

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**

**MARX OSÓRIO ARAÚJO PEREIRA**

**AVALIAÇÃO DA EVOLUÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DURANTE O  
AMADURECIMENTO DE FRUTOS DE TRÊS VARIEDADES DE *Eugenia uniflora***

**GOIÂNIA - GO**

**2021**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
FACULDADE DE FARMÁCIA

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE GRADUAÇÃO NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio do Repositório Institucional (RI/UFG), regulamentado pela Resolução CEPEC no 1240/2014, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei no 9.610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo dos Trabalhos de Conclusão dos Cursos de Graduação disponibilizado no RI/UFG é de responsabilidade exclusiva dos autores. Ao encaminhar(em) o produto final, o(s) autor(a)(es)(as) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

### 1. Identificação do Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação (TCCG)

Nome(s) completo(s) do(a)(s) autor(a)(es)(as): Marx Osório Araújo Pereira

Título do trabalho: Avaliação da evolução de compostos fenólicos durante o amadurecimento de frutos de três variedades de Eugenia uniflora

### 2. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador) Concorda com a liberação total do documento [ X ] SIM [ ] NÃO<sup>1</sup>

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante: a) consulta ao(a)(s) autor(a)(es)(as) e ao(a) orientador(a); b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo do TCCG. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

#### Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro.

**Obs.: Este termo deve ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.**



Documento assinado eletronicamente por **Suzana Da Costa Santos, Professora do Magistério Superior**, em 22/11/2021, às 10:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **MARX OSÓRIO ARAÚJO PEREIRA, Discente**, em 22/11/2021, às 10:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

[https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2508067** e o código CRC **9E2C4C65**.

---

Referência: Processo nº 23070.051695/2021-01

SEI nº 2508067

MARX OSÓRIO ARAÚJO PEREIRA

**AVALIAÇÃO DA EVOLUÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DURANTE O  
AMADURECIMENTO DE FRUTOS DE TRÊS VARIEDADES DE *Eugenia uniflora***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Suzana da Costa Santos

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri

GOIÂNIA/GO

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do  
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Pereira, Marx Osório Araújo

Avaliação da evolução de compostos fenólicos durante o  
amadurecimento de frutos de três variedades de *Eugenia uniflora*  
[manuscrito] / Marx Osório Araújo Pereira. - 2021.

XXXIX, 39 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Suzana da Costa Santos; co-orientador Dr.  
Pedro Henrique Ferri.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade  
Federal de Goiás, Faculdade Farmácia (FF), Farmácia, Goiânia,  
2021.

Bibliografia. Anexos.

Inclui fotografias, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. pitanga. 2. elagitaninos. 3. flavonoides. 4. carotenoides. 5.  
cianidina-3-glicosídeo. I. Santos, Suzana da Costa, orient. II. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
FACULDADE DE FARMÁCIA

### ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Ao(s) vinte e oito dia(s) do mês de outubro do ano de dois mil e vinte e um, às dez horas, iniciou-se a sessão pública de defesa do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado "Avaliação da evolução de compostos fenólicos durante o amadurecimento de frutos de três variedades de Eugenia uniflora", de autoria de Marx Osório Araújo Pereira, do curso de Farmácia, do(a) Faculdade de Farmácia da UFG. Os trabalhos foram instalados pelo(a) Profa. Dra. Suzana da Costa Santos - orientador(a) IQ/UFG – com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Pedro Henrique Ferri (Professor Doutor/Instituto de Química-UFG) e José Realino de Paula (Professor Doutor/Faculdade de Farmácia-UFG). Após a apresentação, a banca examinadora realizou a arguição do(a) estudante. Posteriormente, de forma reservada, a Banca Examinadora atribuiu a nota final de (9,1) , tendo sido o TCC considerado (aprovado).

Proclamados os resultados, os trabalhos foram encerrados e, para constar, lavrou-se a presente ata que segue assinada pelos Membros da Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Suzana Da Costa Santos, Professora do Magistério Superior**, em 28/10/2021, às 11:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Pedro Henrique Ferri, Professor do Magistério Superior**, em 28/10/2021, às 11:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **José Realino De Paula, Professor do Magistério Superior**, em 28/10/2021, às 18:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2374987** e o código CRC **8B1B84BB**.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, o centro e origem de todas as coisas e que nos dá energia para viver, realizar e ser.

Aos meus pais, Daniel Pereira dos Santos e Edina Ferreira de Araújo, por todo o amor, por sempre terem sido a minha maior inspiração para os estudos, por sempre acreditarem no poder da educação e do conhecimento em transformar a vida das pessoas, além de sempre me apoiarem nessa jornada que ainda está começando, mas que já possui muita história.

À minha irmã, Vitória Régia Araújo Pereira, que foi a minha companheira de casa durante 4 anos, tendo acompanhado a minha trajetória durante a realização desse trabalho, nas apresentações do CONPEEX e que hoje também me inspira como pessoa e profissional.

À minha avó paterna Julícia Assis, que sempre esteve torcendo pelo meu sucesso e me ajudou no pior momento da minha história, estando muito orgulhosa de ver até onde eu cheguei. Também à minha tia/segunda mãe, Maria Pereira de Assis, a tia Bia, que muito mais do que uma tia, é uma grande amiga e com quem eu tenho o prazer de dividir os meus feitos e desfeitos, tendo tido um papel fundamental na minha jornada em terras goianas. Aos meus primos Márcio Flamarion e Nílvia Alves, que são como tios de consideração e me abraçaram e continuam me abraçando das mais diversas formas, sendo que também contribuíram para que eu esteja aqui hoje.

Aos meus orientadores, Professora Suzana e Professor Pedro, por todo o apoio e competência que se refletiu no resultado final desse trabalho, tendo sido uma honra imensa trabalhar com dois dos maiores nomes da pesquisa em produtos naturais no nosso país.

A todos os amigos, colegas e demais pessoas que de alguma forma contribuíram e tem contribuído para o meu crescimento como estudante, o qual esse trabalho é parte fundamental dessa história.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Três variedades da pitanga no estágio maduro (E4): pitanga vermelha (V), laranja (L) e roxa (R). 12
- Figura 2** - Cromatograma da solução padrão A: pico 1. gemin D (a), 2. gemin D (b), 3. eugeniflorina D<sub>2</sub>, 4. oenoteína B, 5. 1,2,6-tri-O-galoil-glicose. 17
- Figura 3** - Cromatograma da solução padrão B: pico 1. ácido gálico, 2. hippomanina A (a), 3. hippomanina A (b), 4. telimagrandina I (a), 5. telimagrandina I (b), 6. miricetina-3-O-ramnosídeo, 7. quercetina-3-O-glicosídeo. 17
- Figura 4** - Cromatograma da solução padrão C: cianidina-3-glicosídeo. 17
- Figura 5** - Cromatogramas dos extratos ( $\lambda$ : 218 nm): A. semente (L-E1), B. casca/polpa (R-E4). 17
- Figura 6** - Estruturas químicas dos compostos identificados nos frutos de *E. uniflora* 21
- Figura 7** - Relação biossintética entre os elagitaninos telimagrandina I, oenoteína B e eugeniflorina D<sub>2</sub> 23

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Gradientes de eluição CLAE	14
<b>Tabela 2</b> – Curvas de calibração dos padrões fenólicos	16
<b>Tabela 3</b> - Compostos fenólicos identificados nos extratos de partes dos frutos de <i>E. uniflora</i>	19
<b>Tabela 4</b> - Teores de metabólitos das sementes em três variedades de cor de fruto de <i>E. uniflora</i> ao longo dos estádios de amadurecimento.	22
<b>Tabela 5</b> - Teores de metabólitos das cascas/polpas em três variedades de cor de fruto de <i>E. uniflora</i> ao longo dos estádios de amadurecimento.	24

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	9
<b>2 REVISÃO COMPLEMENTAR</b>	11
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	12
Amostras de <i>Eugenia uniflora</i>	12
Extração dos compostos fenólicos das sementes para análise CLAE	13
Extração dos compostos fenólicos da casca e polpa para análise CLAE	13
Extração de cianidina-3-O-glicosídeo da casa e polpa	14
Análise dos compostos fenólicos por CLAE	14
Identificação dos compostos fenólicos dos extratos de sementes e da casca e polpa	15
Curvas de Calibração dos padrões de compostos fenólicos	15
Quantificação de carotenoides totais	18
Análise estatística	18
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	19
<b>5 CONCLUSÃO</b>	26
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	27
<b>ANEXO (NORMAS DA REVISTA ELETRÔNICA DE FARMÁCIA)</b>	30

# **AVALIAÇÃO DA EVOLUÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DURANTE O AMADURECIMENTO DE FRUTOS DE TRÊS VARIEDADES DE *Eugenia uniflora***

*EVALUATION OF THE EVOLUTION OF PHENOLIC COMPOUNDS DURING THE RIPENING OF FRUITS FROM THREE VARIETY OF *Eugenia uniflora**

*EVALUACIÓN DE LA EVOLUCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DURANTE LA MADURACIÓN DE FRUTOS DE TRES VARIEDADES DE *Eugenia uniflora**

PEREIRA, Marx Osório Araújo<sup>1\*</sup>. SANTOS, Suzana da Costa<sup>2</sup>. FERRI, Pedro Henrique<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Discente da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil. <sup>2</sup> Docente do Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.

\*omarx@discente.ufg.br

**Resumo.** A pitanga (*Eugenia uniflora* L., Myrtaceae) é muito apreciada no Brasil e para agregar valor econômico ela pode ser processada em geleias ou outras formas. Neste trabalho foi avaliada a variabilidade de metabólitos secundários durante a maturação de sementes e casca/polpa de frutos de três variedades de *E. uniflora*. Quantificações de taninos, flavonóides, antocianinas e carotenoides foram realizadas por CLAE e absorvância no UV-VIS. Os resultados obtidos foram comparados por ANOVA (Análise estatística multivariada). Os extratos de casca/polpa apresentaram maior complexidade de constituintes: carotenoides, antocianinas, flavonoides e taninos, enquanto nas sementes foram identificados apenas taninos, porém em teores de dez a cem vezes maiores. A variedade laranja apresentou os mais altos teores de compostos fenólicos em ambas as partes do fruto, com exceção do pigmento cianidina-3-O-glicosídeo mais alto na variedade roxa. Teores de flavonoides e taninos diminuíram em contraste ao aumento dos pigmentos durante a maturação das cascas/polpas nas três variedades, enquanto nas sementes o tanino majoritário, oenoteína B, aumentou até 1,32g/100g. Com isso o uso medicinal da pitanga depende da parte do fruto utilizado, da variedade e do grau de maturação.

