

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA POLPA E ÓLEO
ESSENCIAL DA PERA DO CERRADO (*Eugenia klotzschiana*
Berg.)

Autor: Nárgella Silva Carneiro
Orientadora: Cássia Cristina Fernandes Alves

RIO VERDE – GO
Fevereiro – 2016

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA POLPA E ÓLEO
ESSENCIAL DA PERA DO CERRADO (*Eugenia klotzschiana*
Berg.)

Autor: Nárgella Silva Carneiro
Orientadora: Cássia Cristina Fernandes Alves

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA, no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde - Área de concentração Agroquímica Orgânica.

Rio Verde – GO
Fevereiro – 2016

C289c Carneiro, Nágella Silva
Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante da
polpa e óleo essencial da pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana* Berg.)/
Nágella Silva Carneiro. -- Rio Verde. -- 2016.
63 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal Goiano – Campus Rio
Verde, 2016.

Orientadora: Doutora. Cassia Cristina Fernandes Alves.

Bibliografia

1. Compostos bioativos. 2. Óleo essencial. 3. Antioxidante. I. Título.
II. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde.

CDD: 633.88

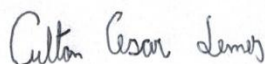
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA POLPA E ÓLEO
ESSENCIAL DA PERA DO CERRADO (*Eugenia klotzschiana*
Berg)**

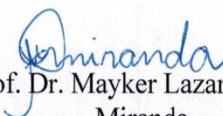
Autora: Nárgella Silva Carneiro
Orientadora: Cassia Cristina Fernandes Alves

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica – Área de concentração
Agroquímica.

APROVADA em 04 de fevereiro de 2016.



Prof. Dr. Ailton Cesar Lemes
Avaliador externo
UFG



Prof. Dr. Mayker Lazaro Dantas
Miranda
Avaliador interno
IF Goiano/RV



Prof.^a Dr.^a Cassia Cristina Fernandes Alves
Presidente da banca
IF Goiano/RV

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar a vida, ter me oportunizado evolução e me dar forças para alcançar meus objetivos. Ao Pai, toda honra e toda glória.

À minha família que sempre me deu apoio incondicional. Vó Tita e vô Clinton, que compreenderam minha ausência. Aos meus irmãos Jean e Robério, mais que amizade e companheirismo, vocês são pessoas especiais na minha vida e tenho profunda admiração e adoração. Às minhas cunhadas Daniela e Rúbia, pessoas que já fazem parte do meu coração. Ao meu pai, que mesmo em distância, sei que torce por mim.

Àquela responsável por todas as minhas vitórias e que sonha comigo e sempre esteve ao meu lado acreditando que eu iria conseguir: Mãe, essa conquista é dedicada a você. Obrigada pela sua presença sempre constante em minha vida, irradiando luz e emanando energias positivas. É impossível expressar meu amor e gratidão por você, obrigada pelas palavras de incentivo, pela compreensão e paciência nos momentos difíceis, passando seus ensinamentos sempre com muita sabedoria, serenidade e fé. Amo muito você!

À minha querida orientadora Cássia Alves. Mais que uma orientadora, uma pessoa pela qual aprendi a gostar muito. Saiba que minha admiração por você cresce a cada dia. Muito obrigada pelas palavras certas na hora certa, nunca me deixando desanimar. Lembro-me de você sempre me falando: “Perde o medo, Nárgella”. Sou muito grata por tudo que você me ensinou.

À minha querida coorientadora Mariana Egea, pela compreensão, amizade, conselhos e sugestões valiosas para o desenvolvimento deste trabalho! Saiba que aprendi muito com você. Obrigada pela força e ensinamentos!

Aos membros da banca examinadora Prof. Dr. Ailton Lemes e Prof. Dr. Mayker Dantas, pelas valiosas contribuições.

Aos caros colegas do Laboratório de Nutrição Animal Carlos e Sérgio, pela ajuda nas análises.

À querida colega Caroline Cagnin, do Laboratório de Frutas e Hortaliças que tanto me ajudou com seu conhecimento.

