



Universidade Federal de Goiás
Instituto de Química

**VARIABILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E VOLÁTEIS
DURANTE O AMADURECIMENTO DE FRUTOS DE TRÊS
VARIEDADES DE *Eugenia uniflora* L.**

Mestrando: Ruver Rodrigues Feitosa Ramalho
Orientadora: Dr^a. Suzana da Costa Santos

Goiânia 2015

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, 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.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Ruver Rodrigues Feitosa Ramalho				
E-mail:	ruverfeitosa@gmail.com				
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? ☒ Sim ☐ Não					
Vínculo empregatício do autor	Professor				
Agência de fomento:	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior			Sigla:	CAPES
País:	Brasil	UF:	GO	CNPJ:	
Título:	Variabilidade de compostos fenólicos e voláteis durante o amadurecimento de frutos de três variedades de <i>Eugenia uniflora</i> L.				
Palavras-chave:	1.Pitanga 2.Amadurecimento de frutos 3.Compostos fenólicos 4.Óleos essenciais				
Título em outra língua:	Variability of phenolic and volatile compounds during the fruit ripening of three varieties of <i>Eugenia uniflora</i> L.				
Palavras-chave em outra língua:	1.Pitanga 2.Fruit ripening 3.Compounds phenolic 4.Essential oils				
Área de concentração:	Química				
Data defesa: (23/09/2015)					
Programa de Pós-Graduação:	Programa de Pós-Graduação em Química				
Orientador (a):	Dra. Suzana da Costa Santos				
E-mail:	Suzana.quimica.ufg@hotmail.com				
Co-orientador (a):*					
E-mail:					

*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Data: 19 / 10 / 2015

Assinatura do (a) autor (a)

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Universidade Federal de Goiás
Instituto de Química

**VARIABILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E VOLÁTEIS
DURANTE O AMADURECIMENTO DE FRUTOS DE TRÊS
VARIEDADES DE *Eugenia uniflora* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, como exigência parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Área de Concentração: Química de Produtos Naturais.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Suzana da Costa Santos

Goiânia 2015

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Ramalho, Ruver Rodrigues Feitosa
Variabilidade de compostos fenólicos e voláteis durante o
amadurecimento de frutos de três variedades de *Eugenia uniflora* L.
[manuscrito] / Ruver Rodrigues Feitosa Ramalho. - 2015.
xi, 53 f.

Orientador: Profa. Dra. Suzana da Costa Santos.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de
Química (IQ) , Programa de Pós-Graduação em Química, Goiânia, 2015.
Bibliografia. Apêndice.
Inclui siglas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Pitanga. 2. Amadurecimento de frutos. 3. Compostos fenólicos. 4.
Óleos essenciais. I. Santos, Suzana da Costa, orient. II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora de Dissertação de Mestrado em Química,
apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás em
23/09/15, pelo discente Rúver Rodrigues Feitosa Ramalho

Comissão Julgadora:



Prof. Dra. Suzana da Costa Santos - UFG



Prof. Dr. José Realino de Paula - UFG



Prof. Dra. Cecília Maria Alves de Oliveira- UFG

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, pela a oportunidade de vivenciar experiências que me orienta à evolução espiritual e me ensinar o caminho do amor.

À Profa. Dra. Suzana da Costa Santos, pela confiança, disponibilidade e por me ensinar os caminhos da pesquisa através da dedicação e compromisso.

Ao Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri, pelo conhecimento sobre óleos essenciais e pela contribuição nas análises estatísticas.

Aos meus pais, Iva e Eloizo, pelo amor dado desde o meu nascimento, pela dedicação em minha educação e pelo suporte emocional que sempre precisei.

Aos meus irmãos, Rivadávio (*in memoriam*), Rômulo, Raquel e Maria José, por sempre desejarem o meu melhor, pelas conversas que nunca se concluem e pelos conselhos.

Aos meus sobrinhos, Wesley, Willian, Raquel e Heloísa.

Ao Daniel, por me tolerar a maior parte do tempo deste período, por compreender minhas oscilações de humor e por conseguir me acalmar quando estive desesperado.

À minha amiga Gilmara Fortes, pelos ensinamentos experimentais e pelas inúmeras risadas que deixou meus dias mais alegres.

Aos meus amigos de laboratório, Deomar, Luciane Dias e João Marcos.

Às minhas amigas, Rúbia e Eveline, que me acompanham e apoiam desde o Ensino Fundamental.

Aos meus amigos de graduação que nunca deixaram de torcer por mim, Michelly, Rayanne, Humberto (meu irmão loiro), Adriana, Letícia, Thiago Melo e Jerônimo.

Aos meus amigos da pós-graduação, Carla Freitas, Lucas Hoffmann, Sara, Aline Bernardes, Naiara e Mirian Rita.

Aos meus amigos da natação, pela compreensão da minha ausência em treinos e campeonatos e por serem minha segunda família.

Aos meus amigos de trabalho, em especial a minha amiga Fernanda Uto.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

	Página
Lista de Figuras	v
Lista de Tabelas	vi
Lista de Siglas	vii
Resumo	viii
Abstract	ix
1. Introdução	1
1.1 Família Myrtaceae	1
1.2 <i>Eugenia uniflora</i> (Pitangueira)	2
1.3 Uso popular, atividades farmacológicas e composição química de <i>E. uniflora</i>	3
1.4 Amadurecimento de frutos	6
2. Objetivos	8
3. Materiais e Métodos	9
3.1 Amostras de pitanga: Coleta, preparo e armazenamento	9
3.2 Preparação dos extratos	9
3.3 Quantificação de compostos fenólicos	10
3.3.1 Quantificação de Antocianinas Monoméricas – ATM	10
3.3.2 Quantificação de Fenóis Totais	10
3.3.3 Quantificação de Taninos	10
3.3.4 Quantificação de Flavonoides Totais	11
3.4 Extração e Análise Química de Óleos Essenciais	11
3.5 Análise Estatística	12
4. Resultados e Discussão	13
4.1 Compostos Fenólicos	13
4.1.1 Antocianinas Totais Monoméricas	13
4.1.2 Flavonoides	15
4.1.3 Taninos	16
4.1.1 Fenóis totais	17
4.2 Constituintes Químicos dos Óleos Essenciais	19
5. Conclusão	35
6. Referências Bibliográficas	36

Apêndice 1	42
Apêndice 2	43
Apêndice 3	44
Apêndice 4	47

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Frutos da família Myrtaceae: (A) goiaba, (B) jabuticaba, (C) cagaita, (D) pitanga.	2
Figura 2. Frutos em diferentes estádios de maturação e árvore de pitanga.	
Figura 3. Gráfico da PCA dos óleos essenciais das folhas de <i>E. uniflora</i> de acordo com a cor de fruto: Grupo I (símbolos escuros) compreende os biótipos: vermelho escuro, amarelo-alaranjado e roxo; grupo II (símbolos não preenchidos) vermelho claro, e grupo III (símbolos cinza) frutos vermelho-alaranjados (Costa <i>et al.</i> , 2010).	5
Figura 4. Frutos maduros de três variedades de pitanga.	9
Figura 5. Concentração de antocianinas monoméricas nos quatro estádios de maturação das variedades de pitanga vermelha, vermelha-alaranjada e roxa.	14
Figura 6. Concentração de flavonoides nos quatro estádios de maturação das variedades de pitanga vermelha, vermelha-alaranjada e roxa.	16
Figura 7. Concentração de taninos durante quatro estádios de maturação das variedades de pitanga vermelha, vermelha-alaranjada e roxa.	17
Figura 8. Concentração de fenóis totais durante quatro estádios de maturação das variedades de pitanga vermelha, vermelha-alaranjada e roxa.	18
Figura 9. Cromatograma do óleo essencial de frutos de <i>E. uniflora</i> das variedades vermelha, vermelha-alaranjada e roxa.	20
Figura 10. Estruturas dos principais constituintes identificados dos óleos essenciais dos frutos de pitanga vermelha, vermelha-alaranjada e roxa e histograma da percentagem de cada constituinte na composição total dos óleos.	29

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Valores médios ^a das variáveis Antocianinas Totais Monoméricas (ATM), Flavonoides, Taninos e Fenóis Totais.	13
Tabela 2. Valores médios ^a dos constituintes químicos coincidentes de óleos essenciais de frutos das variedades vermelha, vermelha-alaranjada e roxa de <i>E. uniflora</i> em quatro estádios de maturação que possuem interação entre os dois fatores analisados na análise de variância (ANOVA <i>two-way</i>).	21
Tabela 3. Valores médios ^a dos constituintes químicos coincidentes de óleos essenciais de frutos das variedades vermelha, vermelha-alaranjada e roxa de <i>E. uniflora</i> em quatro estádios de maturação que não possuem interação entre os dois fatores analisados na análise de variância (ANOVA <i>two-way</i>).	23
Tabela 4. Valores médios ^a dos constituintes químicos coincidentes de óleos essenciais de frutos de pelo menos duas variedades de <i>E. uniflora</i> em quatro estádios de maturação.	25
Tabela 5. Valores médios ^a dos constituintes químicos exclusivos dos óleos essenciais de frutos da variedade vermelha <i>E. uniflora</i> em quatro estádios de maturação.	27
Tabela 6. Valores médios ^a dos constituintes químicos exclusivos dos óleos essenciais de frutos da variedade vermelha-alaranjada <i>E. uniflora</i> em quatro estádios de maturação.	28
Tabela 7. Valores médios ^a dos constituintes químicos exclusivos dos óleos essenciais de frutos da variedade roxa <i>E. uniflora</i> em quatro estádios de maturação.	28
Tabela 8. Valores médios ^a dos principais constituintes químicos separados em classes de óleos essenciais de frutos das variedades vermelha, vermelha-alaranjada e roxa de <i>E. uniflora</i> em quatro estádios de maturação.	30

LISTA DE SIGLAS

ANOVA *two-way* – Análise de Variância dois fatores

CG/EM – Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massas

PCA – Análise de Componentes Principais

ATM – Antocianinas Monoméricas

MM – Massa Molar

FD – Fator de Diluição

A – Absorbância

BSA – Albumina Bovina Sérica

SDS – Sódio Dodecil Sulfato

MIS – Monitoramento Íons Simples

eV- Elétron Volt

NIST/EPA/NIH – Instituto Nacional de Padronização e Tecnologia/EUA

SAS – Statistical Analysis System

CLAE- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

RESUMO

A composição de óleos essenciais e os teores de compostos fenólicos em frutos de três variedades de pitanga (frutos vermelho, vermelho-laranja e roxo) foram analisados durante quatro estádios de maturação. A análise de variância (ANOVA *two-way*) mostrou que os teores de antocianinas diferem significativamente entre as três variedades de pitanga, principalmente no último estágio. Teores de flavonóides variaram durante a maturação de forma diferente para cada variedade e somente no terceiro estágio os níveis destes metabólitos foram iguais para as três variedades. Não foram observadas diferenças nas concentrações de taninos durante o amadurecimento dos frutos e de fenóis totais entre as três variedades. Através de análise por CG/EM foi possível identificar no total 28 substâncias nos óleos essenciais dos frutos de pitanga. A variedade vermelha foi caracterizada pela presença de germacrona (39,67-46,54%), curzereno (14,36-15,75%) e atractilona (6,90-10,10%), enquanto a variedade vermelha-alaranjada possui como compostos majoritários: selina-1,3,7(11)-trien-8-one (36,06-41,22%) e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one (19,36-34,28%). A variedade roxa contém tanto germacrona (51,56-56,80%), curzereno (4,10-5,11%) e atractilona (0,72-1,50%) quanto selina-1,3,7(11)-trien-8-one (11,04-14,31%) e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one (3,70-5,86%). Os sesquiterpenos totais são os constituintes majoritários dos frutos das três variedades em todos os estádios de maturação, sendo que os sesquiterpenos oxigenados foram mais abundantes nas variedades vermelha e roxa, enquanto os hidrocarboneto sesquiterpênicos foram dominantes na variedade vermelha-alaranjada. Em geral não foram observadas diferenças significativas nas concentrações dos compostos voláteis majoritários das três variedades durante o período de maturação, somente a variedade vermelho-alaranjada apresentou variações nos teores totais de sesquiterpenos e monoterpenos. Concluiu-se que a composição dos óleos essenciais e os níveis de antocianinas são os fatores que mais distinguem as três variedades, em relação ao processo de amadurecimento dos frutos temos que antocianinas, flavonóides, fenóis totais e alguns constituintes minoritários dos óleos variaram de forma significativa.

ABSTRACT

The composition of essential oils and the content of phenolic compounds in fruits of three varieties of pitanga (fruits red, red-orange and purple) were analyzed for four ripening stages. The analysis of variance (two-way ANOVA) showed that the anthocyanins differ significantly between the three pitanga varieties, especially at the final stage. Levels of flavonoids varied during maturation differently for each variety, and only at the third stage the levels of these metabolites were similar for the three varieties. No differences were observed in tannin concentrations during fruit ripening and total phenols between the three varieties. Through analysis by GC/MS was possible to identify a total of 28 substances in essential oils of pitanga fruit. The red variety was characterized by the presence of germacrone (39.67-46.54%) curzerene (14.36-15.75%) and atractylone (6.90-10.10%), while the red-orange presents as major compounds: selina-1,3,7(11)-trien-8-one (36.06-41.22%) and selina-1,3,7(11)-trien-8-one epoxide (19.36-34.28%). The purple variety contains germacrone (51.56-56.80%), curzerene (4.10-5.11%), atractylone (0.72-1.50%), selina-1,3,7(11)-trien-8-one (11.04-14.31%) and selina-1,3,7(11)-trien-8-one epoxide (3.70-5.86%). Total sesquiterpenes are the major constituents of the fruits of the three varieties at all stages of maturation, and the oxygenated sesquiterpenes were more abundant in red and purple varieties, while hydrocarbons sesquiterpenes were dominant in the red-orange variety. Generally no significant differences were observed in the concentrations of the major volatile compounds of the three varieties during the period of maturation, only the orange-red variety showed variations in the total levels of sesquiterpenes and monoterpenes. It was concluded that the composition of essential oils and anthocyanin levels are the factors that distinguish the three varieties, while in relation to the ripening process the anthocyanins, flavonoids, phenolic compounds and some minor constituents of the oils have varied significantly.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem ocorrido um intenso crescimento no estudo de plantas tropicais exóticas, principalmente devido aos seus benefícios para a saúde humana (Costa *et al.*, 2013). No Brasil existem mais de 40.000 espécies vegetais, o que representa 20% da flora mundial (Oliveira *et al.*, 2012), portanto o Brasil possui grande potencial para exploração econômica de frutos tropicais como também espécies de plantas com interesse farmacológico.

Frutos exóticos possuem diferentes substâncias bioativas que atuam isoladamente ou em conjunto em vários alvos fisiopatológicos de doenças crônicas; essas substâncias apresentam atividades tais como antidiabético, anticancerígeno, antioxidante e anti-inflamatório, com diminuição dos efeitos colaterais, quando comparado com outras fontes (Bouzada *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2012).

O desenvolvimento do fruto é acompanhado por alterações na composição química e relaciona diretamente com a acumulação de metabólitos secundários nos frutos, que pode variar de acordo com o local de cultivo e espécie (Moghaddam *et al.*, 2015).

1.1 Família Myrtaceae

A família Myrtaceae compreende 1,32% do total de angiospermas conhecidas (Moraes *et al.*, 2014), sendo representada por 144 gêneros e 5774 espécies no mundo, abrangendo árvores e arbustos distribuídos, em todos os continentes, exceto na Antártida (Fontana *et al.*, 2014). No Brasil são conhecidos 23 gêneros e 1034 espécies (Sobral *et al.*, 2015), destas, muitas são frutíferas, sendo apreciadas pela fauna e pelo homem, despertando grande interesse comercial.

Os frutos, suculentos e carnosos são bastante procurados como fonte de alimento pela fauna silvestre, que por sua vez desempenha um importante papel ecológico na dispersão das sementes, favorecendo a sobrevivência e permanência dessas espécies (Gressler *et al.*, 2006).

A madeira produzida pelas mirtáceas geralmente não possui valor agregado elevado, dessa forma, seu potencial econômico se deve à exploração dos frutos, cujo sabor exótico e propriedades antioxidantes despertam grande interesse na comercialização dos mesmos *in natura* e/ou de seus produtos industrializados. Dentre

as espécies frutíferas se destacam a goiabeira, *Psidium guajava* L., a jabuticabeira, *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg, a pitangueira, *Eugenia uniflora* L. e a cagaiteira, *Eugenia dysenterica* DC. (Gressler *et al.*, 2006; Duarte *et al.*, 2008; Moraes *et al.*, 2014; Fontana *et al.*, 2014) (Figura 1).

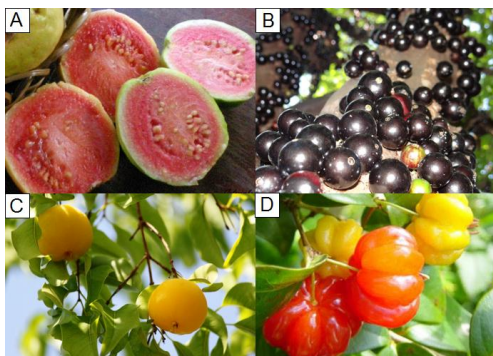


Figura 1. Frutos da família Myrtaceae: (A) goiaba, (B) jabuticaba, (C) cagaita, (D) pitanga.

1.2 *Eugenia uniflora* (Pitangueira)

Eugenia uniflora L., popularmente conhecida no Brasil como pitangueira é uma árvore arbustiva, com altura média entre 2 a 4 m, podendo chegar a 9 m, sua copa arredondada tem de 3 a 6 m de diâmetro. Seu fruto é classificado como uma baga globulosa, com 7 a 10 sulcos no sentido longitudinal com sépalas persistentes (Lira Junior *et al.*, 2007). O epicarpo do fruto muda de coloração durante o seu desenvolvimento, variando do verde para amarelo, alaranjado, vermelho e roxo (Figura 2).



Figura 2. Frutos em diferentes estádios de maturação e árvore de pitanga.

A forma, tamanho, cor e sabor do fruto podem diferenciar-se dependendo da variedade da pitangueira. No Brasil não se conhecem variedades perfeitamente

definidas, e estes caracteres não são propagados pela multiplicação gâmica e tendem a se perder ao longo de propagações sucessivas (Lira Júnior *et al.*, 2007). Essas diferenças podem ocorrer devido a influências epigenéticas ou ambientais, promovendo a existência de quimiotipos – vegetais botanicamente idênticos, mas que se diferenciam quimicamente (Barazani *et al.*, 2002).

A pitangueira tem sua origem desde o Brasil Central até o Norte da Argentina, porém pela sua fácil adaptação a diversas condições climáticas e ao tipo de solo, é encontrada em várias regiões do mundo: Américas do Sul e Central, Caribe, Flórida, Califórnia, Hawaii, Sudeste da Ásia, China, Índia, Srilanka, México, Madagascar, África do Sul, Israel e diversos países do Mediterrâneo (Lee *et al.*, 1997; Bezerra *et al.*, 2000).

No Brasil, os estados detentores das maiores áreas de cultivo com finalidade comercial são Pernambuco e Bahia (Lira Junior *et al.*, 2007), porém a pitanga é altamente perecível e seu consumo *in natura* se restringe ao período de colheita e às regiões próximas das áreas de plantio; por isso, a fim de viabilizar a sua comercialização, o fruto é transformado em polpa, sorvete, picolé, suco, geleia, licor e vinho (Bezerra *et al.*, 2000).

O potencial econômico da pitanga deve-se ao seu alto rendimento, aroma agradável, sabor exótico, alto valor nutricional e por possuir compostos com propriedades terapêuticas.

1.3 Uso popular, atividades farmacológicas e composição química de *E. uniflora*

Os frutos da pitangueira não são utilizados na medicina popular, porém suas folhas, na forma de decoto ou infusão, são empregadas pela população como hipotensor e diurético, assim como no tratamento de problemas digestivos (Henriques *et al.*, 1993). Também são utilizadas como adstringente, antipirético e antirreumático (Alice *et al.*, 1991).

Testes *in vitro* e *in vivo* confirmaram suas atividades farmacológicas, tais como: diurética e anti-inflamatória (Schapoval *et al.*, 1994), antidiarreica (Gbolade *et al.*, 1996), hipotensora (Consolini *et al.*, 1999), hipotérmica e antiespasmódica (Amorim *et al.*, 2009), bactericida e citotóxica (Bouzada *et al.*, 2009).

O extrato aquoso das folhas demonstrou ação hipotensiva, efeito inotrópico negativo, ação vasodilatadora e levemente diurética em ratos (Consolini & Sarubio, 2002), o que justifica o uso desta espécie como anti-hipertensiva na medicina popular.

Os óleos essenciais das folhas também apresentaram várias atividades biológicas, dentre elas podem-se citar: ação antifúngica contra o fungo *Paracoccidioides brasiliensis* (Costa *et al.*, 2010), ação antidepressiva e antioxidante (Victoria *et al.*, 2013), ação antinociceptiva e hipotérmica (Amorim *et al.*, 2009) e atividade anti-Leishmania (Rodrigues *et al.*, 2013). Ogunwande (2005) comprovou que o óleo essencial do fruto possui alta atividade antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* e o óleo essencial das folhas inibiu o crescimento de *Bacillus cereus*. Ambos os óleos apresentaram excelente ação citotóxica para as linhas de células tumorais humanas de PC-3 e Hep G2 e completa inibição do crescimento de Hs 578T.

As folhas de *E. uniflora* são ricas em taninos hidrolisáveis, sendo que os elagitaninos macrocíclicos oenoteína B, eugeniflorina D1 e eugeniflorina D2 foram isolados e identificados, como também outros fenóis: 1,2,4,6-tetra-O-galoil- β -D-glicose, galocatequina, miricetina-3-O-ramnosídeo (Lee *et al.*, 1997), miricitrina, quercetina, quercetina-3-O-ramnosídeo e antraquinonas (Alice *et al.*, 1991). Recentemente outros compostos fenólicos foram isolados e identificados pela primeira vez para esta espécie, sendo dois ésteres galoílicos (2,3-di-O-galoil- β -D-glicose e 1,2,3,4,6-penta-O-galoil- β -D-glicose), três elagitaninos, (gemin D, hippomanina A e camptotina A), e dois flavonoides glicosilados (canferol-3- α -L-ramnosídeo e miricetina-3-O-(2"-O-galoil)- α -L-ramnosídeo) (Fortes *et al.*, 2015).

