TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO CAMU-CAMU (MYRCIARIA DUBIA)

PERCIO, Juliana Andres Machado.¹ VASCONCELOS, Helder Lopes.² MANFIO, Josélia Larger.³

RESUMO

O camu-camu (*Myrciaria dubia*) é um fruto originário da Amazônia e é pesquisado pela presença de inúmeros compostos bioativos que foram identificados em diferentes estudos. A alta quantidade de compostos fenólicos e vitamina C na fruta é amplamente relatada, e esta apresenta ainda minerais essenciais à saúde humana. Neste contexto torna-se interessante conhecer esses compostos benéficos e quais técnicas analíticas são comumente utilizadas para a identificação e caracterização do fruto. Este estudo teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica de quais são os métodos analíticos mais utilizados para caracterização da fruta do camu-camu, correlacionando os compostos estudados com as técnicas analíticas utilizadas, estágios de amadurecimento do fruto e tratamentos ou subprodutos da fruta. Por meio deste trabalho é possível identificar rapidamente os compostos bioativos mais estudados, as técnicas analíticas aplicáveis às classes de compostos, assim como oportunidades de futuras pesquisas no desenvolvimento analítico para o estudo do camu-camu, principalmente através da espectrometria de massas, devido à confiabilidade de suas respostas, assim como a pesquisa de minerais através de técnicas mais sensíveis como o ICP para a caracterização da fruta, produtos e suplementos alimentares derivados do camu-camu.

PALAVRAS-CHAVE: Técnicas analíticas. Antioxidante. Compostos fenólicos. Minerais. Ácido ascórbico.

ANALYTICAL TECHNIQUES FOR THE EVALUATION OF CAMU-CAMU BIOACTIVE COMPOUNDS (MYRCIARIA DUBIA)

ABSTRACT

Camu-camu (*Myrciaria dubia*) is a fruit originating from the Amazon and is researched for the presence of numerous bioactive compounds that have been identified in different studies. The high amount of phenolic compounds and vitamin C in fruit is widely reported, and it also contains minerals essential to human health. In this context it is interesting to know these beneficial compounds and which analytical techniques are commonly used for fruit identification and characterization. This study aimed to carry out a literature review of which are the most used analytical methods for characterization of camu-camu fruit, correlating the studied compounds with the analytical techniques used, fruit ripening stages and fruit treatments or byproducts. Through this work it is possible to quickly identify the most studied bioactive compounds, the analytical techniques applicable to the classes of compounds, as well as opportunities for future research in the analytical development for the study of camu-camu, mainly through mass spectrometry, due to the reliability their responses, as well as mineral research through more sensitive techniques such as ICP for the characterization of camu-camu fruit, products and dietary supplements.

KEYWORDS: Analytical techniques. Antioxidant. Phenolic compounds. Minerals. Ascorbic acid.

1. INTRODUÇÃO

O camu-camu (*Myrciaria dubia*) é uma planta do gênero *Myrciaria* pertencente à família *Myrtaceae* as quais são encontradas em vários biomas brasileiros como a floresta Amazônica,

¹ Farmacêutica Mestranda de Ciências Farmacêuticas da Universidade do Oeste do Paraná – UNIOESTE – e-mail: julianapercio@gmail.com

² Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Catarina, professor da Universidade do Oeste do Paraná – UNIOESTE, e-mail: helder.vasconcelos@unioeste.br

³ Doutora em Ciências Farmacêuticas pela Universidade de São Paulo, e-mail: joselia.manfio@biopark.com.br

Caatinga, Cerrado, Floresta Atlântica e Pampa, sendo que este gênero contém aproximadamente 99 espécies conhecidas (Borges *et al*, 2014).

O habitat natural da *Myrciaria dubia* é à beira de rios e igarapés ou regiões permanentemente alagadas, onde parte do seu caule permanece submersa (RIBEIRO *et al*, 2016). O fruto do camucamu também é conhecido como caçari ou araçá d'água, sendo uma fruta tipicamente originária da Amazônia. A fruta é redonda com aproximadamente 2,5 cm de diâmetro e o pericarpo é brilhante, variando de vermelho a roxo quando maduro. Já o mesocarpo é ácido e a casca muito azeda, suculento e de cor rosa (NERI-NUMA *et al*, 2018; GRIGIO *et al*, 2017), conforme a Figura 1. A sua elevada acidez devido à quantidade de vitamina C e amargor da casca, devido à presença dos compostos fenólicos dificulta a palatabilidade e consumo da fruta fresca (SALOMÃO-OLIVEIRA *et al*, 2016).

Figura 1 - Fruto do camu-camu





Fonte: Arquivo do autor.

O perfil fitoquímico do camu-camu tem despertado o interesse de vários pesquisadores nos últimos anos, pois nele se observa a presença de várias substâncias bioativas. A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) define substância bioativa como uma substância nutriente ou não nutriente consumida normalmente como componente de um alimento, que possui ação metabólica ou fisiológica específica no organismo humano (BRASIL, 2018).

Entre as substâncias bioativas do fruto do camu-camu observa-se a presença de vitamina C, estando esta em concentrações até 20 vezes maiores que a acerola e 100 vezes maiores que o limão, com quantidades relevantes de compostos fenólicos, tendo um importante poder antioxidante (CHIRINOS *et al*, 2010; VIDIGAL *et al*, 2011). Estudos destacam ainda outros compostos importantes para a saúde humana, como o β-caroteno e a presença de minerais essenciais, como cálcio e potássio (ZANATTA *et al*, 2007; YUYAMA *et al*, 2003; RIBEIRO *et al*, 2016).