**Palavras-chave:** pitanga, elagitaninos, flavonoides, carotenoides, cianidina-3-O-glicosídeo.

**Abstract.** Surinam cherry (*Eugenia uniflora* L., Myrtaceae) is a highly appreciated fruit in Brazil and can be processed into jams or other forms. In this study, the variability of secondary metabolites during the maturation of fruit seeds and skin/pulp of three varieties of *E. uniflora* was evaluated. Quantifications of tannins, flavonoids, anthocyanins and carotenoids were performed by HPLC and UV-VIS absorbance. The results obtained were compared by ANOVA (Multivariate Statistical Analysis). The peel/pulp extracts showed greater complexity of constituents: carotenoids, anthocyanins, flavonoids and tannins, while only tannins were identified in seeds, but in quantities of ten to one hundred times greater. The orange variety had the highest contents of phenolic compounds in both parts of the fruit, with the exception of the cyanidin-3-*O*-glycoside pigment which was higher in the purple variety. Flavonoid and tannin contents decreased in contrast to pigment increase during peel/pulp maturation in the three varieties, while in seeds the major tannin, oenotein B, increased up to 1.32g/100g. Thus, the medicinal use of pitanga depends on the part of the fruit used, the variety and the degree of ripeness.

**Keywords:** Surinam cherry, ellagitannins, flavonoids, carotenoids, cyanidin-3-*O*-glucoside.

**Resumen.** La cereza de Surinam (*Eugenia uniflora* L., Myrtaceae) es una fruta muy apreciada en Brasil y para su mejor aprovechamiento se puede procesar en mermeladas u otras formas. En este estudio, se evaluó la variabilidad de metabolitos secundarios durante la maduración de semillas y piel/pulpa de frutos de tres variedades de *E. uniflora*. Las cuantificaciones de taninos, flavonoides, antocianinas y carotenoides se realizaron mediante HPLC y absorbancia UV-VIS. Los resultados obtenidos se compararon mediante ANOVA (Análisis Estadístico Multivariante). Los extractos de piel/pulpa mostraron una mayor complejidad de componentes: carotenoides, antocianinas, flavonoides y taninos, mientras que solo se identificaron taninos en las semillas, pero en niveles de diez a cien veces más altos. La variedad naranja tuvo el mayor contenido de compuestos fenólicos en ambas partes de la fruta, con la excepción del pigmento cianidin-3-*O*-glucósido que fue mayor en la variedad violeta. Los contenidos de flavonoides y taninos disminuyeron en contraste con el aumento de pigmento durante la maduración de la piel/pulpa en las tres variedades, mientras que en las semillas el tanino principal, la oenoteína B, aumentó hasta 1,32 g/100 g. Así, el uso medicinal de la pitanga depende de la parte del fruto utilizada, la variedad y el grado de madurez.

**Palabras-clave:** cereza de Surinam, elagitaninos, flavonoides, carotenoides, cianidina-3-*O*-glucósido.

## 1 INTRODUÇÃO

A pitanga (*Eugenia uniflora* L., Myrtaceae) é um fruto nativo da mata atlântica e muito apreciado no Brasil, mas ele é bastante perecível, apresentando um período curto de aproveitamento após a sua colheita<sup>(1)</sup>. O processamento desse fruto em vinhos, sucos, licores, purês, geleias ou sorvetes é altamente recomendável para agregar valor econômico ao mesmo, além de aumentar o seu tempo de validade. Porém, durante esse processo, as sementes são descartadas, gerando assim uma grande quantidade de material vegetal não aproveitado<sup>(1)</sup>.

Durante seu amadurecimento, o epicarpo do fruto pode evoluir de verde para outras cores no estágio maduro (vermelho, roxo ou alaranjado). A ocorrência de biótipos de *E. uniflora* com frutos de diferentes cores pode ser um indicativo da existência de variedades para essa espécie. Além da diferença nas cores, também foi observada a ocorrência de grande variação na composição dos óleos voláteis das folhas e dos frutos entre árvores de biótipos diferentes<sup>(2,3)</sup>, o que sugere uma relação direta entre quimiotipos e biótipos.

Até então, havia sido realizada a quantificação nos extratos de frutos inteiros de três variedades de pitanga (vermelha, laranja e roxa) dos teores de fenóis totais, taninos, flavonoides e antocianinas por meio de métodos colorimétricos<sup>(3)</sup>. Além disso, cinco taninos hidrolisáveis também foram identificados e quantificados através do uso de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)<sup>(3)</sup>, utilizando-se a comparação dos espectros de UV e tempos de retenção com os compostos anteriormente isolados das folhas<sup>(4)</sup>.

No estudo anterior envolvendo a composição de compostos fenólicos de folhas de *E. uniflora*, foram isolados e identificados onze compostos de quatro tipos: galoil ésteres (2,3-di-*O*-galoil-glicose e 1,2,3,4,6-penta-*O*-galoil-glicose), elagitaninos monoméricos (hippomanina A e gemin D), elagitaninos diméricos (oenoteina B, eugeniflorina D<sub>2</sub> e camptotina A) e

flavonóides glicosilados (canferol-3-*O*-ramnosídeo, quercetina-3-*O*-ramnosídeo, miricetina-3-*O*-ramnosídeo e miricetina-3-*O*-(2"-*O*-galoil)-ramnosídeo)<sup>(4)</sup>.

O elagitanino dimérico oenoteína B é o composto fenólico majoritário tanto nas folhas<sup>(4)</sup> como nos frutos inteiros das três variedades de pitanga<sup>(3)</sup>, o que demonstra um grande potencial funcional e medicinal desse fruto, pois esse composto é altamente ativo contra diversos tipos de tumores, além de ser antimutagênico<sup>(5)</sup>.

Além dos taninos hidrolisáveis identificados nos frutos de *E. uniflora*<sup>(3)</sup>, outros compostos fenólicos também tiveram suas estruturas integralmente ou parcialmente identificadas por cromatografia líquida e detecção por espectroscopia de massas, tais como: a antocianina cianidina-3-*O*-glicosídeo e os flavonoides quercetina-3-*O*-ramnosídeo, miricetina-3-*O*-ramnosídeo e quercetina-3-*O*-glicosídeo<sup>(6)</sup>.

Mais recentemente, a atividade antioxidante dos compostos isolados de folhas de *E. uniflora* foi avaliada pelos testes de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), que envolvem reações de oxidação e conseqüente geração de radicais livres, onde os resultados das análises estatísticas mostraram que os elagitaninos diméricos obtiveram os melhores valores para a capacidade de se ligar aos radicais livres, levando em consideração parâmetros como polarização, Log P e  $E_{\text{HOMO}}$ <sup>(7)</sup>.

O objetivo do presente trabalho foi expandir o conhecimento sobre a composição química dos frutos de *E. uniflora*, através da avaliação dos componentes presentes na parte comestível (casca e polpa) e não comestível (semente) da pitanga. O estudo das sementes é extremamente importante para a valorização desse material que geralmente é descartado. Como visto anteriormente na jabuticaba<sup>(8)</sup>, as sementes podem ser uma rica fonte de compostos antioxidantes, e por isso podem ser usadas como nutracêuticos na prevenção de doenças degenerativas.

## 2 REVISÃO COMPLEMENTAR

Nos últimos dois anos, que compreendem o período entre a conclusão do presente trabalho e a sua elaboração escrita, foram publicados novos trabalhos a respeito das aplicações dos frutos de *E. uniflora* na área medicinal, como a descoberta do potencial do extrato hidroalcoólico para a promoção de efeitos antidepressivos em camundongos submetidos a estresse crônico, através da diminuição da atividade da enzima acetilcolinesterase, em comparação com o fármaco antidepressivo fluoxetina<sup>(9)</sup>. Além disso, o extrato de *E. uniflora* foi capaz de modular a atividade das enzimas ectonucleotidase e colinesterase em ratos submetidos à síndrome metabólica, sendo que a principal classe de compostos fenólicos envolvida foram as antocianinas, possuindo um potencial para promover efeitos preventivos contra doenças relacionadas com essa síndrome, através da melhora dos níveis de lipídeos e glicose séricos<sup>(10)</sup>.

Além das aplicações envolvendo compostos fenólicos, algumas formulações de microemulsão foram capazes de melhorar a biodisponibilidade de carotenoides em um sistema gastrointestinal dinâmico, utilizando as polpas de pitanga e buriti (*Mauritia flexuosa* Mart., Arecaceae) através da técnica de encapsulamento direto com óleo e surfactante, mostrando que as aplicações do fruto podem envolver também algumas tecnologias farmacêuticas, demonstrando mais um potencial inexplorado com fins medicinais<sup>(11)</sup>.

Além disso, um trabalho mais recente mostrou que o extrato etanólico das sementes de *E. uniflora* foi capaz de inibir a atividade de algumas enzimas dissacaridases em diferentes concentrações, além de ter causado um efeito bacteriostático em algumas cepas patogênicas, o que indica um potencial ainda inexplorado dessa parte da planta como uma fonte de novos fármacos antimicrobianos<sup>(12)</sup>. Outro grupo de pesquisa conseguiu mostrar que a combinação do extrato da polpa de *E. uniflora*

com o antimicrobiano furanona C30 provocou um efeito sinérgico na inibição do crescimento da bactéria Gram-negativa *Serratia liquefaciens*, aumentando as possibilidades de pesquisa envolvendo os compostos dos frutos na farmacologia de antimicrobianos<sup>(13)</sup>.

Mais recentemente foi demonstrado que o extrato do purê comercial dos frutos de *E. uniflora* foi capaz de alcançar uma Concentração Inibitória Mínima de 6,25 mg/ml para bactérias Gram-positivas e de 25,00 mg/ml para *Escherichia coli*<sup>(14)</sup>, mostrando, portanto, que os diferentes modos de processamento da pitanga como um alimento ainda podem conservar as suas propriedades medicinais e funcionais.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### **Amostras de *Eugenia uniflora***

As amostras de pitanga foram coletadas de árvores de três variedades: vermelha (V), laranja (L) e roxa (R) (Figura 1) em quatro estádios de maturação no município de Santo Antônio de Goiás – GO. Pitangas vermelha e vermelha-laranja foram separadas quanto à coloração do fruto em: verde (E1), amarela (E2), laranja (E3) e vermelha (E4); e as pitangas roxas em: verde-amarela (E1), laranja (E2), vermelha (E3) e roxa (E4). Os frutos foram separados manualmente em sementes e casca/polpa. As partes separadas foram homogeneizadas com água em mixer portátil, liofilizadas, trituradas em gral e armazenadas em freezer até a realização das análises.

**Figura 1.** Três variedades da pitanga no estágio maduro (E4): pitanga vermelha (V), laranja (L) e roxa (R).



## **Extração dos compostos fenólicos das sementes para análise CLAE**

Pesou-se 50 mg de semente liofilizada em tubo de ensaio, adicionou-se 10 mL de solução de metanol aquoso (8:2) e deixou-se sob banho de ultrassom por 15 minutos a temperatura ambiente. Em seguida, centrifugou-se a 2000 g por 10 minutos e decantou-se o extrato para balão de fundo redondo. O procedimento foi repetido por mais uma vez, utilizando 10 mL de metanol 80%. O metanol foi evaporado em rotaevaporador à temperatura de 35°C. O extrato aquoso (~ 4 mL) foi centrifugado por 10 minutos, e aplicado em cartucho de extração por fase sólida (SPE C-18, 500 mg), previamente acondicionado com tampão fosfato 0,01 mol/L (pH 2,5). Eluiu-se o cartucho com duas porções de 2,0 mL de água Milli-Q. Ao final, o volume do extrato foi ajustado para 10,0 mL com água Milli-Q.

