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in the presence of ascorbic acid, forming Fe²-EDTA and which, in turn, reacted with H₂O₂ to form Fe³-EDTA and \cdot OH. The \cdot OH radical, once formed, reacts with malondialdehyde forming 2-deoxyribose, which upon heating with thiobarbituric acid (TBA) has a pink color that is quantifiable by spectrophotometry at 532 nm. Therefore, antioxidant substances that are added can compete with 2-deoxyribose for \cdot OH reducing the formation of pink coloration.

Potassium phosphate buffer pH 7.4 (50 mM), 100 μ L FeCl₃ (1 mM), 100 μ L EDTA (1 mM), distilled water, 100 μ L 2-deoxyribose (60 mM) and different concentrations of hydroethanolic extracts (final concentrations of 200, 300 and 400 mg.L⁻¹ for Arumbeva and 50, 100 and 200 mg.L⁻¹ for Butiás) were added to test tubes. Then, 100 μ L of ascorbic acid (2 mM) and 100 μ L of H₂O₂ (10 mM) were added. The test tubes were heated in a water bath (De Leo B45 Digital, Porto Alegre, RS, Brazil) at 37 °C for 1 h to reaction. Then, 1 mL of TBA and 1 mL of hydrochloric acid (25%) were added to the tubes and kept under heating in a water bath (Dubnoff NT 232 - Novatecnica[®], Piracicaba, SP, Brazil) at 100 °C for 15 min. After this time,

they were cooled, and absorbance was measured at 532 nm. Results were calculated using the following formula:

$$\% \cdot OH \text{ generation} = \frac{A1 - A2 \times 100}{A0}$$

Where $A0$ is the absorbance in the absence of extract and presence of deoxyribose, $A1$ is the absorbance in the presence of extract and deoxyribose, and $A2$ is the absorbance of extract in the absence of deoxyribose.

2.5.4 Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)

Antioxidant capacity was determined according to the methodology of Huang et al. (2005), with adaptations. This method verifies the scavenger capacity of an antioxidant against a peroxy radical (ROO^{\cdot}) produced by the thermal decomposition of α, α' -azodiisobutyramidine dihydrochloride (AAPH) at 37 °C. For the determination of the optimal extract concentration for analysis, preliminary tests were undertaken with known levels ranging from 100 to 2000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (diluted in potassium phosphate buffer, 75 mM, pH 7.4); the optimal concentration range was determined to be 150–250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

To each microplate well, 25 μL of the extracts or Trolox previously diluted in potassium phosphate buffer (75 mM, pH 7.4) and 150 μL of the fluorescein working solution (81 nM) were added. The plate (SPL Life Science, Gyeonggi-do, Korea) was incubated for 10 min at 37 °C, with the last 3 min under constant stirring. Afterward, 25 μL of AAPH solution (152 mM) was added. For fluorescence decay monitoring, a fluorescence reader (EnSpire 2300, Multimode Plate Reader, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) was used at 37 °C for 70 min. Excitation and emission wavelengths of 485 nm and 528 nm, respectively, were used (Huang et al., 2005).

The area under the curve (AUC) of the fluorescein decay was calculated. The following formula calculated AUC:

$$AUC = 1 + \frac{f1}{f0} + \frac{f2}{f0} + \frac{f3}{f0} + \dots + \frac{fn}{f0}$$

Where fn is the relative fluorescence in a reading cycle (1 min), and $f0$ is the fluorescence at time zero.

A standard Trolox curve (8-96 μM) was constructed and used as a positive control (8 μM). The results were expressed as equivalent Trolox μmol per g extract ($\mu\text{mol TE g}^{-1}$ dry extract).

2.6 Half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀)

The IC₅₀ for the ABTS^{•+} and deoxyribose assays were determined by a non-linear regression analysis using GraphPad Prism Program version 10.0 (La Jolla, CA, USA). The IC₅₀ values were considered as those able to remove ABTS^{•+} and reduce the generation of $\cdot\text{OH}$ radicals by 50%. The values obtained were used as a basis for the determination of the concentrations that would be used in the *in vivo* assays since they gave an initial idea of the antioxidant potential of the extracts.

2.7 Antioxidant capacity *in vivo*

Caenorhabditis elegans N2 (wild-type) and fluorescence-emitting (TJ356 DAF-16: GFP) strains were obtained from the *Caenorhabditis* Genetic Center (Twin Cities, Minnesota, USA). The culture was maintained at 20 °C in plates containing *Escherichia coli* OP50 in nematode growth media (NGM) (60 x 10 mm) according to Brenner (1974) methodology.

For the synchronization process, a population of L1 (first larval stage) was obtained by isolating gravid hermaphrodite embryos using a bleaching solution (1% NaCl and 0.25 M NaOH) and sucrose solution (30%) to separate eggs by flotation. Eggs were washed with M9 buffer solution (0.02 M KH₂PO₄; 0.04 M Na₂HPO₄; 0.08 M NaCl and 0.001 M MgSO₄) and incubated overnight (12h) on sterile NGM agar plates (Avila et al., 2012).

To evaluate oxidative stress, worms were exposed to hydroethanolic extracts at different concentrations for 30 min at 20 °C. Stock solutions (40,000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) were prepared with distilled water from the lyophilized hydroethanolic extracts. Then, dilutions were made to obtain the appropriate final concentration, according to previous antioxidant assays (ABTS mean IC₅₀: Butiá Praia 1: 110 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Butiá Praia 2: 230 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Butiá Praia 3: 180 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Butiá Serra 1: 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Butiá Serra 2: 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Butiá Serra 3: 70 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Arumbeva 1: 340 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Arumbeva 2: 260 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Arumbeva 3: 480 $\mu\text{g}/\text{mL}$; and Arumbeva 4: 1120 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Survival rate was determined using 2,500 nematodes exposed to the extracts and placed on plates containing NGM medium seeded with *E. coli* OP50 (60 mm x 10 mm). After 24 hours, with the help of a magnifying glass, the number of surviving *C. elegans* was verified, and results were expressed as % of the control group (absence of extract) (Avila et al., 2012).

ROS generation was evaluated using 1,500 nematodes and the conditions described above. After the exposure, *C. elegans* were washed and suspended in 100 μ l NaCl (0.9%) solution, then added DCFH-DA (2'-7'-diacetate dichlorofluorescein). The fluorescent compound formed from the oxidation of DCFH-DA by the action of ROS was quantified in a microplate reader (Enspire 2300, Multimode Plate Reader, Perkin Elmer, USA) at 485 nm excitation and 530 nm emission (Charão et al., 2015). Readings were taken every 2 minutes for 30 minutes.

2.8 Statistical analysis

The results were expressed as the mean \pm standard deviation. Data were statistically analysed by one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's test for comparison of the means at a significance level of 5%, using GraphPad Prism[®] 10.0 (La Jolla, CA, USA) for *C. elegans* analysis, OriginPro[®] 8.0 (Northampton, MA, USA) for the ORAC test and Statistica 12.0 (StatSoft Inc.) for the other comparisons.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Phenolic compounds identification and quantification (fruits)

Few reports in the literature assess the profile of phenolic compounds in these fruits, and no prior have used a consistent sampling process combined with HPLC-DAD-MS/MS identification and quantification. Chromatography allowed the separation of the compounds and the identification was based on the interpretation of their fragmentation patterns obtained from the mass spectra in the negative ionization mode and retention time relative to 16 external standards comparison and the literature.

Table 3 shows the 18 phenolic compounds identified in Butiá da Praia fruit and **Fig. S1 (Supplementary Material)** the respective HPLC-DAD-MS/MS chromatogram. Hoffmann et al. (2017) and Hoffmann et al. (2018) had already reported 22 phenolic compounds identified in 4 species of Butiá (*B. catarinensis*, *B. odorata*, *B. paraguayensis*, and *B. yatay*), although without comparing different harvest sites. The compounds identified in this study could be divided into main groups according to the quantity found in the average of the samples: 60.5% belonged to hydroxybenzoic acids group (dihydroxybenzoic acid as the main compound), 23.6% to flavan-3-ols groups, 7.1% to flavonols, 7.1% to hydroxycinnamic acids and only 1.7% of stilbenes. In addition to these groups, 1 flavone, and 2 flavanones were previously described (J. Hoffmann et al., 2018; J. F. Hoffmann et al., 2017). Dihydroxybenzoic and caffeoylquinic

acids, catechin or epicatechin and their derivatives in addition to rutin were the predominant compounds.

Table 3. Chromatographic and spectroscopic characteristics of phenolic compound of *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi fruit obtained by HPLC-DAD-MS/MS.

Peak	Compound	t _R (min) ^a	λ max (nm) ^b	[M - H] ⁻ (m/z)	MS / MS (m/z) ^c	Ref.	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Praia 1	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Praia 2	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Praia 3
1	Not identified ^g	12.8	274	293.1245	113.0273 [M - H - 180] ⁻ ; 101.0254; 89.0254	Hoffmann et al. (2017)	336.17 ± 35.33 ^A	144.21 ± 9.72 ^B	335.60 ± 40.00 ^A
2	Dihydroxybenzoic acid _h	15.5	275	153.0184	109.3233 [M - H - 44] ⁻	Cheiran et al. (2019)	2318.63 ± 343.88 ^A	1386.44 ± 85.32 ^B	1940.25 ± 235.53 ^{A,B}
3	Not identified ^g	18.6	270	439.1836	259.0241 [M - H - 180] ⁻ ; 205.0715 ; 143.0364	Hoffmann et al. (2017)	39.43 ± 0.46 ^B	48.39 ± 5.54 ^A	41.99 ± 1.24 ^{A,B}
4	3-Caffeoylquinic Acid ^f	21.4	276 (sh) 327	353.0871	191.4481 [M - H - 162] ⁻ ; 179.7492	Hoffmann et al. (2018); Clifford et al (2003)	44.33 ± 0.69 ^A	44.00 ± 2.48 ^A	41.18 ± 1.04 ^A
5	5-Caffeoylquinic Acid ^f	22.1	294 (sh) 328	353.0873	191.0560 [M - H - 162] ⁻ ; 173.0421 [M - H - 162 - 18] ⁻	Hoffmann et al. (2018); Clifford et al (2003)	118.06 ± 9.98 ^A	88.48 ± 11.23 ^B	89.20 ± 12.54 ^B
6	(+)-Catechin ^e	22.8	283	289.0712	151.0392 [M - H - 138] ⁻ ; 123.0447 [M - H - 166] ⁻ ; 109.0303 [M - H - 180] ⁻	Hoffmann et al. (2018)	165.13 ± 4.67 ^A	142.83 ± 5.62 ^B	139.75 ± 5.87 ^B
7	4-Caffeoylquinic Acid ^f	23.3	276 (sh) 327	353.0856	173.5600 [M - H - 180] ⁻	Hoffmann et al. (2018); Clifford et al (2003)	45.34 ± 0.29 ^A	45.21 ± 2.66 ^A	41.89 ± 2.47 ^A
8	Catechin/epicatechin dimer I ^e	23.7	281	577.1355	407.0784 [M - H - 170] ⁻ ; 289.0712 [M - H - 288] ⁻ ; 125.0248 [M - H - 452] ⁻	Hoffmann et al. (2018)	224.47 ± 21.36 ^A	218.03 ± 36.37 ^A	205.21 ± 10.98 ^A
9	(-)-Epicatechin ^e	24.5	277	289.0710	123.0447 [M - H - 166] ⁻ ; 109.0303 [M - H - 180] ⁻	Hoffmann et al. (2018)	175.84 ± 4.33 ^A	191.43 ± 24.28 ^A	177.85 ± 15.57 ^A
10	Epicatechin epicatechin ^e	24.6	281	579.1494	407.0782; 289.0710 [M - H - 290] ⁻ ; 245.0832 [M - H - 44] ⁻ ; 203.0673; 125.0236	Da Silva et al. (2014)	158.92 ± 6.21 ^A	164.67 ± 14.35 ^A	147.55 ± 5.78 ^A
11	Caffeoylshikimic acid ^f	26.4	296 (sh) 328	335.0766	179.0335 [M - H - 156] ⁻ ; 135.0448	Graça et al. (2017)	89.16 ± 5.98 ^A	57.22 ± 5.72 ^B	67.22 ± 3.91 ^B
12	Quercetin-3- <i>O</i> - rutoside (rutin) ^l	28.1	355	609.1468	301.0335 [M - H - 308] ⁻ ; 300.0279	Hoffmann et al. (2018)	208.42 ± 27.73 ^A	247.76 ± 0.42 ^A	118.06 ± 14.20 ^B
13	Not identified ^d	29.1	296 (sh) 320	259.0606	175.0402	Hoffmann et al. (2017)	<LOQ	<LOQ	<LOQ

Peak	Compound	t _R (min) ^a	λ max (nm) ^b	[M - H] ⁻ (m/z)	MS / MS (m/z) ^c	Ref.	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Praia 1	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Praia 2	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Praia 3
14	Catechin/epicatechin dimer II ^e	29.4	278	577.1278	289.0715 [M - H - 288] ⁻	Hoffmann et al. (2018)	128.48 ± 0.42 ^B	206.21 ± 11.90 ^A	128.39 ± 2.35 ^B
15	Quercetin-3- <i>O</i> -glucoside ^j	30.1	354	463.0886	301.0336 [M - H - 162] ⁻ ; 300.0274	Hoffmann et al. (2018)	7.62 ± 1.45 ^B	16.27 ± 1.54 ^A	2.92 ± 0.32 ^C
16	Isorhamnetin- <i>O</i> -rutinoside ^j	30.4	354	623.1591	315.0497 [M - H - 308] ⁻	Hoffmann et al. (2018)	39.48 ± 6.01 ^B	52.87 ± 1.06 ^A	30.83 ± 1.36 ^B
17	Dihydrokaempferol acetyl-hexoside ⁱ	32.8	353	491.0844	287.0202 [M - H - 204] ⁻	Da Silva et al. (2014)	14.71 ± 0.16 ^B	16.48 ± 0.96 ^A	14.66 ± 0.13 ^B
18	Tetrahydroxy- <i>trans</i> -stilbene ^k	35.1	325	243.0658	201.0553 [M - H - 42] ⁻ ; 159.0449 [M - H - 84] ⁻	Hoffmann et al. (2018); Hoffmann et al. (2017)	63.95 ± 0.72 ^A	63.63 ± 1.14 ^A	62.73 ± 0.47 ^A
Total phenolic compounds							4178.14 ± 457.88 ^A	3134.13 ± 126.08 ^B	3585.29 ± 343.52 ^{A,B}
Total hydroxybenzoic acids							2694.23 ± 375.81 ^A	1579.04 ± 94.96 ^B	2317.84 ± 276.75 ^A
Total flavan-3-ol							852.84 ± 35.47 ^A	923.16 ± 75.22 ^A	798.75 ± 39.65 ^A
Total flavonol							270.23 ± 34.30 ^B	333.38 ± 2.38 ^A	166.47 ± 14.60 ^C
Total hydroxycinnamic acids							296.88 ± 15.73 ^A	234.92 ± 20.83 ^B	239.50 ± 19.48 ^B
Total stilbenes							63.95 ± 0.72 ^A	63.63 ± 1.14 ^A	62.73 ± 0.47 ^A

^a Retention time on the C18 Synergi (4 μm) column; ^b Solvent: gradient of 0.5% formic acid in water and acetonitrile with 0.5% formic acid; ^c In the MS/MS, the most abundant ion shown in boldface; ^d Quantified as Caffeic Acid; ^e Quantified as Catechin; ^f Quantified as Chlorogenic Acid; ^g Quantified as Gallic Acid; ^h Quantified as Hydroxybenzoic Acid; ⁱ Quantified as Kaempferol; ^j Quantified as Quercetin 3-glucoside; ^k Quantified as Resveratrol; ^l Quantified as Rutin.

Data represent the mean of 3 replicates ± standard deviation. Different uppercase superscript letters in the same line indicate statistically significant difference by Tukey test (p<0.05). LOQ: Limit of Quantification.

Peaks **1**, **3** and **13** were not identified but have also been reported, and the first one was a significant marker for differentiating *B. catarinensis* from other 3 species (J. F. Hoffmann et al., 2017). Peak **2** was tentatively identified as dihydroxybenzoic acid because it showed the deprotonated molecule $[M-H]^-$ at m/z 153 and fragments in MS/MS spectrum at m/z 109 $[M-H-44]$, corresponding to the loss of CO_2 with an average of $332.15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ fresh weight. In general, the concentration of hydroxybenzoic acids in fruits and vegetables is low and most are presented as conjugated forms (Bento-Silva et al., 2019). Most fruits, especially berries, contain hydroxybenzoic acid, and similar values have already been found for 4-hydroxybenzoic acid in *B. odorata* (317.46 vs. $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ fresh weight) (Ma, Dunshea, & Suleria, 2019).

Peaks **6** and **9** at m/z 289 $[M-H]^-$ and peaks **8**, **10**, and **14** which gave a dominant fragment ion at m/z 289 (MS/MS), were identified as catechin or epicatechin and their derivatives. These compounds, which belong to the flavan-3-ols, were present in considerable concentrations in Butiá da Praia fruit, presenting 852.84 , 923.16 , and $798.75 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw for samples 1, 2 and 3, respectively. The UV-Vis spectra, negative molecular ion (at m/z 289) and fragmentation MS/MS spectra (at m/z 123) of peaks **6** and **9** were not only consistent with the literature data for these compounds but also with the authentic catechin and epicatechin standards. Peak **10** was tentatively identified as the epicatechin-epicatechin dimer due to the protonated molecule at m/z 579 and the MS/MS fragment at m/z 289 (da Silva, Rodrigues, Mercadante, & De Rosso, 2014).

Catechins are very common flavanol found in most fruits and vegetables (Ma et al., 2019). Catechin, epicatechin, and rutin have already been associated with several health benefits, including anticarcinogenic, antioxidant, cyto, cardio and neuro-protective activities (Boeing et al., 2020). The antioxidant capacity related to catechins and epicatechin is already well established in the literature. These compounds affect the molecular mechanisms involved in angiogenesis, degradation of extracellular matrices, regulation of cell deaths and reduction of oxidative stress, resulting in a series of health benefits due to various actions such as antioxidants, antihypertensive, anti-inflammatory, antiproliferative, anti-thrombogenic and anti-hyperlipidemic (Barros, Andrade, Denadai, Nunes, & Narain, 2017; Li et al., 2016).

Caffeoylquinic acid isomer were identified as corresponding to peaks **4**, **5** and **7** and peak **5** identified as 5-caffeoylquinic acid was confirmed with an external standard. These compounds are found in many types of fruits and in high concentrations in coffee, with potential preventive effect in several chronic diseases (management of obesity, cardiovascular diseases, type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome, in addition to antioxidant and neuroprotective effects) (Bento-Silva et al., 2019).

Two quercetin derivatives (main fragments at m/z 301 and 300) were identified, including rutin $[M-H]^-$ at m/z 609 (peak **12**) and peak **15** that had $[M-H]^-$ at m/z 463, which was identified as a quercetin-*O*-glucoside by comparison with an authentic standard. Compound **12** was indicated as rutin, as it displayed a negative molecular ion at m/z 609 and an MS/MS peak at m/z 301 and 300, due to a loss of 308 Da, consistent with that of a legitimate standard. A methylated derivative of quercetin was also identified characterized by an $[M-H]^-$ at m/z 623, with a main fragment ion at m/z 315 resulting from a loss of disaccharide (308 Da) as isorhamnetin-*O*-rutinoside (peak **16**). Tetrahydroxy-*trans*-stilbene was characterized by $[M-H]^-$ at m/z 243 and fragment ions at m/z 201 and at m/z 159.

The amount of total phenolic compounds in Butiá da Praia was 4,178, 3,134 and 3,585 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw for samples 1, 2, and 3, respectively. According to Hoffmann et al. (2018) the phenolic composition varies according to the species and significant differences in the content of phenolic compounds can be found according to the geographical location.

Butiá da Serra presented 14 compounds similar to Butiá da Praia (peaks **1, 2, 4, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 19, 20** and **25**) and the results obtained from the MS analysis are shown in **Table 4** and **Fig. S2 (Supplementary Material)**. In total, 28 phenolic compounds were identified. Among the Butiás da Serra, hydroxybenzoic acids and flavan-3-ols were the main group of compounds identified. The group with the highest concentration was flavan-3-ols, which corresponded to more than 61.2% of the phenolic compounds, followed by hydroxybenzoic acids (26.5%), hydroxycinnamic acids (6.1%), hydroxycinnamic acids (4%), flavonols (3.7%), stilbenes (2.0%) and flavanones (0.6%) in lower concentrations. Flavan-3-ols were the main group of compounds identified, presenting 6111, 3088 and 3413 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw, for samples 1, 2 and 3, respectively and with the predominance of epicatechin gallate.

Table 4. Chromatographic and spectroscopic characteristics of phenolic compound of *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) fruit obtained by HPLC-DAD-MS/MS.