Os diferentes compostos bioativos presentes no fruto do camu-camu podem ser usados para retardar ou prevenir várias doenças crônicas como dislipidemias, obesidade, doenças cardiovasculares e câncer, devido sua ação antioxidante (AGUIAR *et al*, 2018; ANHÊ *et al*, 2019).

Devido à relevante quantidade de compostos e à ausência de método oficial para realizar tais avaliações, o objetivo deste trabalho foi explorar pesquisas realizadas com o fruto do camu-camu em relação às determinações de compostos bioativos, antioxidantes e minerais, e verificar quais são os métodos analíticos mais utilizados para identificação ou caracterização desses compostos no fruto *in natura* ou após algum processamento.

A metodologia de busca dos artigos foi através dos termos camu-camu, *myrciaria dubia*, compostos fenólicos, compostos bioativos, caracterização, nas plataformas *Pub Med, Science Direct* e banco de dissertações de Universidades. Os artigos foram selecionados através do título e resumo onde trouxesse informações sobre a etapa analítica de caracterização do fruto.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 COMPOSTOS BIOATIVOS ANTIOXIDANTES E MINERAIS

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, na forma simples ou em polímeros, que conferem a eles ação antioxidante. Podem estar presentes em frutas e vegetais na forma livre ou complexada a açúcares e proteínas (ANGELO *et al*, 2007). Representam a principal classe dos metabólitos secundários nas plantas e são derivados das vias do ácido chiquímico e via fenilpropanoidica (GONÇALVES, 2008). Dentre as classes de compostos fenólicos, os que mais se destacam como fontes naturais de antioxidantes são os flavonoides, taninos, ácidos fenólicos e tocoferóis.

A estrutura dos flavonoides é constituída por 15 átomos de carbono e apresentam 3 anéis aromáticos, sendo um anel pirano que está ligado por uma ligação carbono-carbono a um terceiro anel aromático. Essas estruturas podem ocorrer na forma livre (não conjugada com heterosídeos ou agliconas, por exemplo, a quercetina) ou na forma conjugada à uma unidade glicosídica (DAMETTO, 2014; ZUANASSI, 2002). Esta estrutura contempla compostos como as antocianinas, flavonóis e seus derivados, ácidos fenólicos, benzoico, cinâmico e derivados. A Tabela 1 exemplifica a estrutura química dos compostos fenólicos demonstrando a variedade de estruturas que podem ser encontradas nesta classe, desde os mais simples até as moléculas condensadas como os taninos (ANGELO *et al*, 2007).

Tabela 1 - Classe de compostos fenólicos em plantas

Classe	Estrutura
Fenólicos simples, <u>benzoquinonas</u>	C ₆
Acidos <u>hidroxibenzóicos</u>	$C_6 - C_1$
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C ₆ - C ₂
Àcidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	$C_6 - C_3$
Naftoquinonas	C ₆ – C ₄
Xantonas	$C_6 - C_1 - C_6$
Estilbenos, antoquinonas	$C_6 - C_2 - C_6$
Flavonóides, isoflavonóides	$C_6 - C_3 - C_6$
Lignanas, neolignanas	$(C_6 - C_3)_2$
Biflavonóides	$(C_6 - C_3 - C_6)_2$
Ligninas	$(C_6 - C_3)_n$
Taninos condensados	$(C_6 - C_3 - C_6)_n$

Fonte: Adaptado de ANGELO et al (2007).

A vitamina C é um nutriente extremamente importante para a fisiologia humana. Conhecida também como ácido ascórbico, é constituída de um anel γ-lactona quase planar com dois centros quirais, determinando dois pares de isômeros, ácido L e D-ascórbico (ROSA *et al*, 2007). Segundo Correa (2011) o conteúdo de ácido ascórbico dos frutos varia de acordo com a região e da época do ano, sendo importante monitorar o conteúdo de vitamina C em cultivos de camu-camu de diferentes lugares e estados de maturação do fruto.

O stress oxidativo é definido como um desequilíbrio entre a produção das espécies reativas (de oxigênio ou nitrogênio) e agentes antioxidantes, sendo esses agentes capazes de inibir, prevenir ou retardar o processo oxidativo, mesmo em baixas concentrações (DAMETTO, 2014). Os antioxidantes são os responsáveis pelo sequestro de radicais livres, e podem ser classificados em primários, que interrompem a cadeia de reações envolvidas na oxidação, e secundários, que reduzem a taxa de iniciação da oxidação. São metabólitos secundários das plantas e nelas estão associados ao sistema de defesa desta contra insetos, herbívoros, microrganismos, proteção contra os raios UV, atração de polinizadores, entre outras (ANGELO et al, 2007; GONÇALVES, 2008; GONÇALVES, 2012; CARVALHO et al, 2002).

Para exemplificar os compostos estudados no fruto do camu-camu a Tabela 2 traz a relação entre as moléculas já estudadas e suas classes, devido ao fato dos compostos fenólicos, assim como a vitamina C, atuarem como antioxidantes. Os minerais sendo importante a fisiologia humana, também recebem enfoque neste estudo. Observa-se na tabela que quercetina, ácido gálico, elágico e antocianinas estão presentes em diferentes estudos realizados com camucamu.

Tabela 2 – Compostos bioativos do camu-camu citados em estudos científicos.