Ao contrário das folhas os compostos fenólicos dos frutos ainda não foram isolados, porém alguns tiveram suas estruturas integralmente ou parcialmente identificadas por cromatografia líquida e detecção por espectroscopia de massas, tais como cianidina-3-O-glicose, delphinidina-3-O-glicose, quercetina-3-O-ramnosídeo, miricetina-3-O-ramnosídeo e outros flavonóis 3-O-glicosilados (Costa *et al.*, 2013; Celli *et al.*, 2011; Einbond *et al.*, 2004).

Vários estudos descrevem a composição química dos óleos essenciais de folhas de *E. uniflora* sendo que os principais componentes identificados foram: selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e seu epóxido, germacrona, furanodieno e curzereno (Weyerstahl *et al.*, 1988; Amorim *et al.*, 2009; Stefanello *et al.*, 2011), ou seja, os sesquiterpenos oxigenados foram os compostos majoritários, exceto para óleos essenciais de árvores oriundas do sul do Brasil ou da Argentina, onde os monoterpenos foram majoritários (Henriques *et al.*, 1993; Ogunwande *et al.*, 2005).

Existe grande variação nas concentrações dos constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas da pitangueira, o que pode ser devido à origem geográfica da

planta, às variações sazonais (Costa *et al.*, 2009) e aos quimiotipos, que estão relacionados às diferentes variedades de *E. uniflora*.

Costa *et al.* (2010) comparou os constituintes dos óleos essenciais de folhas de três genótipos de pitangueira (frutos roxo, vermelho e laranja) e mostrou que existem diferenças qualitativas e quantitativas em relação à concentração dos sesquiterpenos majoritários. Na análise estatística multivariada observou-se a formação de três grupos (Figura 3), o primeiro incluiu amostras dos genótipos de frutos amarelos, vermelhos escuros e roxos contendo altas percentagens de germacreno B (11,1-30,7%), germacrona (9,8-54%) e atractilona (0-19,9%). No segundo grupo, com amostras do genótipo de frutos vermelhos claro, os constituintes majoritários foram o curzereno (42,0-43,2%), germacreno D (8,7-9,0%) e germacreno A (5,9-8,9%), enquanto que o terceiro grupo incluiu amostras de folhas do genótipo com frutos vermelho-alaranjado, caracterizadas por um alto conteúdo de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (40,3-55,4%) e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (12,7-24,4%). Também foram observadas diferenças entre os três grupos com relação à inibição de crescimento da forma leveduriforme do fungo *Paracoccidioides brasiliensis*, onde o segundo grupo apresentou inibição completa na concentração de $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Costa *et al.*, 2010).

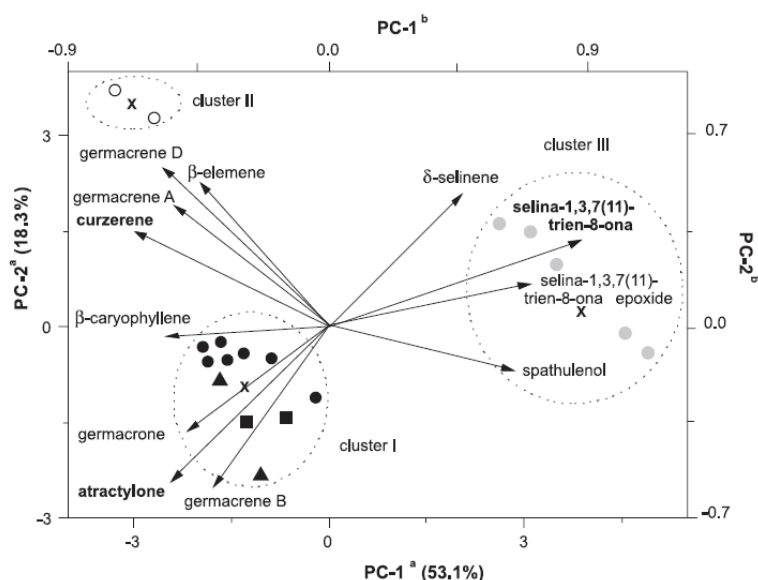


Figura 3. Gráfico da PCA dos óleos essenciais das folhas de *E. uniflora* de acordo com a cor de fruto: Grupo I (símbolos escuros) compreende os biótipos: vermelho escuro, amarelo-alaranjado e roxo; grupo II (símbolos não preenchidos) vermelho claro, e grupo III (símbolos cinza) frutos vermelho-alaranjados (Costa *et al.*, 2010).

Os compostos voláteis dos frutos também já foram estudados e utilizaram-se diferentes processos de extração seguidos de análise por cromatografia gasosa e detecção de massas (Bicas *et al.*, 2011). Os monoterpenos (75,3%) foram os componentes majoritários quando se utilizou cartucho Porapak-Q e posterior eluição com acetato de etila (Oliveira *et al.*, 2006), nos outros estudos, onde as substâncias voláteis foram retiradas por hidrodestilação, destilação por arraste de vapor e extração por fluído supercrítico, os sesquiterpenos foram os mais abundantes (Marin *et al.*, 2008; Ogunwande *et al.*, 2005; Pino *et al.*, 2003; Malaman *et al.*, 2011), inclusive os compostos majoritários dos frutos foram os mesmos encontrados nos óleos essenciais das folhas em amostras coletadas na Nigéria (Ogunwande *et al.*, 2005).

1.4 Amadurecimento de frutos

O amadurecimento é um fenômeno natural facilmente detectável em virtude das várias transformações ocorridas pelo fruto durante o processo, como mudanças na cor, alteração do sabor, aroma e firmeza (Lattanzio, 2003).

As mudanças de cor são o que mais evidencia o processo de maturação. Os frutos, quando imaturos, possuem cor verde devido à alta quantidade de clorofila. Durante o amadurecimento ocorre a perda da cor verde, provocada pela degradação enzimática da clorofila e aparecimento de outras cores devido ao aumento da concentração de carotenoides e antocianinas (Tadesse *et al.*, 1999).

As antocianinas são os compostos fenólicos que mais aumentam durante a fase de maturação do fruto. Estes compostos absorvem luz visível e são responsáveis por muitas das cores vistas em tecidos vegetais, que vão do vermelho ao azul. A vasta gama de antocianinas em frutas é resultado de derivados glicosilados de estruturas básicas de antocianidina devido a esterificações com açúcares, geralmente nas posições 3 e 5 (Leshem *et al.*, 1986; Lee *et al.*, 2005).

O sabor dos frutos também é alterado no processo de maturação. A liberação de açúcares simples a partir do amido ou outros carboidratos resulta no sabor adocicado dos frutos maduros. O desaparecimento da adstringência nos frutos maduros é atribuído a maior condensação de taninos, tornando-os menos solúveis e reativos (Leshem *et al.*, 1986).

O aroma tem importante efeito sobre o sabor de frutos, na realidade é uma mistura de duas sensações: sabor e odor (Retondo e Faria, 2008). Uma complexa

mistura de compostos orgânicos, sendo álcoois, aldeídos, ésteres, fenóis, compostos heterocíclicos, terpenos, hidrocarbonetos e compostos contendo enxofre é responsável pelo aroma característico de cada fruto (Leshem *et al.*, 1986).

A firmeza do fruto é outro parâmetro observado em seu desenvolvimento. A parede celular, que contém pectina, hemicelulose e celulose, pode sofrer modificações catalisadas por enzimas durante a maturação, sendo que o tempo, velocidade e extensão podem variar acentuadamente com o tipo do fruto (Ali *et al.*, 2004).

A maturação também está associada com o aumento respiratório denominado respiração climatérica (Leshem *et al.*, 1986). Os frutos serão classificados em climatéricos e não climatéricos, de acordo com seu padrão respiratório durante o amadurecimento.

Frutos com padrão respiratório climatérico apresentam aumento na taxa respiratória no final do período de maturação, provocado pelo aumento da produção de etileno. Este pico respiratório ocorre no momento da maturidade fisiológica. Já os frutos não climatéricos apresentam um declínio lento e constante de sua taxa respiratória após a colheita, independente do estágio de amadurecimento, pois produzem baixas quantidades de etileno e por esse motivo não podem ser colhidos antes de sua completa maturação, porque após sua colheita eles geralmente entram em processo de senescência (Costa *et al.*, 2011; Martínez-Lüscher *et al.*, 2015). Este é o caso dos frutos de pitanga vermelha e roxa que apresentam padrão respiratório não climatérico (Santos *et al.*, 2002).

O conhecimento sobre as alterações químicas dos frutos é importante para um melhor entendimento dos processos metabólicos, tais como o amadurecimento (Lee *et al.*, 2010). Já foram descritas variações na composição química de compostos fenólicos e voláteis que ocorrem durante a maturação de frutos de Mirtáceas, tais como cagaita e jabuticaba, ambas apresentaram variações quantitativas nos conteúdos de terpenoides e/ou fenólicos durante as diferentes fases do amadurecimento (Duarte *et al.*, 2008; Fortes *et al.*, 2011).

2. OBJETIVOS

Estudar a composição de óleos essenciais e os teores de compostos fenólicos em frutos de três variedades de pitanga (frutos vermelho, vermelho-laranja e roxo) durante quatro estádios de maturação.

Comparar se há diferenças significativas nos compostos voláteis e teores de fenóis entre os quatro estádios de maturação e entre cada variedade de fruto através da análise de variância (ANOVA *two-way*).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostras de pitanga: Coleta, preparo e armazenamento

As amostras de três variedades de pitanga: vermelha, vermelha alaranjada e roxa (Figura 4) foram coletadas a partir de três árvores de cada variedade e em diferentes estádios de maturação no município de Santo Antônio de Goiás-GO. Pitangas vermelhas e vermelhas-alaranjadas foram separadas quanto à coloração do fruto em: verde (1), amarela (2), laranja (3) e vermelha (4); e as pitangas roxas em: verde-amarela (1), laranja (2), vermelha (3) e roxa (4).



Figura 4. Frutos maduros de três variedades de pitanga.

Uma parcela dos frutos inteiros, destinados à quantificação de compostos fenólicos, foi homogeneizada em blender portátil, liofilizada e armazenada sob temperatura -18°C até análises. Outra parcela dos frutos inteiros, destinada à extração dos óleos essenciais, foi armazenada sob temperatura de -18°C até o dia da extração.

3.2 Preparação dos extratos

Pesou-se 1,000 g do fruto liofilizado em tubos de ensaio, adicionou-se 10 mL de solução de etanol:ácido fórmico 9:1 e deixou-se sob banho de ultrassom por 30 minutos a temperatura ambiente. Em seguida, centrifugou-se por 15 minutos e transferiu-se o extrato para balão de fundo redondo. Adicionou-se ao tubo de ensaio mais 10 mL e deixou-se por mais 15 minutos sob banho de ultrassom, centrifugou-se por 15 minutos e transferiu-se o extrato para o mesmo balão. O mesmo procedimento foi realizado mais duas vezes, totalizando o uso de 40 mL de solvente. Os extratos foram evaporados sob pressão reduzida e transferidos para balões volumétricos de 25 mL, completou-se o volume com o mesmo solvente. Realizou-se todo procedimento de extração em duplicata.

3.3 Quantificação de compostos fenólicos

3.3.1 Quantificação de Antocianinas Monoméricas – ATM (Método do pH diferencial, Reynertson *et al.*, 2008)

Transferiu-se 0,5 mL do extrato para dois balões volumétricos de 25 mL e completou-se o volume de um dos balões com solução de tampão de KCl/HCl (pH 1,0) e o outro com solução tampão de CH₃COONa/CH₃COOH (pH 4,5). Após 15 minutos em repouso ao abrigo de luz, realizou-se a leitura em 520 e 700 nm em espectrômetro Beckman DU-70. As concentrações de antocianinas foram expressas como cianidinha-3-glicose em µg g⁻¹, calculadas de acordo com a equação 1:

$$\text{Concentração de antocianinas (}\mu\text{g g}^{-1}\text{)} = A \cdot MM \cdot FD.1000 / \varepsilon \cdot b \quad (1)$$

$$A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5}$$

$$MM = 449 \text{ g mol}^{-1} \text{ (massa molar da cianidina-3-glicose)}$$

$$FD = \text{fator de diluição (50)}$$

$$\varepsilon = 26.900 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ (coeficiente de extinção da cianidina-3-glicose)}$$

$$b = 1,0 \text{ cm}$$

3.3.2 Quantificação de Fenóis Totais (Método de Folin-Ciocalteu, Escarpa González, 2001)

Diluiu-se o extrato do fruto com água destilada na proporção 1:3 e transferiu-se 0,3 mL para balão volumétrico de 25 mL e em seguida adicionou-se 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigm-Aldrich). Após 1 minuto acrescentou-se 4,0 mL de solução de carbonato de sódio 20% e então o volume foi completado com água destilada. Depois de 30 minutos realizou-se a leitura de absorvância em 750 nm. Construiu-se uma curva de calibração com ácido tânico como padrão (0,1 a 0,9 mg mL⁻¹; $y = 0,07803 + 0,98618x$; $r^2 = 0,9993$) e os resultados foram apresentados como concentração de ácido tânico equivalente por massa de fruto seco (mg g⁻¹). Os ensaios foram realizados em duplicata.

3.3.3 Quantificação de Taninos (Waterman e Mole, 1994)

Transferiu-se com auxílio de uma pipeta volumétrica 1,0 mL de extrato para tubo de ensaio, onde se adicionou 2,0 mL de solução de albumina bovina sérica (BSA) de concentração 1,0 mg mL⁻¹, após agitação a solução foi deixada em repouso por 15

minutos a temperatura ambiente e em seguida, centrifugada por 15 minutos. Após descartar o sobrenadante, o precipitado foi dissolvido em 4,0 mL de solução aquosa de sódio dodecil sulfato a 1% (p/v), trietanolamina a 5% (v/v) e isopropanol 20% (v/v) (SDS/trietanolamina/isopropanol). Acrescentou-se 1,0 mL de solução ácida de cloreto férrico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e as soluções foram homogeneizadas. Após 30 minutos as absorbâncias foram lidas em 510 nm.

Um ensaio branco foi preparado com 1,0 mL de reagente cloreto férrico e 4,0 mL de solução de SDS/trietanolamina/isopropanol. Realizou-se uma curva de calibração com ácido tânico como padrão (0,2 a 1,8 mg mL^{-1} ; $y = -0,3719 + 2,32315x$; $r^2 = 0,99989$) e os resultados foram apresentados como concentração de ácido tânico equivalente por massa de fruto seco (mg g^{-1}). Os ensaios foram realizados em duplicata.

3.3.4 Quantificação de Flavonoides Totais (Método adaptado da Pharmacopéia Helvetica; Petry *et al.*, 1998)

Transferiu-se 5,0 mL de extrato para balão volumétrico de 10,0 mL, adicionou-se 1,0 mL de solução etanólica de cloreto de alumínio 12% e completou-se o volume com solução etanólica de ácido acético glacial 5%. Após 30 minutos, efetuou-se a leitura de absorbância em 422 nm.

Realizou-se o ensaio branco com a adição de 5,0 mL de extrato em balão volumétrico de 10,0 mL e completou-se o volume com solução etanólica de ácido acético glacial 5%. Construiu-se a curva de calibração com rutina como padrão (30 a $250 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$; $y = 0,04878 + 0,00655x$; $r^2 = 0,9957$) e os resultados foram apresentados como concentração de rutina equivalente por massa de fruto seco ($\mu\text{g g}^{-1}$). Os ensaios foram realizados em duplicata.

3.4 Extração e Análise Química de Óleos Essenciais

Os óleos essenciais do fruto foram obtidos através da hidrodestilação utilizando um aparelho do tipo Clevenger modificado, por 2 horas. Secou-se o óleo coletado com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4). Para a análise química, diluiu-se uma alíquota do óleo com hexano (ca. 20 %) e com auxílio de uma microseringa, injetou-se 0,5 μL em um cromatógrafo gasoso acoplado a um analisador quadrupolar de massa, modelo QP5050A (Shimadzu), operando sob as seguintes condições: coluna capilar de sílica

fundida CBP-5 (Shimadzu) (30 m x 0,25 mm d. i. x 0,25 μm de espessura de filme de 5% em fenilmetilpolisiloxana), tendo como gás de arraste He (1 mL min^{-1}) e o impacto de elétrons (IE 70 eV) como fonte de ionização; faixa de massas de 40-400 m/z com uma velocidade de varredura 1,0 s^{-1} , temperaturas do injetor e detector mantidas em 220 °C e 240 °C, respectivamente. A programação do gradiente de temperatura foi de 60 °C até 240 °C na razão de 3 °C min^{-1} , de 240 °C até 270 °C, com razão de 10 °C min^{-1} , permanecendo por 5 min na temperatura final. A técnica de Monitoramento Íons Simples (MIS) foi também utilizada para a detecção de constituintes traços sob as mesmas condições da análise por varredura.

Para a identificação dos constituintes químicos, compararam-se os espectros de massas e os índices de retenção obtidos com padrões da literatura (Adams, 2007). Também foi realizada a comparação automática e manual dos espectros de massas com as bibliotecas NIST/EPA/NIH (1998). Calcularam-se os índices de retenção utilizando a equação de Van Den Dool & Kratz (1963) a partir da coinjeção com uma série de n-alcanos, C₈-C₃₂ (Sigma, USA).

3.5 Análise Estatística

Comparações múltiplas de médias foram realizadas através da análise de variância (ANOVA *two-way*) usando o procedimento SAS GLM (Statistical Analysis System, versão 6.12, SAS Institute Inc., Cary, NC, 1996). Os fatores utilizados foram: variedade de pitanga (três níveis) e estágio de maturação (quatro níveis). Todos os dados foram avaliados para a homoscedasticidade das variâncias pelo teste de Hartley. Onde as diferenças entre as médias foram estabelecidas, foi aplicado o teste de Tukey para comparação entre as médias. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Compostos Fenólicos

Diversos trabalhos têm demonstrado que a capacidade antioxidante de frutos e folhas está diretamente relacionada com a concentração de compostos fenólicos (Celli *et al.*, 2011; Figueirôa *et al.*, 2013; Martinez-Correa *et al.*, 2011), com o intuito de comparar os teores destes compostos durante as fases de maturação nas três variedades de pitanga foram realizados ensaios colorimétricos para a quantificação de fenóis totais, antocianinas monoméricas, flavonoides e taninos, os resultados analisados através de ANOVA *two-way* estão apresentados na Tabela 1. Os dados com média e desvio padrão dos ensaios colorimétricos se encontram no apêndice 1.

Tabela 1. Valores médios^a das variáveis Antocianinas Totais Monoméricas (ATM), Flavonoides, Taninos e Fenóis Totais.

Variável	Variedade	Estádio				Média
		1	2	3	4	
ATM ($\mu\text{g g}^{-1}$) ^b	Vermelha	1,65 dB	2,42 cC	3,16 bC	4,94 aC	
	Vermelha-alaranjada	2,60 cA	2,99 cB	4,85 bB	11,96 aB	
	Roxa	1,50 cB	6,58 bA	22,83 aA	70,30 aA	
Flavonoides (mg g^{-1})	Vermelha	0,40 aA	0,29 bA	0,19 bcA	0,15 cB	
	Vermelha-alaranjada	0,39 aA	0,37 aA	0,18 bA	0,31 aA	
	Roxa	0,16 bB	0,10 bB	0,14 bA	0,27 aA	
Taninos (mg g^{-1})	Vermelha	13,85	13,24	10,94	12,19	12,55 AB
	Vermelha-alaranjada	15,81	15,20	12,40	13,94	14,34 A
	Roxa	11,96	10,70	10,63	10,78	11,02 B
	Média	13,87 a	13,05 a	11,32 a	12,30 a	
Fenóis T. (mg g^{-1})	Vermelha	31,31	29,66	27,17	26,64	28,69 A
	Vermelha-alaranjada	40,86	28,00	25,42	27,87	30,54 A
	Roxa	31,06	26,71	27,87	25,02	27,66 A
	Média	34,41 a	28,12 ab	26,82 ab	26,51 b	

^a Valores são as médias (n=3) baseadas nos dados originais. ^bTransformado pela ordem dos mesmos (rank) na ANOVA. Médias seguidas por letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Estádios de maturação para pitangas vermelhas e vermelhas-alaranjadas: verde (1), amarela (2), laranja (3) e vermelha (4); e para as pitangas roxas: verde-amarela (1), laranja (2), vermelha (3) e roxa (4).

4.1.1 Antocianinas Totais Monoméricas

As antocianinas são substâncias responsáveis pela pigmentação intensa do fruto e possuem alta capacidade antioxidante, porém elas são sensíveis a luz e a

temperatura, o que dificulta a sua utilização como corantes e antioxidantes naturais em produtos industrializados (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009). Os níveis de antocianinas aumentaram significativamente durante o desenvolvimento dos frutos de cada variedade (Tabela 1 e Figura 5). Esse comportamento também foi observado para frutos de camu-camu (*Myrciaria dúbia*), também conhecidos como araçá-d'água, em que os valores passaram de 0,8 para 52,6 mg 100 g⁻¹, do estágio imaturo para o maduro, respectivamente (Chirinos *et al.*, 2010).

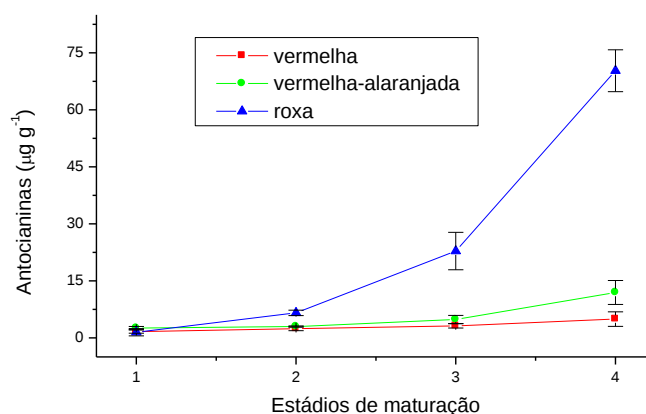


Figura 5. Concentração de antocianinas monoméricas nos quatro estádios de maturação das variedades de pitanga vermelha, vermelha-alaranjada e roxa.

Observaram-se também diferenças significativas em relação à concentração de antocianinas entre as três variedades de pitanga, principalmente a partir do segundo estágio de amadurecimento. A análise de variância (ANOVA *two-way*) mostrou que existe uma interação entre os dois fatores: variedade de pitanga e estágio de maturação, indicando que o aumento das antocianinas depende tanto da variedade quanto do estágio. Mais especificamente, as médias das concentrações de antocianinas da variedade roxa apresentaram um aumento muito mais drástico que as outras variedades, sendo que no estágio maduro (4) seu conteúdo foi aproximadamente quatorze vezes maior que a variedade vermelha, $70,3 \pm 5,5$ e $4,9 \pm 1,9$ µg g⁻¹, respectivamente, e cerca de sete vezes maior que a variedade vermelha-alaranjada, $12,0 \pm 3,1$ µg g⁻¹ (Tabela 1).