Peak	Compound	t _R (min) ^a	λ max (nm) ^b	[M - H] ⁻ (m/z)	MS / MS (m/z) ^c	Ref.	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Serra 1	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Serra 2	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Serra 3
1	Not identified ^g	12.8	275	293.1234	101.9198 [M - H - 192] ⁻	Hoffmann et al. (2017)	194.05 ± 11.30 ^A	162.81 ± 1.00 ^B	107.45 ± 17.94 ^C
2	Dihydroxybenzoic acid ^h	15.5	275	153.0194	109.2351 [M - H - 44] ⁻	Cheiran et al. (2019)	3954.21 ± 317.09 ^A	531.23 ± 39.60 ^B	378.70 ± 60.98 ^B
3	(Epi)gallocatechin-(epi)catechin or (Epi)catechin-(epi)gallocatechin ^f	16.5	283	593.1287	407.1103 [M - H - 186] ⁻ ; 289.5130 [M - H - 50] ⁻	Jaiswal et al. (2012)	510.73 ± 18.63 ^A	376.33 ± 3.82 ^B	432.16 ± 48.17 ^B
4	Not identified ^g	18.6	273	439.1832	259.0230 [M - H - 180]; 205.0714 ; 163.0617; 143.0305; 101.0234	Hoffmann et al. (2017)	38.09 ± 0.39 ^B	37.98 ± 0.27 ^B	50.30 ± 5.03 ^A
5	Epicatechin gallate ^f	20.8	273	441.1970	249.1358 [M - H - 192] ⁻ ; 161.0480	Boeing et al. (2020)	3950.09 ± 238.15 ^A	1483.95 ± 71.62 ^B	1221.87 ± 144.78 ^B
6	3-Caffeoylquinic Acid ^e	21.4	276 (sh) 331	353.0859	191.4485 [M - H - 162] ⁻ ; 179.7490	Hoffmann et al. (2018); Clifford et al (2003)	39.84 ± 0.04 ^B	40.84 ± 0.58 ^A	39.65 ± 0.55 ^{A,B}
7	Catechin/epicatechin dimer I ^d	21.8	273	577.1353	407.0774 [M - H - 170] ⁻ ; 381.0977; 339.0893; 289.0722 [M - H - 288] ⁻ ; 245.0763; 161.0254; 125.0255	Hoffmann et al. (2018)	304.35 ± 25.00 ^{A,B}	235.95 ± 1.36 ^B	317.33 ± 49.10 ^A
8	5-Caffeoylquinic Acid ^e	22.1	287 (sh) 326	353.0882	191.0566 [M - H - 162] ⁻ ; 173.0421 [M - H - 162 - 18] ⁻ ; 203.0704 [M - H - 86] ⁻ ; 151.0398 [M - H - 138] ⁻ ; 123.0462 [M - H - 166] ⁻ ; 109.0286 [M - H - 180] ⁻	Hoffmann et al. (2018); Clifford et al (2003)	99.63 ± 4.87 ^A	72.12 ± 1.04 ^B	67.61 ± 8.30 ^B
9	(+)-Catechin ^d	22.7	273	289.0730	151.0398 [M - H - 138] ⁻ ; 123.0462 [M - H - 166] ⁻ ; 109.0286 [M - H - 180] ⁻	Hoffmann et al. (2018)	356.72 ± 22.24 ^A	189.95 ± 1.78 ^B	330.69 ± 63.22 ^A

Peak	Compound	t _R (min) ^a	λ max (nm) ^b	[M - H] ⁻ (m/z)	MS / MS (m/z) ^c	Ref.	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Serra 1	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Serra 2	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Serra 3
10	4-Caffeoylquinic Acid ^e	23.3	276 (sh) 331	353.0856	173.6055 [M - H - 180] ⁻	Hoffmann et al. (2018); Clifford et al (2003)	47.17 ± 0.11 ^A	43.74 ± 2.69 ^{A,B}	40.21 ± 0.64 ^B
11	Procyanidin C1 trimer ^d	23.4	272	865.1963	447.5261 [M - H - 418] ⁻ 407.0775; 339.0890;	Hofmann et al. (2015)	239.14 ± 14.04 ^A	218.02 ± 33.15 ^A	237.79 ± 33.50 ^A
12	Catechin/epicatechin dimer II ^d	23.7	273	577.1349	289.0722 [M - H - 288] ⁻ ; 245.0775; 161.0240; 125.0253 203.0737 [M - H - 86] ⁻ ;	Hoffmann et al. (2018)	230.90 ± 12.70 ^A	218.56 ± 41.14 ^{A,B}	161.75 ± 8.98 ^B
13	(-)-Epicatechin ^d	24.5	272	289.0732	151.0395 [M - H - 138] ⁻ 137.0243; 123.0461; 109.0284 [M - H - 180] ⁻	Hoffmann et al. (2018)	163.49 ± 2.16 ^A	151.14 ± 8.63 ^A	153.14 ± 13.60 ^A
14	Catechin/epicatechin dimer III ^d	24.7	272	577.1347	289.0732 [M - H - 288] ⁻ ; 245.0771; 161.0252; 125.0255	Hoffmann et al. (2018)	355.69 ± 41.21 ^B	214.63 ± 19.02 ^C	559.26 ± 40.71 ^A
15	Caffeoylshikimic acid I ^e	25.6	298 (sh) 327	335.0763	179.0377 [M - H - 156] ⁻ ; 135.0468	Graça et al. (2017)	64.37 ± 1.20 ^B	81.04 ± 1.62 ^A	44.19 ± 1.22 ^C
16	Caffeoylshikimic acid II ^e	26.4	295 (sh) 327	335.0769	179.0364 [M - H - 156] ⁻ ; 161.0274; 135.0459	Graça et al. (2017)	169.36 ± 9.87 ^B	336.18 ± 7.85 ^A	69.22 ± 3.37 ^C
17	Quercetin-3- <i>O</i> -rutinoside (rutin) ^m	28.1	356	609.1452	301.0348 [M - H - 308] ⁻ ; 300.0289 327.0537; 285.0347	Hoffmann et al. (2018)	170.98 ± 11.58 ^A	50.73 ± 1.95 ^B	48.72 ± 9.59 ^B
18	Kaempferol-3- <i>O</i> -rutinoside ⁱ	29.6	353	593.1516	[M - H - 308] ⁻ ; 284.0331 301.0281 [M - H - 162] ⁻ ;	Hoffmann et al. (2018)	26.50 ± 0.80 ^A	16.89 ± 0.62 ^B	16.77 ± 0.74 ^B
19	Quercetin-3- <i>O</i> -glucoside ^k	30.1	355	463.0885	300.0286 ; 271.0232; 151.0043 357.0623; 315.0633 [M - H - 308] ⁻ ;	Hoffmann et al. (2018)	13.93 ± 1.28 ^A	3.44 ± 0.27 ^C	7.30 ± 1.09 ^B
20	Isorhamnetin- <i>O</i> -rutinoside ^k	30.4	354	623.1614		Hoffmann et al. (2018)	64.85 ± 4.18 ^A	12.55 ± 1.22 ^C	51.31 ± 6.98 ^B

Peak	Compound	t _R (min) ^a	λ max (nm) ^b	[M - H] ⁻ (m/z)	MS / MS (m/z) ^c	Ref.	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Serra 1	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Serra 2	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Serra 3
21	Quercetin-3- <i>O</i> -malonylglucoside ^k	31.7	354	549.0897	314.0437 ; 299.0222; 151.0021 505.1030 ; 463.0849; 301.0339 ; 300.0276 ; 271.0233; 179.0026 285.0339 [M - H -	Hoffmann et al. (2018)	56.16 ± 3.48 ^A	7.51 ± 0.64 ^C	21.29 ± 1.92 ^B
22	Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside ⁱ	32.2	341	447.0919	162]; 284.0333 ; 255.0302; 227.0363; 174.9570 285.0339 [M - H -	Hoffmann et al. (2018)	27.40 ± 1.63 ^A	19.18 ± 0.76 ^B	20.75 ± 2.22 ^B
23	Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside ⁱ	32.6	333	447.0916	162]; 284.0324 ; 255.0299; 227.0302; 174.9567 489.1068 [M - H - 44];	Hoffmann et al. (2018)	16.31 ± 0.31 ^B	18.00 ± 0.49 ^A	16.13 ± 0.99 ^B
24	Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside ⁱ	34.4	349	533.0916	447.1205; 285.0333 [M - H - 162]; 284.0333	Hoffmann et al. (2018)	32.33 ± 1.03 ^A	21.63 ± 2.78 ^B	15.96 ± 0.37 ^C
25	Tetrahydroxy- <i>trans</i> -stilbene ^l	35.1	276 (sh) 323	243.0657	201.0514 [M - H - 42]; 159.0473 [M - H - 84]	Hoffmann et al. (2018); Hoffmann et al. (2017)	64.83 ± 0.73 ^B	70.94 ± 3.57 ^{A,B}	75.25 ± 5.19 ^A
26	<i>Trans</i> -Resveratrol ^l	40.5	287 (sh) 322	227.0706	185.5777 [M - H - 42]; 143.4075	Boeing et al. (2020)	65.29 ± 0.64 ^A	67.58 ± 0.96 ^A	68.01 ± 4.02 ^A
27	Quercetin hexoside ^k	41.6	356	463.2525	301.0353 [M - H - 162]	Cheiran et al. (2019); Hoffmann et al. (2018)	1.01 ± 0.19	<LOQ	<LOQ
28	Pinocembrin ^j	43.9	285	255.0670	125.8815 [M - H - 130]	Hoffmann et al. (2018)	41.65 ± 0.13 ^A	39.49 ± 0.20 ^A	40.66 ± 2.52 ^A
Total phenolic compounds							11299.08 ± 683.84 ^A	4721.72 ± 127.12 ^B	4593.47 ± 480.48 ^B
Total hydroxybenzoic acids							4186.36 ± 328.60 ^A	732.02 ± 40.61 ^B	536.45 ± 83.95 ^B
Total flavan-3-ol							6111.13 ± 320.75 ^A	3088.53 ± 78.46 ^B	3413.98 ± 351.88 ^B
Total flavonol							409.46 ± 22.94 ^A	149.25 ± 5.03 ^C	198.23 ± 19.21 ^B

Peak	Compound	t _R (min) ^a	λ max (nm) ^b	[M - H] ⁻ (m/z)	MS / MS (m/z) ^c	Ref.	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Serra 1	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Serra 2	Concentration (μg.g ⁻¹) Butiá da Serra 3
	<i>Total hydroxycinnamic acids</i>						420.37 ± 15.89 ^B	573.91 ± 10.01 ^A	260.88 ± 13.89 ^C
	<i>Total stilbenes</i>						130.12 ± 1.37 ^A	138.52 ± 4.31 ^A	143.26 ± 9.14 ^A
	<i>Total flavanones</i>						41.65 ± 0.13 ^A	39.49 ± 0.20 ^A	40.66 ± 2.52 ^A

^a Retention time on the C18 Synergi (4 μm) column; ^b Solvent: gradient of 0.5% formic acid in water and acetonitrile with 0.5% formic acid; ^c In the MS/MS, the most abundant ion shown in boldface; ^d Quantified as Catechin; ^e Quantified as Chlorogenic Acid; ^f Quantified as Epigallocatechin gallate; ^g Quantified as Gallic Acid; ^h Quantified as Hydroxybenzoic Acid; ⁱ Quantified as Kaempferol; ^j Quantified as Luteolin; ^k Quantified as Quercetin 3-glucoside; ^l Quantified as Resveratrol; ^m Quantified as Rutin. Data represent the mean of 3 replicates ± standard deviation. Different uppercase superscript letters in the same line indicate statistically significant difference by Tukey test (p<0.05). LOQ: Limit of Quantification. ND: not detected.

In this fruit, other catechins and epicatechin derivatives have been identified (peaks **3**, **5**, **7**, **11**, and **14**) and in small amounts, kaempferol and derivatives (peaks **18**, **22-24**), characterized especially by fragments at m/z 285 and 284. Peaks **21** and **27** were tentatively identified as quercetin-3-*O*-malonylglucoside and Quercetin hexoside based on the MS/MS fragmentation, yielded ions at m/z 301, consistent with the literature (J. Hoffmann et al., 2018). Peak **26** had a negative molecular ion at m/z 227 and MS/MS fragment ion at m/z 185. Therefore, it was tentatively identified as *trans*-resveratrol, consistent with previously reported data in *B. odorata* (Boeing et al., 2020) and with the standard. A flavanone has been identified as Pinocembrin [M-H]⁻ at m/z 255 (peak **28**), compound that has been associated with antimicrobial, anti-inflammatory, anticancer and antioxidant effects (J. Hoffmann et al., 2018). Denardin et al. (2015) who evaluated this specific species, found the following compounds: gallic acid derivatives, protocatechuic acid derivatives, caffeic acid derivatives, chlorogenic acid derivatives, isoquercitrin, quercetin derivatives, hyperoside, and rutin.

The 17 compounds identified and quantified in Arumbeva are shown in the **Table 5** and the respective HPLC-DAD-MS/MS chromatogram in **Fig. S3 (Supplementary Material)**. Studies that evaluated other species of *Opuntia* supported the identification of these compounds since the composition of *O. elata* has not been previously described. In a recent review, Aruwa et al. (2018) identified in *Opuntia* fruit piscidic, eucomic, ferulic, coumaric, and caffeic acids, as well as rutin, taxifolin, kaempferol, isorhamnetin and their glycosylated derivatives, in agreement with the results. Prickly pears have a high phenolic content. Among flavonoids, isorhamnetin is one of the most abundant and is found in the form of at least five different di- and triglycosides, especially isoglycan-3-*O*-rutinoside and isorhamnetin tryglycosides and phenolic acids such as fucic acid, piscic acid and acid eukomic (García-Cayuela, Gómez-Maqueo, Guajardo-Flores, Welti-Chanes, & Cano, 2019; Gómez-Maqueo, García-Cayuela, Welti-Chanes, & Cano, 2019).

Table 5. Chromatographic and spectroscopic characteristics of phenolic compound of *Opuntia elata* Salm-Dyck fruit obtained by HPLC-DAD-MS/MS.

Peak	Compound	t _R (min) ^a	λ _{max} (nm) ^b	[M - H] ⁻ (m/z)	MS / MS (m/z) ^c	Ref.	Concentration (μg.g ⁻¹) Arumbeva 1	Concentration (μg.g ⁻¹) Arumbeva 2	Concentration (μg.g ⁻¹) Arumbeva 3	Concentration (μg.g ⁻¹) Arumbeva 4
1	Not identified ^f	10.7	280	271.0482	123.0449 ; 109.0296 [M - H - 162] ⁻	Semedo (2012)	159.86 ± 11.11 ^B	152.24 ± 14.94 ^B	232.34 ± 16.07 ^B	638.82 ± 70.97 ^A
2	Piscidic acid derivative ^g	11.8	266	417.1255	165.3113 [M - H - 252] ⁻	Semedo (2012)	1206.51 ± 85.72 ^B	1702.31 ± 168.88 ^A	1670.92 ± 216.52 ^A	1958.59 ± 73.72 ^A
3	Piscidic acid ^g	13.4	274	255.0548	193.0459 [M - H - 62] ⁻ ; 179.0372; 165.0579 [M - H - 90] ⁻	Aruwa et al. (2019); Semedo (2012)	23728.85 ± 1925.07 ^A	27743.63 ± 3829.34 ^A	25410.38 ± 2826.83 ^A	23488.99 ± 2606.70 ^A
4	Dicaffeic acid ^d	18.4	325	341.0923	179.0361 [M - H - 162] ⁻ ; 161.0252 [M - H - 18] ⁻ ; 133.0303	Da Silva et al. (2014)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
5	Taxifolin hexoside ^h	20.8	288 ^e 325	465.1974	303.1383 [M - H - 162] ⁻ ; 285.1309 [M - H - 18] ⁻ ; 151.3950 [M - H - 28] ⁻	Cheiran et al. (2019); Hofmann et al. (2015); Da Silva et al. (2014)	61.53 ± 0.93 ^B	62.67 ± 0.40 ^B	69.16 ± 1.65 ^A	67.34 ± 1.32 ^A
6	<i>p</i> -Coumaric acid 4- <i>O</i> -glucoside ^e	22.2	288	325.0990	145.0316 [M - H - 180] ⁻ ; 117.0370	Aruwa et al. (2019)	16.00 ± 0.95 ^A	18.52 ± 2.10 ^A	19.05 ± 2.02 ^A	8.88 ± 1.36 ^B
7	Caffeic acid 4- <i>O</i> -glucuronide ^d	23.8	296 (sh) ^e 330	355.1092	175.0365 [M - H - 180] ⁻ ; 160.0179 [M - H - 195] ⁻ ; 134.0383	Aruwa et al. (2019)	130.45 ± 10.62 ^B	114.76 ± 16.16 ^B	142.65 ± 15.50 ^B	205.10 ± 22.28 ^A
8	Tri-glycosylated quercetin I ⁱ	25.5	342	755.220	301.0367 ; 300.0318 ; 178.9999	Santos et al. (2018)	9.03 ± 0.95 ^A	8.49 ± 0.92 ^A	9.85 ± 0.73 ^A	9.89 ± 0.28 ^A
9	Tri-glycosylated quercetin II ⁱ	25.7	343	755.2197	301.0380 ; 300.0313 ; 179.0033	Santos et al. (2018)	1.37 ± 0.18 ^C	2.46 ± 0.10 ^A	1.96 ± 0.23 ^B	1.27 ± 0.14 ^C
10	Isorhamnetin- <i>O</i> -hexoside- <i>O</i> -(dihexosylhexoside) ⁱ	26.3	355	931.2655	605.1579; 339.0558; 315.0518 ; 314.0475 ; 179.0019	Castañeda (2019)	190.03 ± 19.04 ^{A,B}	233.05 ± 23.05 ^A	235.22 ± 27.04 ^A	166.73 ± 24.03 ^B
11	Isorhamnetin- <i>O</i> -(di-deoxyhexosyl-hexoside) ⁱ	27.2	355	769.2382	315.0514 [M - H - 454] ⁻ ; 314.0490 ; 179.0012	Castañeda (2019); Semedo (2012)	147.39 ± 15.24 ^A	156.99 ± 16.98 ^A	173.34 ± 16.45 ^A	156.65 ± 20.37 ^A
12	Isorhamnetin- <i>O</i> -(di-deoxyhexosyl-hexoside) ⁱ	27.7	356	769.2361	315.0509 [M - H - 454] ⁻ ; 314.0484 ; 179.0494; 119.0372	Castañeda (2019); Semedo (2012)	32.93 ± 3.56 ^A	36.52 ± 4.75 ^A	38.79 ± 3.13 ^A	35.28 ± 5.04 ^A

P ea k	Compound	t _R (min) ^a	λ max (nm) ^b	[M - H] ⁻ (m/z)	MS / MS (m/z) ^c	Ref.	Concentration (μg.g ⁻¹) Arumbeva 1	Concentration (μg.g ⁻¹) Arumbeva 2	Concentration (μg.g ⁻¹) Arumbeva 3	Concentration (μg.g ⁻¹) Arumbeva 4
13	Quercetin-3- <i>O</i> - rutinoside (rutin) ^j	28.2	356	609.1585	403.1872; 343.0585; 301.0366 [M - H - 308] ⁻ ; 300.0324 ; 151.0053	Aruwa et al. (2019); Castañeda (2019); Hoffmann et al. (2018); Kivrak et al. (2018); Campos (2016)	73.93 ± 7.47 ^A	76.70 ± 7.89 ^A	83.00 ± 7.67 ^A	85.19 ± 10.05 ^A
14	Not identified ^f	29.5	279	565.2018	361.1760; 339.1265; 327.1285 [M - H - 238] ⁻	Semedo (2012)	62.94 ± 1.35 ^B	63.06 ± 0.39 ^B	68.90 ± 1.86 ^B	80.54 ± 5.47 ^A
15	Isorhamnetin 3- <i>O</i> - galactoside 7- <i>O</i> - rhamnoside or Isorhamnetin 3- <i>O</i> - glucoside 7- <i>O</i> - rhamnoside ⁱ	30.5	347	623.1726	357.0672; 315.0553 [M - H - 308] ⁻ ; 299.0284	Aruwa et al. (2019)	222.67 ± 21.33 ^A	243.92 ± 30.27 ^A	268.41 ± 29.24 ^A	237.75 ± 27.48 ^A
16	Trihydroxy octadecenoic acid (pinellic acid) or Cirsiliol ^d	31.3	328	329.1063	137.0257 [M - H - 192] ⁻	Aruwa et al. (2019); Slimen et al. (2017)	57.10 ± 2.18 ^A	58.69 ± 2.57 ^A	49.22 ± 2.85 ^B	43.95 ± 2.48 ^B
17	Taxifolin ^h	33.1	292 ^e 323	303.0547	151.0195 [M - H - 152] ⁻ ; 125.0261 [M - H - 178] ⁻	Aruwa et al. (2019); El Mannoubi et al. (2010)	103.97 ± 3.04 ^A	108.27 ± 2.92 ^A	73.92 ± 1.00 ^B	71.86 ± 1.07 ^B
Total phenolic compounds							26204.56 ± 2102.61 ^A	30782.27 ± 4117.77 ^A	28547.11 ± 3163.89 ^A	27256.83 ± 2763.99 ^A
Total hydroxybenzoic acids							25158.16 ± 2019.78 ^A	29661.23 ± 4012.41 ^A	27382.55 ± 3058.14 ^A	26166.95 ± 2649.58 ^A
Total flavanonols							165.50 ± 3.27 ^A	170.94 ± 3.32 ^A	143.08 ± 2.57 ^B	139.20 ± 1.76 ^B
Total flavonol							677.35 ± 67.03 ^A	758.12 ± 83.75 ^A	810.56 ± 83.85 ^A	692.75 ± 86.70 ^A
Total hydroxycinnamic acids							203.55 ± 13.57 ^B	191.97 ± 20.31 ^B	210.92 ± 20.06 ^{A,B}	257.93 ± 26.09 ^A

^a Retention time on the C18 Synergi (4 μm) column; ^b Solvent: gradient of 0.5% formic acid in water and acetonitrile with 0.5% formic acid; ^c In the MS/MS, the most abundant ion shown in boldface; ^d Quantified as Caffeic Acid; ^e Quantified as Coumaric acid; ^f Quantified as Gallic Acid; ^g Quantified as Hydroxybenzoic Acid; ^h Quantified as Quercetin; ⁱ Quantified as Quercetin 3-glucoside; ^j Quantified as Rutin. Data represent the mean of 3 replicates ± standard deviation. Different uppercase superscript letters in the same line indicate statistically significant difference by Tukey test (p<0.05). LOQ: Limit of Quantification.

In this fruit, 96.1% of the compounds were part of the hydroxybenzoic acids group, 2.6% to flavonols, 0.8% of hydroxycinnamic acids, and 0.5% to flavanonols.

Two hydroxybenzoic acids (Piscidic acid and its derivative, peaks **3** and **2**, respectively) were the major compounds, followed by isorhamnetin derivatives and caffeic acid 4-*O*-glucuronide. Together, these compounds presented concentrations of 24935, 29446, 27081, 25448 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw in Arumbeva 1, 2, 3, and 4, respectively, which was the maximum concentration detected among the compounds identified in the present study. The occurrence of piscidic acid is uncommon in nature, but it has also been identified in the Mexican and Spanish prickly pear as a major phenolic (García-Cayuela et al., 2019).

Compound **4** presented the negative molecular at m/z 341 and a fragmentation pattern typical of dicaffeic acid (Silva, Rodrigues, Mercadante, & De Rosso, 2014). Peaks **5** and **17**, which corresponded, respectively, to the compounds taxifolin hexoside (at m/z 465) and taxifolin (at m/z 303) were identified by the fragmentation pattern, which was consistent with previous data (Aruwa, Amoo, & Kudanga, 2019; Cheiran et al., 2019; da Silva et al., 2014; El Mannoubi, Barrek, Skanji, & Zarrouk, 2010; Hofmann, Nebehaj, & Albert, 2015; Zapata et al., 2012).

Two signals (peaks **8** and **9**) at m/z 755 $[\text{M}-\text{H}]^-$ were observed that eluted at 25 min. These components were identified as tri-glycosylated quercetin I and II, and the fragmentation pattern reported is consistent with the literature (Santos et al., 2018). Peaks **10**, **11**, **12** and **15** displayed a fragment ion (MS/MS) at m/z 315, corresponding to isorhamnetin derivatives, consistent with previous data (Aruwa et al., 2019; Castañeda, 2019; Semedo, 2012). Cactus pear fruit is a unique source of isorhamnetin glycosides, especially isorhamnetin-3-*O*-rutinoside and isorhamnetin tryglycosides and phenolic acids such as fukic acid, piscidic acid and eucomic acid (Benayad, Martinez-Villaluenga, Frias, Gomez-Cordoves, & Es-Safi, 2014). Phenolic compounds such as piscidic acid and isorhamnetin glycosides have high antioxidant and anti-inflammatory activity (Gómez-Maqueo et al., 2019).

Compound **13** was identified as quercetin-3-*O*-rutinoside (rutin) because it had a $[\text{M}-\text{H}]^-$ at m/z 609, and analysis of the MS/MS spectra revealed the loss of 380 Da, corresponding a loss of a disaccharide and giving a molecular mass of 301 Da, which is quercetin.

Although not identified, peaks **1** and **14** showed characteristics similar to those found by Semedo (2012) in *O. ficus indica*.

3.2 Phenolic compounds quantification (hydroethanolic extracts)

The hydroethanolic extracts of the three fruits were also evaluated for their phenolic composition. In the formulation of these extracts, ethanol was chosen because it is an efficient solvent in the extraction of the phenolic compounds, cheap and ecological, in addition to presenting low toxicity in relation to others commonly used (Blidi, Bikaki, Grigorakis, Loupassaki, & Makris, 2015). The chosen solution was efficient to extract the phenolic compounds from the matrices.

The hydroethanolic extracts of all samples from Butiá da Praia showed a greater amount of total phenolic compounds, hydroxybenzoic acids, and flavonols, with an increase of 97, 56 and 48% of the total phenolic compounds for samples 1, 2 and 3 respectively (**Table S1, Supplementary Material**). The main groups found in the hydroethanolic extract were the same found in the fruit: 76.9% hydroxybenzoic acids and 13.4% flavan-3-ols, followed by flavonol (5%), hydroxycinnamic acids (3.8%) and stilbenes (0.9%) in lower concentrations. The major compounds identified hydroxybenzoic and chlorogenic acids, catechin or epicatechin and their derivatives and rutin were the predominant compounds, likewise in the fruit. The content of stilbenes in the hydroethanolic extracts of all three samples was decreased.

For Butiá da Serra, the extracts had no increase in the content of total phenolics (**Table S2, Supplementary Material**). Although the content of total phenolic compounds in the hydroethanolic extract was similar to the fruit, the content of flavan-3-ols, flavanones and stilbenes decreased substantially. In the average of the evaluated samples, 52.6% belonged to the flavan-3-ols group, 36.1% to hydroxybenzoic acids, followed by hydroxycinnamic acids (5.8%), flavonols (3.8%), stilbenes (1.5%), and flavanones (0.2%) in lower concentrations.

The concentration of phenolic compounds has greatly increased in hydroethanolic extracts of Arumbeva (**Table S3, Supplementary Material**). Similar to the fruit extract, the two main groups were hydroxybenzoic acids (96%) and flavonol (2.8%), followed by hydroxycinnamic acids (0.8%) and flavan-3-ols (0.4%) in a lower concentration. Except for flavan-3-ols, in comparison to the fruit extract, the phenolic compounds of the sample 1 increased their content by about 2-fold. The phenolic profile was dominated by piscidic acid and its derivative and isorhamnetin derivatives, similar to those found in the fruit.

3.3 Antioxidant capacity

Many studies show a strong and positive correlation between the content of phenolic compounds and the antioxidant potential of fruits and vegetables that, when incorporated into the human diet, reducing the risk of developing some diseases (Santos-Buelga et al., 2019). The antioxidant activity of phenolic compounds is attributed to the capacity of scavenging free

radicals, donating hydrogen atoms, electrons, or chelate metal cations (Minatel et al., 2017; Santos-Buelga et al., 2019). Thus, their molecular structures (especially the number and positions of hydroxyl groups, and the nature of substitutions in aromatic rings) is highly related to the antioxidant activity of these compounds (Santos-Buelga et al., 2019).