Classe ou subclasses	Compostos Bioativos	Autor	
Compostos fenólicos	Flavonóides totais; antocianinas totais; compostos fenólicos	Grigio et al (2017)	
Vitamina	Vitamina C	Grigio ei ai (2017)	
Sais Minerais	Sais minerais totais	Sousa <i>et al</i> (2015)	
Carotenóides	B-caroteno		
Vitamina	Vitamina C	Aguiar et al (2018)	
Sais Minerais	Ferro; sódio; cálcio		
Compostos fenólicos	Polifenóis totais		
Compostos fenólicos	Ácido gálico p-cumárico ostos fenólicos Mircetina Quercetina Luteolina		
Flavonóis	Miricetina-3-o-hexosídeo Miricetina -3-o-pentosídeo Quercetina-3-o- hexosídeo Miricetina		
Antocianinas	Cianidina-3-o-glucosídeo		
Ácido elágico derivado	Ácido valoneico dilactone Ácido elágico hexosídeo Ácido elágico pentoside Ácido elágico desoxy hexosídeo Ácido elágico Ellagic acetyl rhamnoside Ácido elágico derivado		
Vescalagina; Castalagina HHDP-galoil-glicose Di-HHDP- glicose (pedunculagin) Elagitaninos Di-HHDP-galoil-glicose (casuarictina/potentialina) Digaloil-HHDP-glicose Di-HHDP-galoil-glicose (casuarictina) Tri-galoil-HHDP-glicose (telimagrandina II)		Fracassetti et al (2013)	
Ácido gálico derivado	Ácido gálico Ácido gálico derivativo		
Proantocianidinas	Gallocatechina-gallocatechina gallato-gallocatechingallato Gallocatechina-gallato Gallocatechina-gallato-dímero		
Vitamina	Vitamina C		
Vitamina	Vitamina C		
Vitamina Sais Minerais	Vitamina C N, P, K, Ca, Mg, S, B, Zn, Fe, Mn, Cu, Na e Se	Gonçalves (2012)	
	N, P, K, Ca, Mg, S, B, Zn, Fe, Mn, Cu, Na e Se Ácido elágico livre e total; rutina; antocianinas;	Gonçalves (2012)	
Sais Minerais Compostos fenólicos Compostos fenólicos	N, P, K, Ca, Mg, S, B, Zn, Fe, Mn, Cu, Na e Se Ácido elágico livre e total; rutina; antocianinas; proantocianidinas Flavan-3-ol derivado; catequina; delfinidina-3-glucosídeo; cianidina-3-glucosídeo; flavanona; ácido elágico; rutina; ácido elágico derivado	Gonçalves (2012) Chirinos <i>et al</i> (2010)	
Sais Minerais Compostos fenólicos Compostos fenólicos Vitamina	N, P, K, Ca, Mg, S, B, Zn, Fe, Mn, Cu, Na e Se Ácido elágico livre e total; rutina; antocianinas; proantocianidinas Flavan-3-ol derivado; catequina; delfinidina-3-glucosídeo; cianidina-3-glucosídeo; flavanona; ácido elágico; rutina; ácido elágico derivado Vitamina C		
Sais Minerais Compostos fenólicos Compostos fenólicos Vitamina Minerais	N, P, K, Ca, Mg, S, B, Zn, Fe, Mn, Cu, Na e Se Ácido elágico livre e total; rutina; antocianinas; proantocianidinas Flavan-3-ol derivado; catequina; delfinidina-3-glucosídeo; cianidina-3-glucosídeo; flavanona; ácido elágico; rutina; ácido elágico derivado Vitamina C Ca, Mg, S, Zn, Fe, Mn, Cu, B, N, P, K.	Chirinos et al (2010)	
Sais Minerais Compostos fenólicos Compostos fenólicos Vitamina	N, P, K, Ca, Mg, S, B, Zn, Fe, Mn, Cu, Na e Se Ácido elágico livre e total; rutina; antocianinas; proantocianidinas Flavan-3-ol derivado; catequina; delfinidina-3-glucosídeo; cianidina-3-glucosídeo; flavanona; ácido elágico; rutina; ácido elágico derivado Vitamina C		

Fonte: Elaborado pelos autores

2.2 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS

Nos últimos anos no Brasil os compostos bioativos de frutas estão sendo avaliados por diferentes técnicas analíticas, dependendo do composto pesquisado. Diversos autores estão empenhados em identificar e quantificar compostos que possam trazer benefícios à saúde através de alimentos, principalmente compostos fenólicos (SILVA *et al*, 2014).

Esses estudos são baseados em metodologias colorimétricas tradicionais suportadas por medições espectroscópicas. Atualmente inúmeros estudos vêm de encontro ao uso da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção ultravioleta (UV). Mais recentemente a espectroscopia de massas (MS) tem sido empregada na análise de alimentos para abordagens qualitativas e quantitativas (BIESAGA et al, 2009; GRUZ et al, 2008; BATAGLION et al, 2015; ALOTHMAN et al, 2009; LIM et al, 2007). O uso da cromatografia líquida de alta eficiência, acoplada à espectroscopia de massas tem recebido atenção devido à capacidade de caracterizar compostos estruturalmente semelhantes em matrizes complexas (BATAGLION et al, 2015; BAZOTI et al, 2006; FRANCESCATO et al, 2013; GALLART-AYALA et al, 2008; NAGY et al, 2009). Para uma completa caracterização pode-se utilizar técnicas complementares para a definição da estrutura química dos compostos.