Estudos anteriores já haviam demonstrado esta diferença entre as variedades, sendo que Santos *et al.* (2002) registraram valores de antocianinas totais cerca de trinta vezes maiores em todas as fases da variedade roxa comparada com a vermelha. Celli e colaboradores (2011) quantificaram por CLAE os níveis de cianidina-3-O-glicose

e também observaram uma mudança drástica na concentração desta antocianina, principalmente na transição entre vermelho e roxo na variedade de pitanga roxa, já a outra variedade apresentou níveis bem inferiores.

A variedade vermelha, mesmo com coloração mais intensa do que a variedade vermelha-alaranjada, apresentou os níveis mais baixos de antocianinas. A coloração do fruto também sofre influência de carotenoides, terpenos com intensa deslocalização eletrônica, que causam a sensação de cor em vegetais. Os níveis superiores de carotenoides na variedade vermelha, quando comparada às variedades laranja e roxa, já foram evidenciados e mostraram ser aproximadamente duas vezes superior a variedade roxa, 5,9 e 3,0 $\mu\text{g } \beta\text{-caroteno g}^{-1}$, respectivamente (Denardin *et al.*, 2015).

4.1.2 Flavonoides

Os flavonoides representam um grupo importante de substâncias que ajudam na estabilização da cor do fruto, através da copigmentação (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009), além de influenciarem no sabor e na atividade antioxidante dos mesmos (Celli *et al.*, 2011).

A análise de variância (ANOVA *two-way*) indicou que existe uma combinação dos dois fatores: variedade de pitanga e estágio de maturação dos frutos, ou seja, ambos fatores influenciam as médias dos teores de flavonoides (Tabela 1). Comparando-se o teor de flavonoides durante o amadurecimento nas três variedades, observou-se uma tendência diferente para cada uma, na variedade vermelha ocorreu uma diminuição significativa na maioria dos estádios (1, 2 e 4), enquanto a variedade vermelha-alaranjada apresentou uma diminuição significativa de flavonoides apenas no terceiro estágio. Já a variedade roxa manteve a concentração de flavonoides inalterada nos três primeiros estádios, aumentando de maneira significativa somente no final da maturação (Figura 6).

Quando se comparam os teores de flavonoides entre as variedades de pitanga (Tabela 1) conclui-se que as pitangas vermelha e vermelha-alaranjada apresentaram teores de flavonoides similares nos três primeiros estágios, diferindo apenas no último estágio, enquanto para a variedade roxa o conteúdo de flavonoides foi semelhante à variedade vermelha-alaranjada no final da maturação (Figura 6). Não houve diferença significativa nos níveis de flavonoides entre as três variedades no terceiro estágio.

Celli e colaboradores (2011) demonstraram que as variedades de pitanga roxa e vermelha produzem os mesmos flavonoides glicosilados, porém cada variedade possui

uma dinâmica diferente para cada substância. Flavonoides glicosilados com miricetina como aglicona apresentaram uma forte tendência a se acumularem na fase verde da variedade de pitanga vermelha, por outro lado na pitanga roxa ocorreu aumento nas concentrações de vários flavonoides glicosilados de quercetina na última fase de maturação. Essa mesma diferença na dinâmica de biossíntese de flavonoides glicosilados também foi observada na maturação de dois cultivares de oxicoco (Vvedenskaya e Vorsa, 2004). Isso indica que apesar de produzirem os mesmos flavonoides glicosilados cada variedade apresenta diferentes níveis de ativação para as enzimas envolvidas na biossíntese desses compostos.

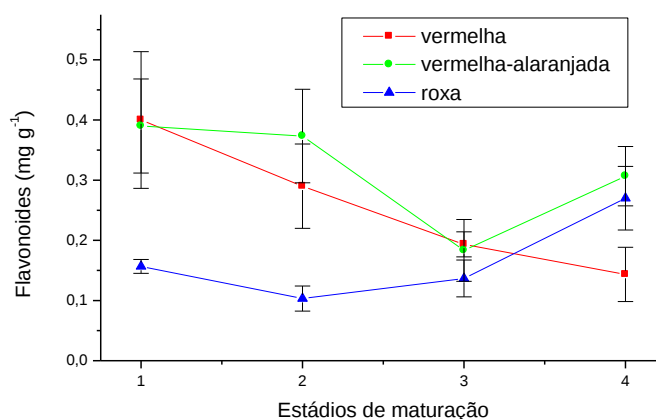


Figura 6. Concentração de flavonoides nos quatro estádios de maturação das variedades de pitanga vermelha, vermelha-alaranjada e roxa.

4.1.3 Taninos

Os taninos são responsáveis principalmente pelo sabor adstringente do fruto devido à complexação com as enzimas salivares (Fadda e Mulas, 2010). Os teores de taninos obtidos para as variedades de pitanga variaram de 10,63 a 15,81 mg g⁻¹ de ácido tânico equivalente, estes valores estão acima do obtido para a jabuticaba, 6,88 a 8,16 mg g⁻¹ de ácido tânico eq. (Fortes et al., 2011).

Segundo a análise de variância (ANOVA *two-way*) não houve interação entre os dois fatores: variedade de pitanga e estágio de maturação do fruto ($p > 0,05$), dessa forma o teste de Tukey foi aplicado de forma independente para as duas variáveis (Tabela 1). Na comparação das médias de todas as variedades concluiu-se que não ocorreu variação significativa nos níveis de taninos durante o amadurecimento,

independente da variedade de pitanga. A comparação entre as variedades mostrou que a média da concentração de taninos de todos estádios da variedade vermelha-alaranjada diferiu de forma significativa da variedade roxa (Figura 7). Sendo que a variedade vermelha não apresentou diferenças significativas nos níveis de taninos em relação às outras duas.

Em vários frutos, tais como uva, mirtilo e caqui, é comum que os taninos diminuam de concentração principalmente nos últimos estádios de maturação (Obreque-Slier *et al.*, 2010; Fadda e Mulas, 2010; Del Bubba *et al.*, 2009). Entretanto, foi observado que na jabuticaba os níveis de taninos não apresentaram diferença significativa entre os estádios verde e maduro, considerando tanto o fruto inteiro quanto suas partes: semente, polpa e casca (Fortes *et al.*, 2011).

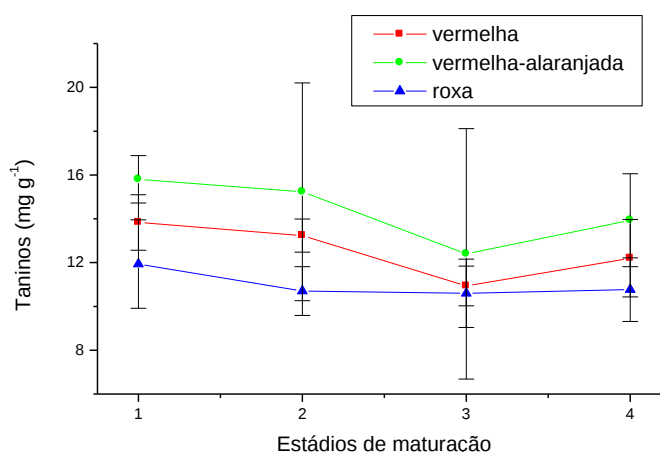


Figura 7. Concentração de taninos durante quatro estádios de maturação das variedades de pitanga vermelha, vermelha-alaranjada e roxa.

4.1.1 Fenóis totais

Todos os tipos de compostos fenólicos presentes na pitanga, tais como antocianinas, taninos, ácidos fenólicos, depsídeos e flavonoides, foram quantificados pelo ensaio de fenóis totais (Tabela 1). Os resultados mostram que a quantidade de fenóis totais varia de 25,02 a 40,86 mg g⁻¹ de ácido tânico equivalente, e de novo foram acima dos obtidos em estudo anterior para a jabuticaba, que variou de 12,7 a 24,2 mg g⁻¹ de ácido tânico eq. (Fortes *et al.*, 2011).

A análise de variância (ANOVA-two way) mostrou que tanto para taninos quanto para fenóis totais não existe interação entre os dois fatores. Comparando apenas as

médias dos teores de fenóis totais nos frutos inteiros das três variedades de pitanga observamos que não existe diferença significativa entre elas (Tabela 1).

Denardin e colaboradores (2015) avaliaram a concentração de fenóis totais e a capacidade antioxidante somente nas polpas de frutos maduros de três variedades de pitanga: roxa, laranja e vermelha. A polpa da variedade roxa apresentou maior concentração de fenóis totais ($8,00 \text{ mg g}^{-1}$), seguida da variedade laranja ($4,57 \text{ mg g}^{-1}$) e vermelha ($4,34 \text{ mg g}^{-1}$). Resultados semelhantes foram encontrados por Celli *et al.* (2011) e Lima *et al.* (2002), onde a quantidade de fenóis totais das polpas de frutos de pitanga roxa foi maior do que nos frutos da variedade vermelha.

Durante o amadurecimento do fruto ocorreu diferença significativa entre as médias do primeiro e do último estágio (Tabela 1 e Figura 8), sendo a média das concentrações de fenóis totais maior no primeiro ($34,41 \text{ mg g}^{-1}$) do que no quarto estágio ($26,51 \text{ mg g}^{-1}$). Este mesmo padrão de diminuição de fenóis totais durante o desenvolvimento dos frutos foi observado anteriormente para frutos de pitanga das variedades, vermelha e roxa (Celli *et al.*, 2011) e também em outros frutos, tais como a jabuticaba, romã, mirtilo e oxicoco (Fortes *et al.*, 2011; Kulkarni e Aradhya, 2005; Fadda e Mulas, 2010; Vvedenskaya e Vorsa, 2004).

O estudo da capacidade antioxidante de frutos de diferentes variedades de pitanga mostrou que existe uma correlação forte entre o conteúdo de fenóis totais e a atividade antioxidante dos frutos. Frutos com maiores teores de fenóis totais tiveram maior capacidade antioxidante do que frutos com menores teores (Celli *et al.*, 2011; Denardin *et al.*, 2015).

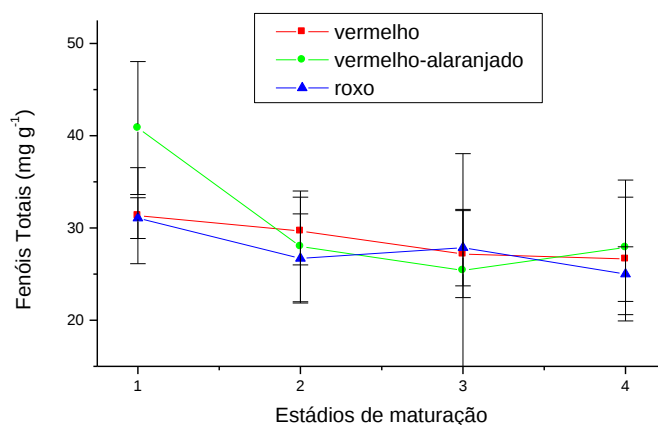


Figura 8. Concentração de fenóis totais durante quatro estádios de maturação das variedades de pitanga vermelha, vermelha-alaranjada e roxa.

4.2 Constituintes Químicos dos Óleos Essenciais

Vários estudos têm relatado a composição química dos óleos essenciais de folhas de *E. uniflora*, bem como sua variabilidade sazonal e atividades biológicas. Neste trabalho, realizou-se a identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais de três variedades de frutos desta espécie em quatro diferentes estádios de maturação, caracterizados pela coloração dos frutos.

Os óleos essenciais dos frutos das variedades vermelha, vermelha-alaranjada e roxa apresentaram rendimentos médios de $0,090\% \pm 0,047$, $0,120\% \pm 0,030$ e $0,040\% \pm 0,014$, respectivamente.

Através de análise por CG/EM foi possível identificar no total 28 substâncias, sendo que destas, 16 substâncias foram detectadas nos óleos essenciais dos frutos de pitanga vermelha, 18 substâncias para pitanga vermelha-alaranjada e 18 substâncias para pitanga roxa (Figura 9, Apêndice 2 e 3). Estes resultados foram analisados através de ANOVA *two-way* e estão apresentados nas Tabelas 2 a 8. Os dados com média e desvio padrão dos constituintes químicos dos óleos essenciais de cada variedade se encontram no apêndice 3.

Os principais componentes identificados para a pitanga vermelha foram três sesquiterpenos oxigenados: germacrona (39,67-46,54%), curzereno (14,36-15,75%) e atractilona (6,90-10,10%); um hidrocarboneto sesquiterpeno: germacreno B (4,11-5,61%); e três hidrocarbonetos monoterpênicos: (E)- β -Ocimeno (5,01-6,81%), (Z)- β -Ocimeno (2,17-2,97%) e mirceno (1,50-1,98%); representando em média 82,06 % do total de constituintes químicos dos óleos desta variedade em diferentes estádios de maturação. Monoterpenos oxigenados não foram detectados em nenhuma fase de amadurecimento para a pitanga vermelha. Para a variedade vermelha-alaranjada os compostos majoritários foram três sesquiterpenos oxigenados: selina-1,3,7(11)-trien-8-one (36,06-41,22%), epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one (19,36-34,28%) e germacrona (6,31-9,26%); um hidrocarboneto sesquiterpênico: germacreno B (4,08-5,88%); e três hidrocarbonetos monoterpênicos: (E)- β -Ocimeno (5,68-10,06%), (Z)- β -Ocimeno (2,34-4,14%) e mirceno (0,97-1,64%); representando em média 89,29% do total de constituintes químicos desta variedade. Apenas na pitanga vermelha-alaranjada detectou-se a presença do monoterpreno oxigenado linalol (0,1-0,34%). Na variedade de pitanga roxa as principais substâncias detectadas foram seis sesquiterpenos oxigenados: germacrona (51,56-56,80%), selina-1,3,7(11)-trien-8-one

(11,04-14,31%), curzereno (4,10-5,11%), epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one (3,70-5,86%), espatulenol (3,18-4,91%) e atractilona (0,72-1,50%); dois sesquiterpenos hidrocarbonetos: germacreno B (5,46-8,36%) e (E)-cariofileno (1,02-1,64%); e um monoterpene hidrocarboneto: (E)- β -ocimeno (0,58-1,48%); representando em média 90,83% do total de constituintes químicos dos frutos desta variedade em diferentes estádios de maturação. Monoterpenos oxigenados não foram detectados em nenhuma fase de amadurecimento da variedade de pitanga roxa.

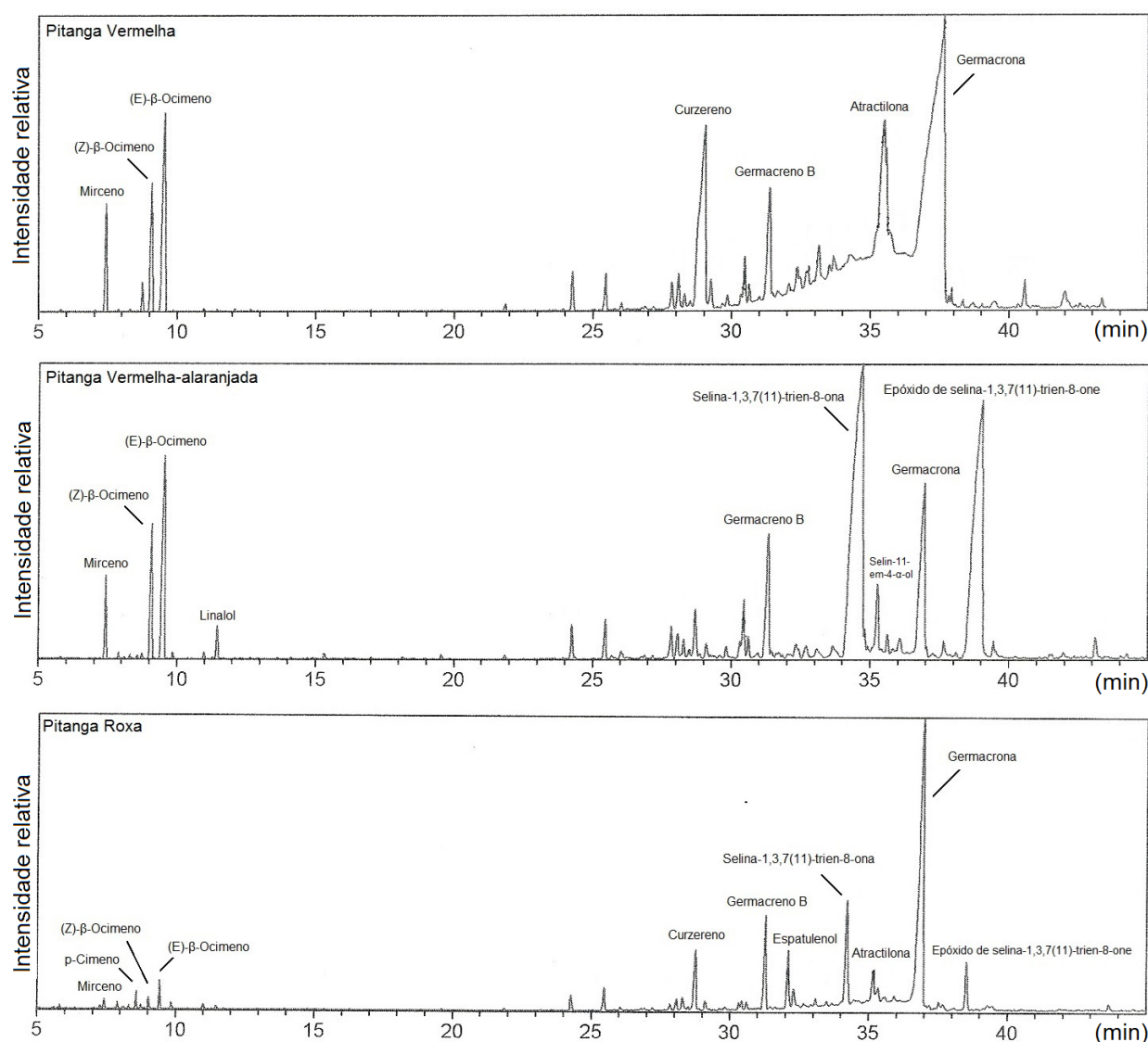


Figura 9. Cromatograma do óleo essencial de frutos de *E. uniflora* das variedades vermelha, vermelha-alaranjada e roxa.

Foi possível observar que apenas nove substâncias identificadas nos óleos essenciais ocorreram nas três variedades. A análise de variância (ANOVA *two-way*) mostrou que cinco destas (mirceno, (Z)- β -ocimeno, (E)-cariofileno, amorfa-4,7(11)-dieno e germacreno B) possuem interação entre os dois fatores analisados (Tabela 2): variedade de pitanga e estágio de maturação do fruto, indicando que as variações nas concentrações destes constituintes dos óleos essenciais depende tanto da variedade quanto do estágio.

Tabela 2. Valores médios^a dos constituintes químicos coincidentes de óleos essenciais de frutos das variedades vermelha, vermelha-alaranjada e roxa de *E. uniflora* em quatro estádios de maturação que possuem interação entre os dois fatores analisados na análise de variância (ANOVA *two-way*).

IR	Constituintes	Variedades	Estádios			
			1	2	3	4
990	Mirceno ^b	Vermelha	1,98 aA	1,77abA	1,50 bA	1,94 aA
		Vermelha-alaranjada	1,34 aB	1,34 aA	1,64 aA	0,97 bB
		Roxa	0,08 cC	0,23 bB	0,28 bB	0,44 aC
1037	(Z)- β -Ocimeno	Vermelha	2,81 aA	2,53 aB	2,17 aB	2,97 aA
		Vermelha-alaranjada	3,06 bA	4,14 aA	4,09 aA	2,34 bA
		Roxa	0,27 aB	0,78 aC	0,46 aC	0,63 aB
1419	(E)-Cariofileno ^b	Vermelha	0,91 aAB	0,71 bB	1,11 aA	1,17 aB
		Vermelha-alaranjada	0,82 aB	0,83aAB	0,72 aB	0,70 aC
		Roxa	1,21 bA	1,02 bA	1,09 bA	1,64 aA
1481	Amorfa-4,7(11)-dieno	Vermelha	1,43 abA	1,32abA	1,22 bA	1,66 aA
		Vermelha-alaranjada	0,58 bB	0,98aAB	0,92 abA	0,80abB
		Roxa	0,58 bB	0,87abB	1,07 aA	0,66 bB
1561	Germacreno B ^b	Vermelha	4,59 abA	4,11 bB	5,54 bC	5,61 aA
		Vermelha-alaranjada	4,08 bB	5,62 aA	5,88 aB	5,76 aA
		Roxa	5,46 bAB	6,56 bA	8,36 aA	6,49 bA

^a Valores são as médias (n=3) baseadas nos dados originais. ^bTransformado pelo arcoseno. Médias seguidas por mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Estádios de maturação para pitangas vermelhas e vermelhas-alaranjadas: verde (1), amarela (2), laranja (3) e vermelha (4); e para as pitangas roxas: verde-amarela (1), laranja (2), vermelha (3) e roxa (4). IR = Índice de Retenção.

No quarto estágio de maturação, a variedade vermelha apresentou um teor do constituinte mirceno duas vezes maior que a variedade vermelha-alaranjada e quatro vezes maior que a variedade roxa. No primeiro e quarto estádios a análise de variância mostrou que há diferença significativa entre as três variedades, porém no segundo e terceiro estádios não houve diferença significativa entre as variedades vermelha e vermelha-alaranjada, mas estas diferem da variedade roxa. Durante a maturação da pitanga roxa observamos que ocorre um aumento gradual do primeiro ao quarto estágio (0,08-0,44%). Um padrão oposto foi observado para a variedade vermelha-alaranjada.

O monoterpreno (Z)- β -ocimeno possui as maiores concentrações nos segundo e terceiro estádios da variedade vermelha-alaranjada, 4,14 e 4,09% respectivamente, nestes mesmos estádios a análise de variância mostrou que entre as três variedades estudadas existem diferenças significativas, o mesmo não é observado para o primeiro e quarto estádios, onde as variedades vermelha e vermelha-alaranjada não diferem significativamente. Durante a maturação dos frutos das variedades vermelha e roxa não ocorreram diferenças significativas nos teores de (Z)- β -ocimeno.

As concentrações do hidrocarboneto sesquiterpeno (E)-cariofileno foram diferentes ($p < 0,05$) entre as três variedades somente no quarto estágio de maturação, onde a pitanga roxa apresentou o maior teor desta substância, 1,64%, após um aumento significativo. A variedade vermelha-alaranjada manteve a concentração constante de (E)-cariofileno durante todo o amadurecimento (Tabela 2).