Reactive oxygen and nitrogen species (ROS and RNS) are derived from endogenous sources (mitochondria, peroxisomes, endoplasmic reticulum, phagocytic cells, etc.) and exogenous sources (pollution, alcohol, tobacco smoke, heavy metals, transition metals, industrial solvents, pesticides, certain medications such as halothane, paracetamol, and radiation) (Phaniendra, Jestadi, & Periyasamy, 2015). Although they are products of normal cellular metabolism, due to their high reactivity, they can abstract electrons from other compounds for stability (Phaniendra et al., 2015). Thus, the attacked molecule loses its electron and becomes a free radical itself, beginning a cascade of chain reactions that finally damage the living cell and consequently impair vital functions in the human body (Phaniendra et al., 2015). Oxidative and nitrosative stress are developed when there is an excess production of ROS/RNS or a deficiency of enzymatic and non-enzymatic antioxidants on the other (Phaniendra et al., 2015).

Table 6 shows the antioxidant capacity of the hydroethanolic extracts of Butiá da Praia, Butiá da Serra and Arumbeva evaluated by the ABTS, deoxyribose and ORAC assay.

Table 6. Antioxidant capacity of hydroethanolic extracts of the *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi, *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) and *Opuntia elata* Salm-Dyck fruit.

Samples	IC ₅₀		Peroxyl radical (ROO•)
	ABTS	Hydroxyl radical (*OH)	
Butiá da Praia 1	108.5 ± 15.93 ^b	6.59 ± 0.50 ^b	228.22 ± 15.26 ^a
Butiá da Praia 2	231.1 ± 47.02 ^a	18.80 ± 4.21 ^a	196.66 ± 17.34 ^a
Butiá da Praia 3	177.7 ± 41.06 ^{a,b}	15.41 ± 4.47 ^{a,b}	192.00 ± 29.92 ^a
Butiá da Serra 1	61.01 ± 8.23 ^b	9.16 ± 1.85 ^b	281.65 ± 18.56 ^a
Butiá da Serra 2	163.8 ± 13.57 ^a	27.58 ± 9.89 ^a	182.17 ± 25.98 ^b
Butiá da Serra 3	71.84 ± 2.69 ^{a,b}	22.19 ± 0.38 ^{a,b}	250.60 ± 26.54 ^{a,b}
Arumbeva 1	339.5 ± 72.40 ^{b,c}	34.93 ± 3.57 ^b	172.05 ± 30.50 ^a
Arumbeva 2	261.1 ± 33.97 ^c	78.76 ± 3.15 ^b	187.70 ± 26.45 ^a
Arumbeva 3	483.1 ± 26.02 ^b	73.81 ± 5.50 ^b	241.88 ± 35.95 ^a
Arumbeva 4	1120 ± 83.51 ^a	4106 ± 925.10 ^a	167.91 ± 27.09 ^a

Values are the mean of 3 replications (± standard deviation). ABTS and Deoxyribose: Results expressed as IC₅₀ (µg.mL⁻¹). ORAC (oxygen radical absorbance capacity): Results expressed as µM of Trolox equivalents (TE) per g of extract in dry weight. Different superscript in the same column for each fruit indicate statistically significant difference (p<0.05)

The ABTS test - 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) - is one of the most used to measure the antioxidant capacity, measuring compounds of hydrophilic and lipophilic nature (Kuskoski et al., 2005; Maria do Socorro Moura Rufino et al., 2007). In all tested concentrations, the samples from Butiá da Praia and Arumbeva remove ABTS^{•+} radical (**Fig. S4, Supplementary Material**). For Butiá da Serra, the reduction was obtained only at the lowest concentrations (50 and 100 µg.mL⁻¹). In all samples, the lower the tested concentration, the more effective was the reduction. In the comparison between the different harvests of each fruit, Butiá da Praia 1, Butiá da Serra 1, and Arumbeva 2 were the ones with the lowest IC₅₀, which means the highest antioxidant capacity (**Table 6**).

As expected, the addition of H₂O₂ depleted the GSH levels of the medium when compared to the control (172.1±72.3 nmol DTNB.mL⁻¹ for H₂O₂ vs. 383.0±71.7 nmol DTNB.mL⁻¹ for Control). None of the hydroethanolic extracts were able to prevent the oxidation of GSH by hydrogen peroxide (*p* > 0.05, data not shown). There was no effect of the fruits studied against the depletion of GSH by H₂O₂ in the average of all concentrations tested and harvests (265.5±5.5 vs. 246.7±9.1 nmol DTNB.mL⁻¹ for Butiás da Praia; 145.1±7.5 vs. 167.3±34.9 nmol DTNB.mL⁻¹ for Butiás da Serra and; 81.5±6.7 vs. 102.2±49.8 nmol DTNB.mL⁻¹ for Arumbevas). Thus, we can speculate that in a water-soluble medium, the hydroethanolic extracts from different samples of Butiá da Praia, Butiá da Serra, and Arumbeva fruit are not able to scavenge H₂O₂ or directly reduce GSH, similar to the results found by Torma et al. (2017) for açai.

The ability of hydroethanolic extracts to remove the hydroxyl radical (•OH) formed from the Fenton reaction was also evaluated by the deoxyribose degradation method (Pizzino et al., 2017). In the deoxyribose assay, all extracts at all concentrations used showed scavenging effects (**Fig. S5, Supplementary Material**). Butiá da Praia 1, Butiá da Serra 1, and Arumbeva 3 showed the superior antioxidant capacity (**Table 6**). There is no endogenous enzymatic mechanism to eliminate this radical and, therefore, hydroxyl radical is considered the most reactive among all the free radicals and can cause lipid peroxidation, thus damaging cell membranes and lipoproteins (Pizzino et al., 2017).

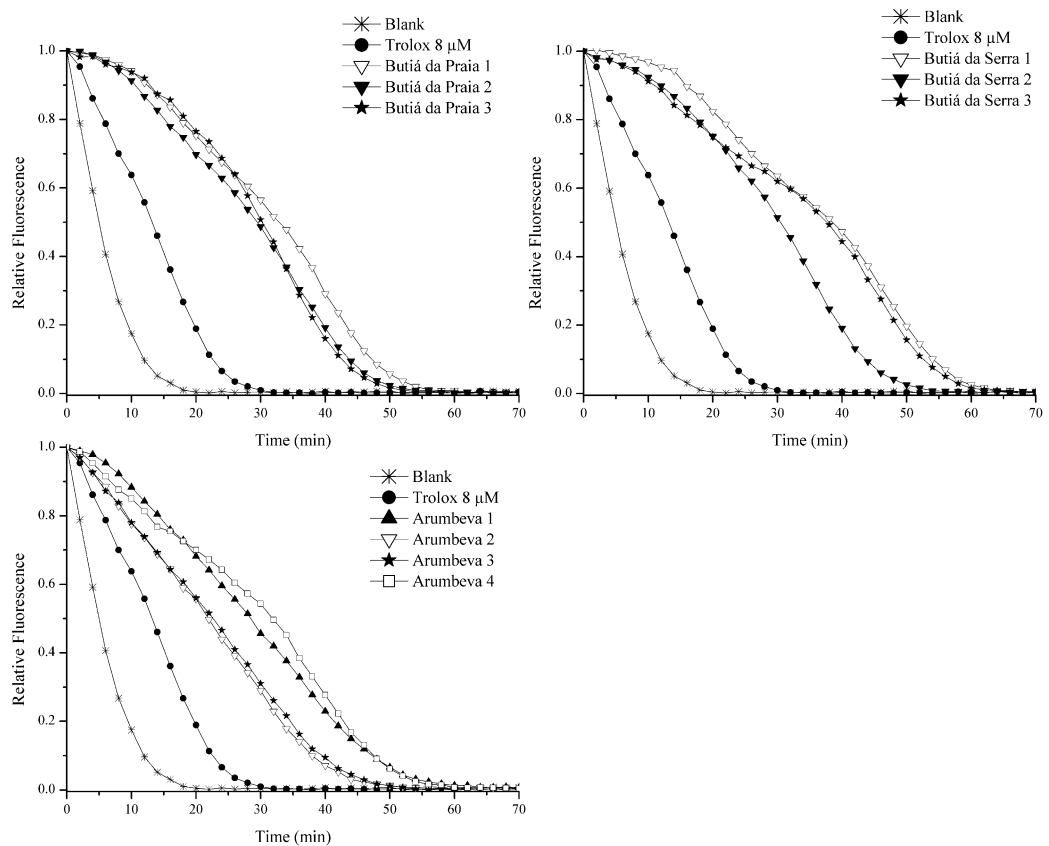
The results obtained in the IC₅₀ for ABTS and hydroxyl radicals are in agreement with the quantification of the total phenolic compounds in the extracts. Butiá da Praia 1 and Butiá da Serra 1 had the lowest IC₅₀ values for both analyzes and were the extracts with the highest amount of phenolic compounds. Butiá da Praia 2 had the highest IC₅₀ values and the lowest phenolic content. For Arumbeva, samples 1 and 2 presented the lowest values for the IC₅₀ of

ABTS and deoxyribose and were the ones with the highest amount of phenolic compounds, unlike sample 4, with the highest IC₅₀ values and the lowest amount of phenolic compounds.

The results of antioxidant capacity by the ORAC method of free radical deactivation analysis are shown in **Table 6**. This method uses peroxy radicals that are better models of antioxidant reactions with oxidizing lipids and in foods and *in vivo*, provides continuous generation of radicals on a realistic time scale, and it is conducted under conditions close to physiological (Schaich, Tian, & Xie, 2015).

Also, the fluorescence relative decay curve for the trolox standard, blank, and native fruit hydroethanolic extracts at different concentrations (200 ppm for Butiá da Praia e Butiá da Serra and 250 ppm for Arumbeva) is shown in **Figure 1**, which indicates that the longer the delay time of the drop in the fluorescence intensity in the test, the higher efficiency of the antioxidant in transferring hydrogen atoms to the peroxy radical and, therefore, the higher the efficiency in inhibiting the reaction speed. The antioxidant capacity of the extracts is high and always higher than that of Trolox, which is suitable as a biological antioxidant due to its high capacity to capture ROS. The graphs demonstrate the protective capacity of the extracts since they managed to delay the decay of fluorescein. The significant increase in antioxidant capacity is due to the high content of bioactive compounds.

Figure 1. Fluorescence relative decay curve induced by AAPH in the presence of native fruit (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi, *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) and *Opuntia elata* Salm-Dyck) hydroethanolic extracts at different concentrations (200 ppm for Butiá da Praia e Butiá da Serra and 250 ppm for Arumbeva).



Among the results of the different harvests, only Butiá da Serra presented significant values, with sample 1 showing higher activity than sample 2 (281.65 ± 18.56 vs. 182.17 ± 25.98 $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$ dw).

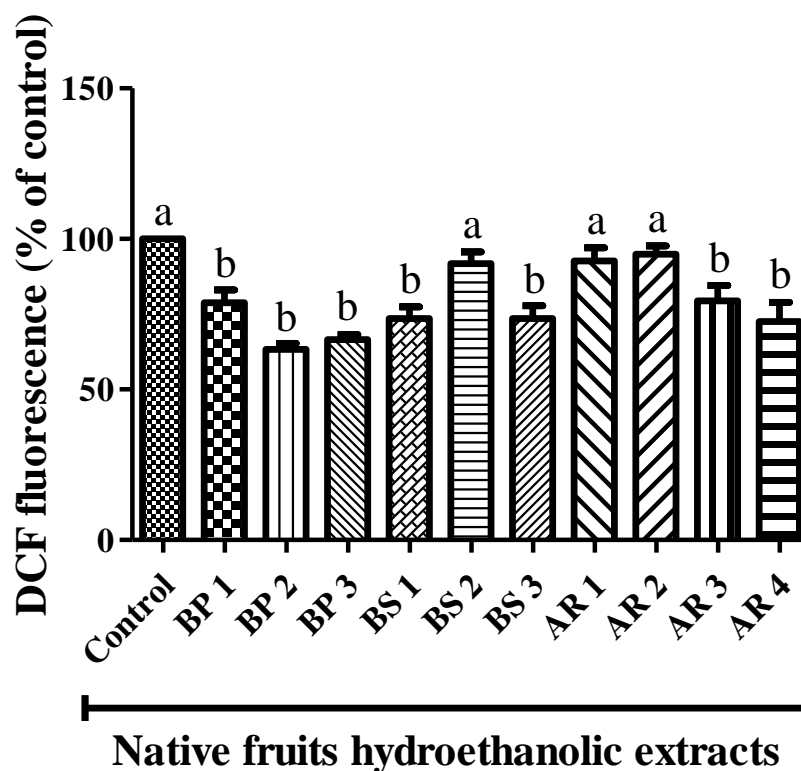
For the three extracts studied, the values found are superior to fruits such as chokeberry, wild blueberry, cranberry, blackberry, raspberry and strawberry (160.62 ; 134.27 ; 89.83 ; 77.01 ; 60.58 and 59.38 $\mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively) (Schaich et al., 2015), likewise, avocado, grape and lemon (21.4 ; 35.8 ; 37.2 $\mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively) (Morales-Soto et al., 2014). For *O. ficus-indica* the ORAC values found for the peel and pulp were 297.6 ± 22.5 and 81.4 ± 11.5 $\mu\text{M Trolox eq}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight, respectively (Gómez-Maqueo et al., 2019), which can be compared to these results.

Despite the difference in methods, studies report a strong positive correlation between different tests that assess antioxidant capacity (Dudonné, Vitrac, Coutière, Woillez, & Mérillon, 2009; Floegel et al., 2010). Although the methods use different mechanisms, analysis conditions and free radicals (which explains the different values), in this study, they showed agreement. For example, Butiá da Praia 1 and Butiá da Serra 1 presented the superior

antioxidant capacity for both the ABTS, deoxyribose and the ORAC methods; likewise, lower values for sample 4 of Arumbeva.

The determinations carried out *in vitro* give us only an idea of what happens in complex situations *in vivo* (Kuskoski et al., 2005). Therefore, the extracts were also tested on markers of oxidative damage in *C. elegans*. The nematode has emerged as an important experimental model, since it has similarities with mammals regarding the neurobiology and stress responses (Hunt, 2017). The ROS generation by the metabolism of *C. elegans*, evaluated by DCF fluorescence, was lower for Butiá da Praia 1, 2, and 3; Butiá da Serra 1 and 3; and Arumbeva 3 and 4 when compared to the control ($p \leq 0.05$, **Figure 2**). This effect may be associated with the phenolic composition of the sample or an endogenous defense mechanism, such as the activation of antioxidant enzymes, not evaluated in this study, capable of counterbalancing it (Yang & Hekimi, 2010). This reflects the maintenance of the balance between the systemic manifestation of ROS or the reduction of the ability to promptly detoxify the reactive intermediates or repair the damage. All the other extracts did not differ from the control, so they did not increase or decrease the generation of ROS. Furthermore, the addition of hydroethanolic extracts did not affect the survival of the nematodes when compared to the control ($p > 0.05$, data not shown), which indicates the absence of toxicity of the extracts. In fact, Tambara et al. (2020) observed that *B. eriospatha* extract did not affect the worms' survival or egg laying, besides reverse the oxidative damage induced by hydrogen peroxide and extend the lifespan of the nematode.

Figure 2. Effect of native fruit (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi, *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) and *Opuntia elata* Salm-Dyck) hydroethanolic extracts on ROS generation [dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) assay]. Results are expressed in means and different superscript indicate statistically significant difference (one way ANOVA and Tukey Test, $p \leq 0.05$). AR: Arumbeva; BP: Butiá da praia; BS: Butiá da Serra.



4. CONCLUSIONS

The native Brazilian fruits Butiá da Praia, Butiá da Serra, and Arumbeva have in their composition considerable amounts of bioactive compounds, well as antioxidant activity, with 18, 28 and 17 individual phenolic compounds identified, respectively. The main groups of phenolic compounds found in the fruits of Butiá da Praia and Arumbeva were hydroxybenzoic acids and flavan-3-ols. Butiá da Serra was characterized mainly by hydroxybenzoic acids and flavonols. This study is the first to address specifically the phenolic compounds of the Butiá da Serra and Arumbeva species and highlights these fruits as new sources of natural antioxidants.

This study elucidated that the hydroethanolic extracts formulated from these fruits were considered excellent sources of phenolic compounds, reaching an increase of up to 98% in the total phenolic compounds of the fruit. In addition, the extracts had antioxidant effects *in vitro* and *in vivo*, as well as, did not present toxic effect *in vivo*. The formulation of extracts can further expand its use, enabling future applications in food and/or pharmaceutical products, encouraging and valuing the sustainable use of biodiversity.

In addition to the health benefits, the fruits included in this study proved to be promising sources of natural antioxidants, with variation among species as well as the influence of the collection site on phenolic composition.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Biodiversity for Food and Nutrition Project, Ministry of the Environment (MMA), Brazilian Biodiversity Fund (FUNBIO), Bioversity International, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and Global Environment Facility (GEF), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for fellowships and financial support.

REFERENCES

- Ahmad, N., Zuo, Y., Lu, X., Anwar, F., & Hameed, S. (2016). Characterization of free and conjugated phenolic compounds in fruits of selected wild plants. *Food Chemistry*, *190*, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.077>
- Aruwa, C. E., Amoo, S., & Kudanga, T. (2019). Phenolic compound profile and biological activities of Southern African *Opuntia ficus-indica* fruit pulp and peels. *Lwt*, *111*(April), 337–344. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.028>
- Aruwa, C. E., Amoo, S. O., & Kudanga, T. (2018). *Opuntia* (Cactaceae) plant compounds, biological activities and prospects – A comprehensive review. *Food Research International*, *112*(June), 328–344. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.047>
- Avila, D. S., Benedetto, A., Au, C., Manarin, F., Erikson, K., Soares, F. A., ... Aschner, M. (2012). Organotellurium and organoselenium compounds attenuate Mn-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans* by preventing oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, *52*(9), 1903–1910. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.02.044>
- Barros, R. G. C., Andrade, J. K. S., Denadai, M., Nunes, M. L., & Narain, N. (2017). Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity in some Brazilian exotic fruit residues. *Food Research International*, *102*, 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.082>
- Belhadj Slimen, I. (2017). LC-MS Analysis of Phenolic Acids, Flavonoids and Betanin from Spineless *Opuntia ficus-indica* Fruits. *Cell Biology*, *5*(2), 17. <https://doi.org/10.11648/j.cb.20170502.12>
- Benayad, Z., Martinez-Villaluenga, C., Frias, J., Gomez-Cordoves, C., & Es-Safi, N. E. (2014). Phenolic composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from Moroccan *Opuntia ficus-indica* flowers obtained by different extraction methods. *Industrial Crops and Products*, *62*, 412–420. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.046>
- Bento-Silva, A., Koistinen, V. M., Mena, P., Bronze, M. R., Hanhineva, K., Sahlström, S., ... Aura, A. M. (2019). Factors affecting intake, metabolism and health benefits of phenolic acids: do we understand individual variability? *European Journal of Nutrition*, (0123456789). <https://doi.org/10.1007/s00394-019-01987-6>
- Bliidi, S., Bikaki, M., Grigorakis, S., Loupassaki, S., & Makris, D. P. (2015). A Comparative Evaluation of Bio-solvents for the Efficient Extraction of Polyphenolic Phytochemicals: Apple Waste Peels as a Case Study. *Waste and Biomass Valorization*, *6*, 1125–1133. <https://doi.org/10.1007/s12649-015-9410-3>
- Boeing, J. S., Barizão, É. O., Rotta, E. M., Volpato, H., Nakamura, C. V., Maldaner, L., & Visentainer, J. V. (2020). Phenolic Compounds from *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick Fruit and Its Antioxidant and Antitumor Activities. *Food Analytical Methods*, *13*(1), 61–68. <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01515-6>
- Borbalán, Á. M. A., Zorro, L., Guillén, D. A., & Barroso, C. G. (2003). Study of the polyphenol content of red and white grape varieties by liquid chromatography-mass spectrometry and its relationship to antioxidant power. *Journal of Chromatography A*, *1012*(1), 31–38.

- [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)01187-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01187-7)
- Brenner, S. (1974). The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 77, 71–94.
<https://doi.org/10.1002/cbic.200300625>
- Campos, M. J. de B. (2016). *Propriedades biológicas e aplicações do fruto Opuntia Ficus-Indica (L.)*. Universidade do Algarve.
- Castagna, A., Dall’Asta, C., Chiavaro, E., Galaverna, G., & Ranieri, A. (2014). Effect of Post-harvest UV-B Irradiation on Polyphenol Profile and Antioxidant Activity in Flesh and Peel of Tomato Fruits. *Food and Bioprocess Technology*, 7(8), 2241–2250. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1214-5>
- Castañeda, B. M. (2019). *Aprovechamiento de subproductos de cultivos de higo chumbo (Opuntia ficus-indica L.) y aguacate (Persea americana)*. Universitat Politècnica de València.
- Charão, M. F., Souto, C., Brucker, N., Barth, A., Jornada, D. S., Fagundes, D., ... Garcia, S. C. (2015). *Caenorhabditis elegans* as an alternative in vivo model to determine oral uptake, nanotoxicity, and efficacy of melatonin-loaded lipid-core nanocapsules on paraquat damage. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 5093–5106. <https://doi.org/10.2147/IJN.S84909>
- Cheiran, K. P., Raimundo, V. P., Manfroi, V., Anzanello, M. J., Kahmann, A., Rodrigues, E., & Frazzon, J. (2019). Simultaneous identification of low-molecular weight phenolic and nitrogen compounds in craft beers by HPLC-ESI-MS/MS. *Food Chemistry*, 286(June 2018), 113–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.198>
- Clifford, M. N., Johnston, K. L., Knight, S., & Kuhnert, N. (2003). Hierarchical scheme for LC-MSn identification of chlorogenic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2900–2911. <https://doi.org/10.1021/jf026187q>
- Coradin, L., Siminski, A., & Reis, A. (2011). *Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas pra o futuro. Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial Plantas para o Futuro - Região Sul*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. <https://doi.org/978-85-7738-153-1>
- da Silva, N. A., Rodrigues, E., Mercadante, A. Z., & De Rosso, V. V. (2014). Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(22), 5072–5084. <https://doi.org/10.1021/jf501211p>
- Denardin, C. C., Hirsch, G. E., Da Rocha, R. F., Vizzotto, M., Henriques, A. T., Moreira, J. C. F., ... Emanuelli, T. (2015). Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(3), 387–398. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.01.006>
- Dudonné, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., & Mérillon, J. M. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 1768–1774. <https://doi.org/10.1021/jf803011r>
- El Mannoubi, I., Barrek, S., Skanji, T., & Zarrouk, H. (2010). Antioxidant activities and HPLC/UV/MS characterization of flavonoid extracts from *Opuntia ficus indica* seeds and peels. *Acta Horticulturae*, 853, 189–198. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.853.22>
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82, 70–77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Song, W. O., Fernandez, M. L., Bruno, R. S., ... Chun, O. K. (2010). Development and validation of an algorithm to establish a total antioxidant capacity database of the US diet. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 61(6), 600–623. <https://doi.org/10.3109/09637481003670816>
- García-Cayuela, T., Gómez-Maqueo, A., Guajardo-Flores, D., Welti-Chanes, J., & Cano, M. P. (2019). Characterization and quantification of individual betalain and phenolic compounds in Mexican and Spanish prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L. Mill) tissues: A comparative study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 76(November 2018), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.11.002>
- Gómez-Maqueo, A., García-Cayuela, T., Welti-Chanes, J., & Cano, M. P. (2019). Enhancement of anti-inflammatory and antioxidant activities of prickly pear fruits by high hydrostatic pressure: A chemical and microstructural approach. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 54(January), 132–142. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.04.002>