Neri-Numa e colaboradores (2018) em seu estudo de revisão sobre as frutas brasileiras, enfatizaram a existência de cálcio (Ca), zinco (Zn), cobre (Cu), ferro (Fe) e magnésio (Mg) no camucamu. Neves *et al* (2011) observaram a prevalência dos minerais cálcio (Ca), ferro (Fe) e fósforo (P) que foram determinados por espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). Ainda neste estudo os autores relataram que os *Blends* (mistura de sucos ou néctares de frutas) elaborados, com o objetivo de melhorar a composição nutricional, não perderam os minerais citados após um período de estabilidade, o que reforça a necessidade de se avaliar esses compostos no fruto ou em produtos derivados do fruto para definição de marcadores bioativos do produto, sabendo-se que os compostos podem se manter estáveis.

Em estudo recente Rodrigues *et al* (2020) desenvolveram uma técnica inovadora de extração dos compostos bioativos do camu-camu através de extração por ultrassom e osmose reversa e realizaram análises através de técnicas espectrofotométricas para avaliação da atividade antioxidante (DPPH, FRAP, ABTS), quantificação de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu, teor de vitamina C por cromatografia liquida de alta eficiência (HPLC-DAD/UV-Vis) desenvolvido por Neves *et al* (2015). Neste estudo Rodrigues *et al* (2020) também realizou a identificação dos

compostos bioativos através da cromatograma líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas (UHPLC-Q- TOF-MS/ MS) e HPLC-DAD/UV-Vis.

A maioria dos estudos encontrados são de frutas frescas ou processadas a fim de obter pós de partes da fruta ou da fruta inteira. Fidelis *et al* (2020) realizaram um estudo com a incorporação de sementes de camu-camu liofilizadas em iogurte, afim de avaliar o efeito antioxidante e sensorial no iogurte. No estudo os compostos fenólicos quantificados foram vescalagin, castalagin, ácido gálico, procianidina e epicatequinas, através de cromatografia líquida de alta eficiência UV-Vis e fluorescência, sendo que a atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos de DPPH, Folin-Ciocaulteu e capacidade redutora de ferro e cobre. Quando adicionadas as sementes de camu-camu liofilizadas ao iogurte este demonstrou aumento da atividade antioxidade e capacidade redutora, além de boa aceitação na análise sensorial.

A Tabela 3 apresenta a relação dos estudos realizados com o fruto do camu-camu onde foram pesquisados compostos bioativos da fruta *in natura* ou após algum processamento, sendo que a maioria das pesquisas trata da fruta em forma de polpa ou após algum processo de secagem como a liofilização.

Tabela 3 - Relação de métodos analíticos utilizados para caracterização de frutos de camu-camu com diferentes características de tratamento, estágios de maturação de acordo com o tipo de composto bioativo avaliado.

Compostos Bioativos	Técnicas	Tratamento no fruto	Estágio de maturação	Autor
	Titulação	Liofilização	Fruto maduro	Grigio et al (2017)
		Separação polpa e polpa + casca	Verde	
			Semi-maduro	Correa <i>et al</i> (2011)
			Maduro	Collea et at (2011)
			Sobremaduro	
		Fruto fresco	Em maturação	Aguiar et al (2018)
Vitamina C	Cromatografia líquida		Verde	
v italiilia C	(HPLC)	Fruta inteira	Semi-maduro	Chirinos et al (2010)
			Maduro	
		Polpa (pó)	Maduro	Fracassetti et al
		Casca + semente (farinha)	Madulo	(2013)
		Polpa (suco concentrado)	Não especificado	Gonçalves (2012)
		Polpa + casca (liofilizada)	Nao especificado	Conçuives (2012)
		Polpa e casca	Maduro	Ribeiro et al (2016)
Compostos	Folin-Ciocalteau	Liofilização	Fruto maduro	Grigio et al (2017)
fenólicos	LIDLC MC/MC	D.I.	Maduro	Bataglion et al
	UPLC-MS/MS	Polpa		(2015)

	DPPH	Fruto fresco	Em maturação	Aguiar et al (2018)
	Cromatografia líquida		Verde	
	(HPLC)	Fruta inteira	Semi-maduro	Chirinos et al (2010)
	DPPH		Maduro	
	HPLC-DAD-MS-MS,	Polpa (pó)	Maduro	Fracassetti et al
	DDPH, ABTS, ORAC	Casca + semente (farinha)	Maduro	(2013)
	Folin-Ciocalteau	Polpa (suco concentrado)	Não especificado	Gonçalves (2012)
	DPPH, ORAC, FRAP	Polpa + casca (liofilizada)	Não especificado	Gonçaives (2012)
	DPPH	Óleo extraído da semente	Não especificado	Filho <i>et al</i> (2018)
Carotenóides	Cromatografia líquida (HPLC)	Fruto fresco	Em maturação	Aguiar et al (2018)
Proantocianinas	Colorimétrico (DMAC)			
£ · 1 . 1/ ·	Cromatografia líquida	Polpa (suco concentrado)	N7~ '.C" 1	Gonçalves (2012)
Ácido elágico	(HPLC)	Polpa + casca (liofilizada)	Não especificado	
Elagitaninos	UPLC-MS	-		
Proantocianinas	HPLC-Fluorescência	-		
Minerais	Condutimetria	Co-produtos processados	Não especificado	Sousa et al (2015)
	Absorção atômica	Fruto fresco	Em maturação	Aguiar et al (2018)
		Polpa (suco concentrado)	Não especificado	Gonçalves (2012)
	Absorção atômica e fotômetro de chama	Polpa + casca (liofilizada)	Não especificado	
		Polpa e casca	Maduro	Ribeiro et al (2016)
	ICP-OES	Óleo extraído da semente	Não especificado	Filho <i>et al</i> (2018)
Ácido graxo	RMN	Óleo extraído da semente	Não especificado	Filho <i>et al</i> (2018)
β - caroteno	Cromatografia líquida (HPLC)	Polpa e casca	Maduro	Ribeiro et al (2016)