## **Extração dos compostos fenólicos da casca e polpa para análise CLAE**

Pesou-se 100 mg de casca e polpa liofilizada em tubo de ensaio, adicionou-se 10 mL de metanol puro e deixou-se sob banho de ultrassom por 15 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, centrifugou-se a 2000 g por 10 minutos e decantou-se o extrato para balão de fundo redondo. O procedimento foi repetido por mais uma vez, com o mesmo volume de solvente. O metanol foi evaporado em rotaevaporador em temperatura de 35°C até securo. O resíduo foi dissolvido com 4,0 mL de solução de acetonitrila:tampão fosfato 0,01 mol/L (4:6), centrifugado por 10 minutos e aplicado em cartucho de extração por fase sólida (SPE C-18, 500 mg), previamente acondicionado com tampão fosfato 0,01 mol/L (pH 2,5). Eluiu-se o cartucho com duas porções de 1,0 mL da solução de acetonitrila:tampão fosfato 0,01 mol/L (4:6). Ao final, o volume do extrato foi ajustado para 6,0 mL com tampão fosfato 0,01 mol/L.

### **Extração de cianidina-3-O-glicosídeo da casca e polpa**

Pesou-se 7,0 g de casca/polpa liofilizada em Erlenmeyer, adicionou-se 100 mL de solução de metanol acidificado com HCl (0,05%, v/v) e deixou-se sob banho de ultrassom por 30 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, decantou-se o extrato para balão de fundo redondo. O procedimento foi repetido por mais três vezes, utilizando-se 50 mL de solução metanol:HCl (0,05%, v/v). O metanol foi evaporado em rotaevaporador à temperatura de 35°C até *secura*. O resíduo foi dissolvido com 50 mL de solução aquosa de HCl (0,05%, v/v) e aplicado em coluna de cromatografia líquida à vácuo (VLC), 3,5 x 6,5 cm (altura x diâmetro) (56,6 g), empacotada com sílica-gel C-18, 200-400 mesh, Sigma-Aldrich, previamente acondicionada com solução aquosa de HCl (0,05%, v/v). Eluiu-se a coluna com 450 mL da solução de HCl (0,05%, v/v) e depois com 450 mL de metanol:H<sub>2</sub>O (2:8). A fração 20% MeOH foi evaporada em rotaevaporador em temperatura de 35°C, liofilizada e analisada por CLAE. Esta fração rendeu 97,2 mg de cianidina-3-O-glicosídeo, que foi utilizada para elaboração da curva de calibração desse composto.

### **Análise dos compostos fenólicos por CLAE**

As análises foram executadas em um aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) Shimadzu LC-10Avp com duas unidades de distribuição de solvente LC-10 ADvp (Shimadzu Corp., Japão), conectado a um detector ultravioleta de arranjo de fotodiodos SPD-M10Avp e operado pelo programa Class-VP, versão 5.02. Utilizou-se coluna LiChrospher 100 RP-18 (5 µm), diâmetro interno 250 mm x 4,0 mm (Merck Millipore, Billerica, MA, EUA).

A eluição da coluna foi realizada com acetonitrila (solvente A) e solução tampão fosfato 0,01 mol/L (pH 2,5) (solvente B). Os dois gradientes utilizados para as diferentes partes do fruto se encontram na tabela 1. O fluxo utilizado foi de 0,8 mL/min, volume de injeção de 20 µL,

detecção nos comprimentos de onda de 218, 355 e 520 nm e aquisição dos espectros de UV/VIS na faixa de 190 a 600 nm.

**Tabela 1.** Gradientes de eluição CLAE.

<b>Semente</b>		<b>Casca/polpa</b>	
Tempo (min)	Solvente A (%)*	Tempo (min)	Solvente A (%)*
0	5	0	5
15	15	15	15
20	18	20	18
25	25	25	25
27	30	27	30
30	35	30	35
32	35	32	35
35	5	35	40
40	5	40	5
		45	5

\*acetonitrila (solvente A) e solução tampão fosfato 0,01mol/L (pH 2,5) (solvente B)

### **Identificação dos compostos fenólicos dos extratos de sementes e da casca e polpa**

A identificação dos compostos fenólicos presentes nos extratos de semente e casca/polpa foi realizado pela comparação dos tempos de retenção (TR) e espectros de UV/VIS com os padrões isolados previamente de folhas de *E. uniflora* e *Eucalyptus microcorys* F. Muell, Myrcaceae<sup>(4,15)</sup>. Nos casos em que houve coincidência de TR e espectro de UV/VIS foi realizada a coinjeção com o respectivo padrão.

### **Curvas de Calibração dos padrões de compostos fenólicos**

Três soluções mãe foram preparadas com os seguintes padrões: solução mãe (A) - 1,2,6-tri-*O*-galoil-glicose, gemin D, oenoteína B e eugeniflorina D<sub>2</sub>; solução mãe (B) - ácido gálico, hippomanina A, telimagrandina I, miricetina-3-*O*-ramnosídeo e quercetina-3-*O*-glicosídeo; solução mãe (C) - cianidina-3-*O*-glicosídeo. As soluções foram preparadas com água Milli-Q (A e C) e metanol 80% (B). Cada solução mãe foi diluída

em série com água Milli-Q para obtenção de sete novas soluções padrão, que foram utilizadas para quantificação em CLAE. A área do pico de cada padrão foi integrada nos cromatogramas e plotada contra a concentração do respectivo padrão, construindo-se assim a curva de calibração. Taninos hidrolisáveis e ácido gálico foram analisados em 218 nm, flavonoides glicosilados em 355 nm e antocianina em 520 nm.

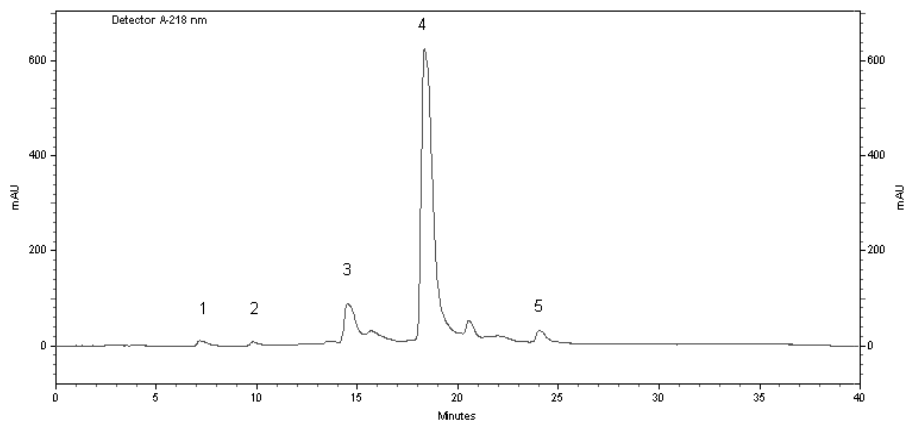
As concentrações utilizadas na curva de calibração de cada padrão, as equações da reta e seus valores de regressão linear são mostrados na tabela 2. Nas figuras 2, 3 e 4 encontram-se os cromatogramas obtidos com as três soluções de padrões.

**Tabela 2.** Curvas de calibração dos padrões fenólicos.

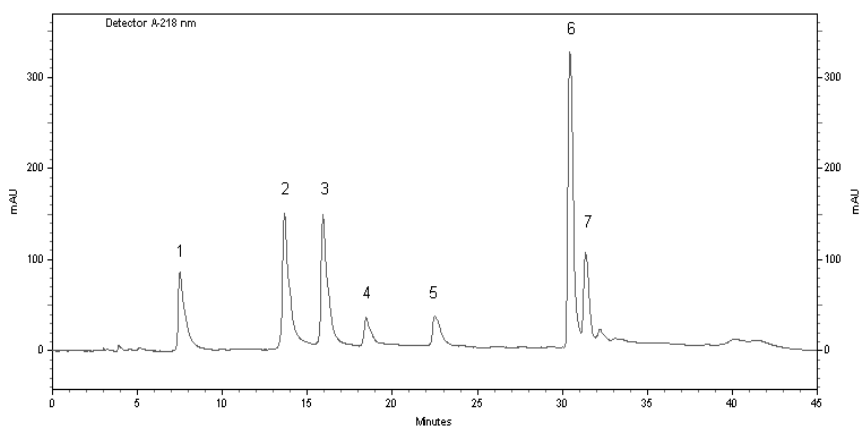
<b>Padrão</b>	<b>Concentração (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Equação da reta</b>
Ácido gálico	0,34; 0,84; 1,68; 3,36; 5,6; 8,0	$y = 123581x - 19158,2; r^2 = 0,999236$
1,2,6-Tri-O-galoil-glicose	0,34; 0,84; 1,68; 3,36; 5,6; 8,0; 10,0	$y = 138356x - 37146,1; r^2 = 0,998135$
Gemin D (a)	0,19; 0,47; 0,93; 1,86; 3,1; 4,43; 5,54	$y = 98503,1x - 4379,4; r^2 = 0,99977$
Gemin D (b)	0,75; 1,50; 2,5; 3,57; 4,46	$y = 98842,5x - 19846,1; r^2 = 0,99907$
Hippomanina A (a)	1,7; 4,24; 8,48; 17; 28,3; 40,4; 50,5	$y = 92205,7x - 95843; r^2 = 0,998875$
Hippomanina A (b)	1,66; 4,16; 8,32; 16,6; 27,7; 39,6; 49,5	$y = 76666,3x - 112564; r^2 = 0,996767$
Eugeniflorina D <sub>2</sub>	3,4; 8,4; 16,8; 33,6; 56; 80; 100	$y = 44598x - 66560,6; r^2 = 0,999805$
Oenoteína B	13,4; 33,6; 67,2; 134,4; 224; 320; 400	$y = 81252,7x - 382017; r^2 = 0,999494$
Telimagrandina I (b)	1,96; 3,92; 7,85; 13,1; 18,7; 23,4	$y = 50786,3x - 74225,3; r^2 = 0,99803$
Miricetina-3-O-ramnosídeo	3,8; 9,5; 19; 38; 63,3; 90,4; 113	$y = 53430,5x - 46692; r^2 = 0,999623$
Quercetina-3-O-glicosídeo	1,73; 4,32; 8,64; 17,3; 28,8; 41,1; 51,4	$y = 105817x - 6552,6; r^2 = 0,999346$
Cianidina-3-O-glicosídeo	0,5; 10,5; 21; 42; 70; 100; 140; 200	$y = 25341,5x - 49120,5; r^2 = 0,9995$

(a) e (b): Anômeros dos respectivos compostos.