- Graça, V. C., Barros, L., Calhella, R. C., Dias, M. I., Ferreira, I. C. F. R., & Santos, P. F. (2017). Bio-guided fractionation of extracts of *Geranium robertianum* L.: Relationship between phenolic profile and biological activity. *Industrial Crops and Products*, *108*(June), 543–552. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.07.016>
- Halliwell, B. (2015). Free Radicals and Other Reactive Species in Disease. In *eLS*. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0002269.pub3>
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods in Enzymology*, *186*, 1–85. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86093-B](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86093-B)
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., & Aruoma, O. I. (1987). The deoxyribose method: A simple “test-tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Analytical Biochemistry*, *165*(1), 215–219. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90222-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90222-3)
- Hoffmann, J., Crizel, R. L., Madruga, N. de Á., Barbieri, R., Rombaldi, C., & Chaves, F. (2018). Flavan-3-ol, flavanone, flavone, flavonol, phenolic acid, and stilbene contents of four *Butia* species (Arecaceae), *73*(2), 125–137.
- Hoffmann, J. F., Carvalho, I. R., Barbieri, R. L., Rombaldi, C. V., & Chaves, F. C. (2017). *Butia* spp. (Arecaceae) LC-MS-based metabolomics for species and geographical origin discrimination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(2), 523–532. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03203>
- Hofmann, T., Nebehaj, E., & Albert, L. (2015). The high-performance liquid chromatography/multistage electrospray mass spectrometric investigation and extraction optimization of beech (*Fagus sylvatica* L.) bark polyphenols. *Journal of Chromatography A*, *1393*, 96–105. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.03.030>
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Hunt, P. R. (2017). The *C. elegans* model in toxicity testing. *Journal of Applied Toxicology*, *37*(1), 50–59. <https://doi.org/10.1002/jat.3357>
- Jaiswal, R., Jayasinghe, L., & Kuhnert, N. (2012). Identification and characterization of proanthocyanidins of 16 members of the *Rhododendron* genus (Ericaceae) by tandem LC-MS. *Journal of Mass Spectrometry*, *47*(4), 502–515. <https://doi.org/10.1002/jms.2954>
- Kalaycıoğlu, Z., & Erim, F. B. (2017). Total phenolic contents, antioxidant activities, and bioactive ingredients of juices from pomegranate cultivars worldwide. *Food Chemistry*, *221*, 496–507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.084>
- Kıvrak, Ş., Kıvrak, İ., & Karababa, E. (2018). Analytical evaluation of phenolic compounds and minerals of *Opuntia robusta* J.C. Wendl. and *Opuntia ficus-barbarica* A. Berger. *International Journal of Food Properties*, *21*(1), 244–256. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1451342>
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, *25*(4), 726–732. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>
- Li, Y., Zhang, J. J., Xu, D. P., Zhou, T., Zhou, Y., Li, S., & Li, H. Bin. (2016). Bioactivities and health benefits of wild fruits. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(8), E1258. <https://doi.org/10.3390/ijms17081258>
- Ma, C., Dunshea, F. R., & Suleria, H. A. R. (2019). LC-ESI-QTOF/MS characterization of phenolic compounds in palm fruits (Jelly and fishtail palm) and their potential antioxidant activities. *Antioxidants*, *8*(10). <https://doi.org/10.3390/antiox8100483>
- Magalhães, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., & Lima, J. L. F. C. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*, *613*, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.02.047>
- Minatel, I. O., Borges, C. V., Ferreira, M. I., Gomez, H. A. G., Chen, C.-Y. O., & Lima, G. P. P. (2017). Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. *Phenolic Compounds - Biological Activity*, 1–24. <https://doi.org/10.5772/66368>
- Miranda-Vizueté, A., & Veal, E. A. (2017). *Caenorhabditis elegans* as a model for understanding ROS function in physiology and disease. *Redox Biology*, *11*, 708–714. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.020>
- Morales-Soto, A., García-Salas, P., Rodríguez-Pérez, C., Jiménez-Sánchez, C., Cádiz-Gurrea, M. de la

- L., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2014). Antioxidant capacity of 44 cultivars of fruits and vegetables grown in Andalusia (Spain). *Food Research International*, 58, 35–46. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.050>
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., ... Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Reitz, R. (1974). Palmeiras. In R. Reitz (Ed.), *Flora ilustrada catarinense* (pp. 55–59). Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues (HBR).
- Rockenbach, I. I. ., Silva, G. L. da., Rodrigues, E., Kuskoski, E. M. ., & Fett, R. (2008). Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(2600), 238–244. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000500036>
- Rodrigues, E., Mariutti, L. R. B., & Mercadante, A. Z. (2013). Carotenoids and phenolic compounds from *Solanum sessiliflorum*, an unexploited amazonian fruit, and their scavenging capacities against reactive oxygen and nitrogen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(12), 3022–3029. <https://doi.org/10.1021/jf3054214>
- Rodriguez-Saona, L. E., & Wrolstad, R. E. (2001). Extraction , Isolation , and Purification of. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1>
- Rufino, Maria do Socorro M, Alves, R. E., de Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., & Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121(4), 996–1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>
- Rufino, Maria do Socorro Moura, Alves, R. E., Brito, E. S. de, Morais, S. M. de, Sampaio, C. de G., Pérez-Jiménez, J., & Calixto, F. D. S. (2007). Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. *Comunicado Técnico 128*, 23(2), 1–4. Retrieved from http://www.cnpat.embrapa.br/download_publicacao.php?id=209%0Ahttp://ebooks.cambridge.org/ref/id/CBO9781107415324A009
- Saini, R. K., Nile, S. H., & Park, S. W. (2015). *Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities*. *Food Research International* (Vol. 76). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.047>
- Santos-Buelga, C., González-Paramás, A. M., Oludemi, T., Ayuda-Durán, B., & González-Manzano, S. (2019). *Plant phenolics as functional food ingredients*. *Advances in Food and Nutrition Research* (1st ed., Vol. 90). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.012>
- Santos, C., Campestrini, L. H., Vieira, D. L., Pritsch, I., Yamassaki, F. T., Zawadzki-Baggio, S. F., ... Molento, M. B. (2018). Chemical characterization of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. hydroalcoholic extract and its efficiency against gastrointestinal nematodes of sheep. *Veterinary Sciences*, 5(3). <https://doi.org/10.3390/vetsci5030080>
- Schaich, K. M., Tian, X., & Xie, J. (2015). Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*, 14, 111–125. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.043>
- Schiassi, M. C. E. V., Souza, V. R. de, Lago, A. M. T., Campos, L. G., & Queiroz, F. (2018). Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. *Food Chemistry*, 245(June 2017), 305–311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.104>
- Semedo, A. (2012). Compostos bioativos de *Opuntia ficus indica*, 140.
- Seraglio, S. K. T., Schulz, M., Nehring, P., Della Betta, F., Valesse, A. C., Daguer, H., ... Costa, A. C. O. (2018). Nutritional and bioactive potential of Myrtaceae fruits during ripening. *Food Chemistry*, 239, 649–656. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.118>
- Silva, N. A. Da, Rodrigues, E., Mercadante, A. Z., & De Rosso, V. V. (2014). Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(22), 5072–5084. <https://doi.org/10.1021/jf501211p>

- Soares, J. C., Rosalen, P. L., Lazarini, J. G., Massarioli, A. P., da Silva, C. F., Nani, B. D., ... de Alencar, S. M. (2019). Comprehensive characterization of bioactive phenols from new Brazilian superfruits by LC-ESI-QTOF-MS, and their ROS and RNS scavenging effects and anti-inflammatory activity. *Food Chemistry*, 281(January), 178–188. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.106>
- Tambara, A. L., da Silveira, É. C., Soares, A. T. G., Salgueiro, W. G., Rodrigues, C. de F., Boldori, J. R., ... Denardin, C. C. (2020). Butiá fruit extract (*Butia eriospatha*) protects against oxidative damage and increases lifespan on *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Food Biochemistry*, (July 2019), 1–10. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13139>
- Teixeira, N., Melo, J. C. S., Batista, L. F., Paula-Souza, J., Fronza, P., & Brandão, M. G. L. (2019). Edible fruits from Brazilian biodiversity: A review on their sensorial characteristics versus bioactivity as tool to select research. *Food Research International*, 119(October 2018), 325–348. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.058>
- Torma, P. do C. M. R., Brasil, A. V. S., Carvalho, A. V., Jablonski, A., Rabelo, T. K., Moreira, J. C. F., ... Rios, A. de O. (2017). Hydroethanolic extracts from different genotypes of açai (*Euterpe oleracea*) presented antioxidant potential and protected human neuron-like cells (SH-SY5Y). *Food Chemistry*, 222, 94–104. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.006>
- Yang, W., & Hekimi, S. (2010). A mitochondrial superoxide signal triggers increased longevity in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Biology*, 8(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000556>
- Zapata, K., Cortes, F. B., Yong, J., Mosaddik, A., Kim, H., Cho, M., ... Ventura, S. J. (2012). Caracterização química da amêndoa de coquinho-azedo (*Butia capitata* var *capitata*). *Food Chemistry*, 34(1), 369–375. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452008000200049>

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1. Phenolic compound composition of *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi hydroethanolic extracts.

Peak	Compound	Concentration	Concentration	Concentration
		($\mu\text{g.mL}^{-1}$) Butiá da Praia 1	($\mu\text{g.mL}^{-1}$) Butiá da Praia 2	($\mu\text{g.mL}^{-1}$) Butiá da Praia 3
1	Not identified ^d	221.71 \pm 19.45 ^B	163.42 \pm 16.11 ^B	416.58 \pm 56.57 ^A
2	Dihydroxybenzoic acid ^e	6467.78 \pm 319.93 ^A	3260.18 \pm 381.75 ^B	3535.13 \pm 593.53 ^B
3	Not identified ^d	40.99 \pm 4.80 ^B	56.10 \pm 2.31 ^A	38.58 \pm 4.10 ^B
4	3-Caffeoylquinic Acid ^c	45.28 \pm 4.63 ^A	41.14 \pm 2.69 ^{A,B}	35.01 \pm 2.69 ^B
5	5-Caffeoylquinic Acid ^c	97.30 \pm 7.91 ^A	85.08 \pm 12.99 ^A	109.72 \pm 15.85 ^A
6	(+)-Catechin ^b	257.00 \pm 25.89 ^A	208.44 \pm 12.40 ^A	217.44 \pm 32.36 ^A
7	4-Caffeoylquinic Acid ^c	38.85 \pm 1.93 ^A	36.86 \pm 0.68 ^A	34.42 \pm 2.62 ^A
8	Catechin/epicatechin dimer I ^b	197.01 \pm 7.35 ^A	156.67 \pm 5.52 ^B	167.87 \pm 25.74 ^{A,B}
9	(-)-Epicatechin ^b	118.65 \pm 0.87 ^B	135.11 \pm 3.61 ^A	129.63 \pm 8.11 ^{A,B}
10	Epicatechin epicatechin ^b	140.79 \pm 11.47 ^A	146.88 \pm 6.31 ^A	123.36 \pm 9.71 ^A
11	Caffeoylshikimic acid ^c	62.77 \pm 1.94 ^A	51.19 \pm 2.05 ^B	63.39 \pm 6.74 ^A
12	Quercetin-3- <i>O</i> -rutinoside (rutin) ⁱ	244.47 \pm 2.01 ^A	271.05 \pm 32.93 ^A	168.96 \pm 32.19 ^B
13	Not identified ^a	<LOQ	<LOQ	<LOQ
14	Catechin/epicatechin dimer II ^b	200.14 \pm 21.04 ^A	107.21 \pm 2.89 ^C	163.24 \pm 9.65 ^B
15	Quercetin-3- <i>O</i> -glucoside ^g	14.01 \pm 0.82 ^B	23.44 \pm 3.32 ^A	8.82 \pm 1.50 ^B
16	Isorhamnetin- <i>O</i> -rutinoside ^g	54.95 \pm 1.49 ^B	73.76 \pm 9.97 ^A	29.68 \pm 6.12 ^C
17	Dihydrokaempferol acetyl-hexoside ^f	13.09 \pm 0.45 ^A	13.50 \pm 0.49 ^A	12.28 \pm 0.71 ^A
18	Tetrahydroxy- <i>trans</i> -stilbene ^h	54.52 \pm 0.48 ^A	52.57 \pm 1.77 ^A	52.10 \pm 4.42 ^A
Total phenolic compounds		8269.32 \pm 303.32 ^A	4882.61 \pm 475.42 ^B	5306.22 \pm 720.29 ^B
Total hydroxybenzoic acids		6730.49 \pm 299.69 ^A	3479.70 \pm 399.72 ^B	3990.29 \pm 653.86 ^B
Total flavan-3-ol		913.59 \pm 10.83 ^A	754.31 \pm 23.28 ^B	801.55 \pm 65.73 ^B
Total flavonol		326.52 \pm 2.75 ^A	381.75 \pm 46.00 ^A	219.74 \pm 31.52 ^B
Total hydroxycinnamic acids		244.20 \pm 7.65 ^A	214.27 \pm 11.42 ^A	242.55 \pm 17.86 ^A
Total stilbenes		54.52 \pm 0.48 ^A	52.57 \pm 1.77 ^A	52.10 \pm 4.42 ^A

^a Quantified as Caffeic Acid; ^b Quantified as Catechin; ^c Quantified as Chlorogenic Acid; ^d Quantified as Gallic Acid; ^e Quantified as Hydroxybenzoic Acid; ^f Quantified as Kaempferol; ^g Quantified as Quercetin 3-glucoside; ^h Quantified as Resveratrol; ⁱ Quantified as Rutin.

Data represent the mean of 3 replicates \pm standard deviation. Different uppercase superscript letters in the same line indicate statistically significant difference by Tukey test ($p < 0.05$). LOQ: Limit of Quantification.

Table S2. Phenolic compound composition of *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) hydroethanolic extracts.

Peak	Compound	Concentration	Concentration	Concentration
		($\mu\text{g.mL}^{-1}$) Butiá da Serra 1	($\mu\text{g.mL}^{-1}$) Butiá da Serra 2	($\mu\text{g.mL}^{-1}$) Butiá da Serra 3
1	Not identified ^d	167.16 ± 10.10 ^A	121.33 ± 9.36 ^B	95.83 ± 15.41 ^B
2	Dihydroxybenzoic acid ^e	5643.58 ± 163.47 ^A	904.63 ± 46.81 ^B	460.98 ± 76.01 ^C
3	(Epi)gallocatechin-(epi)catechin or (Epi)catechin-(epi)gallocatechin ^c	439.39 ± 43.70 ^B	737.39 ± 36.61 ^A	396.11 ± 15.26 ^B
4	Not identified ^d	42.64 ± 3.70 ^A	45.23 ± 1.08 ^A	41.27 ± 0.43 ^A
5	Epicatechin gallate ^c	3578.33 ± 465.49 ^A	1221.42 ± 60.31 ^B	1097.31 ± 78.10 ^B
6	3-Caffeoylquinic Acid ^b	36.81 ± 1.39 ^B	49.18 ± 3.11 ^A	35.76 ± 1.06 ^B
7	Catechin/epicatechin dimer I ^a	196.76 ± 21.57 ^{A,B}	140.76 ± 4.58 ^B	233.60 ± 37.45 ^A
8	5-Caffeoylquinic Acid ^b	120.51 ± 10.60 ^A	65.07 ± 1.04 ^B	66.74 ± 4.17 ^B
9	(+)-Catechin ^a	233.38 ± 23.35 ^A	175.05 ± 11.44 ^A	243.09 ± 42.84 ^A
10	4-Caffeoylquinic Acid ^b	49.46 ± 4.82 ^A	47.41 ± 0.42 ^A	38.37 ± 2.63 ^B
11	Procyanidin C1 trimer ^a	172.45 ± 23.27 ^{A,B}	128.65 ± 10.61 ^B	184.37 ± 19.37 ^A
12	Catechin/epicatechin dimer II ^a	276.12 ± 8.44 ^A	172.55 ± 18.20 ^B	138.97 ± 8.68 ^C
13	(-)-Epicatechin ^a	156.92 ± 7.88 ^{A,B}	171.70 ± 28.84 ^A	122.37 ± 9.86 ^B
14	Catechin/epicatechin dimer III ^a	352.22 ± 43.26 ^A	120.67 ± 6.23 ^B	291.41 ± 58.11 ^A
15	Caffeoylshikimic acid I ^b	61.49 ± 6.53 ^B	76.47 ± 5.84 ^A	36.76 ± 0.69 ^C
16	Caffeoylshikimic acid II ^b	168.10 ± 23.93 ^B	309.50 ± 25.06 ^A	58.09 ± 2.77 ^C
17	Quercetin-3- <i>O</i> -rutinoside (rutin) ^j	175.22 ± 27.57 ^A	50.41 ± 2.55 ^B	53.83 ± 6.77 ^B
18	Kaempferol-3- <i>O</i> -rutinoside ^f	25.07 ± 2.45 ^A	13.62 ± 0.13 ^B	15.15 ± 0.21 ^B
19	Quercetin-3- <i>O</i> -glucoside ^h	25.02 ± 4.72 ^A	4.79 ± 0.90 ^C	13.61 ± 2.56 ^B
20	Isorhamnetin- <i>O</i> -rutinoside ^h	85.55 ± 13.86 ^A	13.25 ± 1.07 ^C	59.52 ± 11.18 ^B
21	Quercetin-3- <i>O</i> -malonylglucoside ^h	53.99 ± 8.90 ^A	7.35 ± 1.03 ^C	30.74 ± 6.09 ^B
22	Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside ^f	23.89 ± 2.24 ^A	17.03 ± 0.27 ^B	14.42 ± 0.24 ^B
23	Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside ^f	14.02 ± 0.89 ^A	12.20 ± 0.35 ^B	14.30 ± 0.24 ^A
24	Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside ^f	29.37 ± 3.00 ^A	16.27 ± 0.22 ^B	13.83 ± 0.19 ^B
25	Tetrahydroxy- <i>trans</i> -stilbene ⁱ	51.73 ± 1.97 ^B	51.94 ± 1.75 ^B	59.77 ± 1.53 ^A
26	<i>Trans</i> -Resveratrol ⁱ	52.80 ± 2.05 ^A	53.13 ± 1.30 ^A	53.95 ± 2.05 ^A
27	Quercetin hexoside ^h	<LOQ	<LOQ	<LOQ
28	Pinocembrin ^g	32.97 ± 1.47	ND	ND
Total phenolic compounds		12264.97 ± 552.89 ^A	4727.01 ± 127.41 ^B	3870.15 ± 221.39 ^B
Total hydroxybenzoic acids		5853.39 ± 157.30 ^A	1071.19 ± 55.99 ^B	598.08 ± 69.72 ^C
Total flavan-3-ol		5405.57 ± 451.23 ^A	2868.19 ± 72.44 ^B	2707.23 ± 220.31 ^B
Total flavonol		432.14 ± 63.41 ^A	134.93 ± 5.45 ^B	215.41 ± 26.14 ^B
Total hydroxycinnamic acids		436.36 ± 39.05 ^B	547.63 ± 25.61 ^A	235.72 ± 7.38 ^C
Total stilbenes		104.53 ± 4.00 ^B	105.07 ± 3.04 ^{A,B}	113.71 ± 3.40 ^A
Total flavanones		32.97 ± 1.47	ND	ND

^a Quantified as Catechin; ^b Quantified as Chlorogenic Acid; ^c Quantified as Epigallocatechin gallate; ^d Quantified as Gallic Acid; ^e Quantified as Hydroxybenzoic Acid; ^f Quantified as Kaempferol; ^g Quantified as Luteolin; ^h Quantified as Quercetin 3-glucoside; ⁱ Quantified as Resveratrol; ^j Quantified as Rutin. Data represent the mean of 3 replicates ± standard deviation. Different uppercase superscript letters in the same line indicate statistically significant difference by Tukey test ($p < 0.05$). LOQ: Limit of Quantification. ND: not detected.

Table S3. Phenolic compound composition of *Opuntia elata* Salm-Dyck hydroethanolic extracts.

Peak	Compound	Concentration	Concentration	Concentration	Concentration
		($\mu\text{g.mL}^{-1}$) Arumbeva 1	($\mu\text{g.mL}^{-1}$) Arumbeva 2	($\mu\text{g.mL}^{-1}$) Arumbeva 3	($\mu\text{g.mL}^{-1}$) Arumbeva 4
1	Not identified ^c	273.92 ± 14.37 ^B	253.97 ± 41.18 ^B	294.33 ± 15.92 ^B	495.29 ± 62.36 ^A
2	Piscidic acid derivative ^d	2210.71 ± 92.21 ^A	2067.22 ± 317.91 ^A	1962.20 ± 120.69 ^A	2114.28 ± 310.14 ^A
3	Piscidic acid ^d	43014.51 ± 3032.20 ^A	35161.78 ± 5467.36 ^{A,B}	29361.64 ± 1803.16 ^{B,C}	24410.92 ± 314.31 ^C
4	Dicaffeic acid ^a	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
5	Taxifolin hexoside ^e	68.84 ± 1.95 ^A	54.78 ± 0.62 ^B	58.43 ± 2.73 ^B	60.08 ± 2.67 ^B
6	<i>p</i> -Coumaric acid 4- <i>O</i> - glucoside ^b	28.18 ± 1.07 ^A	25.36 ± 0.93 ^A	20.53 ± 1.14 ^B	10.83 ± 1.28 ^C
7	Caffeic acid 4- <i>O</i> - glucuronide ^a	282.11 ± 12.47 ^A	200.12 ± 0.07 ^B	176.54 ± 13.94 ^B	194.43 ± 22.85 ^B
8	Tri-glycosylated quercetin I ^f	59.09 ± 5.65 ^A	42.24 ± 6.03 ^B	38.61 ± 3.34 ^B	36.61 ± 6.16 ^B
9	Tri-glycosylated quercetin II ^f	5.74 ± 0.83 ^A	5.77 ± 0.19 ^A	4.16 ± 0.62 ^B	2.92 ± 0.09 ^B
10	Isorhamnetin- <i>O</i> -hexoside- <i>O</i> -(dihexosylhexoside) ^f	359.01 ± 38.44 ^A	365.74 ± 3.07 ^A	253.39 ± 17.53 ^B	165.14 ± 28.56 ^C
11	Isorhamnetin- <i>O</i> -(di- deoxyhexosyl-hexoside) ^f	282.82 ± 30.11 ^A	259.60 ± 0.48 ^A	195.96 ± 12.73 ^B	162.52 ± 27.05 ^B
12	Isorhamnetin- <i>O</i> -(di- deoxyhexosyl-hexoside) ^f	65.23 ± 7.16 ^A	55.76 ± 9.97 ^{A,B}	46.01 ± 3.63 ^{B,C}	35.60 ± 0.07 ^C
13	Quercetin-3- <i>O</i> -rutinoside (rutin) ^g	125.42 ± 9.99 ^A	119.55 ± 3.58 ^A	89.51 ± 5.67 ^B	93.06 ± 10.87 ^B
14	Not identified ^c	93.13 ± 7.49 ^A	73.81 ± 9.71 ^B	72.93 ± 3.40 ^B	81.48 ± 5.85 ^{A,B}
15	Isorhamnetin 3- <i>O</i> - galactoside 7- <i>O</i> - rhamnoside or Isorhamnetin 3- <i>O</i> - glucoside 7- <i>O</i> -rhamnoside ^f	405.90 ± 35.01 ^A	344.82 ± 57.01 ^{A,B}	293.04 ± 19.74 ^B	244.45 ± 37.35 ^B
16	Trihydroxy octadecenoic acid (pinellic acid) or Cirsiliol ^a	73.87 ± 6.74 ^A	64.07 ± 7.11 ^{A,B}	51.08 ± 6.26 ^{B,C}	47.68 ± 1.15 ^C
17	Taxifolin ^e	119.17 ± 11.07 ^A	87.90 ± 5.72 ^B	82.35 ± 11.34 ^B	70.27 ± 2.39 ^B
	Total phenolic compounds	47467.64 ± 3270.09 ^A	39182.49 ± 5861.61 ^{A,B}	33000.71 ± 2021.70 ^{B,C}	28225.55 ± 508.72 ^C
	Total hydroxybenzoic acids	45592.27 ± 3140.21 ^A	37556.77 ± 5784.18 ^{A,B}	31691.10 ± 1943.18 ^{B,C}	27101.97 ± 384.09 ^C
	Total flavanonols	188.01 ± 11.92 ^A	142.68 ± 6.34 ^B	140.78 ± 13.24 ^B	130.34 ± 4.68 ^B
	Total flavonol	1303.20 ± 127.09 ^A	1193.49 ± 69.27 ^A	920.68 ± 63.27 ^B	740.29 ± 109.73 ^B
	Total hydroxycinnamic acids	384.16 ± 14.67 ^A	289.55 ± 7.83 ^B	248.14 ± 17.08 ^B	252.95 ± 25.26 ^B

^a Quantified as Caffeic Acid; ^b Quantified as Coumaric acid; ^c Quantified as Gallic Acid; ^d Quantified as Hydroxybenzoic Acid; ^e Quantified as Quercetin; ^f Quantified as Quercetin 3-glucoside; ^g Quantified as Rutin. Data represent the mean of 3 replicates ± standard deviation. Different uppercase superscript letters in the same line indicate statistically significant difference by Tukey test (p<0.05). LOQ: Limit of Quantification.