Fonte: Elaborado pelos autores

Tendo em vista que o camu-camu é uma fruta originária da Amazônia, os estudos apresentados foram na grande maioria realizados com frutas adquiridas na região citada, incluindo a região Amazônica Peruana, sendo o estudo realizado por Gonçalves (2012) realizado com frutas adquiridas no estado de São Paulo. O estágio de maturação do fruto também é um dado importante o qual se pode correlacionar resultados dos compostos bioativos, assim validando a melhor época de colheita.

As técnicas mais utilizadas para a avaliação de compostos fenólicos estão exemplificadas no gráfico 1, onde se observa que a cromatografia líquida de alta eficiência é a técnica predominante para a avaliação de vitamina C.

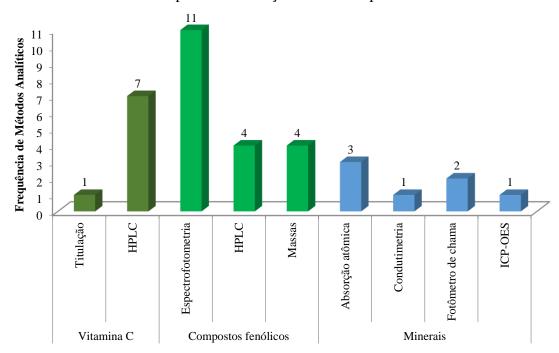


Gráfico 1 - Relação entre as classes de compostos mais estudados no fruto do camu-camu e frequência dos métodos analíticos utilizados para determinação desses compostos.

Fonte: Elaborado pelos autores

As técnicas espectrofotométricas são tradicionalmente utilizadas principalmente para a avaliação da capacidade antioxidante onde os métodos de Folin-Ciocalteau, DPPH, ORAC e FRAC são baseados na capacidade redutora dos reagentes contra os radicais livres. O método de Folin-Ciocalteau é utilizado para avaliação de compostos fenólicos totais através da capacidade redutora do reagente pelas hidroxilas fenólicas, produzindo um complexo de coloração azul que absorve no UV, porém não é um método específico, pois determina todos os compostos fenólicos e outras substâncias redutoras, como a vitamina C, podendo interferir nos resultados (ANGELO *et al*, 2007; GONÇALVES, 2012). O método do DPPH baseia-se na determinação da redução do radical estável DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazida) pelos antioxidantes presentes na amostra, enquanto o método de ORAC baseia-se na capacidade de absorção de radicais de oxigênio e o de FRAP pela capacidade antioxidante por redução de ferro (GONÇALVES, 2012).

Por meio de técnicas mais específicas que a espectrofotometria pode-se caracterizar os compostos constituintes do fruto. A espectroscopia de massas e a cromatografia líquida são os métodos mais recentemente utilizados para separação de compostos bioativos em alimentos, e elucidação das suas estruturas usando detectores de UV e espectrometria de massas (ANGELO *et al*, 2007; BATAGLION *et al*, 2015).

Devido à estrutura química dos compostos fenólicos, vários autores utilizando na cromatografia líquida e extração desses compostos solventes como a água, metanol ou acetonitrila, sendo que,

normalmente acidifica-se a fase móvel e o solvente de extração para estabilizar as antocianinas. Esta classe de compostos é facilmente observada no comprimento de onda 520 nm, e geralmente utiliza-se coluna cromatográfica com empacotamento C18 e com 25 cm de comprimento, melhorando a separação cromatográfica. Sendo a cianidina-3-glicosídeo e delfinidina-3-glicosídeo as antocianinas mais evidenciadas nos estudos, principalmente nas cascas dos frutos maduros (DAMETTO, 2014; FRACASSETTI *et al*, 2013; BATAGLION *et al*, 2015; GOUVÊA *et al*, 2010).

A espectrometria de massas é responsável por respostas analíticas mais detalhadas das estruturas químicas encontradas no fruto, e o detector analisa traços de compostos orgânicos, em misturas complexas, a qual, acoplada à cromatografia líquida, está consolidada como uma técnica analítica robusta, versátil e com boa sensibilidade (LANÇAS, 2009).

Alguns resultados são interessantes em relação ao estágio de maturação da fruta, pois por meio de diferentes técnicas analíticas os autores chegaram a conclusões semelhantes sobre os compostos bioativos presentes no camu-camu. Um estudo interessante realizado por Fracassetti *et al* (2013) onde foi avaliado dois pós da fruta no estágio maduro, sendo um obtido da polpa e o outro da semente e casca removidos da polpa, com objetivo de caracterizar os compostos fenólicos, quantificar a vitamina C e determinar a capacidade antioxidante e o potencial nutricional do fruto. As principais classes de compostos encontrados no referido estudo foram flavonoides, ácido elágico, elagitaninos e proantocianidinas, os quais foram facilmente detectados no pó. Tal fato corrobora com Chirinos *et al* (2010) que descreve o ácido elágico e flavan-3-ol como principais compostos fenólicos, e com Borges *et al* (2014) que indicam que a classe de compostos fenólicos mais importante é a flavan-3-ol, seguida pelo grupo dos ácidos elágico e gálico, além de flavonoides, flavanonas, antocianinas, catequinas, e rutina, sendo a cianidina-3-glucosídeo a antocianina encontrada em maior quantidade seguida da delfinidina-3-glucosídeo.