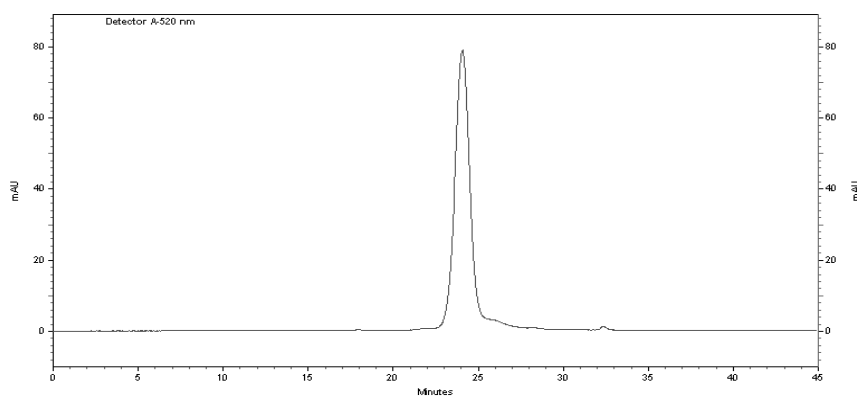
**Figura 2.** Solução padrão A: pico 1. gemin D (a), 2. gemin D (b), 3. eugeniflorina D<sub>2</sub>, 4. oenoteína B e 5. 1,2,6-tri-*O*-galoil-glicose.



**Figura 3.** Solução padrão B: pico 1. ácido gálico, 2. hippomanina A (a), 3. hippomanina A (b), 4. telimagrandina I (a), 5. telimagrandina I (b), 6. miricetina-3-*O*-ramnosídeo e 7. quercetina-3-*O*-glicosídeo.



**Figura 4.** Solução padrão C: cianidina-3-*O*-glicosídeo.



### **Quantificação de carotenoides totais<sup>(16)</sup>**

Pesou-se em tubo de ensaio 0,1 a 0,2g de casca/polpa liofilizada, sendo que a massa dependeu do grau de maturação do fruto e da variedade. Adicionou-se 10 mL de acetona, extraiu-se em banho de ultrassom por 15 minutos e filtrou-se o extrato para um Erlenmeyer. Repetiu-se o procedimento com mais 10 e 5 mL de acetona. O extrato (25 mL) foi transferido para funil de decantação e adicionou-se 10 mL de hexano. A fase orgânica foi lavada três vezes com 30 mL de solução saturada de água e NaCl a fim de retirar toda acetona e compostos solúveis em água. A fase orgânica foi centrifugada e transferida para balão volumétrico de 10,0 mL e o volume completado com hexano. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro Beckman DU70 a 450 nm, utilizando hexano para zerar o aparelho.

O conteúdo de carotenoides totais expressos em  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno/g de amostra foi determinado pela equação abaixo:

$$C = \frac{(ABS * 10 \text{ mL} * 10^6)}{(2500 * 100 * g \text{ amostra})}$$

Onde C: concentração da amostra (expresso em  $\beta$ -caroteno) e ABS: absorbância.

### **Análise estatística**

As comparações múltiplas de médias foram realizadas utilizando a análise de variância (ANOVA *two-way*), através do procedimento SAS GLM (Statistical Analysis System, versão 6.12, SAS Institute Inc., Cary, NC, 1996). As partes do fruto foram analisadas separadamente, sendo utilizados os seguintes fatores: cor do fruto (três níveis) e estágio de maturação (quatro níveis). Todas as variáveis foram avaliadas para a homoscedasticidade das variâncias pelo teste de Hartley. Quando necessário, os dados foram transformados e posteriormente, foi aplicado o teste de Tukey para a comparação entre as médias. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este estudo complementa o trabalho realizado anteriormente pelo nosso grupo, onde foram avaliados os frutos moídos inteiros de três variedades de *E. uniflora*. Assim, realizou-se uma comparação da composição dos compostos fenólicos entre a parte comestível (casca e polpa) e não comestível (semente) da pitanga.

Inicialmente, realizou-se a otimização dos procedimentos de extração e separação cromatográfica por CLAE dos compostos fenólicos de sementes e casca/polpa. Com a utilização dos gradientes otimizados, foi possível identificar doze compostos fenólicos que estão organizados na tabela 3 com seus respectivos tempos de retenção, máximos de absorção no UV e parte do fruto onde foram detectados. Na figura 5 encontram-se exemplos de cromatogramas da semente e casca/polpa, respectivamente, e na figura 6, as estruturas dos compostos fenólicos identificados.

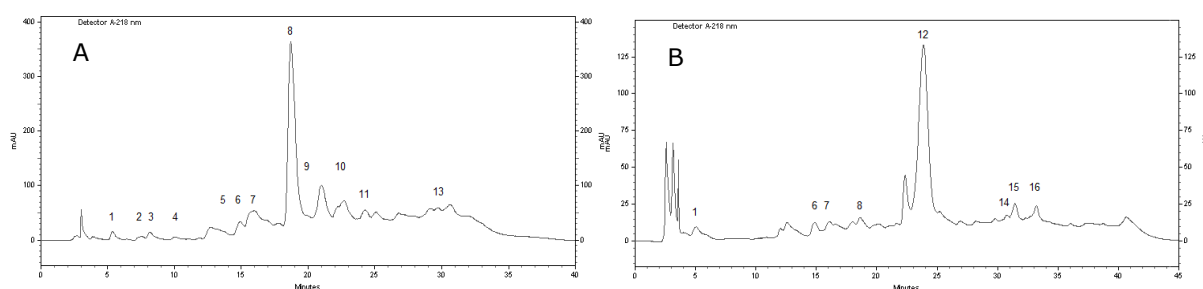
**Tabela 3:** Compostos fenólicos identificados nos extratos de partes dos frutos de *E. uniflora*

Composto fenólico	Pico(s) CLAE	Tempo (min)	UV max ( $\lambda$ /nm)	Parte do fruto*
Mono- <i>O</i> -galoil-glicose	1 e 3	5,5 e 8,3	215 e 272	S e CP
Gemin D	2 e 4	7,4 e 10,0	216 e 266	S
Hippomanina A	5 e 7	13,7 e 15,9	216 e 265	S e CP
Eugeniflorina D <sub>2</sub>	6	14,7	216 e 265	S e CP
Oenoteina B	8	18,4	216 e 265	S e CP
Telimagrandina I	9 e 10	18,5 e 22,5	216 e 268	S e CP
1,2,6-Tri- <i>O</i> -galoil-glicose	11	24,0	216 e 275	S e CP
Cianidina-3- <i>O</i> -glicosídeo	12	24,2	280 e 517	CP
Telimagrandina II	13	29,0	218 e 271	S
Miricetina-3- <i>O</i> -ramnosídeo	14	30,5	205, 261 e 352	CP
Quercetina-3- <i>O</i> -glicosídeo	15	31,4	209, 255 e 350	CP
Quercetina-3- <i>O</i> -ramnosídeo	16	33,1	207, 256 e 350	CP

\*S- semente, CP- casca/polpa

Após as análises por CLAE, observaram-se diferenças marcantes na composição química entre as partes do fruto, enquanto casca e polpa possuem três tipos de compostos fenólicos: antocianinas, flavonoides e taninos hidrolisáveis, nas sementes só foram identificados taninos. Esses últimos se dividiram em ésteres galoílicos (mono e tri-*O*-galoil-glicose), elagitaninos monoméricos (gemin D, hippomanina A, telimagrandina I, telimagrandina II) e diméricos (eugeniflorina D<sub>2</sub> e oenoteína B). Na casca e polpa identificaram-se os mesmos taninos, além do composto cianidina-3-*O*-glicosídeo, presente principalmente na variedade roxa, e os flavonoides miricetina-3-*O*-ramnosídeo, quercetina-3-*O*-glicosídeo e quercetina-3-*O*-ramnosídeo.

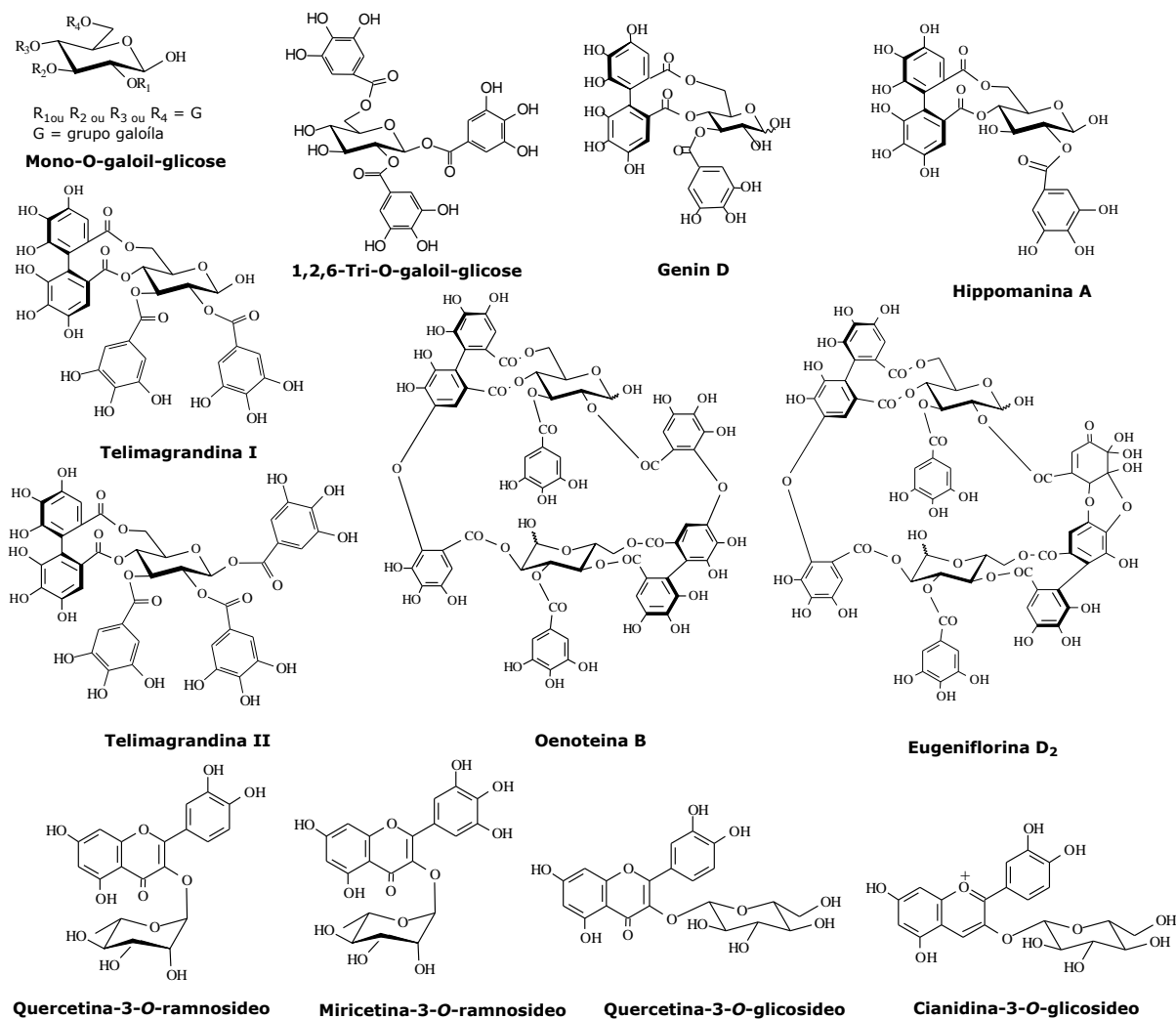
**Figura 5.** Cromatogramas dos extratos ( $\lambda$ : 218 nm): A. semente (L-E1), B. casca/polpa (R-E4).