A variedade vermelha exibiu os maiores teores do sesquiterpeno amorfa-4,7(11)-dieno nos estádios 1, 2 e 4, enquanto as outras duas variedades não tiveram diferenças significativas entre seus conteúdos em todos os estádios. Comparando-se os diferentes estágios para cada variedade, observou-se que todas as três apresentaram variações significativas nas concentrações deste sesquiterpeno durante a maturação.

A maior concentração de germacreno B foi observada no terceiro estádio da variedade roxa, 8,36%. Neste estádio observamos diferença significativa entre as três variedades de pitanga, diferente do quarto estádio onde não há diferença entre elas. Ocorreram variações significativas nos teores deste sesquiterpeno em diferentes estádios para cada variedade.

Na análise de variância (ANOVA *two-way*) dos outros quatro constituintes que ocorrem nas três variedades ((E)- β -ocimeno, β -elemeno, β -selineno e Germacrona) não houve interação entre os dois fatores: variedade de pitanga e estágio de maturação do fruto ($p > 0,05$), dessa forma o teste de Tukey foi aplicado de forma independente para as duas variáveis (Tabela 3).

Independente da variedade de pitanga, não ocorreu variação significativa nos níveis do sesquiterpeno (E)- β -ocimeno durante o amadurecimento. As médias das concentrações deste componente nas variedades vermelha e vermelha-alaranjada não diferem significativamente, ao contrário da média na variedade roxa, que foi bem inferior às outras duas.

Tabela 3. Valores médios^a dos constituintes químicos coincidentes de óleos essenciais de frutos das variedades vermelha, vermelha-alaranjada e roxa de *E. uniflora* em quatro estádios de maturação que não possuem interação entre os dois fatores analisados na análise de variância (ANOVA *two-way*).

IR	Constituintes	Variedades	Estádios				Médias
			1	2	3	4	
1050	(E)- β -Ocimeno ^b	Vermelha	6,81	6,30	5,01	5,36	5,87 A
		Vermelha-alaranjada	7,04	10,06	9,54	5,68	8,08 A
		Roxa	0,58	1,39	1,14	1,48	1,15 B
		Média	4,81 a	5,92 a	5,23 a	4,17 a	
1390	β -Elemeno	Vermelha	0,90	0,93	1,55	1,33	1,17 A
		Vermelha-alaranjada	0,59	0,60	0,65	0,64	0,62 B
		Roxa	0,62	0,64	0,81	1,03	0,77 B
		Média	0,70 b	0,72 ab	1,00 a	1,00 a	
1490	β -Selineno	Vermelha	0,43	0,46	0,87	0,60	0,59 A
		Vermelha-alaranjada	0,41	0,30	0,50	0,27	0,37 B
		Roxa	0,51	0,56	0,71	0,68	0,61 A
		Média	0,45 b	0,44 b	0,69 a	0,52 ab	
1693	Germacrona	Vermelha	46,54	45,16	39,67	42,84	43,55B
		Vermelha-alaranjada	9,26	6,31	6,50	7,18	7,31 C
		Roxa	56,80	56,57	51,56	53,89	54,70 A
		Média	37,53 a	36,01ab	32,58 b	34,64ab	

^a Valores são as médias (n=3) baseadas nos dados originais. ^bTransformado pelo arcoseno. Médias seguidas por mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Estádios de maturação para pitangas vermelhas e vermelhas-alaranjadas: verde (1), amarela (2), laranja (3) e vermelha (4); e para as pitangas roxas: verde-amarela (1), laranja (2), vermelha (3) e roxa (4). IR = Índice de Retenção.

A análise de variância das médias dos estádios do constituinte β -elemeno mostrou que ocorreu diferença significativa entre o primeiro e os dois últimos estádios de maturação do fruto. Comparando-se as médias entre as três variedades, verificam-se diferenças significativas entre a variedade vermelha, que possui os maiores teores, e as outras duas que apresentam menor quantidade deste composto.

O sesquiterpeno β -selineno aumentou de forma significativa entre o segundo e terceiro estágio de maturação, independente da variedade de pitanga. As variedades vermelha e roxa possuem as maiores médias deste composto e divergiram de forma significativa da variedade vermelha-alaranjada.

Independente do estágio de maturação, ocorreram diferenças significativas nos teores do sesquiterpeno germacrona entre todas as variedades, sendo a roxa mais rica neste composto seguida da variedade vermelha e por último a pitanga vermelha-alaranjada, com teores bem inferiores. Durante a maturação somente os estádios 1 e 3 mostraram diferenças significativas na concentração deste sesquiterpeno.

Na tabela 3 observa-se que a germacrona é o constituinte majoritário do óleo essencial de pitanga roxa. Costa e colaboradores (2010) ao comparar os óleos essenciais de folhas de diferentes variedades de pitangueira (frutos roxo, vermelho e vermelho-alaranjado) observaram que os óleos essenciais das folhas da variedade de

fruto roxo foram discriminados dos demais biotipos pela alta quantidade deste mesmo composto (Figura 3).

Em seu estudo, Song e colaboradores (2014), concluíram através da análise dos mínimos quadrados parciais que a germacrona, constituinte do óleo essencial de *Curcumae wenyujin*, está relacionado a atividade antitumoral deste óleo. Em outro estudo a germacrona apresentou atividade antiviral contra parvovirose suína, protegendo as células contra infecção viral e suprimindo a síntese do RNA mensageiro deste vírus, o que sugere o uso desta substância como candidato potencial para a terapia antiviral (Chen *et al.*, 2015). Dessa forma pode-se sugerir que as variedades roxa e vermelha, que apresentam altos teores deste constituinte químico, possuem atividades biológicas semelhantes às estudadas anteriormente, porém ainda se faz necessário analisar se existem efeitos sinérgico ou antagônico induzidos pela presença dos outros constituintes dos óleos.

Dentre as substâncias identificadas nos óleos das três variedades apenas seis ocorrem concomitantemente em pelo menos duas variedades (β -chamigreno, α -selineno, curzereno, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, atractilona e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one). A análise de variância (ANOVA *two-way*) mostrou que em duas delas, β -chamigreno e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one, existe interação entre os dois fatores analisados: variedade de pitanga e estágio de maturação do fruto. As demais substâncias não apresentaram interação entre os dois fatores (Tabela 4).

O constituinte β -chamigreno foi detectado apenas nas variedades de pitanga vermelha e vermelha-alaranjada (Tabela 4). A análise de variância mostra que só existe diferença significativa entre os teores das duas variedades no terceiro estágio, que é maior na variedade vermelha (1,74%). As concentrações deste constituinte variam de forma significativa em ambas as variedades.

Apenas duas substâncias foram coincidentes nas variedades vermelha e roxa e ausente na vermelha-alaranjada: curzereno e atractilona. Na análise de variância para estes dois constituintes não ocorreu interação entre os dois fatores, assim comparando-se as médias dos estágios concluiu-se que não houve variação significativa nos níveis de curzereno e atractilona durante o amadurecimento. A comparação de ambos constituintes entre as variedades mostrou que as médias da variedade vermelha foram maiores que as da variedade roxa.

Costa e colaboradores (2010) já haviam observado que os óleos essenciais das folhas da variedade de fruto vermelho foram discriminados dos demais biotipos pelo

constituente curzereno ($43 \pm 1\%$; Figura 3). Neste estudo, apesar dos teores deste constituinte serem menores (média 15,04%) do que os apresentados nos óleos das folhas, ocorre que a concentração deste é cerca de três vezes maior na variedade vermelha do que na roxa (4,62%) e até ausente na variedade vermelha-alaranjada.

Tabela 4. Valores médios^a dos constituintes químicos coincidentes de óleos essenciais de frutos de pelo menos duas variedades de *E. uniflora* em quatro estádios de maturação.

IR	Constituintes	Variedades	Estádios				Médias
			1	2	3	4	
1477	β -Chamigreno	Vermelha	0,72 bA	0,89 bA	1,74 aA	0,81 bA	
		Vermelha-alaranjada	0,63 bA	1,11 aA	0,84abB	0,48 bA	
		Roxa	-	-	-	-	
1498	α -Selineno	Vermelha	-	-	-	-	
		Vermelha-alaranjada	1,29	1,76	1,77	1,21	1,51 A
		Roxa	0,51	0,59	0,84	0,41	0,60 B
		Média	0,90 ab	1,18 ab	1,30 a	0,81 b	
1499	Curzereno ^c	Vermelha	14,41	14,36	15,63	15,75	15,04A
		Vermelha-alaranjada	-	-	-	-	
		Roxa	4,10	4,59	4,68	5,11	4,62B
		Média	9,25a	9,48a	10,16a	10,43a	
1634	Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	Vermelha	-	-	-	-	
		Vermelha-alaranjada	38,02	41,22	37,45	36,06	38,19A
		Roxa	13,78	11,36	14,31	11,04	12,62B
		Média	25,90a	26,29a	25,88a	23,55a	
1658	Atractilona	Vermelha	6,90	10,10	9,47	7,42	8,47A
		Vermelha-alaranjada	-	-	-	-	
		Roxa	1,14	1,46	0,72	1,50	1,20B
		Média	4,02a	5,78a	5,09a	4,46a	
1748	Epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona ^b	Vermelha	-	-	-	-	
		Vermelha-alaranjada	27,16abA	19,36cA	24,94bcA	34,28aA	
		Roxa	5,43 aB	4,20 aB	5,86 aB	3,70 aB	
		Roxa	88,73aA	84,78abA	83,41bA	84,70abA	

^a Valores são as médias (n=3) baseadas nos dados originais. ^bTransformado pelo arcoseno. ^cTransformado pela ordem dos mesmos (rank) na ANOVA. Médias seguidas por mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Estádios de maturação para pitangas vermelhas e vermelhas-alaranjadas: verde (1), amarela (2), laranja (3) e vermelha (4); e para as pitangas roxas: verde-amarela (1), laranja (2), vermelha (3) e roxa (4). IR = Índice de Retenção; (-) não detectado.

Alguns sesquiterpenos, como o curzereno e germacrene B, são termossensíveis e podem sofrer reações eletrocíclicas sob condições de alta temperatura na análise CG/EM, gerando artefatos na coluna cromatográfica (Chang *et al.*, 2011; Quassinti *et al.*, 2014). O resultado dessas reações é evidenciado nos cromatogramas por uma região larga acima da linha base, como o obtido para a variedade vermelha (Figura 9 e Apêndice 2).

Furanosesquiterpenos têm chamado atenção dos cientistas pelas suas atividades como hepato protetora, anti-inflamatória e anticancerígenas (Quassinti *et al.*,

2014). O curzereno, por exemplo, apresentou atividade antiproliferativa contra células tumorais humanas HCT 116 (Quassinti *et al.*, 2014).

O furanosesquiterpeno oxigenado atractilona possui grande importância na medicina tradicional chinesa, seu uso está relacionado às suas atividades anti-inflamatórias, hipotérmica e anticancerígena (Amorin, 2009).

Somente três constituintes estão presentes exclusivamente nas variedades vermelha-alaranjada e roxa: α -selineno, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one. Comparando-se as médias entre as duas variedades, observamos que independente do estágio de maturação a pitanga vermelha-alaranjada apresentou os maiores teores, 1,51% para o constituinte α -selineno e 38,19% para selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, este último não variou durante a maturação dos frutos.

O sesquiterpeno epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one está em maiores níveis nos frutos da variedade vermelha-alaranjada em todos os estágios de maturação (19,36-34,28%), quando comparado aos frutos da variedade roxa. Diferentemente da variedade roxa, onde não há variação dos teores deste componente durante o processo de maturação, na pitanga vermelha-alaranjada ocorre uma diminuição da concentração deste composto na transição do primeiro para o segundo estágio, seguido de um aumento significativo no final do processo.

Selina-1,3,7(11)-trien-8-one e o epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one foram os dois constituintes majoritários dos óleos essenciais de frutos de pitanga vermelha-alaranjada, independente do estágio de maturação. Em estudo anterior, estes dois compostos diferenciaram os óleos de folhas de pitanga vermelha-alaranjada dos óleos da variedade roxa (Costa *et al.*, 2010).

Vários trabalhos mostraram que estes dois constituintes estão presentes na composição dos óleos essenciais das folhas e dos frutos de pitanga (Victoria *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2006; Ogunwande *et al.*, 2005; Malaman *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2009; Costa *et al.*, 2010). No presente trabalho observamos que a presença e os teores da selina-1,3,7(11)-trien-8-one e do epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one dependem da variedade de pitanga.

Foram identificadas quatro substâncias exclusivas dos óleos essenciais da variedade vermelha: limoneno, δ -amorfeno, δ -cadineno e α -cadineno (Tabela 5). A análise de variância mostrou que os três primeiros constituintes citados não apresentam diferença significativa nos seus teores durante a maturação dos frutos, já o

α -cadineno mostrou variação significativa apenas entre o terceiro e quarto estágio de maturação.

Tabela 5. Valores médios^a dos constituintes químicos exclusivos dos óleos essenciais de frutos da variedade vermelha *E. uniflora* em quatro estádios de maturação.

IR	Constituintes	Variedades	Estádios			
			1	2	3	4
1029	Limoneno	Vermelha	0,55 a	0,51 a	0,34 a	0,54 a
		Vermelha-alaranjada	-	-	-	-
		Roxa	-	-	-	-
1512	δ -Amorfenol	Vermelha	1,19 a	0,92 a	0,73 a	1,29 a
		Vermelha-alaranjada	-	-	-	-
		Roxa	-	-	-	-
1523	δ -Cadineno	Vermelha	0,3 a	0,33 a	0,48 a	0,40 a
		Vermelha-alaranjada	-	-	-	-
		Roxa	-	-	-	-
1538	α -Cadineno	Vermelha	0,85 ab	0,87 ab	1,37 a	0,39 b
		Vermelha-alaranjada	-	-	-	-
		Roxa	-	-	-	-

^a Valores são as médias (n=3) baseadas nos dados originais. Médias seguidas por mesmas letras minúsculas não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Estádios de maturação para pitangas vermelhas e vermelhas-alaranjadas: verde (1), amarela (2), laranja (3) e vermelha (4); e para as pitangas roxas: verde-amarela (1), laranja (2), vermelha (3) e roxa (4). IR = Índice de Retenção; (-) não detectado.

Para a variedade vermelha-alaranjada houveram cinco substâncias exclusivas: linalol, zonareno, selina-3,7(11)-dieno, selin-11-em-4- α -ol e acetato de cusinol (Tabela 6). Os constituintes linalol e selina-3,7(11)-dieno apresentaram diferença significativa nos seus teores apenas entre o segundo e quarto estágio de maturação. O zonareno apresentou o maior nível de concentração no segundo estágio e o menor no quarto estágio. As concentrações de selin-11-em-4- α -ol se mantiveram constantes durante todo o desenvolvimento dos frutos. O acetato de cusinol não foi detectado no segundo estágio de maturação e ocorre diferença significativa apenas no terceiro estágio.

Na pitanga roxa temos quatro substâncias detectadas apenas nesta variedade: p-cimeno, γ -cupreneno, espatulenol e óxido de cariofileno (Tabela 7). A análise de variância mostrou que não existem diferenças significativas entre os estádios de maturação nos teores dos constituintes p-cimeno, γ -cupreneno, e óxido de cariofileno. O espatulenol apresenta um aumento significativo somente no último nível de maturação.

Tabela 6. Valores médios^a dos constituintes químicos exclusivos dos óleos essenciais de frutos da variedade vermelha-alaranjada *E. uniflora* em quatro estádios de maturação.

IR	Constituintes	Variedades	Estádios			
			1	2	3	4
1096	Linalol	Vermelha	-	-	-	-
		Vermelha-alaranjada	0,46 ab	0,60 a	0,34 ab	0,1 b
		Roxa	-	-	-	-
1529	Zonareno	Vermelha	-	-	-	-
		Vermelha-alaranjada	1,61 bc	2,53 a	1,97 ab	0,94 c
		Roxa	-	-	-	-
1546	Selina-3,7(11)-dieno	Vermelha	-	-	-	-
		Vermelha-alaranjada	0,40 ab	0,61 a	0,46 ab	0,18 b
		Roxa	-	-	-	-
1658	Selin-11-em-4- α -ol	Vermelha	-	-	-	-
		Vermelha-alaranjada	1,52 a	1,30 a	0,64 a	1,26 a
		Roxa	-	-	-	-
1823	Acetato de cusinol	Vermelha	-	-	-	-
		Vermelha-alaranjada	0,49 a	-	0,16 b	0,46 a
		Roxa	-	-	-	-

^a Valores são as médias (n=3) baseadas nos dados originais. Médias seguidas por mesmas letras minúsculas não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Estádios de maturação para pitangas vermelhas e vermelhas-alaranjadas: verde (1), amarela (2), laranja (3) e vermelha (4); e para as pitangas roxas: verde-amarela (1), laranja (2), vermelha (3) e roxa (4). IR = Índice de Retenção; (-) não detectado.

Tabela 7. Valores médios^a dos constituintes químicos exclusivos dos óleos essenciais de frutos da variedade roxa *E. uniflora* em quatro estádios de maturação.

IR	Constituintes	Variedades	Estádios				Médias
			1	2	3	4	
1024	p-Cimeno	Vermelha	-	-	-	-	
		Vermelha-alaranjada	-	-	-	-	
		Roxa	0,38 a	0,49 a	0,50 a	0,88 a	
1533	γ -Cupreneno	Vermelha	-	-	-	-	
		Vermelha-alaranjada	-	-	-	-	
		Roxa	0,18 a	0,49 a	0,37 a	0,36 a	
1578	Espatulenol	Vermelha	-	-	-	-	
		Vermelha-alaranjada	-	-	-	-	
		Roxa	3,27 b	3,41 b	3,18 b	4,91 a	
1583	Óxido de cariofileno	Vermelha	-	-	-	-	
		Vermelha-alaranjada	-	-	-	-	
		Roxa	1,10 a	0,32 a	0,40 a	1,47 a	

^a Valores são as médias (n=3) baseadas nos dados originais. Médias seguidas por mesmas letras minúsculas não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Estádios de maturação para pitangas vermelhas e vermelhas-alaranjadas: verde (1), amarela (2), laranja (3) e vermelha (4); e para as pitangas roxas: verde-amarela (1), laranja (2), vermelha (3) e roxa (4). IR = Índice de Retenção; (-) não detectado.

As estruturas químicas dos principais constituintes identificados nos óleos essenciais das três variedades, bem como o histograma da percentagem de cada constituinte na composição total dos óleos estão apresentados na Figura 10.

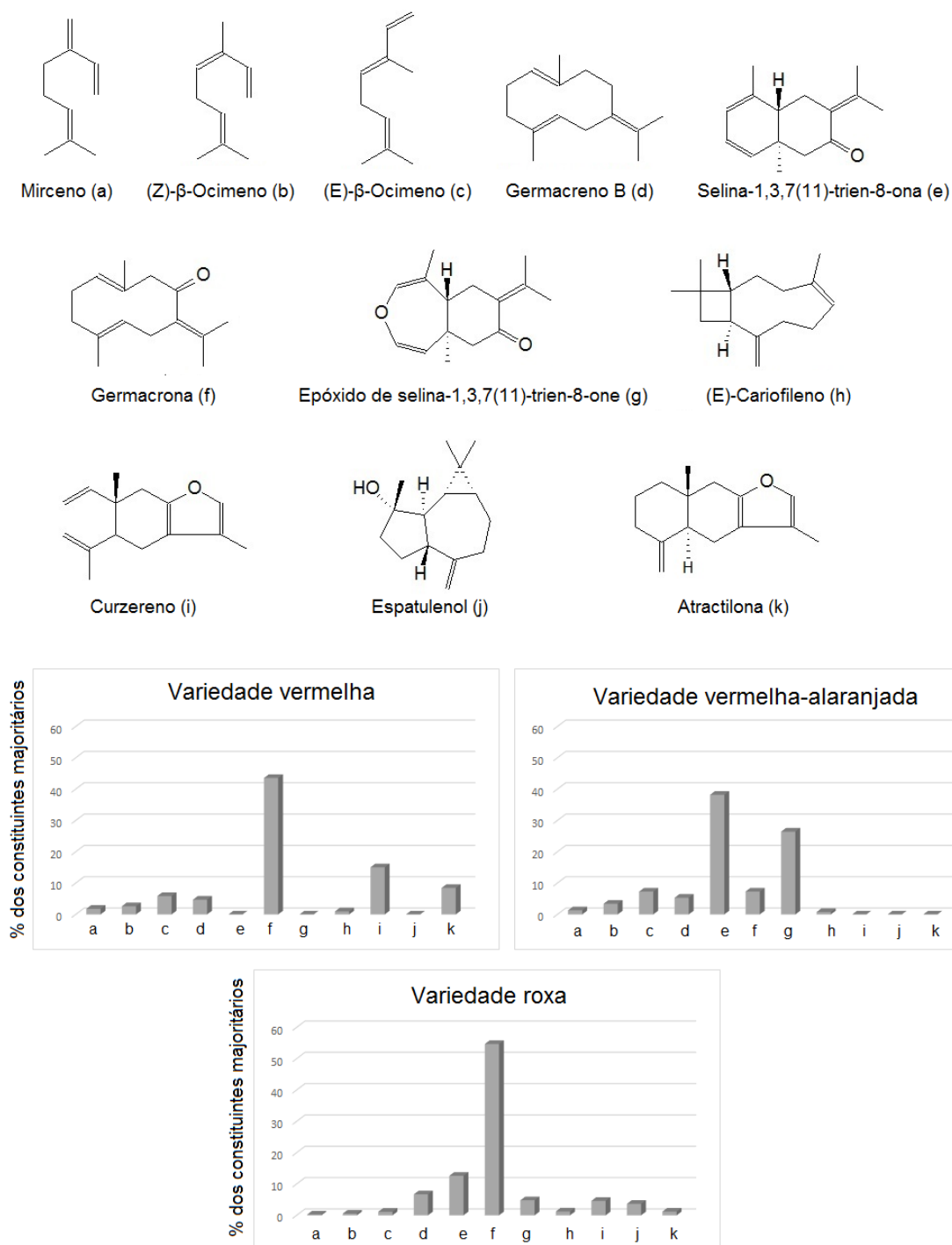


Figura 10. Estruturas dos principais constituintes identificados dos óleos essenciais dos frutos de pitanga vermelha, vermelha-alaranjada e roxa e histograma da percentagem de cada constituinte na composição total dos óleos.

Através desses resultados é possível evidenciar que os sesquiterpenos são os constituintes majoritários dos frutos das três variedades em todos os estádios de maturação, sendo que a variedade roxa apresenta os maiores níveis desta classe de constituintes (Tabela 8). Não foram observadas diferenças significativas no total de

sesquiterpenos para as variedades roxa e vermelha ao longo do desenvolvimento dos frutos, enquanto para a pitanga vermelha-alaranjada houve um decréscimo nos estádios 2 e 3.