Os compostos também são suscetíveis à degradação pelo aumento da temperatura, conforme observado por Fracassetti *et al* (2013) onde as antocianinas cianidina-3-glucosídeo e delfinidina-3-glucosídeo não foram observadas após a secagem para a obtenção dos pós.

O processo de amadurecimento é uma variável crítica para as propriedades bioativas, onde o estudo comparativo entre os estágios verde, de semi maturação e maduro demonstraram altos teores de compostos fenólicos no estágio verde e semi maturação e queda no valor no fruto maduro (CHIRINOS *et al*, 2010; AGUIAR *et al*, 2018).

A polpa é a parte da fruta mais considerada nos estudos, onde apresenta a maior concentração de ácidos orgânicos e maiores quantidades de compostos fenólicos. Na casca, quanto mais maduro o fruto maior a incidência de antocianinas visto que conferem o pigmento ao fruto, sendo que as mesmas não foram observadas nas sementes (GRIGIO *et al*, 2017; GONÇALVES, 2012).

Segundo Correa *et al* (2011) as quantidades de vitamina C na casca e polpa são maiores na casca do que as obtidas na polpa em frutos maduros e sobremaduros, Chirinos *et al* (2010) e Langley *et al* (2015) concluíram que o conteúdo de vitamina C diminui com o aumento da maturação, enquanto que flavonoides e capacidade antioxidante aumentam com o amadurecimento. Estas variações podem ser atribuídas à região do cultivo e estágios de maturação, que podem influenciar na composição da fruta do camu-camu (RIBEIRO *et al*, 2016). Estudos sugerem também que diferentes condições de cultivo modelam os níveis de compostos bioativos, assim como a região também pode influenciar nas propriedades do fruto (AGUIAR *et al*, 2018; RIBEIRO *et al*, 2016). Aguiar *et al* (2018) citam que a quantidade de vitamina C foi mais expressiva em locais secos de cultivo de camucamu, assim como as quantidades de potássio, cálcio e enxofre, quando comparados a análise da fruta cultivada em ambientes alagados, provavelmente pelo controle do solo.

Em estudos realizados com a semente do camu-camu foi observado tanto a presença de potássio, fósforo, sódio e silício, além de atividade antioxidante (Filho *et al*, 2018) e a ausência de antocianinas (GRIGIO *et al*, 2017).

Frutas e alimentos funcionais com propriedades antioxidantes estão em evidência nos mercados brasileiro e americano, e conhecer o potencial bioativo de frutas brasileiras e seus compostos, como o camu-camu é interessante e pode auxiliar para que estudos mais aprofundados sejam realizados visando o conhecimento e desenvolvimento de produtos derivados do camu-camu, agregando valor aos mesmos (LANGLEY *et al* 2015; FILHO *et al*, 2018).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível verificar quais são as análises mais utilizadas em pesquisas envolvendo cada classe de compostos bioativos do camu-camu. A caracterização completa dos compostos deste fruto pode ser feita por meio do uso da espectrometria de massas, sendo um campo promissor para futuras pesquisas, visto que este método traz respostas analíticas mais confiáveis para a avaliação dos inúmeros compostos existentes no fruto. Observou-se também com este estudo que as pesquisas dos minerais no fruto utilizaram técnicas simples de determinação, porém não foi tomada como foco na maioria dos trabalhos avaliados, uma vez que a maioria citava a existência de diversos minerais no fruto e poucos estudos davam enfoque a esta pesquisa, sendo que a análise por técnicas mais sensíveis como a espectrometria de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado (ICP) foram pouco relatadas. Existem vários estudos relevantes sobre a capacidade bioativa do fruto in natura e maturado, por meio da identificação e caracterização dos compostos pelas técnicas citadas, porém há poucos estudos envolvendo produtos processados ou suplementos alimentares derivados do camu-

camu, sendo este desenvolvimento um possível foco para estudos futuros, principalmente devido ao marco regulatório para suplementos alimentares.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, J. P. L.; SOUZA, F. C. A. Antioxidant capacidant and bioactive compounds and health benefits of camu-camu puree (*Myrciaria dubia* (*H.B.K*) *Mc Vaugh*). **International Journal of Development Research**, v. 08, n. 06, p. 20472-20475, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/326062156> Acesso em: 10 jan.2020.
- ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 785–788, 2009. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030881460801457X Acesso em: 15 jan.2020.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos Fenólicos em alimentos Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007. Disponível em: http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552007000100001&lng=pt Acesso em: 20 dez.2019.
- ANHÊ, F. F.; NACHBAR, R. T.; VARIN, T. V.; TROTTIER, J. *et al* Treatment with camu-camu (*Myrciaria dubia*) prevents obesity by altering the gut microbiota and increasing energy expenditure in diet-induced obese mice. **Microbiome**, v. 68, p. 453-464, 2019. Dispnível em: < https://gut.bmj.com/content/68/3/453> Acesso em: 20 jan. 2020.
- BATAGLION, G.A.; DA SILVA, F.M.; EBERLIN, M.N.; KOOLEN, H.H. Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC-MS/MS. **Food Chemistry**, v.180, p.280-287, 2015. Disponível em:https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615002393> Acesso em: 21 fev. 2020.
- BAZOTI, F.N.; GIKAS, E.; SKALTSOUNIS, A.L.; TSARBOPOULOS, A. Development of a liquid chromatography—electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC–ESI MS/MS) method for the quantification of bioactive substances present in olive oil mill wastewaters. **Analytica Chimica Acta**, v.573–574, p.258–266, 2006. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003267006006519> Acesso em: 30 mar.2020.
- BIESAGA, M.; PYRZYNSKA, K. Liquid chromatography/tandem mass spectrometry studies of the phenolic compounds in honey. **Journal of Chromatography A**, v.1216, n. 38, p. 6020–6026, 2009. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19691961/> Acesso em: 20 mar.2020.
- BORGES, L. L.; CONCEIÇÃO, E. C.; SILVEIRA, D. Active compounds and medicinal properties of *Myrciaria genus*. **Food Chemistry**, v. 153, p. 224-233, 2014. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24491724/> Acesso em: 02 abr.2020.
- BRASIL, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. RDC nº 243. Dispõe sobre os requisitos sanitários dos suplementos alimentares. Diário Oficial da União, Brasília, jul. 2018.