Dos doze compostos identificados, apenas o tanino telimagrandina II não foi quantificado, devido à sua quantidade reduzida nos extratos. Para os outros compostos foram elaboradas curvas de calibração onde foram consideradas as proporções relativas dos anômeros  $\alpha$  e  $\beta$  para o cálculo das concentrações dos padrões de taninos: hippomanina A, gemin D e telimagrandina I (tabela 2). O éster galoílico, mono-*O*-galoil-glicose, foi quantificado utilizando-se a curva de calibração do ácido gálico, com posterior correção para a massa molecular do éster. Para quantificação do flavonoide quercetina-3-*O*-ramnosídeo foi utilizada a curva de calibração da quercetina-3-*O*-glicosídeo, com posterior correção da massa. Telimagrandina I e 1,2,6-tri-*O*-galoil-glicose não foram quantificados na

casca/polpa devido a sobreposição do pico da antocianina. Os carotenoides presentes nas cascas das três variedades de pitanga foram quantificados através da extração e medida da absorbância a 450 nm.

**Figura 6.** Estruturas químicas dos compostos identificados nos frutos de *E. uniflora*



Dentre os taninos hidrolisáveis que são comuns às duas partes do fruto, observou-se que a concentração desses compostos nas sementes das três variedades foi entre dez e cem vezes maior do que nas cascas/polpas (Tabela 4). A mesma tendência de acúmulo de taninos nas sementes já havia sido observada em outros estudos com diferentes variedades de pitanga<sup>(17)</sup>. É provável que os taninos funcionem como uma

defesa química das sementes contra patógenos e predadores, devido à sua adstringência característica<sup>(18)</sup>.

**Tabela 4.** Teores<sup>1</sup> de metabólitos das sementes em três variedades de cor de fruto de *E. uniflora* ao longo dos estádios de amadurecimento.

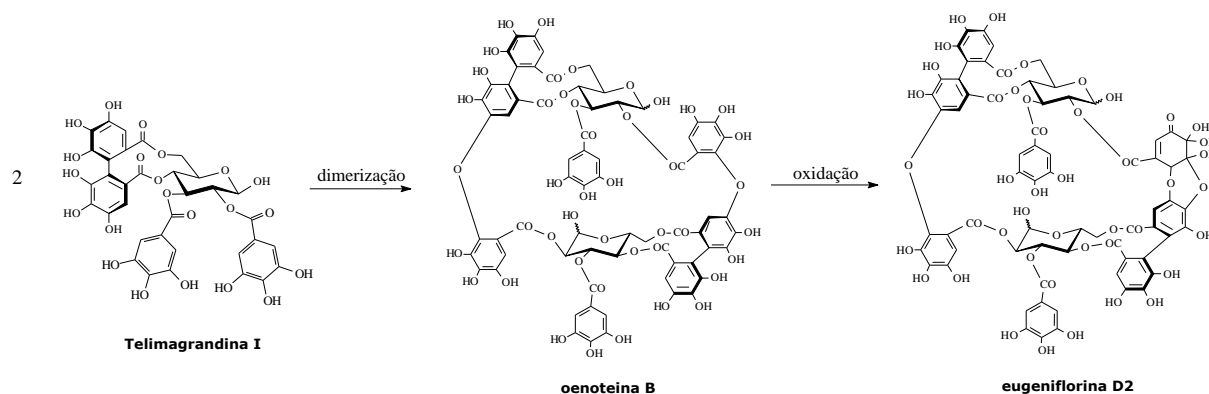
Constituinte	CV <sup>2</sup>	Variedade	Fase de Maturação				Média da Variedade
			E1	E2	E3	E4	
Mono-O-galoil-glicose <sup>3</sup>	6,3	Roxa	30,5 Ba	25,9 Ba	35,8 Ba	24,2 Ba	
		Vermelha	61,0 Aa	65,1 Aa	65,0 Aa	57,1 Aa	
		Laranja	71,9 Aa	60,4 Aa	47,3ABab	29,7 Bb	
Gemin D <sup>3</sup>	8,3	Roxa	9,2 Ba	7,7 Ba	7,0 Aa	8,9 Aa	
		Vermelha	8,4 Ba	8,2 Ba	6,1 Aa	5,4 Ba	
		Laranja	17,6 Aa	17,3 Aa	9,1 Ab	8,7 Ab	
Eugeniflorina D <sub>2</sub> <sup>3</sup>	4,1	Roxa	154,3	174,6	233,3	198,8	190,3 A
		Vermelha	166,1	153,7	192,7	218,0	182,6 A
		Laranja	135,1	134,5	184,5	172,0	156,5 A
		<b>Média da Maturação</b>	151,8 b	154,3 b	203,5 a	196,3 ab	
Hippomanina A <sup>3</sup>	7,7	Roxa	334,3	345,7	383,4	317,7	345,3 A
		Vermelha	761,2	442,6	665,5	531,0	600,1 A
		Laranja	676,9	525,8	486,5	224,6	478,5 A
		<b>Média da Maturação</b>	590,8 a	438,1 a	511,8 a	357,8 a	
Oenoteina B <sup>3</sup>	3,2	Roxa	444,0	479,2	794,2	571,2	572,2 C
		Vermelha	735,8	696,3	948,2	1010,7	847,8 B
		Laranja	1171,3	859,4	1317,3	1320,1	1167,0 A
		<b>Média da Maturação</b>	783,7 bc	678,3 c	1019,9 a	967,3 ab	
Telimagrandina I <sup>3</sup>	6,2	Roxa	111,0	130,1	218,8	186,0	161,5 B
		Vermelha	72,8	151,4	152,4	240,4	154,3 B
		Laranja	189,6	248,1	327,3	249,4	253,6 A
		<b>Média da Maturação</b>	124,5 b	176,5 ab	232,9 a	225,2 a	
1,2,6-Tri-O-galoil-glicose <sup>4</sup>	15,7	Roxa	11,3	10,9	15,6	14,6	13,1 A
		Vermelha	4,9	5,6	3,0	6,5	5,1 B
		Laranja	22,3	17,8	15,1	10,6	16,5 A
		<b>Média da Maturação</b>	12,9 a	11,4 a	11,2 a	10,6 a	

<sup>1</sup>Baseado nos dados originais (g/100 g de matéria fresca). <sup>2</sup>Coefficiente de variação (%). <sup>3</sup>Transformado pelo  $\log(x+1)$  ou  ${}^4(x+1)^{1/4}$ . Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Os elagitaninos monoméricos telimagrandina I e hippomanina A e os dímeros eugeniflorina D<sub>2</sub> e oenoteina B foram os principais compostos fenólicos das sementes, sendo o último o majoritário em todas as variedades e fases de maturação. Diferente do estudo realizado com os

frutos inteiros, nesta análise observaram-se diferenças significativas para as concentrações de oenoteína B entre as variedades e durante a maturação da semente. Os maiores teores foram encontrados na variedade laranja, seguido da vermelha e por último na roxa, além de um aumento significativo desse composto entre a fase E1 até E3. Interessante notar que o monômero telimagrandina I, que forma a oenoteína B por dimerização (Figura 7), também apresentou um aumento de concentração no início do amadurecimento e encontra-se em maior quantidade na variedade laranja (Tabela 4).

**Figura 7.** Relação biossintética entre os elagitaninos telimagrandina I, oenoteína B e eugeniflorina D<sub>2</sub>



Como pode ser visto na figura 7, existe uma relação entre telimagrandina I, oenoteína B e eugeniflorina D<sub>2</sub>, sendo esse último dímero um produto de oxidação da oenoteína B. Comparando-se semente com a casca e polpa verificou-se que nas sementes a quantidade de oenoteína B é cerca de cinco vezes maior que eugeniflorina D<sub>2</sub>, enquanto que na casca e polpa a relação se inverte, sendo a concentração de eugeniflorina D<sub>2</sub> um pouco maior que oenoteína B, além de ocorrer uma diminuição nos níveis dos dois dímeros durante a maturação da casca e polpa (Tabela 5). Essa diferença entre semente versus casca e polpa pode ser devida a diferenças hormonais de cada parte do fruto como também a uma maior influência do ambiente, como radiação solar, na parte mais

externa do fruto o que poderia aumentar a oxidação do dímero oenoteína B.

**Tabela 5.** Teores<sup>1</sup> de metabólitos das cascas/polpas em três variedades de cor de fruto de *E. uniflora* ao longo dos estádios de amadurecimento.

Constituinte	CV <sup>2</sup>	Variedade	Fase de Maturação				Média da Variedade
			E1	E2	E3	E4	
Mono-O-galoil-glicose <sup>3</sup>	9,1	Roxa	1,6 Ba	1,3 Ca	1,7 Ba	1,7 Aa	
		Vermelha	3,9 Aa	2,0 Bab	1,8 Bb	1,6 Ab	
		Laranja	4,1 Aa	3,6 Aa	3,6 Aa	2,3 Ab	
Gemin D <sup>5</sup>	4,7	Roxa	1,2	1,1	0,9	0,9	1,0 B
		Vermelha	0,7	0,5	0,5	0,6	0,6 C
		Laranja	1,6	1,5	1,5	1,2	1,5 A
		<b>Média da Maturação</b>	1,2 a	1,0 ab	1,0 ab	0,9 b	
Eugeniflorina D <sub>2</sub> <sup>4</sup>	8,7	Roxa	12,1	9,9	8,4	6,7	9,3 C
		Vermelha	27,8	17,2	21,2	16,7	20,7 B
		Laranja	39,3	32,8	27,1	26,4	31,4 A
		<b>Média da Maturação</b>	26,4 a	20,0 ab	18,9 ab	16,6 b	
Hippomanina A <sup>4</sup>	8,6	Roxa	16,7	15,6	13,0	9,0	13,6 B
		Vermelha	33,3	19,1	21,0	17,0	22,6 A
		Laranja	42,5	36,5	17,2	18,0	28,6 A
		<b>Média da Maturação</b>	30,8 a	23,7 ab	17,0 bc	14,6 c	
Oenoteína B <sup>5</sup>	6,9	Roxa	10,8	8,6	7,1	7,1	8,4 C
		Vermelha	19,2	11,9	14,3	13,2	14,6 B
		Laranja	23,7	17,9	18,2	16,3	19,1 A
		<b>Média da Maturação</b>	17,9 a	12,8 ab	13,2 ab	12,2 b	
Miricetina-3-O-ramnosídeo <sup>5</sup>	5,7	Roxa	1,6 Ca	1,2 Ba	1,3 Ba	1,3 Aa	
		Vermelha	6,1 Aa	1,4 Bc	2,4 Ab	1,6 Abc	
		Laranja	2,6 Ba	2,6 Aa	2,8 Aa	1,9 Aa	
Quercetina-3-O-glicosídeo <sup>5</sup>	3,7	Roxa	4,6 Bb	3,6 Cb	4,2 Cb	6,8 Aa	
		Vermelha	13,5 Aa	6,5 Bb	6,0 Bb	5,4 Ab	
		Laranja	12,2 Aa	9,5 Aab	8,4 Ab	6,0 Ac	
Quercetina-3-O-ramnosídeo <sup>4</sup>	5,3	Roxa	6,3 Ca	4,5 Cab	5,1 Cab	4,0 Cb	
		Vermelha	34,0 Aa	17,4 Ab	15,2 Ab	14,2 Ab	
		Laranja	16,7 Ba	11,8 Bb	10,1 Bb	6,8 Bc	
Cianidina-3-O-glicosídeo <sup>6</sup>	8,4	Roxa	3,9 Ac	22,8 Ab	53,5 Ab	247,7 Aa	
		Vermelha	2,3 Bc	2,9 Bb	6,9 Ba	11,5 Ba	
		Laranja	1,6 Cc	1,6 Cc	1,8 Cb	3,3 Ba	
Carotenóides totais <sup>6</sup>	12,9	Roxa	0,8 ABc	1,7 Ab	2,1 Bb	5,1 Ba	
		Vermelha	0,9 Ad	1,5 Ac	3,9 ABb	6,3 Aa	
		Laranja	0,5 Bd	1,5 Ac	4,3 Ab	6,4 Aa	