Figure S1. Chromatogram obtained by HPLC-DAD at 280, 320 and 360 nm for *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi fruit.

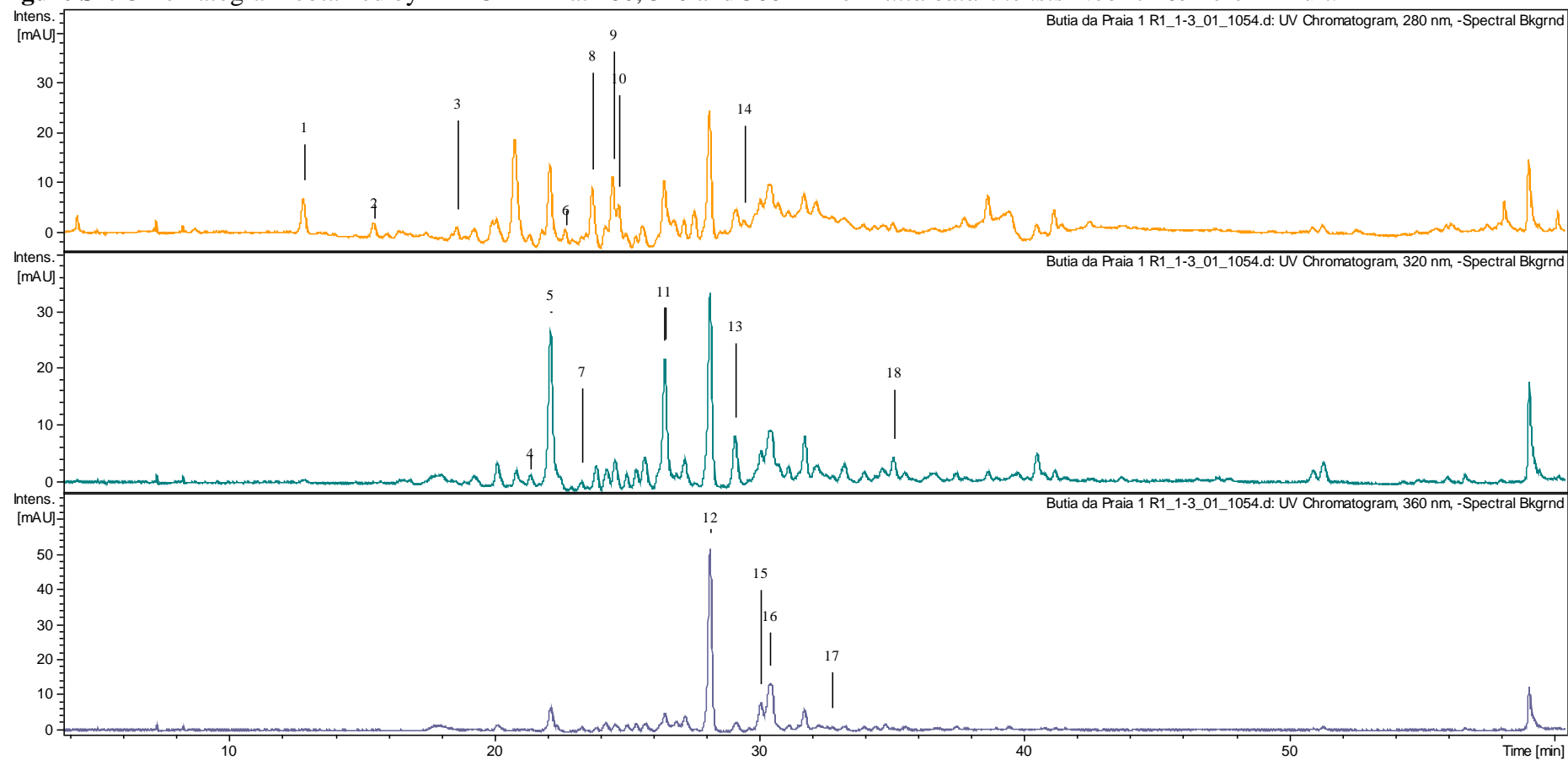


Figure S2. Chromatogram obtained by HPLC-DAD at 280, 320 and 360 nm for *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) fruit.

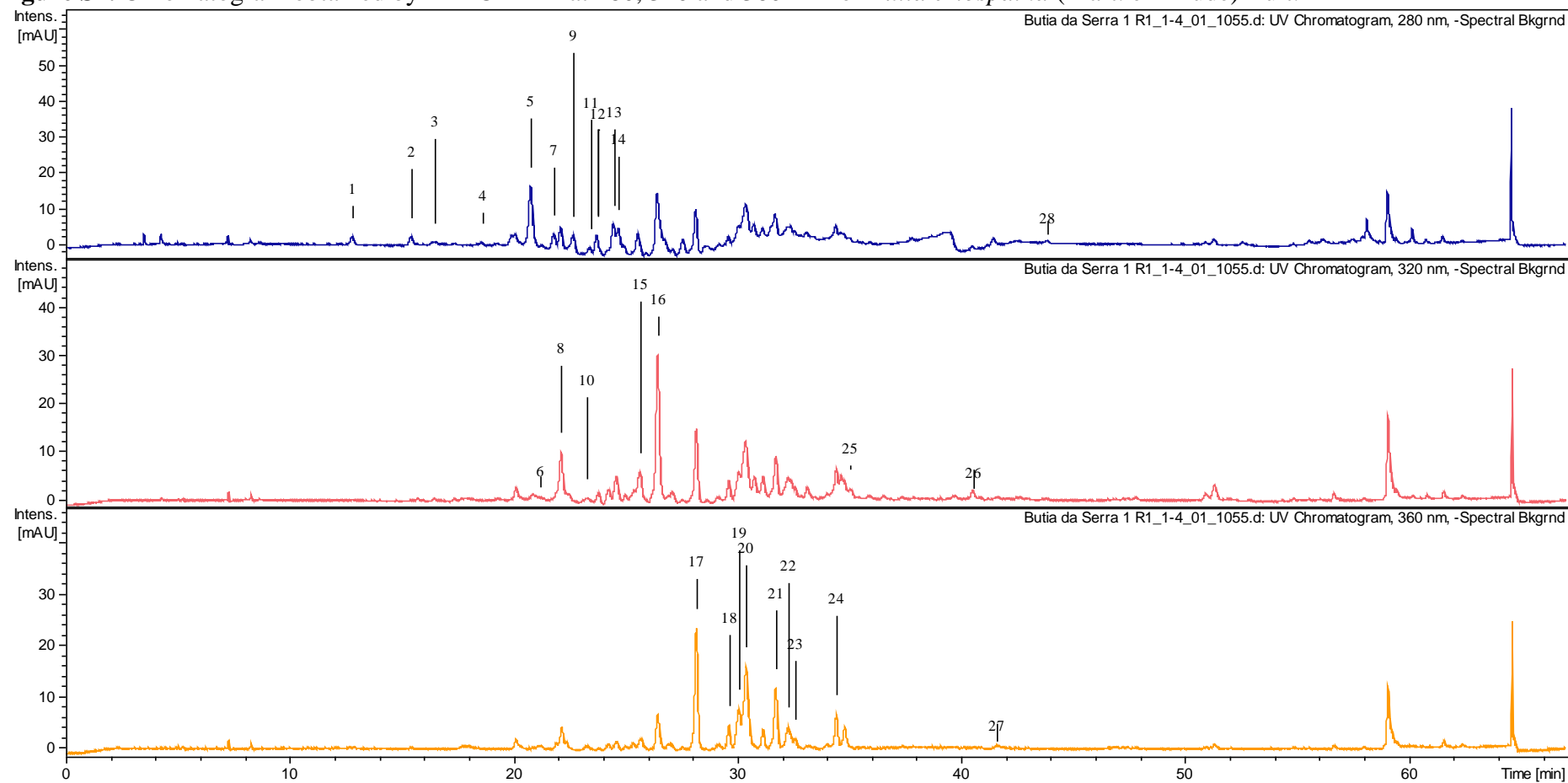


Figure S3. Chromatogram obtained by HPLC-DAD at 280, 320 and 360 nm for *Opuntia elata* Salm-Dyck fruit.

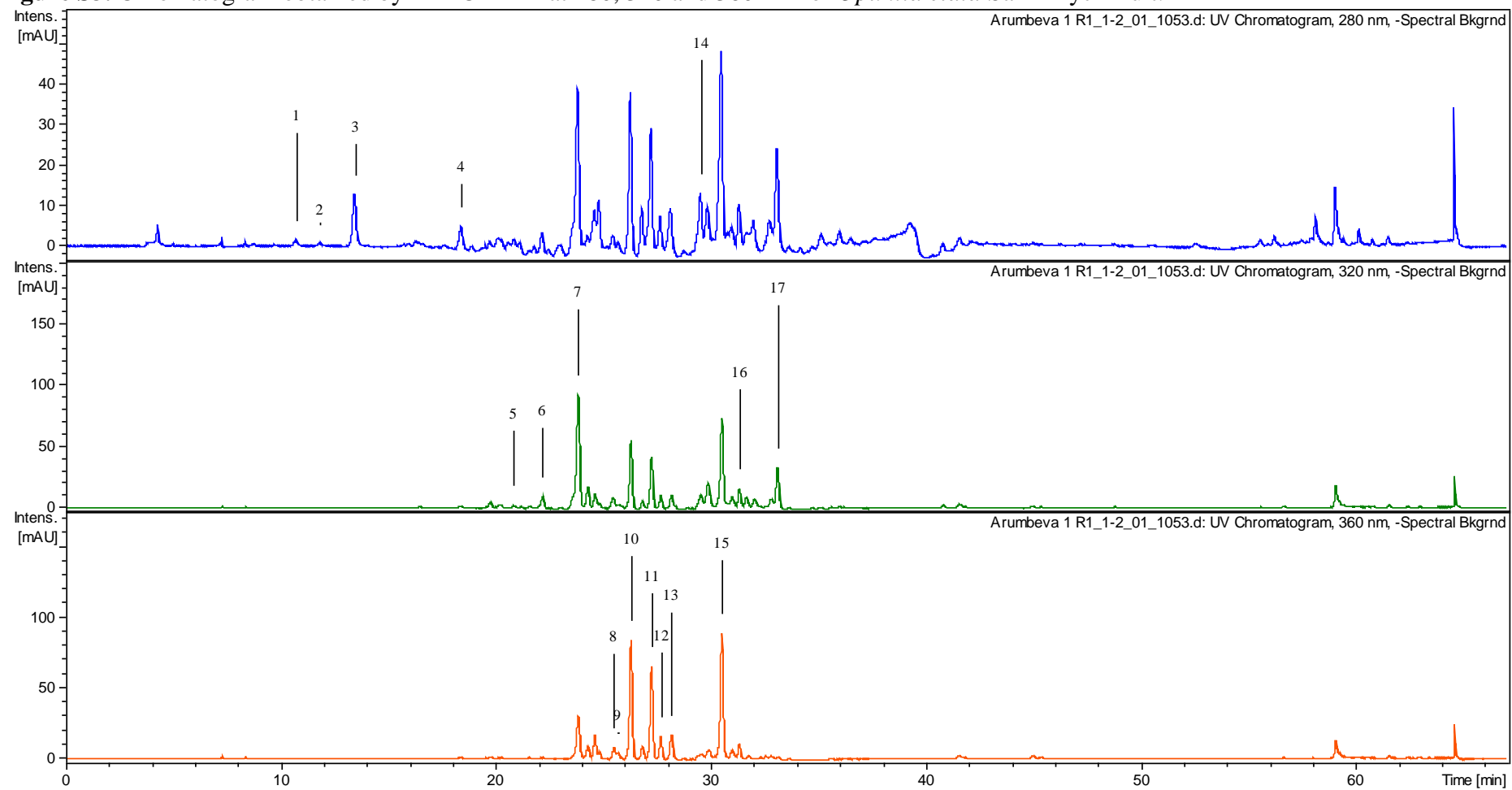


Figure S4. Percentage of ABTS^{•+} radical generated in hydroethanolic extracts from different samples of Butiá da Praia, Butiá da Serra and Arumbeva.

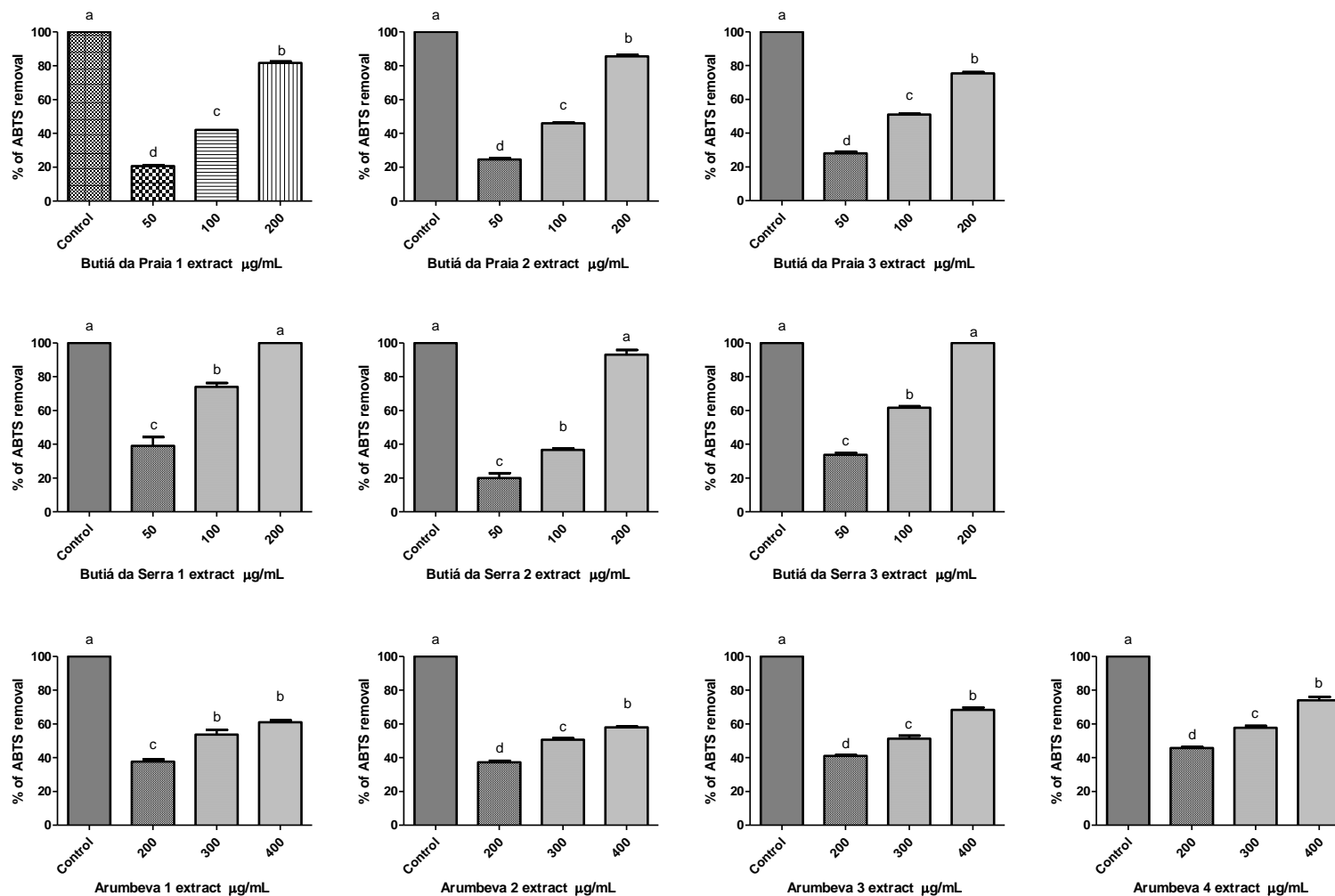
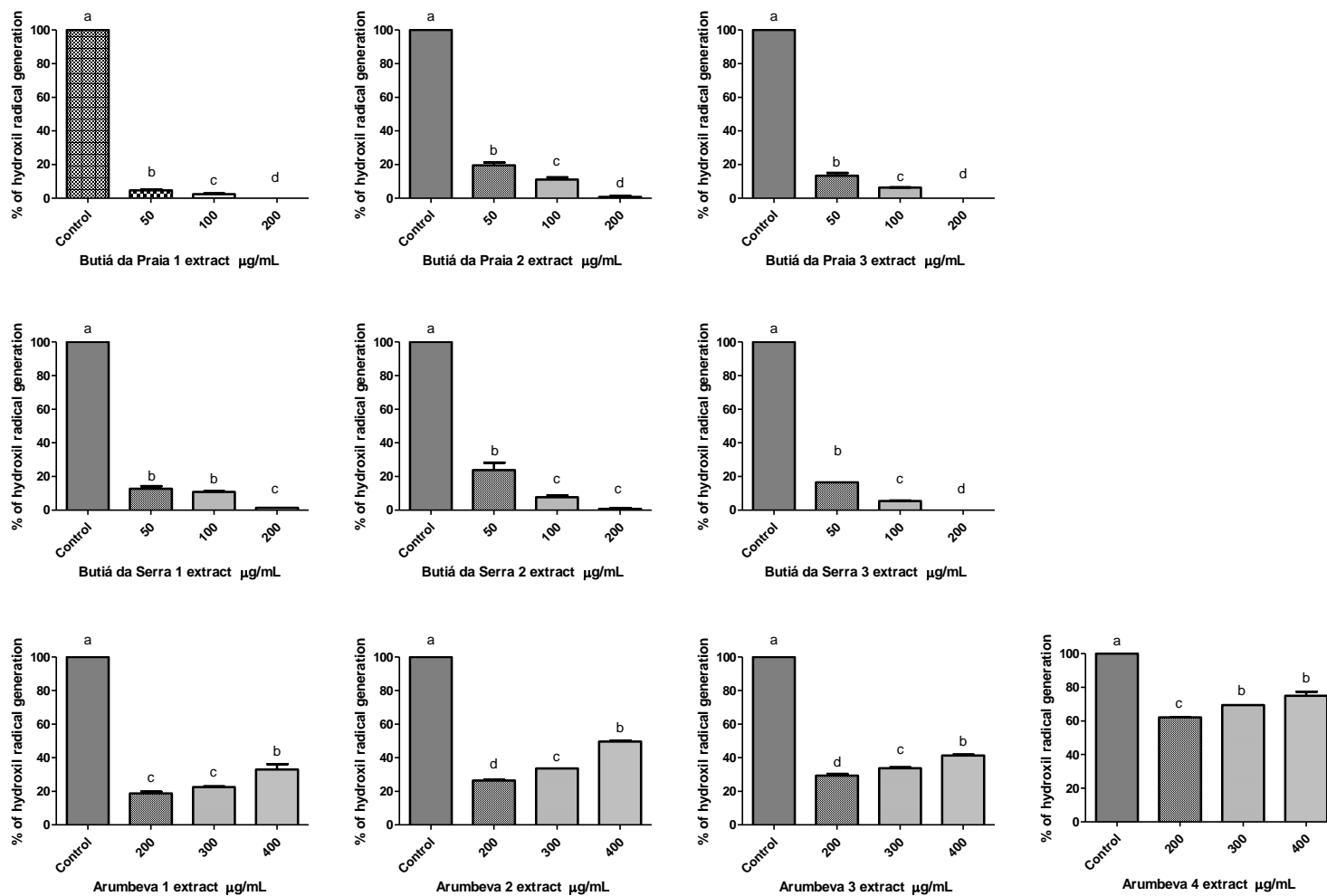


Figure S5. Percentage of hydroxyl radical generated in hydroethanolic extracts from different samples of Butiá da Praia, Butiá da Serra and Arumbeva.



CAPÍTULO 8

8 MANUSCRITO 4 - APPLICATION OF REFRIGERATION AND PACKING CAN EXTEND BUTIÁ FRUIT SHELF LIFE

Manuscrito em preparação para submissão ao periódico
POSTHARVEST BIOLOGY AND TECHNOLOGY
* formatado de acordo as normas da revista

APPLICATION OF REFRIGERATION AND PACKING CAN EXTEND BUTIÁ FRUIT SHELF LIFE

Fernanda Camboim Rockett^a, Helena de Oliveira Schmidt^a, Eliseu Rodrigues^a, Simone Hickmann Flôres^a, Alessandro de Oliveira Rios^{a*}

^aInstitute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). Bento Gonçalves Ave., 9500, Porto Alegre, RS, Zip Code: 91501-970, Brazil.

* Corresponding author:

E-mail address: alessandro.rios@ufrgs.br

Telephone and fax numbers: + 55 51 3308 9787 +55 51 3308 7048

Full postal address: Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). Bento Gonçalves Ave., 9500, 43.212, Campus do Vale, Porto Alegre, RS, ZIP CODE: 91501-970, Brazil.

ABSTRACT

Butiá da Praia (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi) is a native Brazilian fruit appreciated by consumers that is rich in nutrients and bioactive compounds. Despite the interesting sensory and compositional properties that could provide an expansion of commercial production, fruit consumption is still incipient. One of the factors responsible for this is the short shelf life of the fruit. Minimal processing practices, cold storage and the use of packaging play an essential role in protecting food throughout the production chain. The aim of this research was to develop a method to extend the shelf life of the fruit. The physicochemical composition, bioactive compounds content, and antioxidant capacity of minimally processed Butiá da Praia were analyzed. The fruit was stored at 5 °C in three different treatments: Open (arranged in expanded

polystyrene trays); Packed (wrapped by multi-layer nylon-poly plastic packaging); and Modified atmosphere (packed with 2 % oxygen, 5 % carbon dioxide, and 93 % nitrogen). The samples were analyzed on days 0, 5, 10, 15, 20, 25, and 35. The fruit was evaluated for mass loss, pH, titratable acidity, soluble solids, firmness, moisture, color, and bioactive compounds such as carotenoids, ascorbic acid, and antioxidant capacity. At 15 d, open treatment no longer had conditions of consumption. The use of packaging was able to increase softness; maintain carotenoid levels (nine carotenoids were identified, with β -carotene and lutein being the major ones); maintain the antioxidant capacity of the fruit, and suffer less significant ascorbic acid losses. The use of packages combined with cooling (5 °C) was sufficient to prolong the shelf life of minimally processed Butiá fruit for up to 25 d.

KEYWORDS: Carotenoids; minimally processed; modified atmosphere; preservation; vitamins.

1. INTRODUCTION

Brazil has a wide diversity of native fruit species that have recently gained popularity, especially for their sensory and nutritional properties (Hoffmann et al., 2014). In this context, Butiá da Praia (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi) is a native Brazilian palm that is part of the Arecaceae family (Coradin et al., 2011). Its succulent yellowish fruit is fragrant and widely used for human consumption, with a pleasant taste (slightly acidic) and a conical-to-globular depression shape, with an average diameter of 1.7 to 4.2 cm with a globular seed (Coradin et al., 2011; Hoffmann et al., 2014).

Moreover, Butiá is rich in nutrients and bioactive compounds (Hoffmann et al., 2014), with an abundance of health-beneficial compounds such as fiber, carotenoids, and vitamins, some of which have the high antioxidant capacity (Jachna et al., 2016).

Fruit can be marketed fresh or processed as pulp, juices, jellies, alcoholic beverages, preserves, or ice cream (Coradin et al., 2011; Do Amarante and Megguer, 2008; Lorenzi et al., 2015; Sganzerla, 2010). Although commercial production can be expanded, with great potential for income generation (Do Amarante and Megguer, 2008; Hoffmann et al., 2014), these fruits generally have manual harvesting and short post-harvest life (da Silva and Scariot, 2013). Under traditional harvesting, storage, and processing conditions, a rapid loss of fruit quality is observed (Zaccari et al., 2012).

On the other hand, in recent years, reducing food waste has been a focus of governments and international organizations to combat hunger and improve food and nutritional security of the population by promoting environmental sustainability (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2011; Porat et al., 2018; Shafiee-Jood and Cai, 2016). It is estimated that 1/3 of the food produced in the world is wasted along the production chain, and the number is even higher when stratified for the fruit and vegetable group (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2011). Other benefits of waste reduction include environmental, economic, and social impacts (Porat et al., 2018; Usall et al., 2016).