Tabela 8. Valores médios^a dos principais constituintes químicos separados em classes de óleos essenciais de frutos das variedades vermelha, vermelha-alaranjada e roxa de *E. uniflora* em quatro estádios de maturação.

Constituintes	Variedades	Estádios				Médias
		1	2	3	4	
Hidrocarbonetos monoterpênicos	Vermelha	12,15	11,11	9,02	10,81	10,77A
	Vermelha-alaranjada	11,44	15,54	15,27	8,99	12,81A
	Roxa	1,22	2,62	2,38	3,43	2,41 B
	Média	8,27 a	9,76 a	8,89 a	7,74 a	
Monoterpenos oxigenados	Vermelha	-	-	-	-	
	Vermelha-alaranjada	0,46 ab	0,60 a	0,34 ab	0,1 b	
	Roxa	-	-	-	-	
Hidrocarbonetos sesquiterpenos	Vermelha	11,32	10,54	13,61	13,26	12,18 A
	Vermelha-alaranjada	10,42	14,34	13,70	10,98	12,36 A
	Roxa	9,06	10,72	13,25	11,28	11,07 A
		10,27 b	11,86 ab	13,52 a	11,84ab	
Sesquiterpenos oxigenados	Vermelha	67,84aC	69,63aB	64,76aB	66,01aC	
	Vermelha-alaranjada	77,22abB	68,50cB	69,97bcB	79,40aB	
	Roxa	88,73aA	84,78abA	83,41bA	84,70abA	
Monoterpenos ^b	Vermelha	12,15aA	11,11aB	9,02aB	10,81aA	
	Vermelha-alaranjada	11,90abA	16,14aA	15,61aA	9,09bA	
	Roxa	1,22aB	2,62aC	2,38aC	3,43aB	
Sesquiterpenos	Vermelha	79,16aC	80,17aB	78,37aC	79,27aC	
	Vermelha-alaranjada	87,64aB	82,85bAB	83,68bB	90,39aB	
	Roxa	97,79aA	95,50aA	96,66aA	95,98aA	
Total (%)	Vermelha	91,31	91,28	87,39	90,08	
	Vermelha-alaranjada	99,54	98,99	99,29	99,48	
	Roxa	99,01	98,12	99,04	99,41	
Rendimento (% p/p)	Vermelha	0,14	0,12	0,05	0,04	
	Vermelha-alaranjada	0,14	0,08	0,12	0,11	
	Roxa	0,06	0,03	0,04	0,03	

^a Valores são as médias (n=3) baseadas nos dados originais. ^bTransformado pela ordem dos mesmos (rank) na ANOVA. Médias seguidas por mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Estádios de maturação para pitangas vermelhas e vermelhas-alaranjadas: verde (1), amarela (2), laranja (3) e vermelha (4); e para as pitangas roxas: verde-amarela (1), laranja (2), vermelha (3) e roxa (4). IR = Índice de Retenção; (-) não detectado.

A classe de sesquiterpenos é dividida em sesquiterpenos oxigenados e hidrocarbonetos sesquiterpenos, sendo os primeiros mais abundantes nas três variedades analisadas (Tabela 8). Na classe dos sesquiterpenos oxigenados as três variedades diferem significativamente no primeiro e último estágio de maturação, porém no segundo e terceiro estádios não existe diferença significativa entre as variedades vermelha e vermelha-alaranjada. Durante a maturação, os níveis de sesquiterpenos oxigenados não variam para a variedade vermelha. Para a classe de hidrocarbonetos sesquiterpenos não ocorre diferença significativa entre as três

variedades, porém durante o desenvolvimento dos frutos os estádios 1 e 3 diferem significativamente.

A prevalência de sesquiterpenos, principalmente os oxigenados, também foi observada em óleos essenciais de frutos da pitangueira coletados no Nordeste Brasileiro, em Cuba e na Nigéria (Malaman *et al.*, 2011; Pino *et al.*, 2003; Ogunwande *et al.*, 2005), já os frutos oriundos do Rio Grande do Sul apresentaram uma quantidade maior de sesquiterpenos hidrocarbonetos (48,5 %) (Marin *et al.*, 2008). Dessa forma, nossos resultados sugerem que além dos fatores geográficos a composição dos óleos essenciais é influenciada diretamente pela variedade de pitanga.

Os hidrocarbonetos monoterpênicos foram menos abundantes na variedade roxa. A análise de variância mostra que para esta classe não existe interação entre os dois fatores estudados. Comparando apenas as médias dos teores de hidrocarbonetos monoterpênicos nos frutos das três variedades observamos que não existe diferença significativa entre as variedades vermelha e vermelha-alaranjada, porém estas diferem da variedade roxa. Na comparação das médias dos estádios concluiu-se os níveis desta classe permaneceram constantes durante o amadurecimento, independente da variedade de pitanga.

Diferente das variedades de pitanga do presente estudo, variações nas concentrações de mono e sesquiterpenos durante o amadurecimento foram descritas para a espécie *Eugenia dysenterica*, conhecida como cagaita, onde monoterpênicos diminuíram sua concentração drasticamente no último estágio de maturação, ao contrário dos sesquiterpenos que tiveram um aumento também drástico na mesma fase (Duarte *et al.*, 2008).

A variação dos constituintes voláteis, tanto das folhas quanto do fruto, depende da região cultivada, condições climáticas, genótipo e desenvolvimento ontogenético (Ogunwande *et al.*, 2005). A escolha do método de extração para a análise também é um fator que influencia os resultados obtidos da composição dos óleos essenciais.

Oliveira e colaboradores (2006), ao extraírem o óleo de frutos de pitanga pelo método Porapak-Q, obtiveram óleos ricos em monoterpênicos (75%), sendo os constituintes principais o (E)- β -Ocimeno (36,2%) e o (Z)- β -Ocimeno (13,4%). O sesquiterpeno oxigenado selina-1,3,7(11)-trien-8-one, que já foi detectado como constituinte principal de óleos de folhas de algumas variedades de pitanga (Costa *et al.*, 2010) e como constituinte principal dos óleos dos frutos da variedade vermelha-alaranjada (38,19%) estudada neste trabalho, também foi detectado (0,8%) por esse

método, sua presença nos óleos essenciais dos frutos sugere propriedades terapêuticas semelhantes às das folhas (Oliveira *et al.*, 2006). Os dois monoterpenos citados acima estão presentes na composição dos constituintes voláteis das três variedades de frutos de pitanga, porém em quantidades diferentes e em menor percentual.

Os constituintes dos óleos essenciais das folhas e dos frutos de pitanga oriundos da Nigéria, foram estudados por Ogunwande e colaboradores (2005) e apresentam, em sua composição, vários constituintes coincidentes, porém em diferentes percentuais. Os componentes majoritários dos óleos das folhas foram curzereno (19,7%), Selina-1,3,7(11)-trien-8-one (17,8%), atractilona (16,9%) e furanodieno (9,6%) e para os frutos foram germacrona (27,5%), selina-1,3,7(11)-trien-8-one (19,2%), curzereno (11,3%) e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one (11,0%). Apesar de ambos os óleos, das folhas e dos frutos, apresentarem excelente inibição citotóxica para as linhas de células de tumores humanos de PC-3 e Hep G2 e completa inibição do crescimento de Hs 578T, os óleos das folhas apresentaram, especificamente, atividade na inibição do crescimento de *Bacillus cereus* enquanto os óleos dos frutos tiveram efeito antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* (Ogunwande *et al.*, 2005). O perfil dos constituintes majoritários dos frutos da Nigéria é semelhante ao perfil detectado para os frutos da variedade roxa deste trabalho.

O que se tem observado é que compostos presentes nos óleos voláteis das folhas geralmente estão presentes nos óleos dos frutos (Melo *et al.*, 2007). Apesar de ambos os óleos terem similaridades em algumas atividades biológicas, as semelhanças existentes na composição dos constituintes voláteis das folhas e frutos não garantem igualdade em todas as propriedades terapêuticas.

Os constituintes majoritários dos óleos essenciais das folhas de *E. uniflora* coletadas na região sul do Brasil mostram que a classe de hidrocarbonetos sesquiterpenos teve predominância na composição dos óleos, seguida da classe de sesquiterpenos oxigenados, 56,8% e 32,9%, respectivamente (Victoria *et al.*, 2012). A classe de hidrocarbonetos sesquiterpenos é composta por germacreno B (21,2%), germacreno A (11,6%) e germacreno C (11,4%) e classe de sesquiterpenos oxigenados é composta por epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one (19,3%), selina-1,3,7(11)-trien-8-one (9,7%) e curzereno (3,9%). Todos os constituintes citados acima foram detectados em nossas amostras em pelo menos duas variedades, porém em

diferentes teores, com exceção do germacreno A e germacreno C, que não foram detectados em nenhuma variedade analisada neste trabalho.

A atividade biológica destes óleos, obtidos da região sul do Brasil, foi analisada e apresentou atividade antimicrobiana contra duas bactérias patogênicas, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, e contra dois fungos, *C. lipolytica* e *C. guilliermondii* (Victoria *et al.*, 2012). Em outro trabalho, Victoria e colaboradores (2013), mostraram que estes mesmos óleos apresentaram atividade antidepressiva, pelo menos em parte, atuando no sistema serotoninérgico e adrenérgico, dessa forma, acredita-se que sesquiterpenos não-oxigenados e oxigenados possuem importante efeito antidepressivo.

Algumas características dos frutos, como intensidade do sabor e aroma, possuem grande importância para a exploração comercial, seja no consumo *in natura* ou em produtos industrializados. Malaman e colaboradores (2011), ao estudarem a relação entre os compostos extraídos e a característica da intensidade do sabor do fruto de pitanga, observaram que os constituintes que mais colaboram para o sabor são β -damascenona, 5,6,7,7a-tetraidro-4-4-7a-trimetil-2(4H)-benzoluranona, germacreno B, espatulenol, selina-1,3,7(11)-trien-8-one, 10-(1-metiletenil)-(E,E)-3,7-ciclodicadien-1ona, farnesil acetona e 2-etil-2-metil-tridecanol. O constituinte germacreno B foi detectado na três variedades estudadas neste trabalho, enquanto o sesquiterpeno selina-1,3,7(11)-trien-8-one não foi detectado na variedade vermelha e o componente espatulenol está presente apenas na variedade roxa. Dessa forma, podemos concluir que o sabor das três variedades é diferente pela composição química distinta entre elas. Os demais componentes relacionados a intensidade de sabor, não foi detectado em nenhuma variedade estudada.

O aroma das folhas foi estudado e como resultado obtiveram nove constituintes relacionados com o aroma (Melo *et al.*, 2011), dentre estes, quatro também foram identificados em pelo menos uma das três variedades de frutos de pitanga estudadas neste trabalho e apresentam aromas diferentes: β -elemeno (5,9%), aroma limão fresco e apimentado; espatulenol (3,8%), aroma amadeirado; atractilona (1,8%), aroma verde e floral; e curzereno e furanodieno (50,2%), aroma amadeirado e picante (Melo *et al.*, 2011).

O estudo da variabilidade sazonal dos óleos essenciais de folhas de pitanga vermelha-alarajanda indicou a presença de dois grupos de óleos em relação às duas estações do Cerrado brasileiro. O grupo I incluiu amostras coletadas na estação seca

(abril-setembro), caracterizadas por conterem as mais altas percentagens de espatulenol (10%) e óxido de cariofileno (4,1%). No grupo II, com amostras coletadas na estação úmida (outubro-março), período que ocorre a frutificação da pitangueira, o constituinte majoritário foi o epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (29%) (Costa *et al.*, 2009).

Os óleos do fruto da variedade vermelha-alaranjada, analisados neste trabalho, apresentam altos teores de epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, entretanto não foi detectado os constituintes espatulenol e óxido de cariofileno, dessa forma, observamos que os constituintes voláteis dos frutos se relacionam com os constituintes voláteis das folhas pelo período de frutificação da pitangueira, o que sugere que a biossíntese dos constituintes dos óleos essenciais dos frutos são relacionados aos das folhas e que estes também se relacionam com a sazonalidade.

5. CONCLUSÕES

Através dos resultados apresentados neste trabalho é possível evidenciar:

- Diferenças significativas nas quantidades de compostos fenólicos e nas composições químicas dos compostos voláteis entre as três variedades de frutos de pitanga;
- Os teores de antocianinas apresentaram diferenças marcantes entre os estádios de maturação estudados, principalmente para a variedade roxa;
- As concentrações de taninos não variaram significativamente durante a maturação nas três variedades;
- Alguns constituintes químicos não apresentaram diferenças significativas entre os estádios de maturação do fruto nas três variedades, enquanto em outros as diferenças foram marcantes entre cada estágio;
- Os resultados sugerem que além dos fatores geográficos e sazonais, a composição dos óleos essenciais é influenciada diretamente pela variedade de pitanga e possui moderada variação durante o amadurecimento do fruto.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinois, 2007.

Ali, Z.M.; Chin, L.H.; Lazan, H. A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. *Plant Science* 167, 317-327, 2004.

Alice, C.B., Vargas, V.M.F., Silva, G.A.B., Siqueira, N.C.S., Achapoval, E.E.S., Gleye, J. Henriques J.A.B. & Henriques, A.T. Screening of plants used in south Brazilian folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 35, 165-171, 1991.

Amorim, A.C.L.; Lima, C.K.F.; Hovella, A.M.C.; Miranda, A.L.P.; Rezende, C.M. Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga). *Phytomedicine* 16, 923–928, 2009.

Barazani, O.; Cohen, Y.; Fait, A.; Diminshtein, S.; Dubai, N.; Ravid, U.; Putiesvsky, E.; Friedman, J. Chemotypic differentiation in indigenous populations of *Foeniculum vulgare* var. *vugare* in Israel. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.30, p.721-731, 2002.

Bezerra, J.E.F.; Silva, J.F.J.; Lederman, I.E. *Pitanga (Eugenia uniflora L.)*. Jaboticabal: Funep, 30p., 2000.

Bicas, J.L.; Molina, G.; Dionísio, A.P.; Barros, F.F.C.; Wagner, R.; Maróstica Jr., M.R.; Pastore, G.M. Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. *Food Research International* 44, 1843–1855, 2011.

Bouzada, M.L.; Fabril, R.L.; Nogueira, M.; Konno, T.U.P.; Duarte, G.G.; Scio, E. Antibacterial, cytotoxic and phytochemical screening of some traditional medicinal plants in Brazil. *Pharmaceutical Biology*, 47(1), 44-52, 2009.

Castañeda-Ovando, A.; Pacheco-Hernandez, M. L.; Paez-Hernandez, M.E.; Rodriguez, J.A.; Galan-Vidal, C.A. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* 113, 859–871, 2009.

Celli, G.B.; Pereira-Netto, A.B.; 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 Research International*, 44(8), 2442-2451, 2011.

Chang, R.; Morais, S.A.L.; Napolitano, D.R.; Duarte, K.C.; Guzman, V.B.; Nascimento, E.A. A new approach for quantifying furanodiene and curzerene. A case study on the essential oils of *Eugenia uniflora* (pitangueira) leaves.

Chen, Y.; Dong, Y.; Jiao, Y.; Hou, L.; Shi, Y.; Gu, T.; Zhou, P.; Shi, Z.; Xu, L.; Wang, C. *In vitro* antiviral activity of germacrone against porcine parvovirus. Arch Virol 160, 1415-1420, 2015.

Chirinos, R.; Galarza, J.; Pallardel-Betalleluz, I.; Pedreschi, R.; Campos, D. Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. Food Chemistry 120, 1019-1024, 2010.

Consolini, A. E., Baldini, O.A.N. & Amat, A.G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L-(Myrtaceae) as antihypertensive. Journal of Ethnopharmacology 66, 33-39, 1999.

Consolini, A. E; Sarubbio, M. G. Pharmacological effects of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) aqueous crude extract on rat's heart. Journal of Ethnopharmacology, 81(1), 57-63, 2002.

Costa, D.P.; Santos, C.S.; Seraphin, J.C.; Ferri, P.H. Seasonal variability of essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. Journal of Brazilian Chemical Society, 20, 1287-1293, 2009.

Costa, D.C.; Alves Filho, E.G.; Silva, L.M.A.; Santos, S.C.; Passos, X.S.; Silva, M.R.R.; Seraphin, J.C.; Ferri, P.H. Influence of fruit biotypes on the chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. Journal of Brazilian Chemical Society, 21(5), 851-858, 2010.

Costa, A.S.; Ribeiro, L.R.; Koblitz, M.G.B. Uso de atmosfera controlada e modificada em frutos climatéricos e não-climatéricos. Sitientibus série Ciências Biológicas, 11(1): 1-7, 2011.

Costa, A.G.V.; Garcia-Diaz, D.F.; Jimenez, P.; Silva, P.I.; Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. Journal of Functional Foods, 5, 539-549, 2013.

Del Bubba, M., Giordani, E.; Pippucci, L.; Cincinelli, A.; Chencchini, L.; Galvan, P. Changes in tannins, ascorbic acid and sugar content in astringent persimmons during on-tree growth and ripening and in response to different postharvest treatments. Journal of Food Composition and Analysis, 22, 668-677, 2009.

Denardin, C.C.; Hirsch, G.E.; Rocha, R.F.; Vizzotto, M.; Henriques, A.T.; Moreira, J.C.F. Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. Journal of Food and Drug Analysis, 2015.

Duarte, A.R.; Costa, A.R.T.; Santos, S.C.; Ferri, P.H.; Paula, J.R.; Naves, R.V. Changes in volatile constituents during fruit ripening of wild *Eugenia dysenterica* DC. Journal of Essential Oil Research, 20, 30-32, 2008.

Einbond, L.S., Reynertson, K.A., Luo, X.D., Basile, M., Kennelly, E. Anthocyanin antioxidant from edible fruits. *Food Chemistry*, 84, 23–28, 2004.

Escarpa, A.; González, M. C. Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica Acta*, 427, 119-127, 2001.

Fadda, A.; Mulas, M. Chemical Changes Durin Myrtle (*Myrtus communis* L.) Fruit Development and ripening. *Scientia Horticulturae*, 125, 477-485, 2010.

Figueirôa, E.O.; Silva, L.C.N.; Melo, C.M.L.; Neves, A.L.; Silva, N.H.; Pereira, V.R.A.; Correia, M.T.S. Evaluation of Antioxidant, Immunomodulatory, and Cytotoxic Action of Fractions from *Eugenia uniflora* L. and *Eugenia malaccensis* L.: Correlation with Polyphenol and Flavanoid Content. *The Scientific World Journal*. 2013, 1-7, 2013.

Fontana, C.; Gasper, A. L.; Sevegnani, L. Rare and common Myrtaceae species in Santa Catarina Seasonal Deciduous forest, Brazil. *Rodriguésia* 65(3): 767-776, 2014.

Fortes, G.A.C.; Carvalho, A.G.; Ramalho, R.R.F.; Silva, A.J.R.; Ferri, P.H.; Santos, S.C. Antioxidant activities of hydrolysable tannins and flavonoid glycosides isolated from *Eugenia uniflora* L. *Records of Natural Products*, 9:2, 251-256, 2015.

Fortes, G.A.C.; Naves S.S.; Godoi, F.F.F.; Duarte A.R.; Ferri P.H.; Santos S.C. Assessment of a maturity index in jabuticaba fruit by the evaluation of phenolic compounds, essential oil components, sugar content and total acidity. *American Journal of Food and Technology*, 6, 974-984, 2011.

Gbolade, A.A., Ilesanmi, O.R., & Aladesanmi, A.J. The contractile effects of the extracts of *Eugenia uniflora* on isolated rat duodenum. *Phytotherapy Research* 10, 613-615, 1996.

Gressler, E.; Pizo, M.A.; Morellato, L.P.C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, V.29, n.4, 509-530, 2006.

Henriques, A.T., Sobral, M.E., Cauduro, A.D., Schapoval, E.E., Bassani, V.L., Lamaty, G., Menut, C., Bessiere, J.M. Aromatic plants from Brazil. II. The chemical composition of some *Eugenia* essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 5, 501–505, 1993.

Kulkarni, A.P.; Aradhya, S.M. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, 93, 319-324, 2005.

Lattanzio, V. Bioactive polyphenols: Their role quality and storability of fruit and vegetables. *Journal of Applied Botany*, 77, 128-146, 2003.

Lee, M.H.; Nishimoto, S.; Yang, L.L.; Yen, K.Y.; Hatano, T.; Yoshida, T.; Okuda, T. Two macrocyclic hydrolysable tannin dimers from *Eugenia uniflora*. *Phytochemistry*, 44(7), 1343-1349, 1997.

Lee, J.; Durst, R.W.; Wrolstad, R.E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*. V.99, n.5, 1269-1278, 2005.

Lee, S.; Choi, H.K.; Cho, S.K.; Kim, Y.S. Metabolic analysis of guava (*Psidium guajava* L.) fruits at diferente ripening stages using diferente data-processing approaches. *Jornal of Chromatography B*, 878, 2983-2988, 2010.

Leshem, Y.Y.; Halvey, A.H.; Frenkel, C. Fruit Ripening. ed. Process and control of plant senescence. Amsterdam, p. 162-199, 1986.

Lima, V.L.A.G.; Mélo, E.A.; Lima, D.E.S. Fenólicos e Carotenóides Totais em Pitanga. *Scientia Agricola*, 59(3), 447-450, 2002.

Lira-Júnior, J.S.; Bezerra, J.E.F.; Lederman, I.E.; Silva, J.F.J. Pitangueira. Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, 87p., 2007.

Malaman, F.S., Moraes, L.A.B., West, C., Ferreira, N.J., Oliveira, A.L. Supercritical fluid extracts from the Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.): Relationship between the extracted compounds and the characteristic flavor intensity of the fruit. *Food Chemistry*, 124, 85–92, 2011.

Marin, R., Apel, M.A., Limberger, R.P., Raseira, M.C.B., Pereira, J.F.M., Zuanazzi, J.A.S., Henriques, A.T. Volatile components and antioxidant activity from some Myrtaceous fruits cultivated in Southern Brazil. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27, 172–177, 2008.

Martinez-Correa, H.A.; Magalhães, P.M.; Queiroga, C.L.; Peixoto, C.A.; Oliveira, A.L.; Cabral, F.A. Extracts from pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaves: Influence of Extraction Process on Antioxidant Properties and Yield of Phenolic Compounds. *The Journal of Supercritical Fluids*, 55, 998-1006, 2011.

Martínez-Lüscher, J.; Morales, F.; Sánchez-Díaz, M.; Delrot, S.; Aguirreolea, J.; Gomès, E.; Pascual, I. Climate change conditions (elevated CO₂ and temperature) and UV-B radiation affect grapevine (*Vitis vinifera* cv. Tempranillo) leaf carbon assimilation, altering fruit ripening rates. *Plant Science*, 236, 168-176, 2015.