<sup>1</sup>Baseado nos dados originais (g/100 g de matéria fresca). <sup>2</sup>Coefficiente de variação (%). <sup>3</sup>Transformado pela  $\sqrt{x}$ , <sup>4</sup> $\log(x+1)$ , <sup>5</sup> $x^{1/4}$  ou <sup>6</sup>ordem dos mesmos (rank) na ANOVA. Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Na casca e polpa foram quantificados três flavonóides sendo quercetina-3-O-ramnosídeo o majoritário, apresentando as maiores

concentrações em todas as variedades, em comparação aos outros flavonóides, e predominando na variedade vermelha (Tabela 5). Já miricetina-3-O-ramnosídeo foi quantificada com os menores teores em todas as variedades, o que difere de um estudo anterior onde esse composto era o flavonóide majoritário<sup>(6)</sup>. Observou-se uma tendência geral de redução nos níveis de flavonoides durante a maturação da casca e polpa, o que coincide com esse mesmo estudo envolvendo as variedades roxa e vermelha de pitanga<sup>(6)</sup>.

Enquanto flavonóides e taninos reduziram de concentração ao longo da maturação de casca e polpa, os pigmentos cianidina-3-O-glicosídeo e carotenóides aumentaram seus níveis. Para a variedade roxa ocorreu um aumento drástico de cianidina-3-O-glicosídeo, cerca de 62 vezes da fase E1 para E4, o que explica a coloração intensa, quase negra, dos frutos dessa variedade. A coloração da variedade vermelha é mais forte que a laranja devido à contribuição da cianidina-3-O-glicosídeo e quercetina-3-O-ramnosídeo aos carotenóides, tornando essa variedade mais colorida no estágio E4.

Essa dinâmica de mudanças dos compostos secundários na parte comestível dos frutos (casca e polpa), como aumento de antocianinas e carotenoides e diminuição de taninos e flavonoides é similar a outros frutos como jabuticaba<sup>(19)</sup> e acerola<sup>(20)</sup>. Durante a maturação dos frutos, ocorre um aumento da pigmentação da casca e diminuição da adstringência da polpa, o que torna o fruto mais visível e palatável para o consumo de animais dispersores de sementes, porém as sementes precisam ser protegidas de predadores até sua germinação e por isso o nível de taninos ainda é alto nessa parte do fruto mesmo no estágio E4.

As diferenças marcantes entre as partes do fruto demonstram que as sementes, sobretudo da variedade laranja nos estádios E3 e E4, podem ser usadas na prevenção de doenças degenerativas pois são fontes de compostos antioxidantes e antimutagênicos<sup>(5,21)</sup>. Por outro lado, casca e polpa de todas as variedades no estágio E4 são fontes de carotenoides,

pró-vitamina A, e a variedade roxa pode ser usada para obtenção do pigmento cianidina-3-O-glicosídeo.

## **5 CONCLUSÃO**

A composição de compostos do metabolismo secundário difere significativamente entre a parte comestível (casca e polpa) e não comestível (semente) durante a maturação e nas três variedades de pitanga. Enquanto a casca e polpa possui uma maior complexidade, com quatro classes de compostos: carotenoides, antocianinas, flavonóides e taninos, nas sementes foram identificados apenas taninos, porém em quantidades de dez a cem vezes maiores que na casca e polpa. A variedade laranja apresentou os maiores teores de compostos fenólicos, exceto antocianinas, em ambas as partes do fruto. Houve uma tendência de diminuição nos teores de flavonóides e taninos em contraste ao aumento de carotenoides e cianidina-3-O-glicosídeo durante a maturação da casca e polpa nas três variedades. Com isso o uso da pitanga como alimento funcional depende principalmente da parte do fruto utilizado, casca e polpa ou sementes, da variedade e do grau de maturação do fruto, os quais influenciam tanto no tipo de composto majoritário, quanto nas aplicações também como fonte de potenciais fármacos para a pesquisa e indústria de medicamentos.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Franzon RC, Carpenedo S, Viñoly MD, Raseira MCB. Pitanga-*Eugenia uniflora* L. In: Rodrigues S, Silva EO, Brito ES, editors. Exotic Fruits: Reference Guide. London: Academic Press Elsevier; 2018. P. 333-338.
2. Costa DP, Filho EGA, Silva LMA, Santos SC, Passos XS, Silva MRR et al. Influence of Fruit Biotypes on the Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oils of *Eugenia uniflora* Leaves. J. Braz. Chem. Soc. 2010;21(5):851-858.
3. Ramalho RRF, Barbosa JMG, Ferri, PH, Santos SC. Variability of polyphenols and volatiles during fruit development of three pitanga (*Eugenia uniflora* L.) biotypes. Food Res. Int. 2019;119:850-858.
4. Fortes GAC, Carvalho AG, Ramalho RRF, Silva AJR, Ferri PH, Santos SC. Antioxidant activities of hydrolysable tannins and flavonoid glycosides isolated from *Eugenia uniflora* L.. Rec. Nat. Prod. 2015;9(2):251-256.
5. Silva CA, Silva CR, Veras JH, Chen-Chen L, Ferri PH, Santos SC. Genotoxicity and Cytotoxicity Evaluation of Oenothain B and its Protective Effect against Mitomycin C-Induced Mutagenic Action. Mutation Res. 2014;767:8-12.
6. Celli GB, Pereira-Netto AB, Beta T. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages. Food Res. Int. 2011;44(8):2442-2451.
7. Santos SC, Fortes GAC, Camargo LTFM, Camargo AJ, Ferri PH. Antioxidant effects of polyphenolic compounds and structure-activity relationship predicted by multivariate regression tree. LWT. 2021;137:110366.
8. Pereira LD, Barbosa JMG, Silva AJR, Ferri PH, Santos SC. Polyphenol and Ellagitannin Constituents of Jabuticaba and Chemical Variability at Different Stages of Fruit Development. J. Agric. Food Chem. 2017;65(6):1209-1219.

9. Flores NP, Bona NP, Luduvico KP, Cardoso JS, Soares MSP, Gamaro DG et al. *Eugenia uniflora* fruit extract exerts neuroprotective effect on chronic unpredictable stress-induced behavioral and neurochemical changes. *J. Food Biochem.* 2020;44(10):e13442.
10. Oliveira PS, Soares MSP, Bona NP, Silva PG, Mendonça LT, Vieira A et al. Brazilian native fruit extracts act as preventive agents modulating the purinergic and cholinergic signalling in blood cells and serum in a rat model of metabolic syndrome. *Arch. Physiol. Biochem.* 2020;26:1-8.
11. Berni P, Pinheiro AC, Bourbon AI, Guimarães M, Canniatti-Brazaca SG, Vicente AA. Characterization of the behavior of carotenoids from pitanga (*Eugenia uniflora*) and buriti (*Mauritia flexuosa*) during microemulsion production and in a dynamic gastrointestinal system. *J. Food Sci. Technol.* 2020;57(2):650-662.
12. Lazzarotto-Figueiró J, Capelezzo AP, Zchindler MSZ, Fossá JFC, Albeny-Simões D, Zanatta L et al. Antioxidant activity, antibacterial and inhibitory effect of intestinal disaccharidases of extracts obtained from *Eugenia uniflora* L. Seeds. *Braz. J. Biol.* 2021;81(2):291-300.
13. Rodrigues AC, Almeida FA, André C, Vanetti MCD, Pinto UM, Hassimotto NMA et al. Phenolic extract of *Eugenia uniflora* L. and furanone reduce biofilm formation by *Serratia liquefaciens* and increase its susceptibility to antimicrobials. *Biofouling.* 2020;36(9):1031-1048.
14. Stafussa AP, Maciel GM, Bortolini DG, Maroldi WV, Ribeiro VR, Fachi MM et al. Bioactivity and bioaccessibility of phenolic compounds from Brazilian fruit purees. *Future Foods.* 2021;4:100066.
15. Fortes GAC, Silva AJR, Ferri PH, Santos SC. Phenolic compounds from the leaves of *Eucalyptus microcorys* F. Muell. *Rec. Nat. Prod.* 2015;9:292-296.
16. Rodriguez-Amaya DB. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington D.C: International Life Sciences Institute Press; 2001.
17. Bagetti M, Facco EMP, Piccolo J, Hirsch GE, Rodrigues-Amaya D, Kobori CN et al. Physicochemical characterization and antioxidant capacity

of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.). Ciênc. Tecnol. Aliment. 2011;31(1):147–154.

18. Agrawal AA, Hastings AP, Johnson MTJ, Maron JL, Salminen JP. Insect Herbivores Drive Real-Time Ecological and Evolutionary Change in Plant Populations. Science. 2012;338(6103):113–116.

19. Resende LM, Oliveira LS, Franca AS. Characterization of jabuticaba (*Plinia cauliflora*) peel flours and prediction of compounds by FTIR analysis. LWT. 2020;133:110135.

20. Oliveira L.S, Moura CFH, Brito ES, Mamede RVS, Miranda MRA. Antioxidant Metabolism during fruit development of different acerola (*Malpighia emarginata* D.C) clones. J. Agric. Food Chem. 2012;60:7957–7964.