A todos os professores do programa de Pós-Graduação, especialmente aos professores Celso Belisario, Paulo Sergio Pereira e Marco Antonio Pereira.

Aos colegas do nosso tão famigerado Laboratório de Química de Produtos Naturais Marcelo Nogueira, Juliana Dantas, Elizabeth Josefi. Especialmente às meninas Elisângela Borges e Vanessa Paula: obrigada pelas conversas, risadas e confissões trocadas dentro do laboratório. Tenham certeza que a amizade de vocês me ajudou muito a ter forças para continuar.

Aos colegas de mestrado: Luciana Arantes, Lilian dos Santos, Andressa Rossi, Manoel Aguiar, Glicelia Pereira e Paula Sperotto. Muito bom poder trocar conhecimento com vocês.

À querida Fausta da Fazenda Flores Desbarrancadinha, pela doação das peras e folhas.

À bióloga Érica Virgínia do Herbário Jataiense Germano Guarim Neto da Universidade Federal de Goiás, campus Jataí, pela identificação da exsicata.

Ao IF Goiano e ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), pela concessão da bolsa.

Enfim, a todos que estiveram ao meu lado nesta caminhada.

BIOGRAFIA

Nárgella Silva Carneiro, filha de Cleuva Sousa Silva Carneiro e Célio Batista Carneiro, nasceu em 18 de junho de 1990 na cidade de Mineiros-Goiás.

Em janeiro de 2012, graduou-se em Nutrição pelo Centro de Ensino Superior Rezende e Potrich (Mineiros-GO).

Em outubro de 2013, obteve o título de Especialista em Nutrição Clínica e Metabólica na área de Alimentos Funcionais pela Universidade Gama Filho (Goiânia-GO).

Em março de 2014, iniciou no curso de Mestrado em Agroquímica pelo Instituto Federal Goiano (Rio Verde-GO), atuando na linha de pesquisa em química de produtos naturais e ciência de alimentos.

ÍNDICE

	PÁGINA
Resumo	ix
Abstract	Xi
1. Introdução geral	1
1.1 Referências bibliográficas	4
2. Objetivos	6
3. Capítulo I	7
3.1 Introdução	8
3.2 Material e métodos	9
3.2.1 Material vegetal	9
3.2.2 Secagem	10
3.2.3 Extração de óleo essencial	11
3.2.4 Identificação dos constituintes dos óleos essenciais	11
3.2.5 Avaliação da atividade antioxidante	11
3.2.6 Análise estatística	13
3.3 Resultados e discussão	13
3.4 Conclusões	23
3.5 Referências	24
4. Capítulo II	27
4.1 Introdução	28
4.2 Material e métodos	29

4.2.1 Material vegetal	29
4.2.2 Reagentes químicos	30
4.2.3 Caracterização física	31
4.2.4 Análises químicas	31
4.2.5 Minerais	32
4.2.6 Carotenoides totais e clorofila	32
4.2.7 Vitamina C	32
4.2.8 Extrações	33
4.2.9 Compostos fenólicos totais	33
4.2.10 Flavonoides totais	34
4.2.11 Atividade antioxidante	35
4.2.12 Análise estatística	37
4.3 Resultados e discussão	37
4.3.1 Caracterização física	37
4.3.2 Caracterização química	38
4.3.3 Minerais	40
4.3.4 Compostos bioativos e atividade antioxidante	40
4.4 Conclusão	44
4.5 Referências	44
5. Conclusão geral	49

ÍNDICE DE TABELAS

	PÁGINA
Perfil dos constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas e flores de <i>Eugenia klotzschiana</i> .	14
Atividade antioxidante dos óleos essenciais de <i>Eugenia klotzschiana</i> pelo teste DPPH e ABTS ⁺ .	21
Características físicas de frutos da pera do cerrado (<i>Eugenia klotzschiana</i>) do Cerrado (Portelândia, Goiás, Brasil).	37
Características químicas (g 100g ⁻¹) e valor energético total (kcal 100 g ⁻¹) da pera do cerrado (<i>Eugenia klotzschiana</i>) do cerrado (Portelândia, Goiás, Brasil).	39
Conteúdo de minerais da pera do cerrado (<i>Eugenia klotzschiana</i>) (Portelândia, Goiás, Brasil) e contribuição do %DRI por 100 gramas de polpa.	40
Compostos bioativos (mg 100 g ⁻¹ peso fresco) da pera do cerrado (<i>Eugenia klotzschiana</i>) do cerrado (Portelândia, Goiás, Brasil).	41
Flavonoides totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante da polpa da pera do cerrado (<i>Eugenia klotzschiana</i>) Portelândia, Goiás, Brasil.	42