Melo, R.M.; Corrêa, V.F.S.; Amorin, A.C.L.; Miranda, A.L.P.; Rezende, C.M. Identification of impact aroma compounds in *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga) leaf essential oil. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 18, 179-183, 2007.

Moghaddam, M.; Miran, S.N.K.; Pirbalouti, A.G.; Mehdizadeh, L.; Ghaderi, Y. Variation in essential oil composition and antioxidant activity of cumin (*Cuminum cyminum* L.) fruits during stages of maturity. *Industrial Crops and Products*, 70, 163-169, 2015.

Morais, L. M. F.; Conceição, G. M.; Nascimento, J. M. Família Myrtaceae: Análise morfológica e distribuição geográfica de uma coleção botânica. *Agrarian Academy*, v.1, n.01, 317-346, 2014.

NIST/EPA/NIH National Institute of Standards and Technology; Pc version of the mass spectral data base, U. S. Department of commerce: Gaithersburg, 1998.

Obreque-Slier, E.; Peña-Neira, A.; López-Solís, R. L.; Zamora-Marín, F.; Ricardo-Da-Silva, J. M.; Laureano, O. Comparative Study of the Phenolic Composition of Seeds and Skins from Carménère and Cabernet Sauvignon Grape Varieties (*Vitis vinifera* L.) during Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 3591–3599, 2010.

Ogunwande, I.A.; Olawore, N.O.; Ekundayo, O.; Walker, T.M.; Schmidt, J.M.; Setzer, W.N. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. *The International Journal of Aromatherapy*, 15, 147-152, 2005.

Oliveira, A.L.; Lopes, R.B.; Cabral, F.A.; Eberlin, M.N. Volatile compounds from Pitanga Fruit (*Eugenia uniflora* L.). *Food Chemistry*, 99, 1-5, 2006.

Oliveira, V.B.; Yamada, L.T.; Fagg, C.W.; Brandão, M.G.L. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. *Food Research International*, 48, 170-179, 2012.

Petry, R.D., Souza K.C.B, Bassani, V.L., Petrovick, P.R., Ortega, G.G. Doseamento do Teor de Flavonóides Totais em Extratos Hidroalcoólicos de *Passiflora alata* Dryander (marucujá). *Revista Brasileira de Farmácia*, 79 (1/2), 7-10, 1998.

Pino, J.A.; Bello, A.; Urquiola, A.; Agüero, J.; Marbot, R. Fruit volatiles of Cayena cherry (*Eugenia uniflora* L.) from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, 15, 70–71, 2003.

Quassinti, L.; Maggi, F.; Barboni, L.; Ricciutelli, M.; Cortese, M.; Papa, F.; Garulli, C.; Kalogris, C.; Vittori, S.; Bramacci, M. Wild celeray (*Smyrniololus atrum* L.) oil and isofuranodiene induce apoptosis in human colon carcinoma cells. *Fitoterapia*, 97, 133-141, 2014.

Retondo, C.G.; Faria, P. Química das Sensações. Editora Átomo, p. 267, 2008.

Reynertson, K.A.; Basile, M.J.; Kennelly, E. Antioxidant potential of seven Myrtaceous fruits. *Ethnobotany Research & Applications*, 3, 25-35, 2005.

Reynertson, K.A., Yang, H., Jiang, B., Basile, M.J., Kennelly, E.J. Quantitative Analysis of Antiradical Phenolic Constituents from Fourteen Edible Myrtaceae Fruits. *Food Chemistry*, 109 (04), 883-890, 2008.

Rodrigues, K.A.F.; Amorim, L.V.; Oliveira, J.M.G.; Dias, C.N.; Morais, D.F.C.; Andrade, E.H.A.; Maia, J.G.S.; Carneiro, S.M.P.; Carvalho, F.A.A. *Eugenia uniflora* L. essential oil as a potential anti-*Leishmania* agent: effects on *Leishmania amazonenses* and possible mechanisms of action. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2013, 2013.

Santos, A.F.; Silva, S.M.R.; Mendonça, M.N.; Silva, M.S.; Alves, R.E.; Filgueiras, H.A.C. Alterações Fisiológicas Durante a Maturação de Pitanga (*Eugenia uniflora* L.). *Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture*, 46, 52-54, 2002.

Schapoval, E.E.S., Silveira, S.M., Miranda, M.L., Alice, C.B. & Henriques, A.T. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L. Journal of Ethnopharmacology, 44, 137-142, 1994.

Sobral, M.; Proença, C.; Souza, M.; Mazine, F.; Lucas, E. Myrtaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB171>>. Acesso em: 02 Jun. 2015

Song, S.; Cui, X.; Liu, X.; Yao, W.F.; Chen, J.W. Spectrum-Effect Relationships between HPLC Fingerprints and Anti-Tumor Activities of the Volatile Oil from *Curcumae wenyujin*. Latin American Journal of Pharmacy, (9), 1497-1504, 2014.

Stefanello, M.E.A.; Pascoal, A.C.R.F. Salvador, M.J. Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. Chemistry & Biodiversity, 8, 73-94, 2011.

Tadesse, T.; Nichols, M.A.; Fisher, K.J. Nutrient conductivity effects on sweet pepper plants grown using a nutrient film technique. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 27, 229-237, 1999.

Van Den Dool, H.; Kratz, P.D.J.A. Generalization of the Retention Index system including linear temperature programmed gás-liquid partition chromatography. Journal of Chromatography, 11, 463-471, 1963.

Victoria, F.N.; Lenardão, E.J.; Savegnago, L.; Perin, G.; Jacob, R.G.; Alves, D.; Silva, W.P.; Motta, A.S.; Nascente, P.S. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. Food and Chemical Toxicology, 50, 2668-2674, 2012.

Victoria, F.N.; Brahm, A.S.; Savegnago, L.; Lenardão, E.J. Involvement of serotonergic and adrenergic systems on the antidepressant-like effect of *E. uniflora* L. leaves essential oil and further analysis of its antioxidant activity. Neuroscience Letters, 544, 105–110, 2013.

Vvedenskaya, I. O. e Vorsa, N. Flavonoid composition over fruit development and maturation in America cranberry, *Vaccinium macrocarpon*. Ait. Plant Science, v. 167, p. 1043-1054, 2004.

Waterman, P.G.; Mole, S. Analysis of Phenolic Plant Metabolites. London: Blackwell Scientific Publications, p. 66-103, 1994.

Weyerstahl, P., Marschall-Weyerstahl, H., Christiansen, C., Oguntimein, O., Adeoye, A. O. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil. Planta Medica, 54, 546–549, 1988.

Apêndice 1

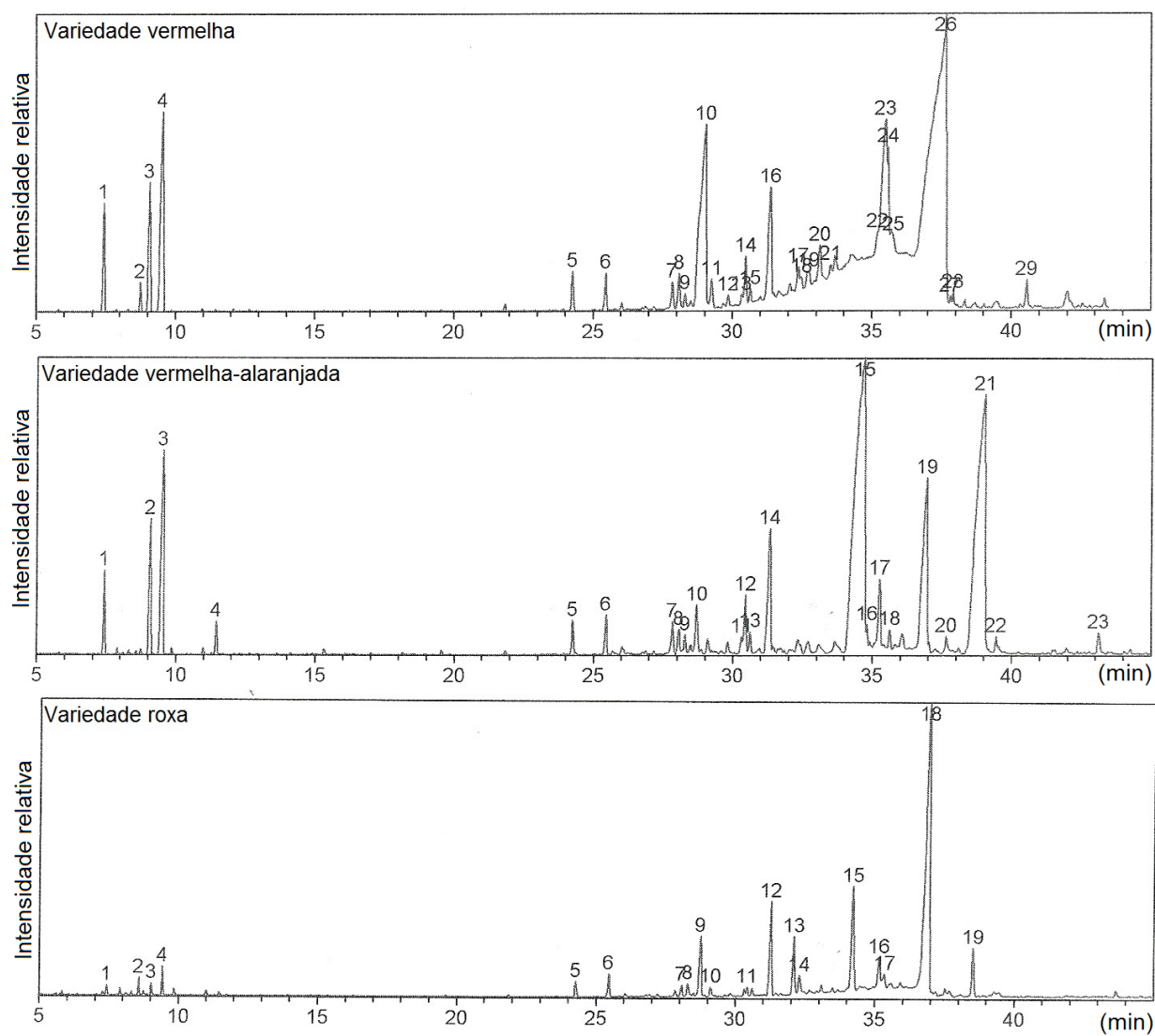
Tabela 1.1 Valores médios^a e desvios padrões das variáveis Antocianinas Totais Monoméricas (ATM), Flavonoides, Taninos e Fenóis Totais.

Variável	Variedade	Estádio			
		1	2	3	4
ATM ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Vermelha	1,65 $\pm$ 0,43	2,42 $\pm$ 0,51	3,16 $\pm$ 0,58	4,94 $\pm$ 1,90
	Vermelha-alaranjada	2,60 $\pm$ 0,41	2,99 $\pm$ 0,17	4,85 $\pm$ 1,09	11,96 $\pm$ 3,14
	Roxa	1,50 $\pm$ 0,96	6,58 $\pm$ 0,71	22,83 $\pm$ 4,92	70,30 $\pm$ 5,50
Flavonoides (mg g^{-1})	Vermelha	400,7 $\pm$ 115	291,9 $\pm$ 69,1	193,0 $\pm$ 24,4	144,7 $\pm$ 49,6
	Vermelha-alaranjada	390,9 $\pm$ 80,5	373,3 $\pm$ 73,5	183,8 $\pm$ 55,1	305,1 $\pm$ 52,0
	Roxa	156,9 $\pm$ 8,60	102,6 $\pm$ 18,7	135,9 $\pm$ 32,3	268,4 $\pm$ 51,5
Taninos (mg g^{-1})	Vermelha	13,85 $\pm$ 1,26	13,24 $\pm$ 0,78	10,94 $\pm$ 0,87	12,19 $\pm$ 1,77
	Vermelha-alaranjada	15,81 $\pm$ 1,10	15,20 $\pm$ 4,97	12,40 $\pm$ 5,70	13,94 $\pm$ 2,08
	Roxa	11,96 $\pm$ 2,03	10,70 $\pm$ 1,13	10,63 $\pm$ 1,55	10,78 $\pm$ 1,41
Fenóis T. (mg g^{-1})	Vermelha	31,31 $\pm$ 5,23	29,66 $\pm$ 3,65	27,17 $\pm$ 4,68	26,64 $\pm$ 6,70
	Vermelha-alaranjada	40,86 $\pm$ 7,20	28,00 $\pm$ 5,98	25,42 $\pm$ 12,67	27,87 $\pm$ 7,29
	Roxa	31,06 $\pm$ 2,22	26,71 $\pm$ 4,81	27,87 $\pm$ 4,11	25,02 $\pm$ 2,93

^a Valores são as médias (n=3) baseadas nos dados originais. Estádios de maturação para pitangas vermelhas e vermelhas-alaranjadas: verde (1), amarela (2), laranja (3) e vermelha (4); e para as pitangas roxas: verde-amarela (1), laranja (2), vermelha (3) e roxa (4).

Apêndice 2

Cromatogramas dos óleos essenciais dos frutos de *E. uniflora* das variedades vermelha, vermelha-alaranjada e roxa.



Apêndice 3

Tabela 3.1 Valores médios^a e desvios padrões dos constituintes químicos de óleos essenciais de frutos de *E. uniflora* da variedade vermelha em quatro estádios de maturação.

Pico	IR	Constituintes	Estádios			
			1	2	3	4
1	990	Mirceno	1,98 ± 0,06	1,77 ± 0,02	1,50 ± 0,66	1,94 ± 0,20
2	1029	Limoneno	0,55 ± 0,04	0,51 ± 0,03	0,34 ± 0,13	0,54 ± 0,10
3	1037	(Z)-β-Ocimeno	2,81 ± 0,21	2,53 ± 0,10	2,17 ± 1,23	2,97 ± 0,31
4	1050	(E)-β-Ocimeno	6,81 ± 0,48	6,30 ± 0,42	5,01 ± 3,67	5,36 ± 4,22
5	1390	β-Elemeno	0,90 ± 0,09	0,93 ± 0,08	1,55 ± 0,58	1,33 ± 0,35
6	1419	(E)-Cariofileno	0,91 ± 0,06	0,71 ± 0,05	1,11 ± 0,27	1,17 ± 0,31
7	1477	β-Chamigrene	0,72 ± 0,08	0,89 ± 0,10	1,74 ± 0,58	0,81 ± 0,32
8	1481	Amorpha-4,7(11)-dieno	1,43 ± 0,44	1,32 ± 0,18	1,22 ± 0,27	1,66 ± 0,12
9	1490	β-Selineno	0,43 ± 0,08	0,46 ± 0,04	0,87 ± 0,32	0,60 ± 0,30
10	1499	Curzereno	14,41 ± 0,18	14,36 ± 2,34	15,63 ± 3,70	15,75 ± 1,55
11	1512	δ-Amorfenos	1,19 ± 0,32	0,92 ± 0,29	0,73 ± 0,14	1,29 ± 1,20
12	1523	δ-Cadineno	0,3 ± 0,10	0,33 ± 0,05	0,48 ± 0,18	0,40 ± 0,12
13		DESC. 30,33	0,07 ± 0,13	-	0,53 ± 0,22	0,27 ± 0,28
14	1538	α-Cadineno	0,85 ± 0,27	0,87 ± 0,14	1,37 ± 0,17	0,39 ± 0,51
15		DESC. 30,667	0,16 ± 0,15	0,15 ± 0,13	0,61 ± 0,18	0,11 ± 0,20
16	1561	Germacreno B	4,59 ± 0,50	4,11 ± 0,12	5,54 ± 0,17	5,61 ± 0,98
17		DESC. 32,367	0,67 ± 0,03	0,66 ± 0,03	0,79 ± 0,26	0,58 ± 0,09
18		DESC. 32,483	0,30 ± 0,03	0,24 ± 0,21	0,17 ± 0,16	0,29 ± 0,01
19		DESC. 32,750	0,87 ± 0,16	1,00 ± 0,17	0,87 ± 0,76	0,92 ± 0,11
20		DESC. 33,150	1,15 ± 0,07	1,01 ± 0,03	1,56 ± 0,84	0,95 ± 0,11
21		DESC. 33,533	0,25 ± 0,22	0,47 ± 0,08	0,59 ± 0,29	0,29 ± 0,27
22		DESC. 35,217	1,46 ± 0,73	1,99 ± 1,78	1,63 ± 1,76	1,86 ± 0,75
23	1658	Atractilona	6,90 ± 1,92	10,10 ± 0,25	9,47 ± 2,29	7,42 ± 1,93
24		DESC. 35,600	2,12 ± 0,69	0,71 ± 1,24	2,45 ± 0,62	1,12 ± 0,97
25		DESC. 35,783	0,32 ± 0,55	0,17 ± 0,29	0,52 ± 0,90	0,17 ± 0,29
26	1693	Germacrona	46,54 ± 0,62	45,16 ± 1,97	39,67 ± 5,69	42,84 ± 5,40
27		DESC. 37,833	0,04 ± 0,07	-	0,06 ± 0,10	-
28		DESC. 37,933	0,06 ± 0,10	0,08 ± 0,13	0,05 ± 0,09	-
29		DESC. 40,567	0,33 ± 0,34	0,61 ± 0,16	0,32 ± 0,33	0,11 ± 0,19
Hidrocarbonetos monoterpênicos			12,15 ± 0,71	11,11 ± 0,55	9,02 ± 5,60	10,81 ± 4,68
Monoterpenos oxigenados			-	-	-	-
Hidrocarbonetos sesquiterpenos			11,32 ± 1,26	10,54 ± 0,99	13,61 ± 1,92	13,26 ± 1,08
Sesquiterpenos oxigenados			67,84 ± 1,62	69,63 ± 0,92	64,76 ± 0,82	66,01 ± 2,03
Monoterpenos			12,15 ± 0,71	11,11 ± 0,55	9,02 ± 5,60	10,81 ± 4,68
Sesquiterpenos			79,16 ± 0,44	80,17 ± 1,44	78,37 ± 2,08	79,27 ± 1,95
Total (%)			91,31	91,28	87,39	90,08
Rendimento (% p/p)			0,14	0,12	0,05	0,04

^a Valores são as médias (n=3) baseadas nos dados originais. Estádios de maturação para pitangas vermelhas: verde (1), amarela (2), laranja (3) e vermelha (4). IR = Índice de Retenção; (-) não detectado.

Tabela 3.2 Valores médios^a e desvios padrões dos constituintes químicos de óleos essenciais de frutos de *E. uniflora* da variedade vermelha-alaranjada em quatro estádios de maturação.

Pico	IR	Constituintes	Estádios			
			1	2	3	4
1	990	Mirceno	1,34 ± 0,07	1,34 ± 0,20	1,64 ± 0,22	0,97 ± 0,26
2	1037	(Z)-β-Ocimeno	3,06 ± 0,14	4,14 ± 0,82	4,09 ± 0,73	2,34 ± 0,38
3	1050	(E)-β-Ocimeno	7,04 ± 0,36	10,06 ± 2,62	9,54 ± 1,84	5,68 ± 0,80
4	1096	Linalol	0,46 ± 0,08	0,60 ± 0,30	0,34 ± 0,01	0,1 ± 0,1
5	1390	β-Elemeno	0,59 ± 0,09	0,60 ± 0,08	0,65 ± 0,04	0,64 ± 0,14
6	1419	(E)-Cariofileno	0,82 ± 0,02	0,83 ± 0,20	0,72 ± 0,06	0,70 ± 0,06
7	1477	β-Chamigrene	0,63 ± 0,11	1,11 ± 0,20	0,84 ± 0,10	0,48 ± 0,12
8	1481	Amorpha-4,7(11)-dieno	0,58 ± 0,04	0,98 ± 0,38	0,92 ± 0,22	0,80 ± 0,08
9	1490	β-Selineno	0,41 ± 0,02	0,30 ± 0,30	0,50 ± 0,06	0,27 ± 0,27
10	1498	α-Selineno	1,29 ± 0,20	1,76 ± 0,62	1,77 ± 0,31	1,21 ± 0,22
12	1529	Zonareno	1,61 ± 0,22	2,53 ± 0,51	1,97 ± 0,16	0,94 ± 0,37
13	1546	Selina-3,7(11)-dieno	0,40 ± 0,07	0,61 ± 0,12	0,46 ± 0,02	0,18 ± 0,18
14	1561	Germacreno B	4,08 ± 0,32	5,62 ± 1,48	5,88 ± 0,81	5,76 ± 0,30
15	1634	Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	38,02 ± 2,30	41,22 ± 3,56	37,45 ± 1,83	36,06 ± 1,40
16		Desc 34,817	0,30 ± 0,00	0,28 ± 0,28	0,40 ± 0,40	0,08 ± 0,08
17	1658	Selin-11-em-4-α-ol	1,52 ± 0,11	1,30 ± 0,74	0,64 ± 0,64	1,26 ± 0,03
18		Desc. 35,633	0,34 ± 0,04	0,32 ± 0,32	0,16 ± 0,16	-
19	1693	Germacrona	9,26 ± 0,66	6,31 ± 1,67	6,50 ± 1,51	7,18 ± 1,91
20		Desc. 37,667	0,29 ± 0,01	-	0,12 ± 0,12	0,15 ± 0,15
21	1748	Epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one	27,16 ± 0,96	19,36 ± 7,20	24,94 ± 4,49	34,28 ± 6,42
22	1776	2-α-hidroxido-amorpha-4,7(11)-dieno	0,13 ± 0,13	-	-	-
23	1823	Acetato de cusinol	0,49 ± 0,05	-	0,16 ± 0,16	0,46 ± 0,02
		Hidrocarbonetos monoterpênicos	11,44 ± 0,58	15,54 ± 3,66	15,27 ± 2,79	8,99 ± 1,43
		Monoterpenos oxigenados	0,46 ± 0,08	0,60 ± 0,30	0,34 ± 0,01	0,1 ± 0,1
		Hidrocarbonetos sesquiterpenos	10,42 ± 1,10	14,34 ± 2,64	13,70 ± 1,74	10,98 ± 1,78
		Sesquiterpenos oxigenados	77,22 ± 0,46	68,50 ± 6,36	69,97 ± 5,25	79,40 ± 3,26
		Monoterpenos	11,90 ± 0,62	16,14 ± 3,51	15,61 ± 2,78	9,09 ± 1,38
		Sesquiterpenos	87,64 ± 0,64	82,85 ± 3,73	83,68 ± 3,51	90,39 ± 1,47
		Total (%)	99,54	98,99	99,29	99,48
		Rendimento (% p/p)	0,14	0,08	0,12	0,11

^a Valores são as médias (n=3) baseadas nos dados originais. Estádios de maturação para pitangas vermelhas-alaranjadas: verde (1), amarela (2), laranja (3) e vermelha (4). IR = Índice de Retenção; (-) não detectado.