21. Carneiro CC, Moraes Filho AV, Fernandes AS, Santos SC, D.M. Silva DM, Chen Chen L. Cytotoxic and Chemopreventive Effects of Gemin D Against Different Mutagens Using In Vitro and In Vivo Assays. Anti-Cancer Agents Med. Chem. 2017;16:712-718.

# ANEXO

Normas da Revista Eletrônica de Farmácia <Acesso em 01/10/2021>.

Cadastro Acesso

## Revista Eletrônica de Farmácia

Atual Arquivos Sobre ▾ Q Buscar

---

Início / Submissões

### Submissões

O cadastro no sistema e posterior acesso, por meio de login e senha, são obrigatórios para a submissão de trabalhos, bem como para acompanhar o processo editorial em curso. [Acesso](#) em uma conta existente ou [Registrar](#) uma nova conta.

#### Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

✓ A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, justificar em "Comentários ao Editor".

**Idioma**

English

Português (Brasil)

**Español (España)**

[Enviar Submissão](#)

**Informações**

[Para Leitores](#)

[Para Autores](#)

[Para Bibliotecários](#)

---

✓ Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapasse os 2MB)	Open Journal Systems
✓ Todos os endereços de páginas na Internet (URLs), incluídas no texto (Ex.: <a href="http://www.ibict.br">http://www.ibict.br</a> ) estão ativos e prontos para clicar.	
✓ O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em <a href="#">Diretrizes para Autores</a> , na seção Sobre a Revista.	
✓ O trabalho apresentado possui resumo contendo no máximo 200 palavras e apresenta-se nas versões: Português, Inglês e espanhol. Com estrutura preconizada nas Diretrizes para Autores.	
✓ O manuscrito foi escrito com letra tipo Verdana, tamanho 12, com espaçamento 1,5 cm entre linhas em todo o texto; empregando itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL);	
✓ As tabelas, figuras e fotos encontram-se em documento separado do manuscrito e será inserido como documentos suplementares, em documento único, separados por "quebra de página".	
✓ A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis Assegurando a Avaliação por Pares Cega.	
✓ A lista de indicação de avaliadores (Mínimo 5) foi inserida na última página do manuscrito	

✓ Todas as informações prestadas pelo autor estão condizentes com o manuscrito que será anexado. No caso de detecção de informações inverídicas o artigo será recusado em primeira análise.

### Diretrizes para Autores

A Revista Eletrônica de Farmácia (REF), disponível no site <http://www.revistas.ufg.br/index.php/REF>, é um periódico especializado, direcionada à comunidade Científica Nacional e Internacional, de acesso aberto, gratuito e trimestral, destinado à divulgação da produção científica no campo das Ciências Farmacêuticas e áreas correlacionadas ao processo de saúde do indivíduo e da comunidade em geral.

São aceitos artigos originais e inéditos, destinados exclusivamente à REF, que contribuam para o crescimento e desenvolvimento da produção científica da área da Saúde, Ciências Farmacêuticas e Áreas afins.

A análise dos artigos será iniciada no ato de seu recebimento, quando da observância do atendimento das normas editoriais, originalidade e relevância científica. A publicação dependerá do atendimento do parecer encaminhado ao autor da análise do artigo, podendo este conter sugestões para alterações/complementações. Em caso de reformulação, cabe a Comissão de Editoração o acompanhamento das alterações. A apreciação do conteúdo dos manuscritos é feita pelos membros do Conselho Editorial e por conselheiros ad hoc, sendo mantido sigilo quanto à identidade dos mesmos e dos autores.

Os trabalhos deverão ser submetidos exclusivamente via SISTEMA ELETRÔNICO pelo endereço: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/REF/about/submissions#onlineSubmissions> Durante a Submissão o Autor deverá encaminhar:

- 1) Manuscrito.
- 2) Documento Suplementar 1: Ilustrações.

3) Documento Suplementar 2: Carta ao Editor, informando os objetivos dos autores, bem como a contribuição científica que o manuscrito trará se for publicado.

4) Documento Suplementar 3: Parecer Consubstanciado do CEP para as pesquisas que envolvem seres humanos. No corpo do trabalho explicitar o atendimento das regras da Resolução CNS 466/12, indicando número de aprovação emitido por Comitê de Ética, devidamente reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

5) Termo de responsabilidade de autoria e acordo de transferência do copyright, indicando a categoria do artigo, segundo as definições explicitadas nestas normas, responsabilizando os autores quanto a existência de plágio e autorizando a Revista Eletrônica de Farmácia sua publicação. Este documento deve estar assinado por todos os autores, detalhando a participação de cada um na autoria do manuscrito.

### Informações Gerais

As identificações dos autores e co-autores devem ser inseridas apenas no Sistema, onde é necessário informar o endereço institucional completo e endereço de correio eletrônico, de todos os autores e co-autores. Especial atenção deve ser dada para estas informações para contatos entre o Comitê Editorial e os autores, e editoração final do manuscrito.

Após considerações dos avaliadores, os autores deverão inserir a versão corrigida do artigo no sistema e encaminhar um email para o editor contendo comunicado das alterações realizadas no artigo. Não serão admitidos acréscimos ou alterações após o envio para composição editorial e fechamento do número. As opiniões e conceitos emitidos pelos autores são de exclusiva responsabilidade dos autores, não refletindo, necessariamente, a opinião da Comissão de Editoração e do Conselho Editorial da Revista.

## INSTRUÇÕES PARA O PREPARO E ENVIO DOS MANUSCRITOS

A REF atualizou em abril de 2010 as regras para publicação e organização das referências, tendo como base as normas adotadas pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (estilo Vancouver), publicadas no ICMJE - Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (<http://www.icmje.org/index.html>).

### CATEGORIA DOS ARTIGOS

A REF publica, preferencialmente, artigos originais, incluindo na sua linha editorial também estudos cienciométricos (artigos de revisão sistemática, Meta-análise), comunicações breves e relato de casos e relato de experiência. Artigos de revisões narrativas só serão aceitas quando as mesmas forem de autoria de editores da Revista Eletrônica de Farmácia ou de pesquisadores convidados pela Equipe Editorial. A apresentação dos manuscritos deve obedecer à regra de formatação definida nessas normas, diferenciando-se apenas pelo número permitido de páginas em cada uma das categorias.

Artigos Originais: são trabalhos resultantes de pesquisa original, de natureza quantitativa ou qualitativa. Sua estrutura deve apresentar necessariamente os itens: Introdução, Metodologias, Resultados e Discussão e Conclusão. A hipótese de pesquisa, bem como os objetivos devem ser facilmente identificados no final da Introdução. Apresentação máxima de 25 laudas.

- Artigos de Estudos Cienciométricos: são contribuições que têm por objeto a análise sistematizada da literatura. Deve incluir Introdução, delimitação do problema, procedimentos metodológicos, resultados e discussão (desenvolvimento) e conclusões/ Considerações Finais. Apresentação máxima de 25 laudas.
- Relatos de Experiência: se caracterizam pela descrição de tecnologias em saúde desenvolvidas de forma a contribuir para o desenvolvimento do Sistema de Saúde. Deve incluir Introdução, metodologia, resultados e discussão (desenvolvimento) e Considerações Finais. Apresentação em até 20 laudas.
- Relatos de caso: se caracterizam pelo relatos de caso de conteúdo inédito ou relevante, devendo estar amparada em

referencial teórico que dê subsídios a sua análise. Deve incluir Introdução, relato e discussão do caso, e conclusões. Apresentação em até 10 laudas.

- Comunicações breves: se caracterizam pela apresentação de notas prévias de pesquisa inédito ou relevante. Apresentação em até 5 laudas.

### FORMA DE APRESENTAÇÃO DOS MANUSCRITOS

Os trabalhos deverão ser apresentados em formato compatível ao Microsoft Word (.doc), digitados para papel tamanho A4, com letra tipo Verdana, tamanho 12, com espaçamento 1,5 cm entre linhas em todo o texto, margens 2,5 cm (superior, inferior, esquerda e direita), parágrafos alinhados em 1,0 cm.

- Título: Letra tipo Verdana, justificado, em caixa alta, tamanho 16, negrito, nas versões da língua portuguesa, inglesa e espanhola, na primeira página do trabalho. Os títulos em inglês e espanhol devem vir logo após ao título em português, estes devem estar no formato justificado, caixa alta, em itálico, tamanho 14, letra tipo Verdana. Não utilizar abreviações no título e resumo.
- Especificar em nota no fim do documento a indicação da agência de fomento, quando for o caso e, também, quando parte de Relatório de Pesquisa, Tese, Dissertação, entre outras. Deverá ser conciso, porém informativo, em até 15 palavras.
- Autores: a identificação deve ser feita somente pelo sistema de submissão online. Devem ser apresentadas as seguintes informações: nome(s) completo(s) do(s) autor(es), formação universitária, titulação, atuação profissional, local de trabalho ou estudo, e e-mail, de preferência institucional.
- Resumo e descritores: devem ser apresentados na primeira página do trabalho em português, inglês e espanhol, digitados em espaço simples, com até 200 palavras. A sequência de apresentação dos resumos deve seguir a seguinte ordem: resumo em português, inglês e espanhol, independente da língua utilizada para o desenvolvimento do manuscrito. Os resumos devem contemplar os seguintes itens: contextualização, problemáticas (Gap), objetivo, metodologia, resultados, conclusões. Ao final do resumo devem ser apontados de 3 a 5 descritores que servirão para

indexação dos trabalhos. Para tanto os autores devem utilizar os “Descritores em Ciências da Saúde” da Biblioteca Virtual em Saúde (<http://www.bireme.br/> ou <http://decs.bvs.br/>). Os descritores não poderão estar presentes no título.

- Estrutura do Texto: a estrutura do texto deverá obedecer às orientações de cada categoria de trabalho já descrita anteriormente, acrescida das referências bibliográficas, de modo a garantir uma uniformidade e padronização dos textos apresentados pela revista. Os anexos (quando houver) devem ser apresentados ao final do texto.

- Ilustrações: tabelas, figuras e fotos devem estar inseridas como documentos suplementares, em documento único, separados por “quebra de página”. As ilustrações devem apresentar informações mínimas (título e legenda) pertinentes àquela ilustração. Os títulos das ilustrações devem estar posicionados acima da ilustração e as legendas abaixo da mesma. As Ilustrações e seus títulos devem estar centralizados e sem recuo, tamanho 9, fonte Verdana. O tamanho máximo permitido é de uma folha A4. Cada ilustração deve estar em uma única página e as páginas separadas por “quebra de página”.

- Notas de rodapé: devem ser apresentadas quando forem absolutamente indispensáveis, indicadas por números e constar na mesma página a que se refere.

- Citações:

? Para citações “ipsis literis” de referências bibliográficas deve-se usar aspas na sequência do texto.

? As citações de falas/depoimentos dos sujeitos da pesquisa deverão ser apresentadas em itálico, em letra tamanho 10, na sequência do texto.