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Esquema representativo das análises realizadas com a pera do cerrado	3
Representação fotográfica das flores e folhas da pera do cerrado (<i>Eugenia klotzschiana</i>)	10
Curva padrão da atividade antioxidante para o teste DPPH	12
Curva padrão de Trolox para o teste ABTS ⁺	13
Cromatograma do óleo essencial extraído das folhas frescas de <i>E.klotzschiana</i>	17
Cromatograma do óleo essencial extraído das folhas secas em estufa de <i>Eugenia klotzschiana</i>	17
Cromatograma do óleo essencial extraído das folhas secas à sombra de <i>E. klotzschiana</i>	18
Cromatograma do óleo essencial extraído das flores de <i>Eugenia klotzschiana</i>	18
Estrutura química dos compostos majoritários identificados nas folhas e flores de <i>Eugenia klotzschiana</i>	20
Percentual de inibição do radical DPPH pelos óleos essenciais de <i>E. klotzschiana</i> de cada concentração	22
Curva padrão de açúcar	31
Curva padrão de ácido gálico	34
Curva padrão de quercetina	35
Curva padrão de DPPH	36
Curva padrão de Trolox	36
Curva padrão de sulfato ferroso	36
Representação fotográfica dos frutos da pera do cerrado (<i>Eugenia klotzschiana</i>)	38

RESUMO

CARNEIRO, NÁRGELLA SILVA. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, fevereiro de 2016. **Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante da polpa e óleo essencial da pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana* Berg.)**. Orientadora: Cassia Cristina Fernandes Alves. Coorientadores: Mariana Buranelo Egea e Marco Antonio Pereira Silva.

A pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana*), também denominada pera do campo, cabacinha do campo ou pereira do campo, pertencente à família das Myrtaceae, é uma planta nativa do cerrado. O Cerrado mesmo sendo o segundo maior bioma brasileiro, possui flora nutricionalmente rica e pouco exploradas de maneira sustentável. A busca pelo consumo de alimentos ricos em compostos bioativos, bem como a utilização de produtos naturais com o intuito de substituir os aditivos químicos nos alimentos, tem sido opção para consumidores que procuram hábitos saudáveis aliado a segurança alimentar. Por isso, este trabalho foi dividido em dois capítulos. O objetivo do capítulo 1 foi avaliar a composição química e capacidade sequestradora de radicais livres do óleo essencial extraído das flores e das folhas da pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana* Berg). As folhas da pera do cerrado foram submetidas a dois processos de secagem (natural à temperatura ambiente e em estufa com circulação de ar forçada). Tanto as folhas quanto flores foram submetidas a hidrodestilação em aparelho de Clevenger para extração de óleo essencial. Os componentes dos óleos essenciais foram identificados por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM). Os

ensaios utilizados para avaliar a atividade antioxidante dos óleos essenciais foram baseados no sequestro dos radicais livres DPPH e ABTS. Observou-se que os óleos essenciais apresentaram médio rendimento e são compostos majoritariamente por sesquiterpenos como espatulenol, α -cariofileno, D-germacreno e γ -elemeno. Os óleos essenciais analisados demonstraram moderada atividade antioxidante, podendo ser utilizados na indústria alimentícia. O objetivo do capítulo 2 foi caracterizar a composição química e físico-química da polpa do fruto, quantificar seus compostos bioativos e atividade antioxidante por dois métodos de extração (aquosa e metanol-acetona). Os frutos foram coletados entre os meses de novembro e dezembro e foram realizadas as avaliações físicas, químicas e físico-químicas. A atividade antioxidante também foi determinada pelos testes DPPH, ABTS e FRAP. Constatou-se frutos com ótimo rendimento e valor nutricional, destacando-se a quantidade de carboidratos, fibra dietética e ferro. A polpa da pera do cerrado apresenta compostos bioativos importantes ao consumo humano, apresentando elevado teor de compostos fenólicos e flavonoides, que contribuiu para a sua moderada a alta atividade antioxidante.