Post-harvest losses are changes that occur in the product that impair the quality and prevent its consumption. After harvest, fruits are generally very perishable because they are susceptible to water loss, increased respiration rate and ethylene production, and mechanical damage, with reduced shelf life and consequent increase in final product cost (Chitarra and Chitarra, 2005). These fresh products often require proper cooling and handling (Eriksson et al., 2016). Thus, techniques that reduce post-harvest losses and add value to products can stimulate their consumption and marketing.

The fruit deterioration is influenced by temperature, respiration rate, and stress of harvest and handling (Usall et al., 2016). Minimal processing practices (applicable to most fruit)

such as washing and storage can preserve quality and offer fresh and more convenient products for consumers (Verghese et al., 2015).

Cold storage is the main physical method used to delay or reduce fruit and vegetable spoilage (Usall et al., 2016). Complementarily, the use of packaging plays an essential role in protecting food throughout the production chain, preventing loss and waste by reducing water loss and shrinkage and creating an environment that delays senescence processes (Verghese et al., 2015). The use of modified atmosphere packaging might be useful for maintaining fruit quality, as it increases carbon dioxide (CO₂) and oxygen reduction (O₂) affects fruit physiology (Porat et al., 2018; Usall et al., 2016), and positive effects have been studied for various types of fruit (Porat et al., 2018).

Although Butiá da Praia is widely used, the number of scientific studies describing agronomic aspects of genus (yield, productivity, qualitative characteristics of fruit, and production cycle) is still limited, and little is known about the conservation of fresh fruit for consumption (Hoffmann et al., 2014). In addition, the importance of studies evaluating the effect of different types of packaging and involving maturation and senescence processes that occur in domestic refrigerators has been highlighted (Porat et al., 2018).

Considering the above factors, the aim of this research was to develop a method to extend the shelf life of minimally processed Butiá da Praia (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi).

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Material and minimal processing of the samples

The *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi fruit (around 6.5 kg) were obtained from Torres, Rio Grande do Sul, Brazil (GPS coordinates: 29°18'53"S and 49°45'33"W) in February 2019, at the ripe stage after being correctly identified and the botanical species confirmed by a

biologist. The exsiccates were collected and deposited in the Institute of Biosciences Herbarium of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS)—Institute of Natural Sciences number 185667. The sample was collected, transported in thermal boxes (for 2 h), and processed on the same day in the Bioactive Compounds Laboratory at UFRGS.

The fruit was pre-selected considering the absence of visible injuries and infections, color, and size uniformity and underwent a washing process. The sample was immersed in a 200 mg.L⁻¹ sodium hypochlorite solution for 15 min for surface disinfection with subsequent rinsing. After excess water was removed, the fruit was stored in three different ways: “Open”—arranged in Styrofoam trays (expanded polystyrene); “Packed”—wrapped by multi-layer nylon-poly plastic packaging; and “Modified atmosphere”— wrapped by multi-layer nylon-poly plastic packaging under modified atmosphere using a packaging machine, Fastvac (F200 flash, Fastvac[®], Santo André, SP, Brazil) with 2 % oxygen, 5 % carbon dioxide, and 93 % nitrogen.

The packages contained an average of 88 g of fruit (23 units) and were maintained for 35 d in a Biochemical Oxygen Demand (BOD) camera (NL-41-01 A, NewLab, Piracicaba, SP, Brasil) under a 12 hour photoperiod (light/dark cycle) to mimic the type of storage used in the local market. Each treatment was carried out in triplicate, with the samples randomly distributed in the climatic chamber. The relative humidity and temperature of the chamber were monitored (55 ± 3 % and 4.9 ± 0.3 °C, respectively).

The samples were analyzed in nature (fresh) on day 0 and stored in different treatments on days 5, 10, 15, 20, 25, and 35. On the established day, samples were processed to obtain the edible part (manual pulping) and homogenized (DES-20, Braesi, Caxias do Sul, RS, Brazil). The physicochemical parameters of the homogenized pulp were performed and the remained pulp was frozen, lyophilized (L101, Liotop[®], São Carlos, SP, Brazil), ground, and stored under vacuum in plastic packaging at -18 °C until other analysis (bioactive compounds and antioxidant capacity).

2.2 Chemical reagents

All reagents used in the experiments were of analytical grade purity or suitable for high-performance liquid chromatography (HPLC). Acetone, ethanol, methanol, sulfuric acid (>96 %), petroleum, and ethyl ether were purchased from Dinâmica Química Contemporânea LTDA[®] (Diadema, São Paulo, Brazil). Anhydrous sodium sulfate, sodium and potassium hydroxide, and potassium persulfate were obtained from Neon Comercial[®] (Suzano, São Paulo, Brazil).

ABTS radical [2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)] (≥ 98 %), Trolox ((\pm)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid) (≥ 97 %), and (all-*E*)- β -carotene standards were purchased from Sigma-Aldrich Chemical Co[®] (St. Louis, MO, USA). (all-*E*)- α -carotene and zeaxanthin were donated by Fluka Analytical[®], (all-*E*)-Lutein were obtained from Indofine Chemical Company (Hillsborough Township, New Jersey, USA), and ascorbic acid standard was acquired from Neon Comercial[®] (Suzano, São Paulo, Brazil).

HPLC grade reagents (methyl tert-butyl ether—MTBE—and methanol were acquired from Panreac AppliChem[®] (Barcelona, Spain).

Water was purified by Milli-Q[®] Integral 10 system by Merck Millipore (Millipore, Milford, MA, USA). The samples and solvents were filtered through Millipore 0.45 μm polytetrafluoroethylene (PTFE) membranes (Millex LCR 0.45 μm , 13 mm).

2.3 Physicochemical analyses

All analyses were performed in triplicate. The fruit was triturated using an Ultra-Turrax[®] (T 25 digital, IKA, Staufen, Germany) at the ratio of 1:5 (fruit:water). Fresh pulps of the samples were evaluated for their pH using the potentiometric electrometric method with a pH-meter (model Q400AS, Quimis[®], Diadema, SP, Brazil), total titratable acidity (TTA) was measured by titration with sodium hydroxide 0.1 N, and total soluble solids (TSS) by direct

reading in a portable pocket digital refractometer (PAL-3, ATAGO® U.S.A., Inc., Bellevue, WA, USA). The TSS/TTA ratio was calculated for each replicate.

The measurement of texture was performed with a digital penetrometer, PCE-FM 200, and the results are expressed in Newtons (N).

2.4 Moisture

Moisture content was determined by the gravimetric method in a chamber at 105 °C according to the methodology described by the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (AOAC, 2012).

2.5 Mass loss

There were ten uniform units evaluated individually and at the same maturation stage. Weight was evaluated on an analytical balance (AY220, Shimadzu®, Kyoto, Japan) to determine the progress of mass loss. The results were expressed as a percentage and were obtained by the difference between the initial mass and the final mass of each sample.

2.6 Color parameters

Peel and pulp color measurements were performed with ten fruit units using a portable colorimeter (Model CR-400, Konica Minolta Sensing Americas, Inc., Singapore) using the *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIELAB) system by determining the values of L* (lightness; 0 = dark and 100 = white), a* (component red-green; <a* = green and >a* = red), and b* (yellow-blue component; <b* = blue and >b* = yellow). A white ceramic tile was used for calibration.

2.7 Carotenoids

Carotenoids were exhaustively extracted from the lyophilized sample (1 g) according to the methodology proposed by Rodriguez-Amaya (2001), initially using acetone and Ultra-Turrax® (T 25 digital, IKA, Staufen, Germany). Carotenoids were partitioned with petroleum ether/ethyl ether [1:1 (v/v)], saponified with methanolic KOH solution (10 %) for 16 h at room temperature (22 ± 2 °C). After this, the alkali was removed by washing the extract with distilled water, and the solvent was removed by rotary evaporation (Quimis®, Q334.2, São Paulo, Brazil) ($T < 25$ °C) and dried under nitrogen flow and stored in amber tubes at -18 °C. To avoid carotenoid degradation, the manipulation of extracts was carried out in the dark at controlled room temperature (22 ± 2 °C).

For chromatographic analysis, the extract was suspended in MTBE and placed in an ultrasound (Unique, model USC 1400A) for three minutes. The compounds were separated on a C₃₀ reverse-phase polymeric column YMC (model CT99SO3-2546WT, 250 x 4.6 mm, 3 µm), according to Rodriguez-Amaya (2001). The mobile phase was water, methanol, and MTBE, starting at 5:90:5 (v/v/v), reaching 0:95:5 in 12 minutes, 0:89:11 at 25 min, 0:75:25 at 40 min, and 0:50:50 after 60 min, with a flow rate of 1 mL.min⁻¹ and injection volume of 5 µL at 22 °C.

The spectrum was processed at 450 nm, and identification was performed by comparing the retention times of the sample with their respective standards. For quantification, a seven-point linear standard curve ($R^2=0.99$) was constructed whose detection (LOD) and quantification (LOQ) limits were (µg.mL⁻¹) 0.41 and 1.24 for α-carotene; 5.41 and 16.40 for β-carotene; 1.85 and 5.62 for cryptoxanthin; 1.76 and 5.33 for lutein; 6.13 and 18.56 for lycopene, and 0.99 and 3.01 for zeaxanthin. The limits were calculated as described by Ribani et al. (2004).

Chromatographic analyses were performed on Agilent® chromatography equipment (1100 Series, Santa Clara, CA, USA), equipped with a quaternary solvent pumping system (G1311A - DE14917573) and UV-Vis detector (G1314B - DE71358944).

2.8 HPLC-DAD-MS/MS analysis

Confirmation of identified carotenoids was performed on HPLC-DAD-MS/MS analysis in the same conditions described by Rodrigues et al. (2013), with some modifications. The compounds were separated on a C₃₀ reverse phase polymeric column YMC (5 μm, 250 mm x 4.6 mm, Waters, Wilmington, DE, USA), with a flow rate of 0.9 mL.min⁻¹, injection volume of 20 μL, and oven temperature at 29 °C. A linear gradient starting at 95:5 (v/v) methanol-MTBE mixture as a mobile phase was used, reaching 70:30 over 30 min, followed by 50:50 over 20 min, and maintaining this proportion for 10 min. At 62 min, the initial condition was reestablished and remained for another five minutes. The spectra were measured between 200 and 600 nm, and the chromatograms were processed at 286, 348, and 450 nm.

The column eluate was directly injected into an atmospheric pressure chemical ionization (APCI) source, and the mass spectrometer parameters followed the same conditions as previously described by de Rosso and Mercadante (2007).

For this analysis, a HPLC chromatograph (Shimadzu, Kyoto, Japan) equipped with two pumps (Shimadzu LC-20AD), an on-line degasser (Shimadzu DGU-20A3R), column oven (Shimadzu CTO-20A), and diode array detector (Shimadzu SPD-M20A) and connected in series to a mass spectrometer with an atmospheric pressure chemical ionization (APCI) source with quadrupole flight time analyzer (Q-Tof) (model micrOTOF-QIII, Esquire 4000, Bruker Daltonics, Bremen, Germany) was used.

2.9 Ascorbic acid (AA)

The methodology proposed by Rosa et al. (2007), with some modifications, was used for the determination of AA. The lyophilized sample (2 g) was homogenized for 1 min in Ultra-Turrax[®] (T 25 digital, IKA, Staufen, Germany) with 20 mL 0.05 M sulfuric acid, centrifuged

at 25,400 g for 15 min (Himac CR21 GIII, Hitachi Koki Co., Tokyo, Japan), and filtered with 0.45 μm Millipore PTFE membranes prior to HPLC analysis.

For chromatographic analysis, a C18 polymeric column (250 mm x 4.6 mm, 5 μm) was used, and the mobile phase was sulfuric acid (0.05 M), with a flow rate of 1.0 mL.min⁻¹, and injection volume of 10 μL . The spectrum was processed at 254 nm, and AA was quantified by the injection of the ascorbic acid standard on the same day.

Samples were analyzed in Waters Alliance[®] chromatograph (2695, Milford, MA, USA) equipped with a binary solvent pump system connected to a diode-array detector (DAD 2996).

2.10 Antioxidant capacity

The methodology proposed by Re et al. (1999) was used to determine the antioxidant capacity of Butiá fruit by the free radical ABTS capture. During the experiment, the degradation of the compounds was minimized by maintaining the dark environment, and the temperature between 20 and 22 °C. ABTS⁺ radical was previously prepared by reaction of 5 mL ABTS (7 mM) with 88 μL potassium persulfate (140 mM). The mixture was stored at room temperature in the dark for 16 h and diluted in ethanol until it achieved an absorbance of 0.700 ± 0.020 at 734 nm. A standard curve was developed with different concentrations of Trolox (11–176 μM).

Each analysis was carried out in triplicate. The lyophilized sample (1 g) was homogenized for 1 min in Ultra-Turrax[®] (T 25 digital, IKA, Staufen, Germany) with 20 mL of methanol:distilled water (50 %:50 %) resting for 60 minutes in the dark. The extract was centrifuged at 25,400 g for 15 minutes (Himac CR21GIII, Hitachi Koki Co., Tokyo, Japan), and the supernatant was stored in an amber volumetric flask. The procedure was repeated with acetone:water (70 %:30 %), and the volume was completed with distilled water. In three different dilutions, 100 μL of each extract was transferred to test tubes with 1 mL of the diluted ABTS⁺ radical, homogenized, and, after six minutes, read on a spectrophotometer (Shimadzu UV-1800) at 734 nm.

2.11 Statistical analysis

All samples were analyzed in triplicate. The results were expressed as the mean \pm standard deviation. One-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test were used to evaluate the differences between days and treatments, assuming they were significant when statistical comparison gave $p \leq 0.05$ using the Statistica 12.0 software (StatSoft Inc.).

3. RESULTS AND DISCUSSION

Although important for assessing sustainability and commercial viability, ecological and economic aspects of native fruit harvesting and processing have received little attention (da Silva and Scariot, 2013). Fruit shelf life and potential application are influenced by their physicochemical characteristics (Hoffmann et al., 2014). Other studies had already analyzed the physicochemical characteristics of the fruits of *Butia* spp. to evaluate their potential use, improve shelf life, or identify species (Dal Magro et al., 2006; Nunes et al., 2010; Pedron et al., 2004; Sganzerla, 2010).

Table 1 shows the physicochemical (quality parameters) results obtained, and Figure 1 shows the Butiá fruit on each day of analysis. Visually, fruit in the "open" treatment would probably no longer be accepted by the consumer on the 15th day and fruit in the "packed" and the "modified atmosphere" treatments on the 35th day, despite the latter still having better appearance.

Table 1. Quality parameters of Butiá da Praia (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi) minimally processed and stored at 5 °C in different treatments.

	Treat ment	0 d (<i>in natura</i>)	5 d	10 ds	15 d	20 d	25 d	35 d
Fruit weight g	O	5.43 ± 0.68 ^{a,A}	3.97 ± 0.50 ^{b,B}	3.41 ± 0.67 ^{b,B}	2.30 ± 0.35 ^{b,C}	2.26 ± 0.23 ^{b,C}	1.70 ± 0.25 ^{b,C,D}	1.35 ± 0.23 ^{c,D}
	P	5.43 ± 0.68 ^{a,A}	4.69 ± 0.63 ^{a,A,B}	4.38 ± 0.87 ^{a,B,C}	4.35 ± 0.75 ^{a,B}	4.02 ± 0.53 ^{a,B,C}	4.13 ± 0.59 ^{a,B,C}	3.42 ± 0.40 ^{b,C}
	MA	5.43 ± 0.68 ^{a,A}	4.58 ± 0.77 ^{a,b,B}	4.24 ± 0.57 ^{a,B}	4.17 ± 0.66 ^{a,B}	4.16 ± 0.57 ^{a,B}	3.83 ± 0.48 ^{a,B}	3.84 ± 0.37 ^{a,B}
Total Soluble Solids (TSS) %	O	22.08 ± 1.52 ^{a,C}	16.82 ± 0.44 ^{c,D}	27.25 ± 0.42 ^{a,A,B}	27.94 ± 0.82 ^{a,A,B}	26.08 ± 0.58 ^{a,B}	28.17 ± 0.67 ^{a,A,B}	29.22 ± 0.82 ^{a,A}
	P	22.08 ± 1.52 ^{a,A}	23.33 ± 0.50 ^{a,A}	11.39 ± 0.54 ^{c,B,C}	13.58 ± 0.79 ^{b,B}	11.33 ± 0.24 ^{c,B,C}	9.39 ± 0.84 ^{b,C}	11.13 ± 0.13 ^{b,C}
	MA	22.08 ± 1.52 ^{a,A}	20.75 ± 1.42 ^{b,A}	13.17 ± 0.87 ^{b,C}	13.00 ± 1.00 ^{b,C}	16.38 ± 1.13 ^{b,B}	10.67 ± 0.17 ^{b,C}	12.25 ± 0.75 ^{b,C}
Total Titratable Acidity (TTA) % of citric acid	O	3.22 ± 0.05 ^{a,B}	3.47 ± 0.17 ^{a,B}	4.09 ± 0.12 ^{a,A}	4.36 ± 0.38 ^{a,A}	2.34 ± 0.02 ^{a,C}	2.74 ± 0.07 ^{a,C}	1.87 ± 0.17 ^{a,D}
	P	3.22 ± 0.05 ^{a,A}	2.71 ± 0.14 ^{b,B}	2.57 ± 0.11 ^{b,B,C}	2.41 ± 0.14 ^{b,C}	2.05 ± 0.07 ^{b,D}	1.17 ± 0.03 ^{b,E}	1.25 ± 0.07 ^{b,E}
	MA	3.22 ± 0.05 ^{a,A}	2.88 ± 0.14 ^{b,B}	2.80 ± 0.23 ^{b,B}	2.60 ± 0.06 ^{b,B}	1.99 ± 0.06 ^{b,C}	1.24 ± 0.02 ^{b,D}	1.32 ± 0.07 ^{b,D}
TSS/TTA	O	6.86 ± 0.48 ^{a,C}	4.84 ± 0.13 ^{c,D}	6.67 ± 0.11 ^{a,C,D}	6.45 ± 0.70 ^{a,C,D}	11.15 ± 0.35 ^{a,B}	10.28 ± 0.49 ^{a,B}	15.75 ± 1.50 ^{a,A}
	P	6.86 ± 0.48 ^{a,B}	8.76 ± 0.56 ^{a,A}	4.44 ± 0.41 ^{b,C}	5.63 ± 0.08 ^{a,b,C}	5.56 ± 0.27 ^{c,C}	8.05 ± 0.78 ^{b,A,B}	8.92 ± 0.38 ^{b,A}
	MA	6.86 ± 0.48 ^{a,C}	7.22 ± 0.68 ^{b,B,C}	4.75 ± 0.72 ^{b,D}	5.01 ± 0.29 ^{b,D}	8.25 ± 0.80 ^{b,A,B,C}	8.58 ± 0.17 ^{b,A,B}	9.30 ± 0.96 ^{b,A}
pH	O	2.80 ± 0.04 ^{a,F}	3.03 ± 0.01 ^{b,E}	3.16 ± 0.02 ^{a,D}	3.24 ± 0.01 ^{a,C}	3.19 ± 0.01 ^{a,C,D}	3.83 ± 0.00 ^{a,A}	3.59 ± 0.04 ^{a,B}
	P	2.80 ± 0.04 ^{a,F}	3.06 ± 0.01 ^{a,E}	3.16 ± 0.02 ^{a,C,D}	3.19 ± 0.01 ^{b,C}	3.12 ± 0.01 ^{b,D}	3.72 ± 0.01 ^{c,A}	3.30 ± 0.01 ^{b,B}
	MA	2.80 ± 0.04 ^{a,E}	3.01 ± 0.01 ^{c,D}	3.16 ± 0.00 ^{a,C}	3.16 ± 0.01 ^{c,C}	3.17 ± 0.01 ^{a,C}	3.75 ± 0.01 ^{b,A}	3.25 ± 0.01 ^{b,B}
Color (peel) L*	O	70.18 ± 5.33 ^{a,A}	69.64 ± 2.87 ^{a,A}	69.25 ± 3.21 ^{a,A,B}	69.57 ± 2.88 ^{a,A}	66.64 ± 4.40 ^{b,A,B}	63.06 ± 5.37 ^{b,B}	64.38 ± 1.77 ^{a,B}
	P	70.18 ± 5.33 ^{a,A}	68.71 ± 3.62 ^{a,A}	69.32 ± 3.40 ^{a,A}	69.09 ± 3.44 ^{a,A}	68.58 ± 4.28 ^{a,b,A}	68.25 ± 3.25 ^{a,A}	65.37 ± 3.87 ^{a,A}
	MA	70.18 ± 5.33 ^{a,A}	69.94 ± 3.36 ^{a,A}	68.66 ± 2.12 ^{a,A}	71.51 ± 2.27 ^{a,A}	71.45 ± 4.10 ^{a,A}	67.06 ± 4.06 ^{a,b,A}	65.95 ± 3.28 ^{a,A}
a*	O	11.10 ± 1.96 ^{a,C,D}	14.72 ± 2.60 ^{a,A,B,C}	15.50 ± 2.61 ^{a,A}	15.25 ± 1.28 ^{a,A,B}	17.90 ± 2.97 ^{a,A}	12.10 ± 1.93 ^{a,B,C,D}	9.93 ± 2.03 ^{b,D}
	P	11.10 ± 1.96 ^{a,C,D}	12.74 ± 2.09 ^{a,A,B,C}	16.35 ± 2.70 ^{a,A}	15.45 ± 2.59 ^{a,A,B,C}	8.34 ± 1.51 ^{b,D}	12.21 ± 2.26 ^{a,B,C,D}	15.15 ± 2.36 ^{a,A,B}
	MA	11.10 ± 1.96 ^{a,B,C,D}	14.57 ± 2.19 ^{a,A,B}	16.73 ± 2.48 ^{a,A}	10.22 ± 1.47 ^{b,C,D}	7.23 ± 1.51 ^{b,D}	14.75 ± 2.34 ^{a,A,B}	11.45 ± 1.76 ^{b,C}
b*	O	51.29 ± 2.93 ^{a,A}	53.19 ± 5.68 ^{a,b,A}	53.11 ± 3.81 ^{a,A}	56.04 ± 2.70 ^{a,A}	53.64 ± 3.12 ^{a,A}	52.33 ± 4.00 ^{a,A}	52.38 ± 5.82 ^{a,A}
	P	51.29 ± 2.93 ^{a,B,C}	54.58 ± 4.96 ^{a,A,B,C}	54.75 ± 4.39 ^{a,A,B,C}	54.15 ± 4.45 ^{a,A,B,C}	58.17 ± 4.72 ^{a,A}	56.78 ± 5.34 ^{a,A,B}	49.78 ± 5.25 ^{a,C}
	MA	51.29 ± 2.93 ^{a,B,C}	51.71 ± 2.93 ^{b,B,C}	52.76 ± 3.26 ^{a,A,B,C}	58.00 ± 5.13 ^{a,A}	55.80 ± 4.59 ^{a,A,B}	56.08 ± 4.27 ^{a,A,B}	48.45 ± 5.57 ^{a,B,C}
Color (pulp) L*	O	62.35 ± 5.60 ^{a,A}	64.18 ± 4.01 ^{a,A}	64.68 ± 3.18 ^{a,A}	64.77 ± 3.46 ^{a,A}	64.90 ± 5.28 ^{a,A}	62.17 ± 5.20 ^{a,A}	60.22 ± 3.93 ^{b,A}
	P	62.35 ± 5.60 ^{a,A}	65.50 ± 3.33 ^{a,A}	64.80 ± 4.06 ^{a,A}	64.47 ± 4.48 ^{a,A}	67.20 ± 2.29 ^{a,A}	65.06 ± 3.59 ^{a,A}	66.87 ± 3.84 ^{a,A}
	MA	62.35 ± 5.60 ^{a,A}	63.10 ± 4.74 ^{a,A}	65.43 ± 4.75 ^{a,A}	66.89 ± 4.02 ^{a,A}	65.12 ± 4.03 ^{a,A}	64.09 ± 1.63 ^{a,A}	65.34 ± 3.32 ^{a,A}
a*	O	11.24 ± 1.82 ^{a,C}	14.07 ± 1.62 ^{b,A,B,C}	13.59 ± 1.91 ^{a,B,C}	15.65 ± 2.99 ^{a,A,B}	17.67 ± 3.39 ^{a,A}	15.31 ± 3.06 ^{a,A,B}	14.18 ± 2.57 ^{a,A,B,C}
	P	11.24 ± 1.82 ^{a,B,C}	15.07 ± 3.09 ^{a,b,A}	13.70 ± 2.19 ^{a,A,B}	12.72 ± 2.45 ^{b,A,B}	10.13 ± 1.99 ^{b,B,C}	12.17 ± 1.82 ^{a,A,B}	7.64 ± 1.53 ^{b,C}

	Treat ment	0 d (<i>in natura</i>)	5 d	10 ds	15 d	20 d	25 d	35 d
<i>b</i>*	MA	11.24 ± 1.82 ^{a,B,C,D}	17.26 ± 3.12 ^{a,A}	12.91 ± 1.92 ^{a,B,C}	8.90 ± 1.53 ^{c,D}	11.72 ± 2.42 ^{b,B,C,D}	14.48 ± 2.29 ^{a,A,B}	10.34 ± 1.93 ^{b,C,D}
	O	59.55 ± 4.51 ^{a,A,B}	59.89 ± 4.71 ^{a,A,B}	63.20 ± 4.32 ^{a,A,B}	66.14 ± 6.12 ^{a,A}	65.84 ± 2.93 ^{b,A}	61.49 ± 5.82 ^{b,A,B}	58.15 ± 5.12 ^{b,B}
	P	59.55 ± 4.51 ^{a,C}	62.50 ± 6.26 ^{a,B,C}	65.33 ± 5.89 ^{a,A,B,C}	64.13 ± 6.79 ^{a,A,B,C}	70.63 ± 2.75 ^{a,A}	67.72 ± 4.56 ^{a,A,B}	66.88 ± 7.72 ^{a,A,B,C}
	MA	59.55 ± 4.51 ^{a,C}	61.81 ± 4.54 ^{a,B,C}	66.12 ± 5.29 ^{a,A,B,C}	71.04 ± 5.66 ^{a,A}	67.98 ± 6.30 ^{a,b,A,B}	67.64 ± 4.09 ^{a,A,B}	65.46 ± 5.62 ^{a,A,B,C}
Firmness Newton	O	18.04 ± 1.77 ^{a,A}	18.02 ± 4.42 ^{a,A}	18.56 ± 3.69 ^{a,A}	16.12 ± 2.49 ^{a,A}	17.73 ± 1.46 ^{a,A}	16.00 ± 2.41 ^{a,A}	-
	P	18.04 ± 1.77 ^{a,A}	15.84 ± 3.07 ^{a,A,B}	13.17 ± 3.70 ^{b,B}	13.04 ± 2.06 ^{b,B}	13.28 ± 1.11 ^{b,B}	13.13 ± 2.35 ^{a,B}	13.42 ± 2.18 ^{a,B}
	MA	18.04 ± 1.77 ^{a,A}	13.65 ± 2.81 ^{a,B}	12.30 ± 2.46 ^{b,B}	13.21 ± 1.43 ^{b,B}	14.09 ± 2.78 ^{b,B}	14.09 ± 2.60 ^{a,B}	14.09 ± 2.15 ^{a,B}

O: open; P: packed; MA: modified atmosphere. Different lowercase superscript letters in the same column indicate statistically significant difference between treatments for the same compound by Tukey test ($p < 0.05$). Different uppercase superscript letters in the same line indicate statistically significant difference for the same treatment over the storage period by Tukey test ($p < 0.05$).