- Referências bibliográficas: as referências bibliográficas devem ser numeradas consecutivamente na ordem em que forem mencionadas pela primeira vez no texto. Devem ser identificadas no texto por números arábicos sobrescritos entre parênteses, sem espaços da última palavra para o parênteses, sem a menção aos autores, exceto quando estritamente necessária à construção da frase. Nesse caso além do nome deve aparecer o número da referência. Essa regra também se aplica para tabelas e legendas. Ao fazer a citação sequencial de autores, separe-as por um traço; quando intercalados utilize vírgula.

## EXEMPLOS DE REFERENCIAS

### Artigos em periódicos

Estrutura:

Autores. Título do artigo. Título do periódico. Ano de publicação;Volume(Número):Páginas.

Observações:

- Após o ano de publicação, não usar espaços.

- Usar os títulos abreviados oficiais dos periódicos. Para revistas nacionais que fazem parte da SciELO, essa informação pode ser obtida na página da própria revista, na sessão “sobre nós”. Para abreviatura de periódicos internacionais, consultar o “Index Medicus - abbreviations of journal titles” (<http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng>).

- Ao listar artigos com mais de seis (06) autores, usar a expressão et al após o sexto autor.

### Artigo Padrão

Vu RL, Helmeste D, AL, Reist C. Rapid determination of venlafaxine and Odesmethylvenlafaxine in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. J. Chromatogr. B. 1997;703(1-2):195-201.

### Volume com suplemento

Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. Headache. 2002;42 Suppl 2:S93-9.

### Número com suplemento

Glauser TA. Integrating clinical trial data into clinical practice. Neurology. 2002;58(12 Suppl 7):S6-12.

### Número sem volume

**Número sem volume**

Banit DM, Kaufer H, Hartford JM. Intraoperative frozen section analysis in revision total joint arthroplasty. *Clin Orthop*. 2002;(401):230-8.

**Sem volume ou número**

Outreach: bringing HIV-positive individuals into care. *HRSA Careaction*. 2002:1-6

**Artigo em uma língua diferente do português, inglês e espanhol**

Hirayama T, Kobayashi T, Fujita T, Fujino O. [A case of severe mental retardation with blepharophimosis, ptosis, microphthalmia, microcephalus, hypogonadism and short stature-the difference from Ohdo blepharophimosis syndrome]. *No To Hattatsu*. 2004;36(3):253-7. Japanese.

**Artigo sem dados do autor**

21st century heart solution may have a sting in the tail. *BMJ*. 2002;325(7357):184.

**Artigo em periódico eletrônico**

Santana RF, Santos I. Transcender com a natureza: a espiritualidade para os idosos. *Rev. Eletr. Enf.* [Internet]. 2005 [cited 2006 Jan 12];7(2):148-58. Available from: [http://www.fen.ufg.br/revista/revista7\\_2/original\\_02.htm](http://www.fen.ufg.br/revista/revista7_2/original_02.htm).

**Artigo aceito para publicação, disponível online:**

Santana FR, Nakatani AYK, Freitas RAMM, Souza ACS, Bachion MM. Integralidade do cuidado: concepções e práticas de docentes de graduação em enfermagem do estado de Goiás. *Ciênc. saúde coletiva* [internet]. Forthcoming. [cited 2009 mar 09]. Author's manuscript available at: [http://www.abrasco.org.br/cienciaesaudecoletiva/artigos/artigo\\_int.php?id\\_artigo=2494](http://www.abrasco.org.br/cienciaesaudecoletiva/artigos/artigo_int.php?id_artigo=2494).

**Livros:**

## • Com único autor

Demo P. *Auto-ajuda: uma sociologia da ingenuidade como condição humana*. 1st ed. Petrópolis: Vozes; 2005.

## • Organizador, editor, compilador como autor

Brighth MA, editor. *Holistic nursing and healing*. Philadelphia: FA Davis Company; 2002.

## • Capítulo de livro

Medeiros M, Munari DB, Bezerra ALQ, Alves MA. Pesquisa qualitativa em saúde: implicações éticas. In: Ghilhem D, Zicker F, editors. *Ética na pesquisa em saúde: avanços e desafios*. Brasília: Letras Livres UnB; 2007. p. 99-118.

## • Instituição como autor

Secretaria Executiva, Ministério da Saúde. *Sistema Único de Saúde (SUS): princípios e conquista*. Brasília (Brasil): Ministério da Saúde, 2000. 44 p.

## • Livro com tradutor

Stein E. *Anorectal and colon diseases: textbook and color atlas of proctology*. 1st Engl. ed. Burgdorf WH, translator. Berlin: Springer; c2003. 522 p.

## • Livro disponível na Internet

Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos; Ministério da Saúde. Por que pesquisa em saúde? Série B. *Textos Básicos de Saúde. Série Pesquisa para Saúde: Textos para Tomada de Decisão* [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2007 [cited 2009 Mar 09]. Available from: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/pq\\_pesquisa\\_em\\_saude.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/pq_pesquisa_em_saude.pdf).

### **Monografia, dissertação e tese**

- Monografia

Tonon FL, Silva JMC. O processo de enfermagem e a teoria do autocuidado de Orem no atendimento ao paciente submetido à cirurgia de próstata: implementação de um plano de cuidados individualizado no preparo para a alta hospitalar [monography]. São Carlos: Departamento de Enfermagem/UFSCar; 2005.

- Dissertação

Coelho MA. Planejamento e execução de atividades de enfermagem em hospital de rede pública de assistência, em Goiânia/GO [dissertation]. Goiânia: Faculdade de Enfermagem/UFG; 2007. 119 p.

- Tese

Souza ACS. Risco biológico e biossegurança no cotidiano de enfermeiros e auxiliares de enfermagem [thesis]. Ribeirão Preto: Escola de Enfermagem/USP; 2001. 65 p.

### **Trabalhos em eventos científicos**

- Anais/Proceedings de conferência

Munari DB, Medeiros M, Bezerra ALQ, Rosso, CFW. The group facilitating interpersonal competence development: a brazilian experience of mental health teaching. In: Proceedings of the 16th International Congress of Group Psychotherapy [CD-ROM]; 2006 jul 17-21; São Paulo, Brasil. p. 135-6.

Rice AS, Farquhar-Smith WP, Bridges D, Brooks JW. Cannabinoids and pain. In: Dostorovsky JO, Carr DB, Koltzenburg M, editors. Proceedings of the 10th World Congress on Pain; 2002 Aug 17-22; San Diego, CA. Seattle (WA): IASP Press; c2003. p. 437-68.

- Anais/Proceedings de conferência disponível na Internet

Centa ML, Oberhofer PR, Chammas J. A comunicação entre a puérpera e o profissional de saúde. In: Anais do 8º Simpósio Brasileiro de Comunicação em Enfermagem [Internet]; 2002 Maio 02-03; São Paulo, Brasil. 2002 [cited 2008 dec 31]. Available from: <http://www.proceedings.scielo.br/pdf/sibracen/n8v1/v1a060.pdf>.

- Trabalho apresentado em evento científico

Robazzi MLCC, Carvalho EC, Marziale MHP. Nursing care and attention for children victims of occupational accident. Conference and Exhibition Guide of the 3rd International Conference of the Global Network of WHO Collaborating Centers for Nursing & Midwifery; 2000 July 25-28; Manchester; UK. Geneva: WHO; 2000.

### **Outras publicações**

- Jornais

Souza H, Pereira JLP. O orçamento da criança. Folha de São Paulo. 1995 maio 02; Opinião: 1º Caderno.

- Artigo de jornal na internet

Deus J. Pacto visa o fortalecimento do SUS em todo estado de Mato Grosso. Diário de Cuiabá [Internet]. 2006 Apr 25 [cited 2009 feb 16]. Saúde. Available from: <http://www.diariodecuiaba.com.br/detalhe.php?cod=251738>.

- Leis/portarias/resoluções

Ministério da Saúde; Conselho Nacional de Saúde. Resolução Nº 196/96 – Normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. Brasília (Brasil): Ministério da Saúde; 1996.

Conselho Federal de Enfermagem. Resolução COFEN-311/2007. Aprova a Reformulação do Código de Ética dos Profissionais de Enfermagem. Rio de Janeiro (Brasil): COFEN; 2007.

• Base de dados online

Shah PS, Aliwalas LI, Shah V. Breastfeeding or breast milk for procedural pain in neonates. 2006 Jul 19 [cited 2009 mar 02]. In: The Cochrane Database of Systematic Reviews [Internet]. Hoboken (NJ): John Wiley & Sons, Ltd. c1999 - . Available from: <http://www.mrw.interscience.wiley.com/cochrane/clsysrev/articles/CD004950/frame.html> Record No.: CD004950.

• Texto de uma página da Internet

Carvalho G. Pactos do SUS - 2005 - Comentários Preliminares [Internet]. Campinas: Instituto de Direito Sanitário Aplicado; 2005 Nov 15 [cited 2009 mar 11]. Available from: [http://www.idisa.org.br/site/artigos/visualiza\\_conteudo1.php?id=1638](http://www.idisa.org.br/site/artigos/visualiza_conteudo1.php?id=1638)

• Publicação no Diário Oficial da União

Lei N. 8.842 de 4 de janeiro de 1994. Dispõe sobre a Política Nacional do Idoso, cria o Conselho Nacional do Idoso e dá outras providências. Diário Oficial da União (Brasília). 1994 Jan 05.

• Homepage da Internet

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [Internet]. Brasília: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão (BR) [cited 2009 feb 27]. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios. Síntese de Indicadores 2005. Available from: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/trabalhoerendimento/pnad2005/default.shtm>

DATASUS [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde (BR) [cited 2006 oct 20]. Departamento de Informática do SUS - DATASUS. Available from: <http://w3.datasus.gov.br/datasus/datasus.php>.

Para mais informações sobre as referencias consulte International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Sample References: ([http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)), ou ainda, consulte o site Citing Medicine (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=citmed.TOC&depth=2>).

**Volume Comemorativo dos 70 anos da Faculdade de Farmácia**

Artigos de Impacto Científico na área de Ciências Farmacêuticas.

**Alimentos & Saúde**

Artigos que contemplam às áreas de Bromatologia (Controle de Qualidade Físico-Química e Microbiológica dos Alimentos) com foco na saúde do indivíduo; Interações Alimentos/Medicamentos.

**Áreas Afins**

Nesta seção será aceito artigos de interesse à saúde da comunidade, tais como: Estudos Epidemiológicos, Relato de Casos, Práticas Terapêuticas Complementares, dentre outros que possuem uma interseção com a área Farmacêutica

**Declaração de Direito Autoral**

Termo de responsabilidade de autoria e acordo de transferência do copyright, indicando a categoria do artigo, segundo as definições explicitadas nestas normas, responsabilizando os autores quanto a existência de plágio e autorizando a Revista Eletrônica de Farmácia sua publicação, devem estar assinados por todos os autores e anexado ao sistema como documento suplementar no momento de submissão do manuscrito.

Os direitos autorais da versão final do artigo são de propriedade da REF. O conteúdo da Revista ficará disponível para toda a comunidade científica.

**Política de Privacidade**

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou à terceiros.