Tabela 3.3 Valores médios^a e desvios padrões dos constituintes químicos de óleos essenciais de frutos de *E. uniflora* da variedade roxa em quatro estádios de maturação.

Pico	IR	Constituintes	Estádios			
			1	2	3	4
1	990	Mirceno	0,08 ± 0,08	0,23 ± 0,29	0,28 ± 0,02	0,44 ± 0,05
2	1024	p-Cimeno	0,38 ± 0,06	0,49 ± 0,45	0,50 ± 0,17	0,88 ± 0,16
3	1037	(Z)-β-Ocimeno	0,27 ± 0,09	0,78 ± 0,22	0,46 ± 0,06	0,63 ± 0,12
4	1050	(E)-β-Ocimeno	0,58 ± 0,21	1,39 ± 1,02	1,14 ± 0,14	1,48 ± 0,28
5	1390	β-Elemeno	0,62 ± 0,14	0,64 ± 0,02	0,81 ± 0,18	1,03 ± 0,05
6	1419	(E)-Cariofileno	1,21 ± 0,21	1,02 ± 0,01	1,09 ± 1,14	1,64 ± 0,03
7	1481	Amorpha-4,7(11)-dieno	0,58 ± 0,04	0,87 ± 0,17	1,07 ± 0,18	0,66 ± 0,07
8	1490	β-Selineno	0,51 ± 0,03	0,56 ± 0,10	0,71 ± 0,15	0,68 ± 0,13
9	1498	α-Selineno	0,51 ± 0,04	0,59 ± 0,11	0,84 ± 0,15	0,41 ± 0,36
10	1499	Curzereno	4,10 ± 0,34	4,59 ± 0,24	4,68 ± 0,78	5,11 ± 0,36
11	1533	γ-Cupreneno	0,18 ± 0,18	0,49 ± 0,12	0,37 ± 0,32	0,36 ± 0,63
12	1561	Germacreno B	5,46 ± 0,04	6,56 ± 0,52	8,36 ± 0,62	6,49 ± 1,14
13	1578	Espatuleno	3,27 ± 0,21	3,41 ± 0,46	3,18 ± 0,56	4,91 ± 0,55
14	1583	Óxido de cariofileno	1,10 ± 0,16	0,32 ± 0,55	0,40 ± 0,69	1,47 ± 0,16
15	1634	Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	13,78 ± 2,10	11,36 ± 3,65	14,31 ± 2,18	11,04 ± 0,66
16		DESC. 35,167	3,12 ± 0,20	2,87 ± 0,44	2,70 ± 0,14	3,08 ± 0,12
17	1658	Atractilona	1,14 ± 0,14	1,46 ± 0,28	0,72 ± 0,62	1,50 ± 0,16
18	1693	Germacrona	56,80 ± 2,42	56,57 ± 1,14	51,56 ± 3,32	53,89 ± 2,50
19	1748	Epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one	5,43 ± 0,64	4,20 ± 1,26	5,86 ± 0,82	3,70 ± 0,25
		Hidrocarbonetos monoterpênicos	1,22 ± 0,42	2,62 ± 2,26	2,38 ± 0,10	3,43 ± 0,34
		Monoterpenos oxigenados	-	-	-	-
		Hidrocarbonetos sesquiterpenos	9,06 ± 0,24	10,72 ± 0,90	13,25 ± 0,51	11,28 ± 2,20
		Sesquiterpenos oxigenados	88,73 ± 0,73	84,78 ± 0,73	83,41 ± 0,28	84,70 ± 1,45
		Monoterpenos	1,22 ± 0,42	2,62 ± 2,26	2,38 ± 0,10	3,43 ± 0,34
		Sesquiterpenos	97,79 ± 0,96	95,50 ± 3,65	96,66 ± 0,49	95,98 ± 0,75
		Total (%)	99,01	98,12	99,04	99,41
		Rendimento (% p/p)	0,06	0,03	0,04	0,03

^a Valores são as médias (n=3) baseadas nos dados originais. Estádios de maturação para pitangas roxas: verde-amarela (1), laranja (2), vermelha (3) e roxa (4). IR = Índice de Retenção; (-) não detectado.

Apêndice 4

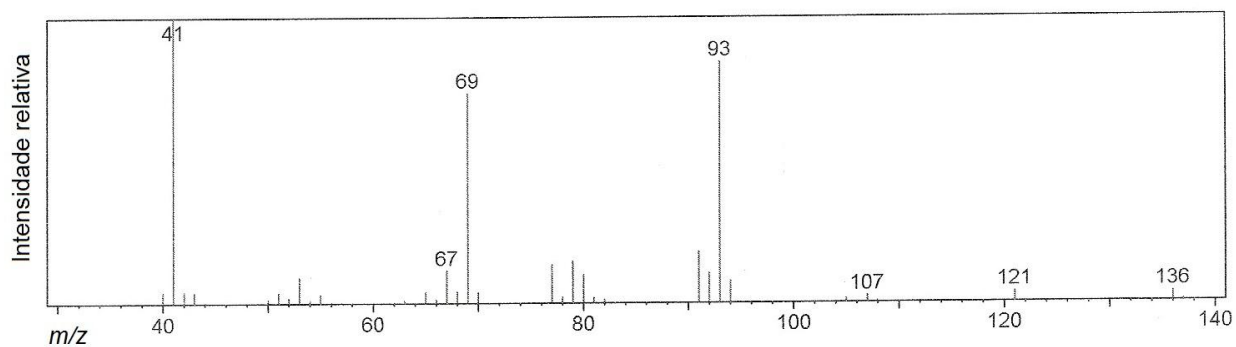
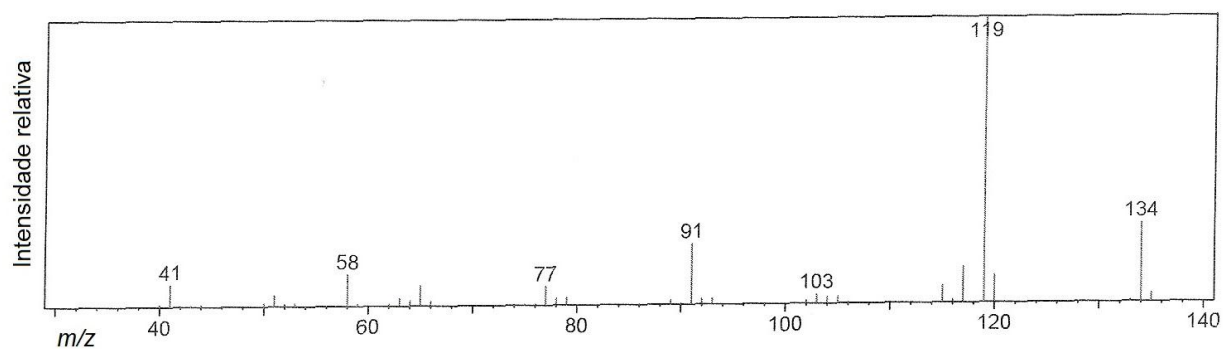
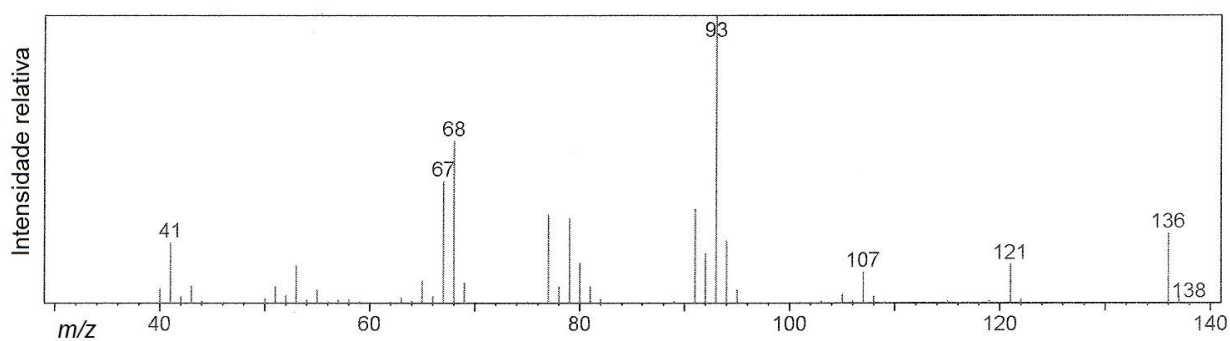
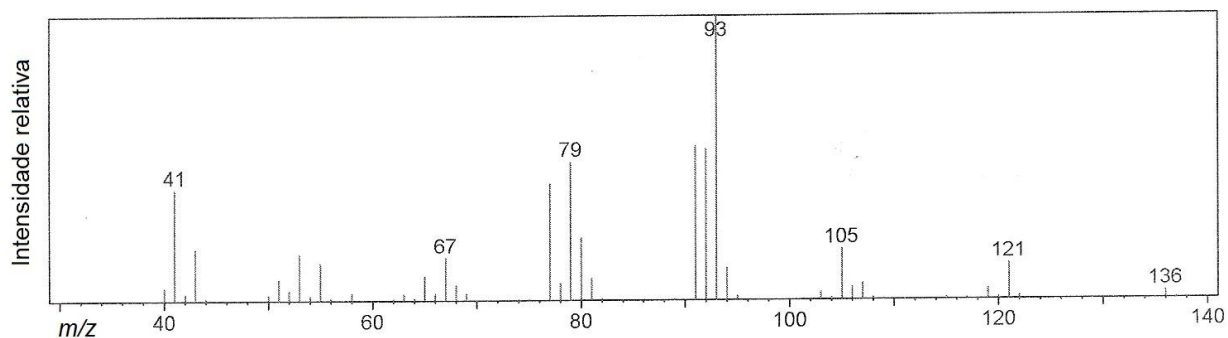
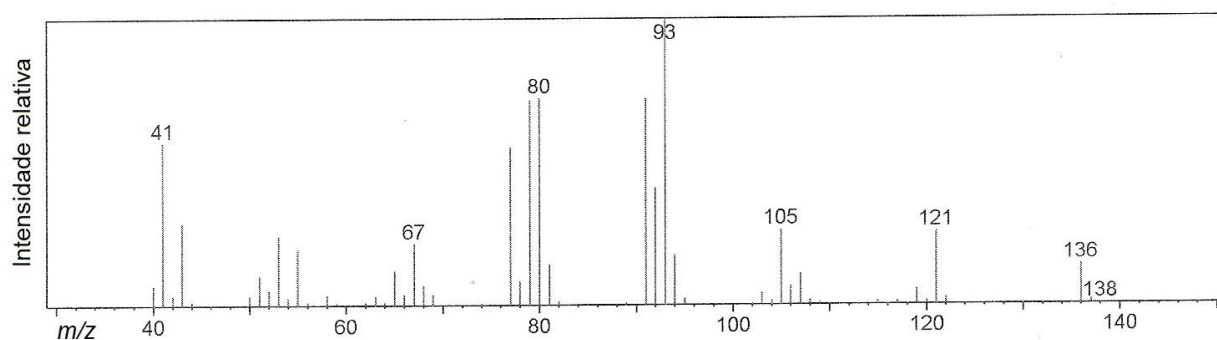
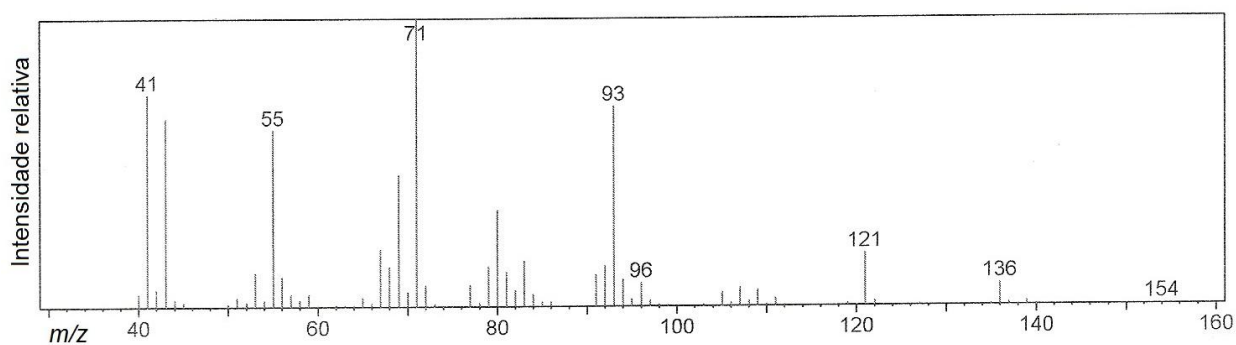
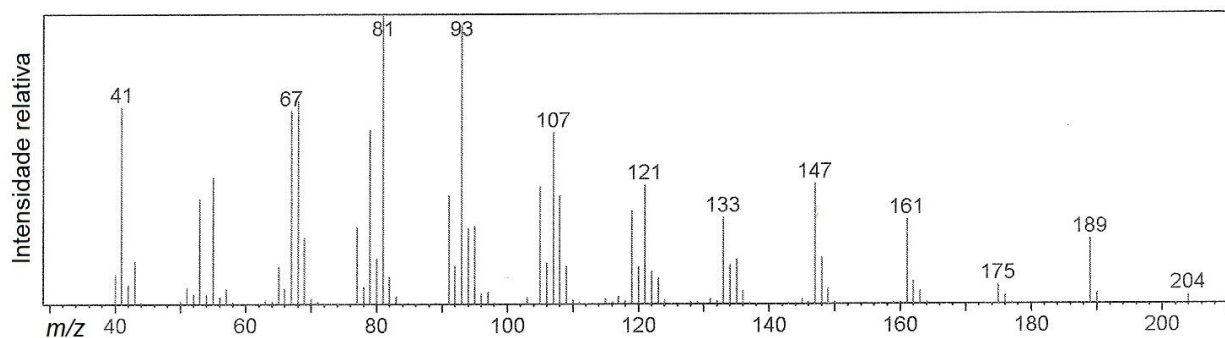
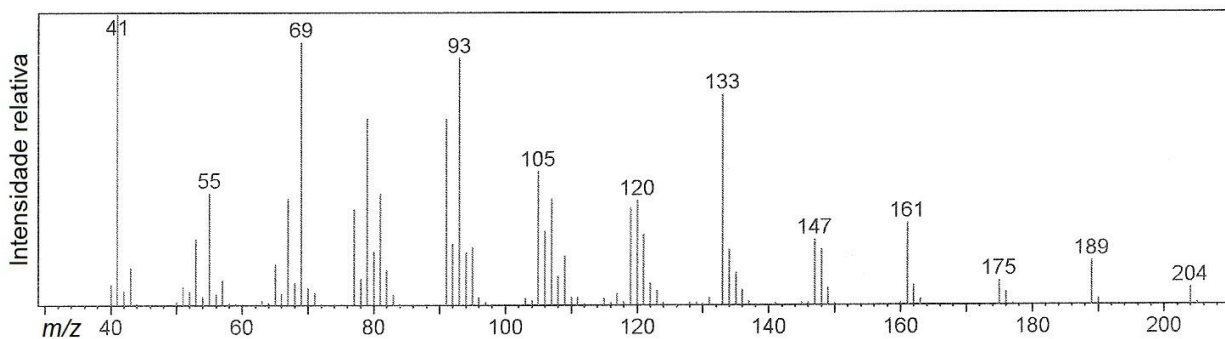
**Figura 4.1** - Espectro de massas do constituinte mirceno**Figura 4.2** - Espectro de massas do constituinte p-cimeno**Figura 4.3** - Espectro de massas do constituinte limoneno

Figura 4.4 - Espectro de massas do constituinte (Z)- β -ocimeno**Figura 4.5** - Espectro de massas do constituinte (E)- β -ocimeno**Figura 4.6** - Espectro de massas do constituinte linalol**Figura 4.7** - Espectro de massas do constituinte β -elemeno**Figura 4.8** - Espectro de massas do constituinte (E)-cariofileno