- CARVALHO, J. C. T; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: ______. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVISCK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 4. ed. Florianópolis: Ed. UFSC, Cap. 23, p. 520-535, 2002.
- CHIRINOS, R.; GALARZA, J.; BETALLELUZ-PALLARDEL, I.; PEDRESCH, R.; CAMPOS, D. Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K.McVaugh) fruit at different maturity stage. **Food Chemistry**, v.120, p.1019–1024, 2010. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881460901351X Acesso em: 25 jun.2020.
- CORREA, S. I., ZAMUDIO, L. B., SOLÍS, V. S., CRUZ, C. O. Contenido de vitamina C em frutos de camu camu *Myrciaria dubia* (H. B. K) Mc Vaugh, em cuatro estados de maturación, procedentes de la Colección de Germoplasma dek INIA Loreto, Perú. **Scientia Agropecuaria**. v. 2, p. 123-130, 2011. Disponível em: https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/68> Acesso em: 05 jun. 2020.
- DAMETTO, A. C. **Estudo químico e avaliação da atividade biológica de** *Eugenia brasilienses* **e** *Eugenia involucata* (**Myrtaceae**) 2014. 169 f. Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Paulista, Instituto de Química, Araraquara, São Paulo, 2014. Disponível: < https://repositorio.unesp.br/handle/11449/110857> Acesso em: 30 jan.2020.
- FILHO, D.; FIHO, A.A. M.; NETO, M.; SANTOS, R.C; CHAGAS, E.A.; CHAGAS, P. C; MONTEIRO, I.F.; SOUZA, R.C.P. Chemical composition, minerals, physicochemical properties and antioxidante activity in Camu camu seed oil. **Chemical Engineering Transactions**. v.64, p.325-330, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/325402394_Chemical_Composition_Minerals_Physicochemical_Properties_and_Antioxidant_Activity_in_Camu_Camu_Seed_Oil Acesso em: 27 jun. 2020.
- FRACASSETTI, D.; COSTA, C.; MOULAY, L.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A. Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, v.139, p.578–588, 2013. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23561148> Acesso em: 20 jun. 2019.
- FRANCESCATO, L. N.; DEBENEDETTI, S. L.; SCHWANZ, T. G.; BASSANI, V. L.; HENRIQUES, A. T. Identification of phenolic compounds in Equisetum giganteum by LC– ESI-MS/MS and a new approach to total flavonoid quantification. **Talanta**, v.105, n. 15, p.192–203, 2013. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23598008/> Acesso em: 20 abr.2020.
- GALLART-AYALA, H., MOYANO, E., & GALCERAN, M. T. Liquid chromatography/tandem mass spectrometry (highly selective selected reaction monitoring) for the analysis of isopropylthioxanthone in packaged food. **Journal of Chromatography A**, v. 1208, n. 1–2, p. 182–188, 2008. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18801489/> Acesso em: 10 jul.2020.
- GONÇALVES, A. E. S. S. Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonóides e vitamina C. 2008. 88 f. (Mestre) Programa