Figure 1. Butiá da Praia (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi) minimally processed and stored at 5 °C in different treatments.



Fruit weight decreased over time for all treatments, with this loss being more pronounced for the "open" treatment. The "modified atmosphere" was able to maintain fruit weight from day 5 to day 35 without statistical difference. In comparing the initial weight (day 0) to the final weight (day 35), the weight loss percentage of the "modified atmosphere" treatment was 29 %, for "packed", it was 37%, and for "open", weight reached a reduction of 75%; this means that the samples had daily weight losses of 0.8, 1.1, and 2.1 %, respectively. Zaccari et al. (2012), comparing different storage temperatures of *Butia capitata* in PVC trays, found similar values for fruit stored at 5 °C (1 % per day).

Parameters such as total soluble solids (TSS), pH, and acidity are important as they determine the potential of the fruit for fresh consumption or processing (Hoffmann et al., 2014). In the analysis of TSS, there was also a change over the days. In the "open" treatment, although the value decreased on day 5, it increased over time, possibly due to the visible loss of water and the consequent concentration of soluble solids present in the fruit. For the "packed" and "modified atmosphere" treatments, the tendency was for the values to decrease. On day 20, the "modified atmosphere" showed a slight increase in total soluble solids. Zaccari et al. (2012) observed only the decrease of these values in the fruit of *Butias capitata* stored in PVC trays at this same temperature (14.8 to 10.1 %), which was explained by increased respiration, membrane permeability, and cell wall degradation.

In the "open" treatment, total titratable acidity (TTA) reached the highest values on the 10th and 15th follow-up. For the other treatments, the highest acidity was the initial (day 0), with values decreasing over time. Zacarri et al. (2012) observed similar behavior of *Butia capitata* fruit in trays at 5 °C, with an increase in value at 7 d (2.02 ± 0.02 % citric acid) and decreased at 21 and 28 d. For *Butia eriospatha* stored at 0 °C, the TTA ranged from approximately 2.7 to 2.0 over 25 d, peaking on day 3 and with an average reduction of 30 % (Do Amarante and Megguer, 2008). On the other hand, the TSS had variation (up and down)

over the period (approximately 9.5 to 10.0), peaking on the 15th day (Do Amarante and Megguer, 2008).

The TSS and TTA ratio for the "open" treatment decreases on day 5 of storage but increased until day 35. In the "packed" treatment, the lowest values were found on days 10, 15, and 20 and for "modified atmosphere", on days 10 and 15. All treatments had the highest values at the end of the period. This reason is more representative than the isolated measures that compose it since it provides a better evaluation of fruit flavor (Hoffmann et al., 2014).

The pH increased in all treatment conditions over the analyzed period, reaching the highest values on day 25. Another study also obtained higher values at 21 d of storage (4.97 ± 0.15), with a subsequent decrease (Zaccari et al., 2012) and acid characteristics.

In the color parameters analysis, the peel of "open" sample lost its brightness over time. Brown spots that appeared over the period were reported in another study and may originate from deterioration processes such as enzymatic oxidation or early fungal development (Brecht and Bartz, 2003). The "packed" and "modified atmosphere" treatments were better able to maintain the L^* parameter (Table 1 and Figure 1). This same parameter did not change over time in the pulp of the three treatments, although the "open" treatment also had a lower value compared to the others on the 35th day. No relevant changes in pulp brightness (luminosity) were observed in the study by Zaccari et al. (2012).

Regarding the b^* coordinate, which is more relevant because they are yellowish fruit, the peel in the "open" treatment did not change over time. The "packed" and "modified atmosphere" treatments, however, had values variation over time, reaching higher values between the 5th and the 25th day. The pulp from the "packed" and "modified atmosphere" treatments reached the highest values between the 10th and the 35th day.

In Do Amarante & Megguer's (2008) study, the harvested ripe *Butia eriospatha* (Martius) Beccari fruit presented a peel color with values of $h^{\circ}=85$, which represents the color

variation from green (180°) to yellow (90°), as a result of chlorophyll degradation. Ripe fruit stored at 0 °C showed a gradual and small decrease of the angle over 25 d, with values close to 80° from the 6th day (Do Amarante and Megguer, 2008).

In Zaccari et al.'s (2012) study, the pulp color tone tended to be less orange and yellow after 28 d of storage at 5 °C and the fruit peel color was a more intense orange at 21 d, possibly due to the increase in darker colors (browns) that resulted in blemishes. In turn, the pulp had a lighter color index (more yellow, less orange) than the peel (Zaccari et al., 2012). Color changes may be associated with pigments, such as carotenoids and/or enzymatic oxidation processes (Zaccari et al., 2012).

The firmness of the Butiá remained constant from the beginning to the 25th of the "open" treatment, possibly due to the loss of water and consequent hardening of the fruit. On the last day, this evaluation was not performed because the fruit was already dry, and the penetrometer only reached practically the seed. Unlike with the "open" treatment, in the other treatments, the values decreased from days 5 (modified atmosphere) and 10 (open), indicating greater softness of the fruit. Do Amarante & Megguer (2008) observed a small increase of *Butia eriospatha* firmness stored at 0 °C in PVC packaging on the 3rd day, with subsequent reduction of values.

At 5 °C, Zacarri et al. (2012) observed shrinkage and softening of fruit, which cannot be attributed to dehydration, since the high relative humidity of the environment (90–95 %) was maintained. The authors attributed this phenomenon because of the deterioration processes caused by harvest damage and the high metabolic rate that accelerated tissue senescence, causing it to collapse at the cell wall level (Zaccari et al., 2012).

Interest in the bioactive potential of underexplored native species has increased in recent years, although the genus *Butia* spp. has not received much attention yet (Hoffmann et al., 2014). Secondary metabolites such as carotenoids can have pro-vitamin A activity, can delay

aging symptoms and prevent chronic diseases (Fiedor and Burda, 2014), and are widely distributed in fruit, including Butiá da Praia. The need for studies to evaluate the stability of bioactive compounds (total phenolics, vitamin C, and carotenoids) of *Butia* spp. has already been highlighted in a recent genus review (Hoffmann et al., 2014).

Butiá fruit have been reported as a good source of carotenoids, with β -carotene being the major compound, followed by non-carotenoids such as phytoene and phytofluene (Faria et al., 2011).

The results of the carotenoids composition, AA, and antioxidant capacity of Butiá da Praia are presented in Table 2. From day 20, the samples of the "open" treatment no longer presented any condition of consumption, so these analyses were not performed.

Table 2. Carotenoid composition, ascorbic acid, and Antioxidant capacity of Butiá da Praia (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi) minimally processed and stored at 5 °C in different treatments.

	Treatment	0 d (<i>in natura</i>)	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	35 d
Lutein µg·g ⁻¹	O	2.92 ± 0.31 ^{a,A}	3.16 ± 0.07 ^{c,A}	2.94 ± 0.22 ^{b,A}	2.80 ± 0.03 ^{b,A}	-	-	-
	P	2.92 ± 0.31 ^{a,C}	4.89 ± 0.12 ^{a,A}	3.61 ± 0.09 ^{a,B,C}	4.52 ± 0.77 ^{a,A,B}	3.60 ± 0.48 ^{a,B,C}	2.77 ± 0.16 ^{b,C}	3.00 ± 0.56 ^{a,C}
	MA	2.92 ± 0.31 ^{a,B,C}	4.16 ± 0.48 ^{b,A}	3.79 ± 0.03 ^{a,A,B}	3.21 ± 0.60 ^{a,b,A,B,C}	2.42 ± 0.01 ^{a,C}	3.92 ± 0.52 ^{a,A,B}	3.51 ± 0.14 ^{a,A,B}
β-carotene µg·g ⁻¹	O	221.66 ± 38.89 ^{a,A}	212.09 ± 24.68 ^{a,A}	228.26 ± 25.04 ^{b,A}	222.28 ± 9.62 ^{b,A}	-	-	-
	P	221.66 ± 38.89 ^{a,A}	284.00 ± 13.70 ^{a,A}	296.73 ± 14.07 ^{a,A}	285.59 ± 26.64 ^{a,A}	299.16 ± 37.25 ^{a,A}	265.21 ± 10.37 ^{b,A}	284.17 ± 41.52 ^{a,A}
	MA	221.66 ± 38.89 ^{a,B}	242.80 ± 44.62 ^{a,A,B}	313.94 ± 26.57 ^{a,A}	265.78 ± 1.55 ^{a,A,B}	248.36 ± 22.8 ^{a,A,B}	300.71 ± 3.35 ^{a,A,B}	312.49 ± 45.89 ^{a,A}
Total Carotenoids µg·g ⁻¹	O	224.58 ± 38.67 ^{a,A}	215.24 ± 24.71 ^{a,A}	231.21 ± 24.89 ^{b,A}	225.09 ± 9.63 ^{b,A}	-	-	-
	P	224.58 ± 38.67 ^{a,A}	288.89 ± 13.61 ^{a,A}	300.34 ± 14.06 ^{a,A}	290.11 ± 26.50 ^{a,A}	302.76 ± 37.32 ^{a,A}	267.99 ± 10.48 ^{b,A}	287.17 ± 40.96 ^{a,A}
	MA	224.58 ± 38.67 ^{a,B}	246.96 ± 45.10 ^{a,A,B}	317.72 ± 26.59 ^{a,A,B}	268.99 ± 1.51 ^{a,A,B}	250.79 ± 22.79 ^{a,A,B}	304.63 ± 3.23 ^{a,A,B}	316.00 ± 45.99 ^{a,A}
Ascorbic acid mg.100g ⁻¹	O	411.54 ± 27.11 ^{a,A}	318.34 ± 23.26 ^{a,B}	242.42 ± 27.67 ^{b,C}	190.91 ± 22.60 ^{b,C}	-	-	-
	P	411.54 ± 27.11 ^{a,A}	303.80 ± 11.07 ^{a,B}	291.59 ± 14.48 ^{a,B}	230.15 ± 9.06 ^{a,C}	112.91 ± 3.45 ^{a,D}	86.45 ± 0.25 ^{a,D,E}	66.74 ± 2.30 ^{a,E}
	MA	411.54 ± 27.11 ^{a,A}	339.42 ± 20.80 ^{a,B}	312.00 ± 13.04 ^{a,B}	258.66 ± 9.43 ^{a,C}	125.20 ± 11.13 ^{a,D}	96.25 ± 2.63 ^{a,D,E}	62.54 ± 4.23 ^{a,E}
Antioxidant capacity by ABTS method Trolox equivalent µMol.g ⁻¹	O	83.31 ± 8.91 ^{a,A}	82.82 ± 3.38 ^{a,A}	86.77 ± 6.00 ^{a,A}	77.30 ± 9.33 ^{a,A}	-	-	-
	P	83.31 ± 8.91 ^{a,A}	81.56 ± 1.55 ^{a,A}	84.78 ± 1.29 ^{a,A}	77.25 ± 8.94 ^{a,A}	77.81 ± 3.72 ^{a,A}	87.89 ± 1.20 ^{a,A}	84.18 ± 2.00 ^{a,A}
	MA	83.31 ± 8.91 ^{a,A}	80.56 ± 4.40 ^{a,A}	77.81 ± 7.02 ^{a,A}	78.22 ± 8.66 ^{a,A}	75.13 ± 8.38 ^{a,A}	83.11 ± 6.41 ^{a,A}	84.43 ± 5.61 ^{a,A}

O: open; P: packed; MA: modified atmosphere.

ABTS: 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid).

Results expressed as dry basis. Data represent the mean of three replicates ± standard deviation.

Different lowercase superscript letters in the same column indicate statistically significant difference between treatments for the same compound by Tukey test (p<0.05). Different uppercase superscript letters in the same line indicate statistically significant difference for the same treatment over the storage period by Tukey test (p<0.05).

Nine carotenoids were identified by HPLC-MS (Figure 3 and Table 3). Regarding carotenoid content, β -carotene (98.7 % w/w) and lutein (1.30 % w/w) were the major carotenoids in the sample being quantified. Lutein, β -carotene, and total carotenoids levels in the "open" treatment were maintained through the days, which is in agreement with the results of Zaccari et al. (2012) who also did not observe changes in the content of this compound in the peel and pulp up to 28 d of storage. The β -carotene and total carotenoid contents of the "packed" samples also remained, although the amount of lutein varied, being higher on days 5 and 15. This is also evidenced by the increase in the yellow color of the peel and pulp (b^*). The "modified atmosphere" treatment was able to progressively increase the amount of total carotenoids throughout the period. The alteration in the carotenoid contents was evaluated in relation to the balance of the processes that keep happening in the plant. In this case, the biosynthetic enzymes under appropriate conditions could still be acting, which could increase the contents during storage.

Figure 3. Chromatogram obtained by HPLC-DAD of carotenoids from Butiá da Praia (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi). Chromatographic conditions: see text. Peak characterization is given in Table 3.

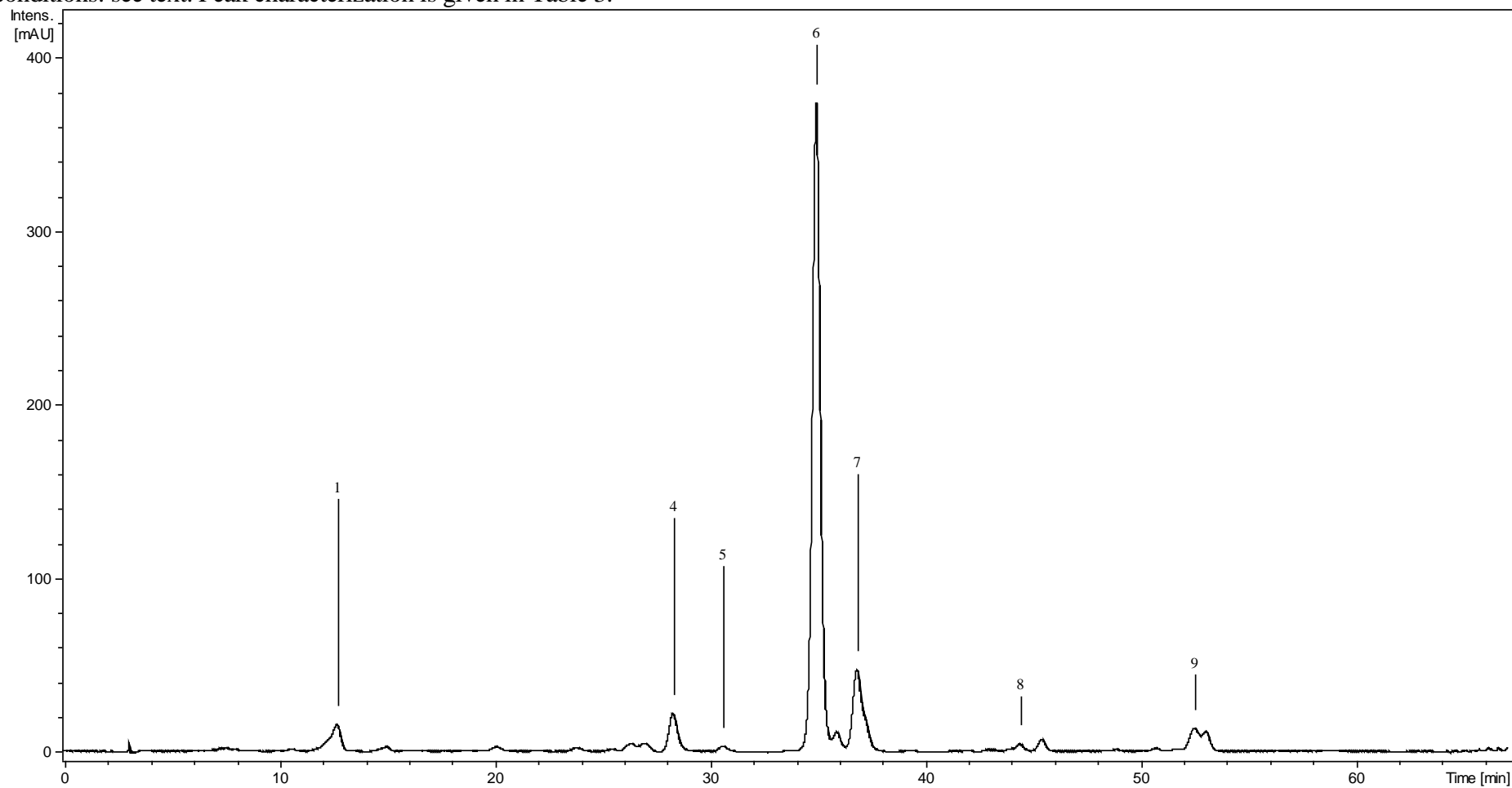


Table 3. Chromatographic, UV-visible, and mass spectrometric characteristics and content of carotenoids Butiá da Praia (*Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi) *In Natura*, obtained by HPLC-DAD/APCI-MS/MS.

Peak ^a	Carotenoid	t_R (min) ^b	λ_{max} (nm) ^c	% III/II	% A _B /A _{II}	[M + H] ⁺ (m/z)	Fragment ions (m/z)
1	all- <i>trans</i> -lutein	12.8	420, 442, 472	61.5	ND	569	551 [M+H-18] ⁺ , 533 [M+H-18-18] ⁺ , 495 [M+H-18-56] ⁺ , 477 [M+H-92] ⁺
2	phytoene	19.7	274, 286, 297	NC	ND	545	489 [M+H-56] ⁺ , 463, 435, 421 [M+H-124] ⁺
3	<i>cis</i> -phytofluene	22.1	332, 347, 366	66.7	ND	543	461, 406 [M+H-137] ⁺ , 338 [M+H-205] ⁺ , 325
4	13- <i>cis</i> - β -carotene	28.3	337, 424, 444, 470	12.5	42.85	537	457 [M+H-80] ⁺ , 444 [M-92] ⁺ , 413 [M+H-124] ⁺
5	all- <i>trans</i> - α -carotene	30.6	421, 441, 472	50	ND	537	457 [M+H-80] ⁺ , 444 [M-92] ⁺ , 413 [M+H-124] ⁺
6	all- <i>trans</i> - β -carotene	35.0	421, 451, 476	25	ND	537	457 [M+H-80] ⁺ , 444 [M-92] ⁺ , 413 [M+H-124] ⁺
7	9- <i>cis</i> - β -carotene	36.9	338, 412, 438, 454	NC	23.07	537	455, 413 [M+H-124] ⁺ , 400, 387, 347
8	<i>cis</i> - δ -carotene	45.4	350, 430, 455, 483	43.7	NC	537	455, 413 [M+H-124] ⁺ , 401
9	<i>cis</i> - γ -carotene	52.5	350, 433, 463, 485	NC	NC	537	455, 413 [M+H-124] ⁺ , 347

^a Numbered according to the chromatogram shown in Figure 3.

^b Retention time on C³⁰ column.

^c Linear gradient of methanol and MTBE.

ND: not detected; NC: not calculated.

β -carotene, β -cryptoxanthin, lycopene, lutein, and zeaxanthin were found in *Butia capitata* and *Butia eriospatha* (Sganzerla, 2010). Other authors found phytoene, phytofluene, α -carotene, β -carotene (as major), ξ -carotene, poly-*cis*- γ -carotene, γ -carotene, α -cryptoxanthin or zeinoxanthin in *B. capitata* pulp (Faria et al., 2011). In addition, lutein, zeaxanthin, 5,6-epoxy- β -carotene, cryptoxanthin, 13-*cis*- β -carotene, α -carotene, β -carotene and 9-*cis*- β -carotene were identified in *B. capitata* (Pereira et al., 2013) and β -cryptoxanthin was the predominant carotenoid followed by β -carotene in *B. odorata* (Beskow et al., 2015).

Butia odorata, *B. eriospatha*, and *B. capitata* have been reported as a source of pro-vitamin A and vitamin C by other studies. The L-ascorbic acid content ranged from 38 to 73 mg.100g⁻¹ in *B. capitata* pulp (Faria et al., 2008), 3.1 to 23.86 mg.100g⁻¹ in *B. capitata* (Pereira et al., 2013; Sganzerla, 2010), and 21.34 mg.100g⁻¹ in *B. eriospatha* (Sganzerla, 2010). For comparison, the initial value (day 0) on a wet basis in this study was 74 mg.100g⁻¹.

As expected, the amount of AA in the samples decreased over the storage period for all treatments. The loss of vitamin C during storage may be due to water solubility, thermal degradation, enzymatic oxidation, changes in gene expression and enzyme activity in the vitamin metabolism pathway, by the action of an external oxidizing factor (light) or by respiration of the fruit (Galani et al., 2017). On day 20, the reduction in AA amount compared to the initial value was approximately 70 % for the "packed" and "modified atmosphere" treatments. In comparing the different storage conditions, despite the reduction, the "packed" and "modified atmosphere" samples maintained higher amounts compared to the "open" samples on the 10th and 15th. On the 10th day, it is emphasized that this reduction for these two treatments compared to the initial amount was only 30 %.

Regarding the antioxidant capacity, measured by the ABTS method, the different treatments did not present significant differences among themselves or between the storage

period. Thus, both the “packed” treatment and the “modified atmosphere” were able to maintain the high antioxidant capacity observed since the beginning of storage. Antioxidant capacity is related to the presence of compounds that protect the biological system against oxidation by their ability to scavenge or neutralize free radicals (Srinivasan Damodaran, Kirk L. Parkin, 2010).

Other studies have evaluated the quality of fruit of various types of Butiá during storage and/or under different temperatures, although none has evaluated the effect of different types of packaging and this specific species. Variation of bioactive compounds such as carotenoids and vitamin C, as well as antioxidant capacity, has not been previously reported.