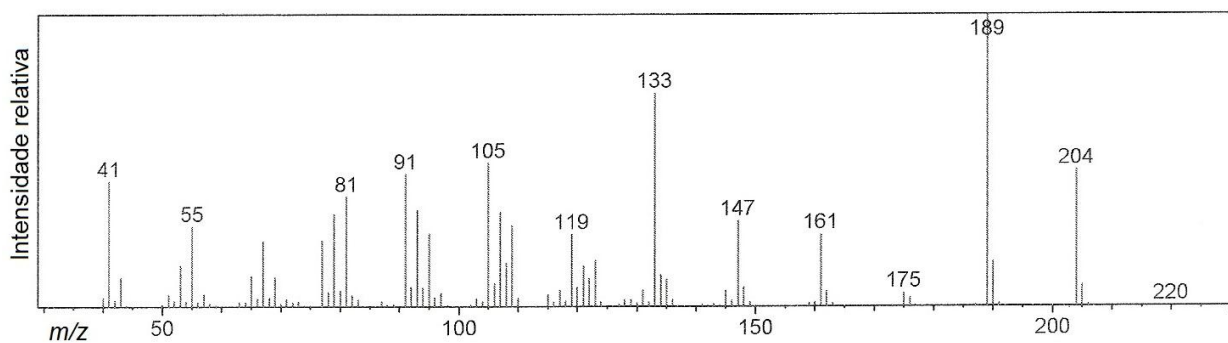


Figura 4.9 - Espectro de massas do constituinte β -chamigreno

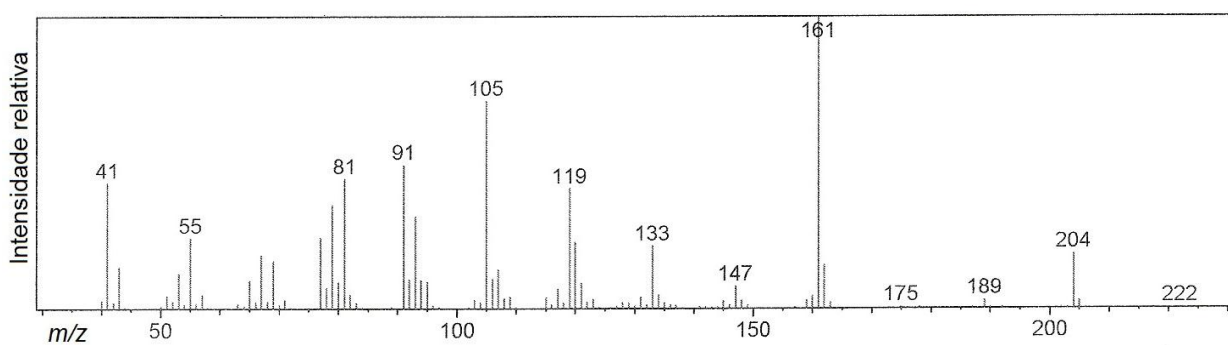


Figura 4.10 - Espectro de massas do constituinte amorfa-4,7(11)-diene

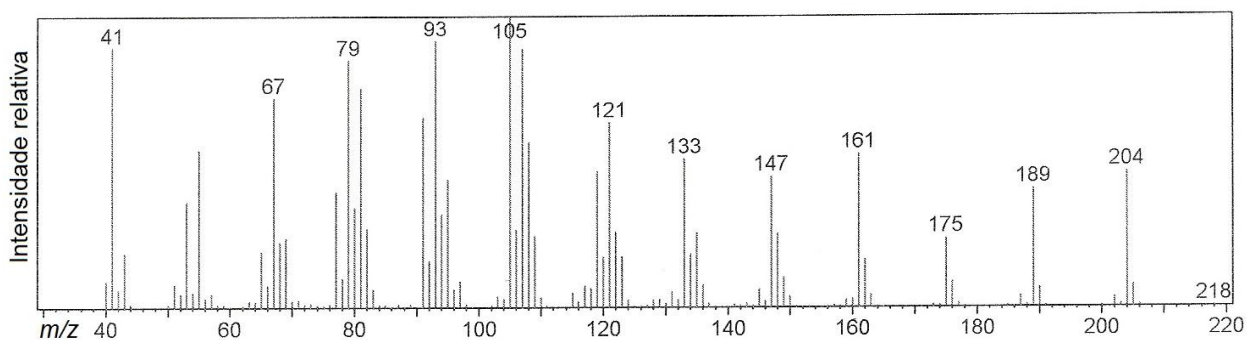


Figura 4.11 - Espectro de massas do constituinte β -selineno

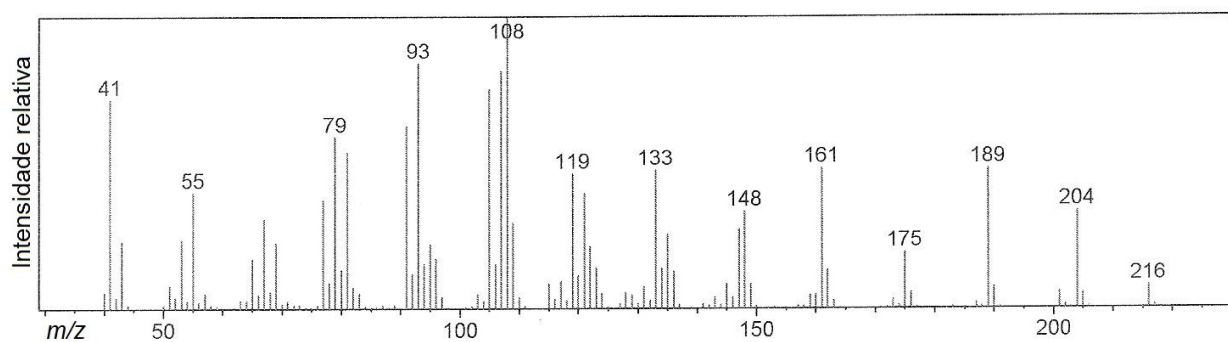


Figura 4.12 - Espectro de massas do constituinte α -selineno

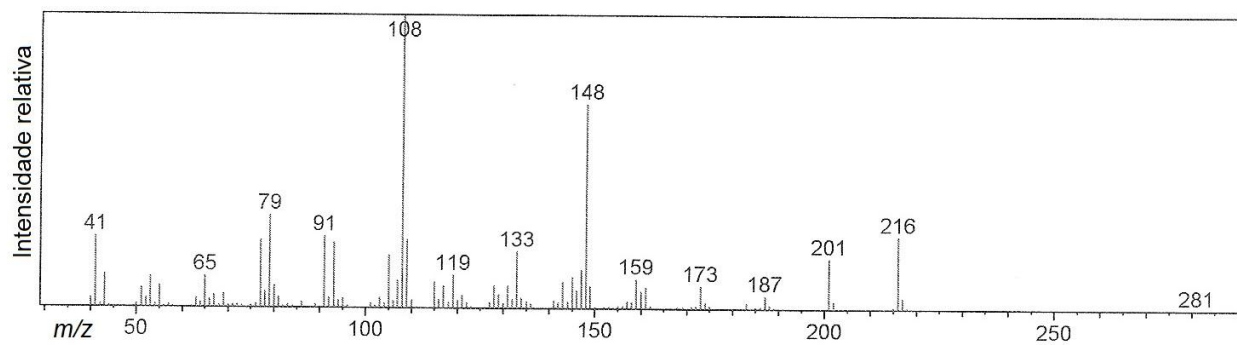


Figura 4.13 - Espectro de massas do constituinte curzereno

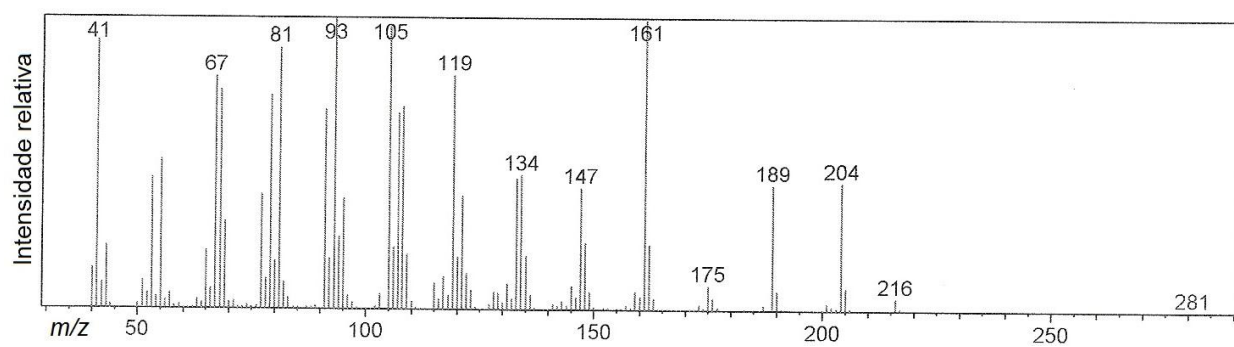


Figura 4.14 - Espectro de massas do constituinte δ -amorfo

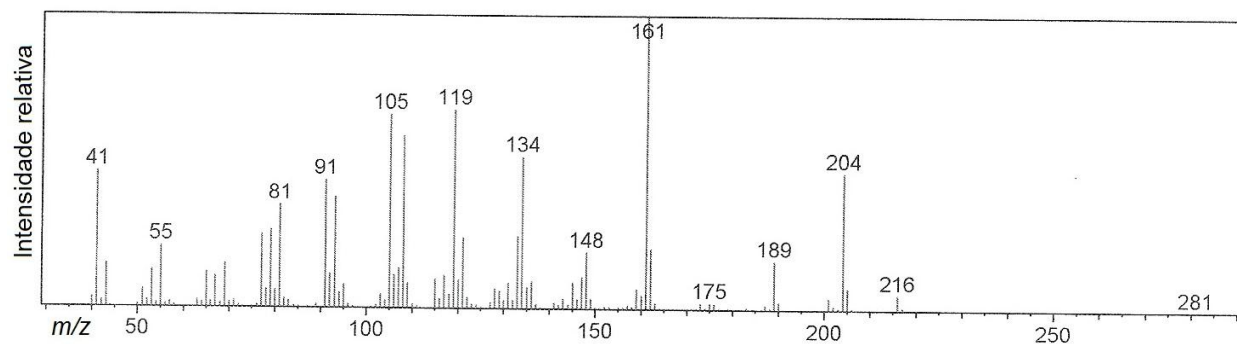


Figura 4.15 - Espectro de massas do constituinte δ -cadineno

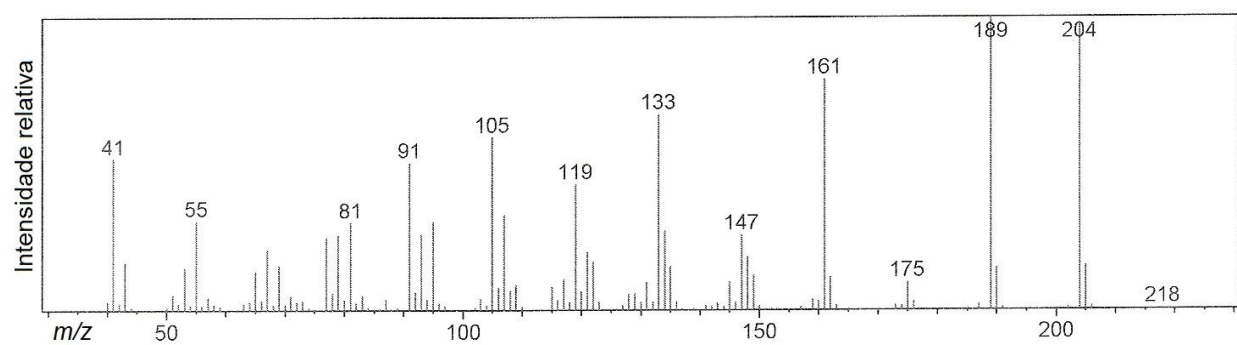


Figura 4.16 - Espectro de massas do constituinte zonareno

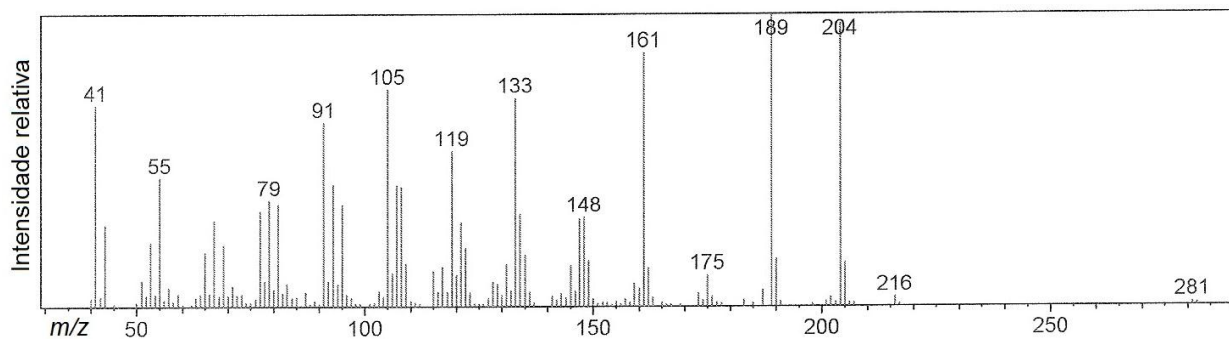


Figura 4.17 - Espectro de massas do constituinte γ -cupreneno

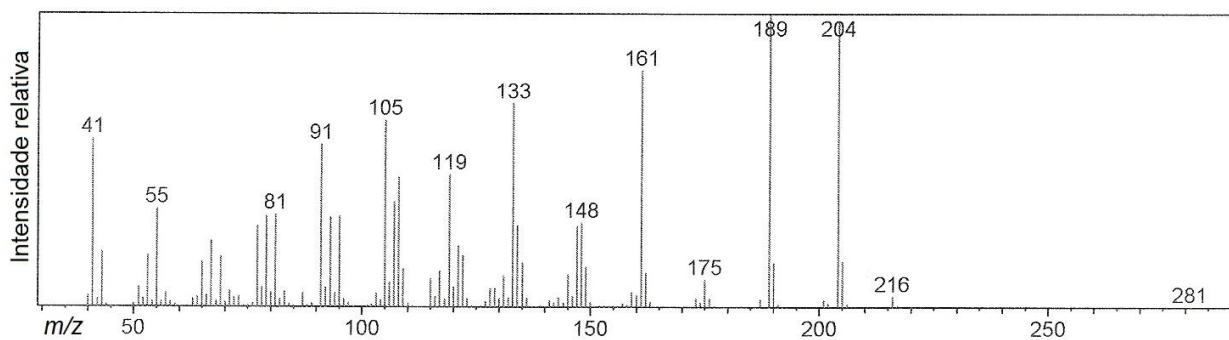


Figura 4.18 - Espectro de massas do constituinte α -cadineno

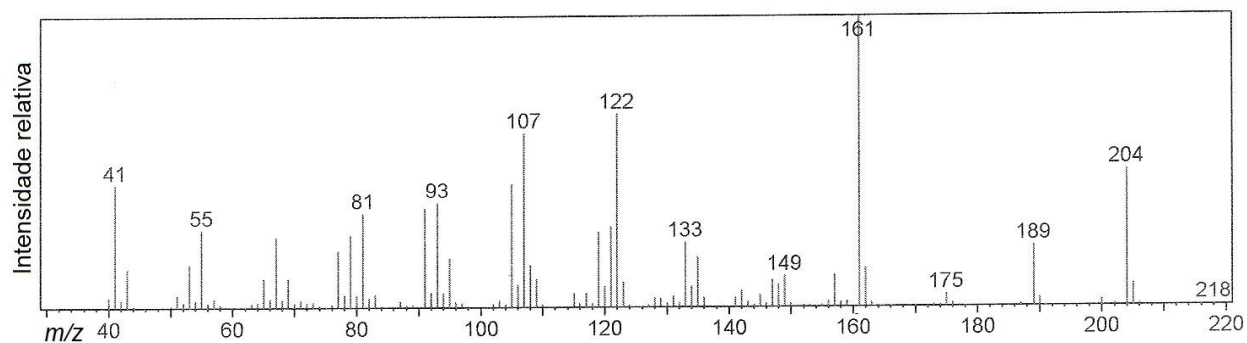


Figura 4.19 - Espectro de massas do constituinte selina-3,7(11)-diene

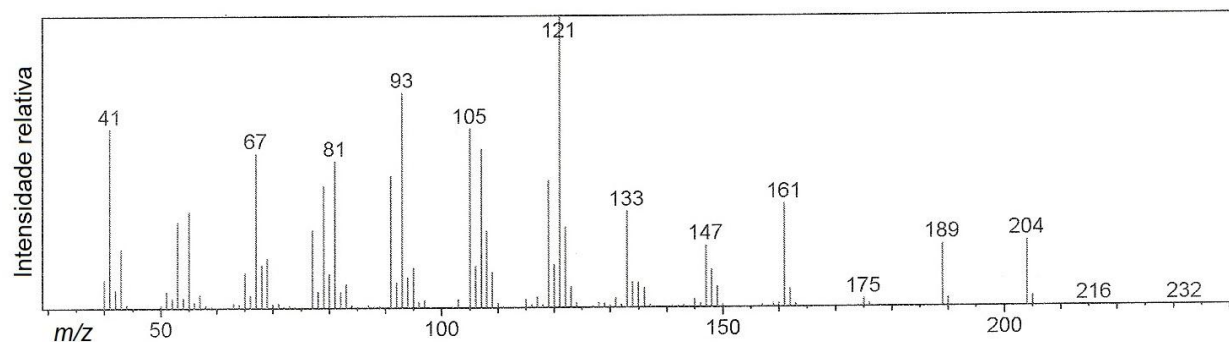


Figura 4.20 - Espectro de massas do constituinte germacreno B

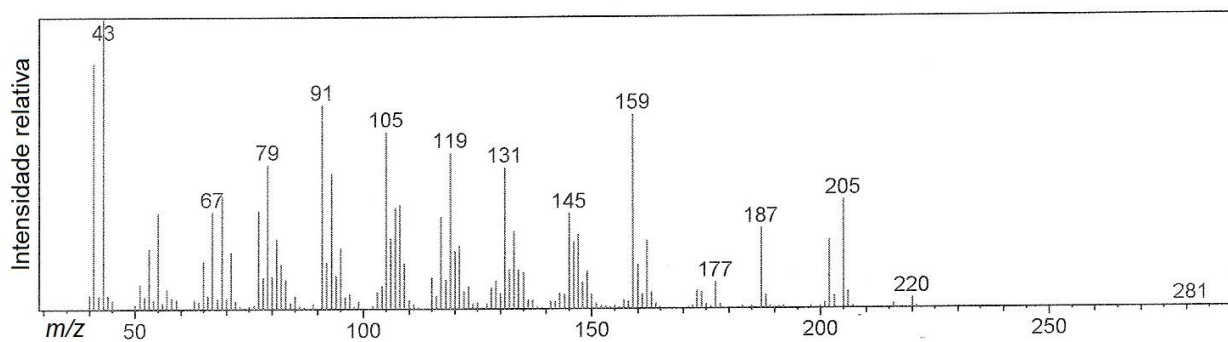


Figura 4.21 - Espectro de massas do constituinte spatulenol

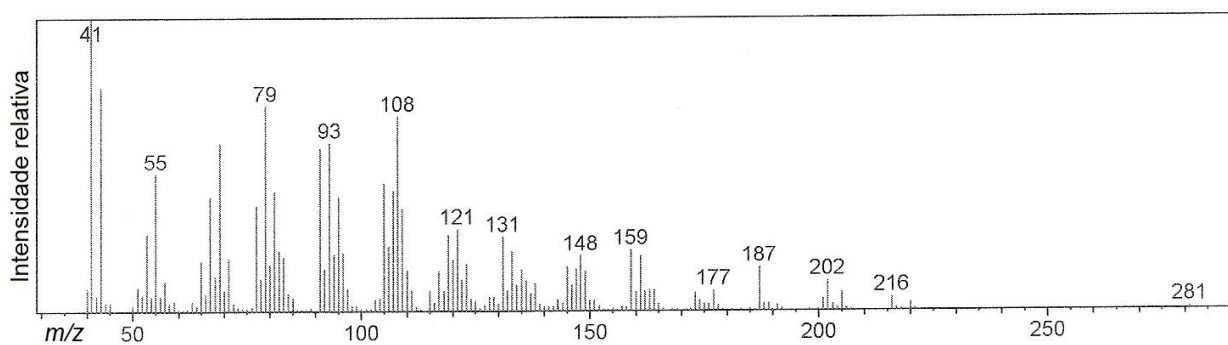


Figura 4.22 - Espectro de massas do constituinte óxido de cariofileno

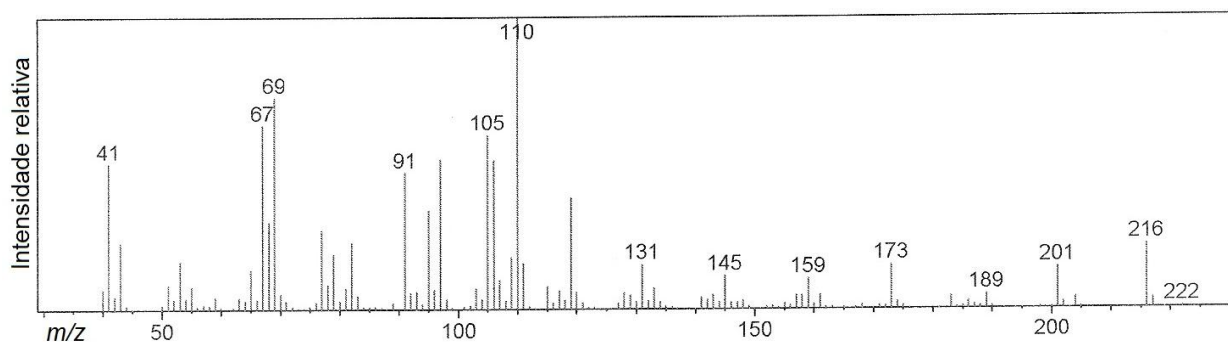


Figura 4.23 - Espectro de massas do constituinte selina-1,3,7(11)-trien-8-ona

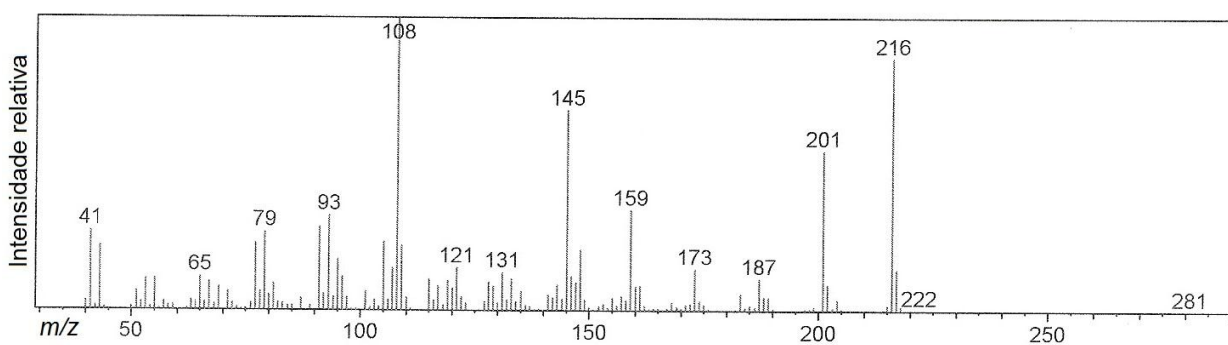


Figura 4.24 - Espectro de massas do constituinte atractilona

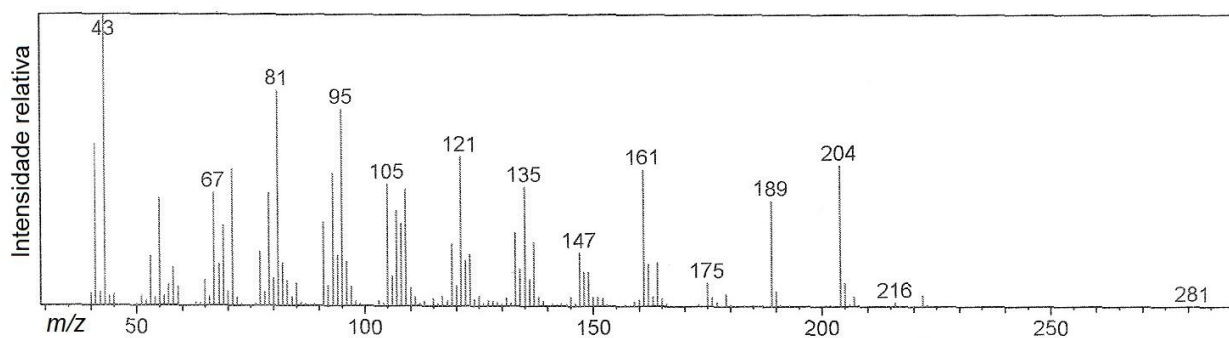


Figura 4.25 - Espectro de massas do constituinte selin-11-em-4- α -ol

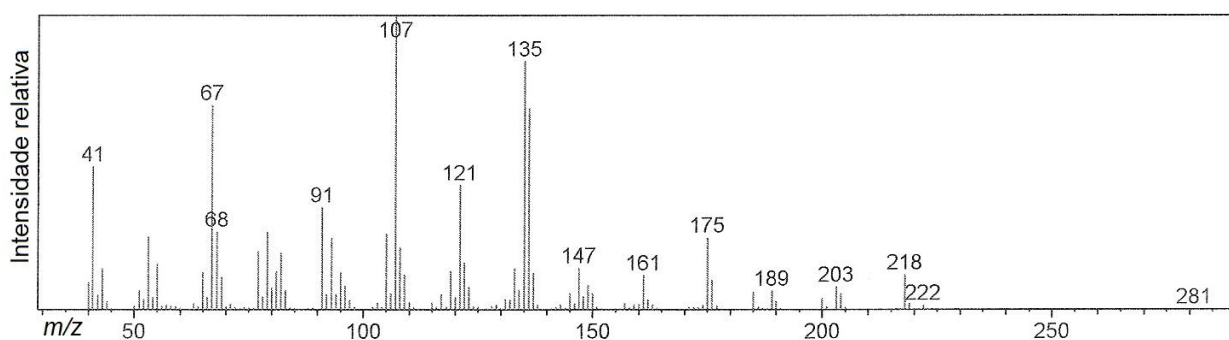


Figura 4.26 - Espectro de massas do constituinte germacrona

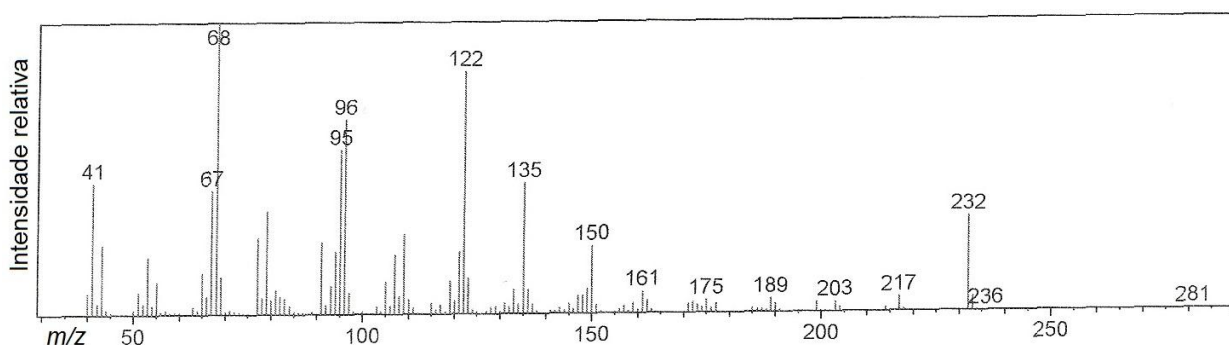


Figura 4.27 - Espectro de massas do constituinte epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one

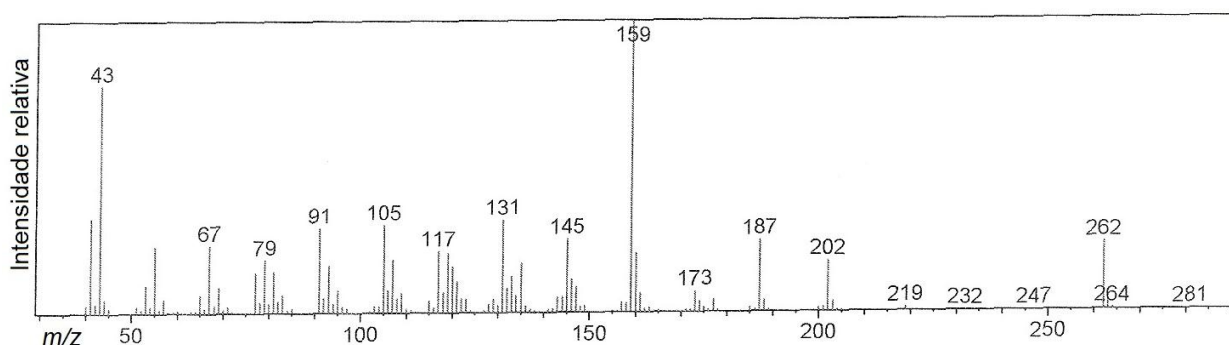


Figura 4.28 - Espectro de massas do constituinte acetato de cusinol