- de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: < https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-28012009-161811/pt-br.php Acesso em: 15 mar.2020.
- GONÇALVES, A. L. S. S. Compostos bioativos do camu-camu (*Myrciaria dubia Mc Vaugh*): Caracterização e atividade biológica. 2012. 101 f. (Doutor) Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: < https://teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-08032013-165045/pt-br.php Acesso em: 15 mar.2020.
- GOUVÊA, A. C. M. S. **Quantificação das antocianinas majoritárias do Açaí por cromatografia líquida de alta eficiência**. 2010. 63 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal Rurao do Rio de Janeiro, Instituto de Tecnologia, Seropédica, Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: https://tede.ufrrj.br/jspui/handle/tede/369 Acesso em: 20 abr.2020.
- GRIGIO, M. L.; CHAGAS, E. A.; RATHINASABAPATHI, B.; CHAGAS, P. C. *et al* Qualitative evaluation and biocompounds present in different parts of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit. **African Journal of Food Science**, v. 11, n. 5, p. 124-129, 2017. Disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/317266588 Qualitative evaluation and biocompounds present in different parts of camu-camu Myrciaria dubia fruit Acesso em: 10jun.2020.
- GRUZ, J.; NOVÁK,O.; STRNAD, M. Rapid analysis of phenolic acids in beverages by UPLC–MS/MS. **Food Chemistry**, v.111, n. 3, p.789–794, 2008. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814608005670> Acesso em: 20 abr.2020.
- LANÇAS, F. M., **Cromatografia líquida moderna: HPLC/CLAE**. Campinas, SP: Editora Átomo, 2009, Cap. 4, pg 121 125.
- LANGLEY, P. C.; JR PERGOIZZI, J. V.; JR TAYLOR, R.; RIDGWAY, C. Antioxidant and associated capacities of Camu camu (*myrciaria dubia*): A systematic review. **The Journal of alternative and complementary medicine**, v.21, n.1, p.8-14, 2015. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25275221/ Acesso em: 20 abr.2020.
- LIM, Y. Y.; LIM, T. T.; TEE, J. J. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. **Food Chemistry**, v.103, n. 3, p.1003–1008, 2007. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814606007825> Acesso em: 20 jul.2020.
- NAGY, K. I.; REDEUIL, K.; BERTHOLET, R.; STEILING, H.; KUSSMANN, M. Quantification of anthocyanins and flavonols in milk-based food products by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v.81, n. 15, p.6347–63, 2009. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20337399/> Acesso em: 10 ago.2020.
- NERI-NUMA, I. A.; SANCHO, R. A. S.; PEREIRA, A. P. A.; PASTORE, G.M. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and comercial interest. **Food Research International**. v.103. p.345-360, 2018. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996917307330 Acesso em: 10 abr.2020.

- NEVES, L. C.; BENEDETTE, R.; TOSIN, J.M.; CHAGAS, E.A.; SILVA, V.X.; PRIL, M. A.S.; ROBERTO, S.R. Produção de Blends a partir de frutos tropicais e nativos da Amazônia. **Rev. Bras. Frutic.** v.33, n.1, p.187-197, 2011. Disponível em: < https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-29452011005000023&script=sci_abstract&tlng=pt> Acesso em: 30 mar.2020.
- NEVES, L. C., SILVA, V. X., PONTIS, J. A., FLACH, A., ROBERTO, S. R. Bioactive compounds and antioxidante activity in pre-harvest camu-camu [*Myrciaria dubia* H.B.K) Mc Vaugh] fruits. **Scientia Horticulturae**. v.186, p. 223-229, 2015. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423815001041 Acesso em: 01 out.2020.
- RIBEIRO, P. F. A.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, E. B.; MENDONÇA, A. C.; SANT'ANA, H. M. P. Teor de vitamina C, β-caroteno e minerais em camu-camu cultivado em diferentes ambientes. **Ciência Rural**, v. 46, n. 3, p. 567-572, 2016. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782016000300567 Acesso em:10 jun.2020.
- RODRIGUES, L. M., ROMANINI, E. B., SILVA, E., PILAU, E. J., COSTA, S. C., MADRONA, G. S. Camu-camu bioactive compounds extraction by ecofriendly sequential processes (ultassound assisted extaction and reverse osmosis). **Journal Pre-proofs**. 2020. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32097870/> Acesso em: 10 set.2020.
- ROSA, J. S.; GODOY, R. L. O.; OIANO NETO, J.; CAMPOS, R. S. *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**, v. 27, n. 4, p. 837-846, 2007. Disponível em: < https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612007000400025&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 10 jun.2020.
- SALOMÃO-OLIVEIRA, A.; COSTA, S. S. C.; SANTOS, K. S. C. R.; SOUZA, T. P.; MARINHO, H. A. Ascorbic acid from lyophilized camu-camu fruit: stability and quality control of hard capsules. **Revista de Ciências farmacêuticas Básicas e Aplicada**. v.37, n.1, 2016. Disponível em: < https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/11> Acesso em:20 fev.2020.
- SILVA, L. M.; HILL, L. E.; FIGUEIREDO, E.; GOMES, C. L. Delivery of phytochemicals of tropical fruit by-products using poly (DL-lactide-coglycolide) (PLGA) nanoparticles: Synthesis, characterization, and antimicrobial activity. **Food Chemistry**, v. 165, n. 15, p. 362–370, 2014. Disponível em:< https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25038688/> Acesso em: 20 mar.2020.
- VIDIGAL, M. C. T. R.; MINIM, V. P. R.; CARVALHO, N. B.; MILAGRES, M. P.; GONCALVES, A. C. A. Effect of a health claim on consumer acceptance of exotic Brazillian fruit juice: Açaí (*Euterpe oleracea Mart.*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), Cajá (*Spondias lutea L.*) and Umbu (*Spondias tuberosa Arruda*) Food Research International, 44, n. 7, p. 1988-1996, 2011. Disponível em:< https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996910004618> Acesso em: 10 abr.2020.
- YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. L.; YUYAMA, K.; LOPES, T. M.; FÁVARO, D. I. T.; BERGL, P. C. P.; VASCONCELLOS, M. B. A. Teores de elementos minerais em algumas populações de camu-camu. **Acta Amazônica**, v.33, n.4, p.549-554, 2003. Disponível em: < https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0044-59672003000400002&script=sci_abstract&tlng=pt Acesso em: 15 abr.2020.

ZANATTA, C. F.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1526-1532, 2007. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606003207> Acesso em: 27 jun. 2020.

ZUANASSI, J. A. S. Flavonoides. In: ______. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVISCK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 4. ed. Florianópolis: Ed. UFSC, Cap. 23, p. 499-426, 2002.