Zaccari et al. (2012) evaluated the quality of *Butia capitata* Mart. Becc. of Uruguay stored under refrigeration (5, 15, and 20 °C) for 28 d, with physicochemical characterization, quantification, and identification of the main causes of deterioration, concluding that the storage at 5 °C kept the fruit without defects and suitable for consumption for up to 7 d. Da Silva & Scariot (2013) evaluated the same previous species with fruit from Brazil, investigating biometric parameters, productivity, and phenology, noting that the fruit should be harvested when nearly-ripe and remain attached to the infructescence during transport. Do Amarante & Megguer (2008) evaluated the effects of ripening stage on harvest, storage temperature (0 and 20 °C), and cooling time in preserving post-harvest quality of *Butia eriospatha* Mart. Becc for 25 d, concluding that immediate cooling (0 °C) of the fruit is recommended, as well as harvesting in the yellow-green ripening stage.

Do Amarante & Megguer (2008) observed that temperature reduction had a substantial effect on *Butia eriospatha* respiratory rates (fruit stored at 20 °C 10.7 times higher than those stored at 0 °C). In addition, the authors followed the respiratory rate of the fruit for 25 d and did not observe the occurrence of respiratory climacteric (Do Amarante and Megguer, 2008).

Conservation techniques used for harvesting and post-harvesting fruit are determining factors of Butiá quality, both for fresh consumption and for obtaining byproducts, since they influence physiological processes that promote fruit senescence (Zaccari et al., 2012).

Regarding temperature, cold storage reduces physiological processes related to fruit ripening. The temperature of 5 °C had already been tested in another study, obtaining better results in quality parameters when compared to storage at 15 and 20 °C, which showed a high rate of fruit decay (fungal rot, stains, and wrinkling) (Zaccari et al., 2012). *Butia eriospatha* fruit stored at a temperature higher than the present study (20 °C) remained in commercialization and consumption conditions only until the 3rd day, while those stored at 0 °C preserved the quality for 25 d (Do Amarante and Megguer, 2008). In addition, the fruit showed no cold injury during the whole storage period (0 °C for 25 d) (Do Amarante and Megguer, 2008).

While immediate cooling may be a strategy that requires investment, it should also be considered. For Do Amarante & Megguer (2008), this promoted higher retention in peel color, flesh firmness, and TTA. Although the importance is emphasized, keeping fruit at their ideal storage temperature during post-harvest is still a challenge to producers (Porat et al., 2018). Modified atmosphere is also a technique that reduces respiratory activity by reducing O₂ levels and increasing CO₂ levels, thereby reducing metabolism (Chitarra and Chitarra, 2005). This technique turns out to be an efficient system for retarding physicochemical changes and loss of aroma, color, texture, and other attributes of fruit ripening (Chitarra and Chitarra, 2005), although it requires higher financial investment.

The fruit of Butiá decay quite rapidly (da Silva and Scariot, 2013). In order to avoid spoilage, maintain texture, and, consequently, prolong fruit life, previous studies have

recommended some precautions regarding harvest and post-harvest. Do Amarante & Megguer (2008) recommended harvesting at the green-yellow or red-green stage and storage at 0 °C.

Another study found that, due to their high perishability, the harvest of *Butia capitata* fruit in the almost mature stage (fruit with a yellowish-green skin and a light yellow pulp) and their being permanently attached to the infructescences during transport is recommended (da Silva and Scariot, 2013). However, the conditions under which these fruit are stored and the time from harvest to sale to the final consumer should also be considered (da Silva and Scariot, 2013).

4. CONCLUSIONS

The use of packaging (with or without modified atmosphere) has extended the shelf life of the product and is essential for maintaining post-harvest quality of the butiá. Both were able to improve firmness parameters by increasing softness; maintain carotenoid levels (9 identified, with β -carotene and lutein being the major ones), and maintain the antioxidant capacity of the fruit. In addition, they suffered less significant AA losses, with considerable value for at least 10 d ($\cong 300 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$). The "modified atmosphere" showed a subtle difference compared to ordinary packaging.

To reduce fruit spoilage, packaging and storage at a domestic refrigerator temperature are simple solutions for producers to maintain product characteristics after harvest. The use of packages, combined with cooling, was sufficient to prolong the shelf life of minimally processed Butiá fruit. Conservation techniques used for harvesting and post-harvesting fruit are determining factors of Butiá quality, both for fresh consumption and for obtaining byproducts.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for fellowships.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared no conflicts of interest for this article.

REFERENCES

- AOAC, 2012. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of Analysis., 19th ed.
- Beskow, G.T., Hoffmann, J.F., Teixeira, A.M., Fachinello, J.C., Chaves, F.C., Rombaldi, C.V., 2015. Bioactive and yield potential of jelly palms (*Butia odorata* Barb. Rodr.). *Food Chem.* 172, 699–704. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.111>
- Brecht, J.K., Bartz, J.A., 2003. Postharvest physiology and pathology of vegetables.
- Chitarra, M.I.F., Chitarra, A.B., 2005. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio, 2a ed. Editora UFLA.
- Coradin, L., Siminski, A., Reis, A., 2011. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas pra o futuro, *Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial Plantas para o Futuro - Região Sul*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. <https://doi.org/978-85-7738-153-1>
- da Silva, P.A.D., Scariot, A., 2013. Phenology, biometric parameters and productivity of fruits of the palm *Butia capitata* (Mart.) Beccari in the Brazilian cerrado in the north of the state of Minas Gerais. *Acta Bot. Brasilica* 27, 580–589. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062013000300015>
- De Rosso, V. V., Mercadante, A.Z., 2007. Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. *J. Agric. Food Chem.* 55, 5062–5072. <https://doi.org/10.1021/jf0705421>
- Do Amarante, C.V.T., Megguer, C.A., 2008. Qualidade pós-colheita de frutos de butiá em função do estágio de maturação na colheita e do manejo da temperatura. *Cienc. Rural* 38, 46–53. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000100008>
- Eriksson, M., Strid, I., Hansson, P.A., 2016. Food waste reduction in supermarkets - Net costs and benefits of reduced storage temperature. *Resour. Conserv. Recycl.* 107, 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2015.11.022>
- Faria, J.P., Almeida, F., Silva, L.C.R. da, Vieira, R.F., Agostini-Costa, T. da S., 2008. Caracterização da polpa do coquinho-azedo (*Butia capitata* var *capitata*). *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal-SP* 30, 827–829.
- Faria, J.P., Siqueira, E.M.A., Vieira, R.F., Agostini-Costa, T. da S., 2011. Fruits of *Butia capitata* (Mart.) Becc as good sources of β -carotene and provitamina. *Rev. Bras. Frutic.* 33, 612–617. <https://doi.org/10.1590/s0100-29452011000500084>
- Fiedor, J., Burda, K., 2014. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and

- disease. *Nutrients* 6, 466–488. <https://doi.org/10.3390/nu6020466>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2011. *Global Food Losses and Food Waste - Extent, causes and prevention*.
- Galani, J. H. Y., Patel, J. S., Patel, N. J., & Talati, J. G. (2017). Storage of fruits and vegetables in refrigerator increases their phenolic acids but decreases the total phenolics, anthocyanins and vitamin C with subsequent loss of their antioxidant capacity. *Antioxidants*, 6(3). <https://doi.org/10.3390/antiox6030059>
- Hoffmann, J.F., Barbieri, R.L., Rombaldi, C. V., Chaves, F.C., 2014. *Butia* spp. (Arecaceae): An overview. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 179, 122–131. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.08.011>
- Jachna, T.J., Hermes, V.S., Flôres, S.H., Rios, A.O., 2016. Bioactive compounds in pindo palm (*Butia capitata*) juice and in pomace resulting of the extraction process. *J. Sci. Food Agric.* 96, 1216–1222. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7209>
- Lorenzi, H., Lacerda, M., Bacher, L., 2015. *Frutas no Brasil Nativas e Exóticas (de consumo in natura)*. São Paulo.
- Pereira, M.C., Steffens, R.S., Jablonski, A., Hertz, P.F., Rios, A. de O., Vizzotto, M., Flôres, S.H., 2013. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. *J. Food Compos. Anal.* 29, 19–24. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.07.013>
- Porat, R., Lichter, A., Terry, L.A., Harker, R., Buzby, J., 2018. Postharvest losses of fruit and vegetables during retail and in consumers' homes: Quantifications, causes, and means of prevention. *Postharvest Biol. Technol.* 139, 135–149. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.11.019>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26, 1231–1237.
- Ribani, M., Bottoli, C.B.G., Collins, C.H., Jardim, I.C.S.F., Melo, L.F.C., 2004. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quim. Nova* 27, 771–780. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422004000500017>
- Rodrigues, E., Mariutti, L.R.B., Mercadante, A.Z., 2013. Carotenoids and phenolic compounds from *Solanum sessiliflorum*, an unexploited amazonian fruit, and their scavenging capacities against reactive oxygen and nitrogen species. *J. Agric. Food Chem.* 61, 3022–3029. <https://doi.org/10.1021/jf3054214>
- Rodriguez-Amaya, D.B., 2001. *A guide to carotenoids analysis in foods*, ILSI Human. ed. Campinas, SP, Brazil.
- Rosa, J.S. da, Godoy, R.L. de O., Oiano Neto, J., Campos, R. da S., Matta, V.M. da, Freire, C.A., Silva, A.S. da, Souza, R.S. de, 2007. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. *Ciência e Tecnol. Aliment.* 27, 837–846. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000400025>
- Sganzerla, M., 2010. *Caracterização físico-química e capacidade antioxidante do butiá*. Universidade Federal de Pelotas.
- Shafiee-Jood, M., Cai, X., 2016. Reducing Food Loss and Waste to Enhance Food Security and Environmental Sustainability. *Environ. Sci. Technol.* 50, 8432–8443. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b01993>
- Srinivasan Damodaran, Kirk L. Parkin, O.R.F., 2010. *Química de Alimentos de Fennema*.
- Usall, J., Ippolito, A., Sisquella, M., Neri, F., 2016. Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 122, 30–40.

<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.05.002>

Verghese, K., Lewis, H., Lockrey, S., Williams, H., 2015. Packaging's role in minimizing food loss and waste across the supply chain. *Packag. Technol. Sci.* 28, 603–620.

<https://doi.org/10.1002/pts>

Zaccari, F., Crosa, M.J., Irisity, M., 2012. Evolución de la calidad de frutos de butiá (*Butia capitata*, Mart. Becc.) en almacenamiento refrigerado. *Innotec* 31–37.

CAPÍTULO 9

9 DISCUSSÃO GERAL

O consumo regular de produtos vegetais, como as frutas, tem sido amplamente recomendado e já foi associado a efeitos benéficos à saúde, como um menor risco para o desenvolvimento de doenças crônicas. Apesar das recomendações, o Brasil possui um grande número de espécies de frutas nativas, mas apenas uma pequena fração desse potencial é conhecida e utilizada. A maioria ainda é inexplorada e tem potencial para ser consumida *in natura* ou de interesse para a agroindústria. Assim, seus compostos, bioativos e propriedades antioxidantes permanecem desconhecidos e inexplorados.

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de determinar a composição físico-química, nutricional e de compostos bioativos de frutas de sete espécies nativas da Região Sul do Brasil contempladas na publicação “Plantas para o Futuro” do Ministério do Meio Ambiente. Parte da presente pesquisa esteve inserida no Projeto “Conservação e Uso Sustentável da Biodiversidade para Melhoria da Nutrição e do Bem Estar Humano” ou “BFN” coordenado pelo *Bioversity International* e executado internacionalmente. As espécies *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi, *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc., *Euterpe edulis* Mart., *Opuntia elata* Salm-Dyck, *Passiflora actinia* Hook., *Physalis* spp. e *Vasconcellea quercifolia* A.St.-Hil. possuem grande potencial de produção e consumo, embora ainda sejam pouco conhecidas e consequentemente pouco utilizadas na dieta cotidiana da população.

Ao considerar que diferentes posições geográficas interferem na composição química das frutas e que esta sofre alterações devido ao tipo solo, clima, insolação, temperatura média anual da região, adubação, quantidade de água, grau de domesticação da planta e índice pluviométrico, foram coletadas pelo menos duas amostras de regiões diferentes para cada espécie, englobando coletas nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Além disso, para facilitar a comparação dos resultados e garantir a veracidade das informações, as análises laboratoriais foram padronizadas, seguiram as metodologias AOAC e a acurácia foi verificada com o uso de material de referência certificado do NIST.

No **Manuscrito 1** foram analisadas as características físico-químicas, composição centesimal e o teor de minerais (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Se e Zn) presente nessas espécies. As frutas também foram analisadas quanto ao teor de carotenoides, antocianinas,

vitamina A, do complexo B e C e capacidade antioxidante no **Manuscrito 2**. No **Manuscrito 3**, três espécies (Butiá da Praia, Butiá da Serra e Arumbeva) foram selecionadas por destacarem-se na análise preliminar da capacidade antioxidante e, além disso, após revisão da literatura, possuíam menos informações nas bases de dados científicas, procedendo-se a identificação e quantificação dos compostos fenólicos.

A relação entre sólidos solúveis e acidez foi alta para o Jaracatiá, para o Açaí Juçara e para o Butiá da Praia, que é uma característica importante relacionada à doçura e consequente maior aceitabilidade pelos consumidores. De maneira geral, as frutas avaliadas apresentaram alto teor de umidade (em média 80,2%), baixo teor lipídico (em média 3,8%), que são características dos alimentos de origem vegetal (em especial frutas e hortaliças), e boa quantidade de fibras, principalmente do tipo insolúvel.

O Jaracatiá teve destaque no teor de cinzas e proteínas, indicando essa fruta como uma excelente fonte de minerais (cálcio, zinco e potássio) e proteínas (3 vezes mais que as demais frutas estudadas), assim como na quantidade de α e β -caroteno, β -criptoxantina e zeaxantina, obtendo em consequência o maior conteúdo de carotenoides totais e um perfil completo dos carotenoides analisados (5 carotenoides incluindo carotenos e xantofilas). A fruta também apresentou alto teor de vitamina A, C, B2 e B6.

O valor nutricional das frutas está diretamente relacionado ao seu perfil mineral e as espécies avaliadas também apresentaram quantidades significativas desses elementos. A avaliação do conteúdo mineral mostrou que as frutas incluídas neste estudo poderiam contribuir para a ingestão adequada desses micronutrientes essenciais. Em especial, as Arumbevas apresentaram alto teor de cálcio, magnésio, manganês e zinco. Nessa fruta também foi verificado alto teor de vitamina C e foi considerada excelente fonte de fibra alimentar. Dezesete compostos fenólicos foram identificados na Arumbeva, sendo que dois ácidos hidroxibenzóicos (ácido piscídico e seu derivado) foram os principais compostos, seguidos pelos derivados de isorhamnetina e ácido caféico 4-*O*-glucuronídeo.

Para o teor de fibras alimentares, o Açaí Juçara também pode ser considerado excelente fonte. No teor de carotenoides, a luteína foi encontrada em quantidades elevadas nessa fruta, que também se destacou entre as demais analisadas com a maior capacidade de desativar o ABTS e maior teor de B5. Em relação às antocianinas, duas foram identificadas no Açaí Juçara: a cianidina 3-glucosídeo e a cianidina 3-rutinosídeo.

O principal carotenoide para todas as espécies foi o β -caroteno, que tem o maior potencial de vitamina A e geralmente é o principal nesse grupo de alimentos, sendo que a luteína esteve presente em todas as frutas estudadas. O Fisális, assim como Jaracatiá, apresentou um perfil completo dos carotenoides analisados e também se destacou quanto ao alto valor de carotenoides totais e conteúdo de vitaminas B3 e B6.

Os Butiás da Praia e da Serra apresentaram altos valores para algumas vitaminas B (B1, B2, B5, B6 e B7), para a vitamina C e capacidade antioxidante. Dezoito compostos fenólicos foram identificados no Butiá da Praia e vinte e oito no Butiá da Serra. Os principais grupos de compostos fenólicos encontrados nas frutas foram os ácidos hidroxibenzóicos, flavan-3-ols e flavonóis. Ácidos hidroxibenzóicos e clorogênicos, catequina ou epicatequina e seus derivados e rutina foram os compostos predominantes no Butiá da Praia. O Butiá da Serra apresentou 14 compostos semelhantes ao Butiá da Praia, sendo os flavan-3-ols e os ácidos hidroxibenzóicos os principais grupos identificados, com predominância de galato de epicatequina.

Vitaminas, compostos fenólicos e carotenoides, abundantemente presentes nas frutas, são os principais antioxidantes naturais responsáveis pelos efeitos defensivos do corpo humano. Neste quesito, o Açaí Juçara e os Butiás se destacaram entre as frutas analisadas. A relação entre capacidade antioxidante e alguns dos compostos bioativos analisados (carotenoides, vitamina C e/ou antocianinas) também foi evidente para essas três espécies, embora o alto teor de carotenoides totais (em Fisális e Jaracatiá) e vitamina C (em Arumbeva e Jaracatiá) não refletiu valores altos no ABTS.

O consumo de 100 g de frutas frescas compõe 45% das necessidades diárias de vitamina A (Jaracatiá), 50% de vitamina C (Arumbeva, Butiá da Praia, Butiá da Serra e Jaracatiá), aproximadamente 7% de vitamina B2 (Butiá da Praia e Jaracatiá), acima de 30% para a vitamina B5 (Açaí Juçara) e vitamina B6 (Açaí Juçara, Butiá da Praia, Fisális, Jaracatiá, Maracujá do Mato) e atendem às recomendações da vitamina B7 (Butiá da Praia). Os resultados indicam que as frutas incluídas neste estudo apresentaram em sua composição quantidades consideráveis de compostos bioativos e capacidade antioxidante, o que pode representar um potencial valor comercial por suas propriedades nutricionais e funcionais.

Para a mesma fruta, alguns dos resultados obtidos apresentaram diferença estatística entre as coletas, ratificando a forte influência dos fatores edafoclimáticos e variabilidade genética em sua composição. Quando combinados, esses fatores podem influenciar o conteúdo

de nutrientes da planta, alterando seu metabolismo fitoquímico.

Além de características sensoriais que contribuem para o seu consumo direto, identificou-se o potencial do Butiá da Praia, do Butiá da Serra e da Arumbeva para o desenvolvimento de produtos, cuja comercialização poderia contribuir para a sua conservação. Assim, extratos para possíveis aplicações em alimentos também foram formulados e caracterizados quanto à capacidade antioxidante *in vitro* e os efeitos sobre a geração de espécies reativas de oxigênio e toxicidade aguda *in vivo*. Os extratos hidroetanólicos formulados a partir dessas frutas foram considerados excelentes fontes de compostos fenólicos, atingindo um aumento de até 98% no total de compostos fenólicos da fruta. Além disso, os extratos tiveram efeitos antioxidantes contra os radicais $\bullet\text{OH}$, $\bullet\text{ROO}^-$ e ABTS, não aumentam a geração de EROs nem tiveram efeito tóxico *in vivo*. Além dos benefícios à saúde, estes provaram ser fontes promissoras de antioxidantes naturais, com variação entre espécies e influência do local de coleta na composição fenólica. A formulação de extratos pode expandir ainda mais seu uso, possibilitando futuras aplicações em alimentos e/ou produtos farmacêuticos.

Apesar das interessantes propriedades sensoriais e de composição nutricional que poderiam proporcionar expansão da produção comercial, o consumo dessas frutas ainda é incipiente, especialmente pelo seu curto prazo de validade. Neste sentido, práticas mínimas de processamento, armazenamento a frio e uso de embalagens desempenham um papel essencial na proteção dos alimentos em toda a cadeia produtiva. Assim, considerando sua potencialidade (nutrientes e compostos bioativos), facilidade de acesso, e apreciação pelos consumidores, no **Manuscrito 4** o Butiá da Praia foi selecionado para o desenvolvimento de um método para prolongar sua vida de prateleira. As frutas foram armazenadas a 5 °C em três tratamentos diferentes: aberto (dispostas em bandejas de poliestireno expandido); embalado (embaladas com plástico de nylon-poli multicamada); e atmosfera modificada (embaladas com 2% de oxigênio, 5% de dióxido de carbono e 93% de nitrogênio). As amostras foram avaliadas quanto à diversos parâmetros de qualidade pós-colheita durante 35 dias. Aos 15 dias, o tratamento aberto não apresentava mais condições de consumo. O uso de embalagens foi capaz aumentar a maciez; manter os níveis de carotenoides (sendo os principais o β -caroteno e a luteína); manter a capacidade antioxidante da fruta e sofrer menos perdas significativas de ácido ascórbico. O uso de embalagens, combinado ao resfriamento, foi suficiente para prolongar a vida útil dos butiás minimamente processados por até 25 dias. Assim, para reduzir a deterioração das frutas, a embalagem e o armazenamento na temperatura do refrigerador doméstico podem ser soluções

simples para os produtores manterem as características do produto após a colheita.

CAPÍTULO 10

10 CONCLUSÃO GERAL

Os resultados das análises das sete espécies nativas da Região Sul do Brasil, permitem concluir que:

a) as frutas avaliadas apresentaram alto teor de umidade, baixo teor lipídico e boa quantidade de fibras, principalmente as do tipo insolúvel;

b) as amostras de Açaí Juçara apresentaram uma alta relação SST/ATT; excelente quantidade de fibras, teor considerável de vitaminas B5 e B6, luteína, antocianinas e alta capacidade antioxidante;

c) os Butiás da Praia e da Serra possuem conteúdo elevado de vitamina C e do complexo B (B1, B2, B5, B6 e B7), além da alta capacidade antioxidante;

d) a Arumbeva pode ser considerada uma boa fonte de fibras, vitamina C e minerais (Ca, Mg, Mn e Zn);

e) o Jaracatiá se apresentou como uma excelente fonte de minerais (Ca, K e Zn) e proteínas; obteve alta relação SST/ATT e elevada quantidade de vitaminas A, C e do complexo B (B2 e B6), além de ter destaque no conteúdo de carotenoides totais e individuais (α e β -caroteno, β -criptoxantina, zeaxantina), apresentando um perfil completo dos mesmos;

f) o Maracujá do Mato se destacou pelo conteúdo de vitamina B6;

g) o Fisális apresentou teores elevados de vitamina B3, B6 e carotenoides totais, além de apresentar perfil completo dos mesmos;

h) o consumo de 100 g dessas frutas pode contribuir com até 50% da ingestão diária recomendada de vitamina C, 45% de vitamina A, acima de 30% para a vitamina B5 e B6, 7% de vitamina B2 e suprir a demanda de vitamina B7;

i) as frutas incluídas neste estudo apresentaram em sua composição quantidades consideráveis de compostos bioativos e capacidade antioxidante;

j) o teor de nutrientes para a mesma espécie, coletada em locais diferentes variaram significativamente;

k) os ácidos hidroxibenzóicos e clorogênicos, a catequina e/ou a epicatequina e seus

derivados e a rutina foram os compostos predominantes no Butiá da Praia;

l) no Butiá da Serra os flavan-3-ols e os ácidos hidroxibenzóicos foram os principais grupos, com predominância de galato de epicatequina;

m) na Arumbeva, destacaram-se o ácido piscídico e seu derivado, seguidos pelos derivados de isorhamnetina e o ácido caféico 4-*O*-glucuronídeo;

n) os extratos hidroetanólicos dos Butiás e da Arumbeva tiveram efeitos antioxidantes contra os radicais $\bullet\text{OH}$, $\bullet\text{ROO}^-$ e ABTS, não aumentam a geração de EROs nem tiveram efeito tóxico *in vivo*;

o) práticas mínimas de processamento como o armazenamento a 5 °C e uso de embalagens prolongaram a vida útil do Butiá da Praia minimamente processados por até 25 dias. Sem o uso da embalagem a fruta teve vida útil de 10 dias.

De modo geral, conforme os resultados obtidos, as frutas nativas mostram-se promissoras quanto a composição físico-química e nutricional, assim como quanto ao teor de compostos bioativos. Evidenciou-se que uso dessas espécies pode ser considerado como alternativa para melhorar a dieta da população, englobando diversos nutrientes e chamando a atenção para a importância da alimentação ser diversificada, uma vez que cada espécie se destaca em determinados componentes e há grande variação entre os locais de coleta. Além disso, os resultados apresentados nesse trabalho podem estimular a demanda, o consumo e o cultivo dessas frutas, contribuindo para a preservação e proteção de fontes naturais de alimentos nutritivos, saudáveis e sustentáveis, trazendo benefícios à saúde da população.