PALAVRAS-CHAVE: *Eugenia*, antioxidante, óleo essencial, compostos bioativos.

ABSTRACT

Brazilian pear (*Eugenia klotzschiana*), also called pear-of-field, small gourd-the-field or pear tree of-field belonging to the family of Myrtaceae, is a native plant of the cerrado. The cerrado despite of being the second largest Brazilian biome, has nutritionally rich flora with is little explored sustainably. The search for the consumption of foods rich in bioactive compounds and the use of natural products in order to replace the chemical additives in foods, has been an option for consumers seeking healthy habits combined with food safety. Therefore, this study was divided into two chapters. The objective of Chapter 1 was to evaluate the chemical composition and sequestering capacity of free radicals of the essential oil extracted from the flowers and leaves of Brazilian pear leaves (*Eugenia klotzschiana* Berg). The Brazilian pear leaves were subjected to two drying processes (natural room temperature and in an oven with forced air circulation). Both leaves and flowers were subjected to hydrodistillation in Clevenger apparatus for essential oil extraction. The components of essential oils were identified by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). The tests used to evaluate the antioxidant activity of essential oils were based on sequestration of free radical DPPH and ABTS. It was observed that the essential oils showed average income and consist mainly by sesquiterpenes as spathulenol, α -caryophyllene, D-germacrene and γ -elemene. Essential oils analyzed showed moderate antioxidant activity and may be used in the food industry. The objective of Chapter 2 was to characterize the chemical and physical-chemical composition of the fruit pulp, quantify their bioactive compounds and antioxidant activity by two extraction methods (aqueous and methanol-acetone). Fruits were collected between the months of November and December and the physical,

chemical and physico-chemical evaluations were performed. The antioxidant activity was also determined by DPPH test, ABTS and FRAP. It found fruit with great yield and nutritional value, highlighting the amount of carbohydrates, dietary fiber and iron. The pulp of the Brazilian pear presents important bioactive compounds for human consumption, with high content of phenolic compounds and flavonoids, which contributed to its moderate to high antioxidant activity.

Key words: *Eugenia*, antioxidant, essential oil, bioactive compound

1. INTRODUÇÃO

As frutas são essenciais para a boa saúde e se tornaram cada vez mais importante na nutrição humana. Seu consumo tem sido aumentado pelo alto teor de compostos bioativos, principalmente ácido ascórbico, polifenóis, β -caroteno e licopeno. O valor nutricional e as propriedades relacionadas à saúde dependem não só da concentração de nutrientes e destes fitoquímicos, mas também na ingestão diária e biodisponibilidade (AKTER et al., 2011; ALBUQUERQUE et al., 2014).

Neste contexto, o consumo de frutas e hortaliças do cerrado também tem aumentado principalmente em decorrência do valor nutritivo e efeitos benéficos e podem contribuir em proporções consideráveis com a ingestão dietética recomendada, sendo fontes alternativas de nutrientes. Informações a respeito da caracterização química e do valor nutricional das frutas do cerrado são também ferramentas básicas para avaliação do consumo, formulação de novos produtos, bem como, avaliar sua contribuição na alimentação da população brasileira (SILVA et al., 2008).

Nos últimos anos grande número de frutas com potencial efeito benéfico na saúde tem sido estudadas e comercializadas. No entanto, as informações disponíveis sobre o valor nutricional e compostos bioativos de frutas tropicais, especialmente as espécies mais exóticas, provenientes de biomas como o Cerrado, são limitadas (CONTRERAS-CALDERON et al., 2011).

De acordo com Ferreira & Abreu (2007), os alimentos antioxidantes presentes na dieta atuam como protetores na redução dos danos oxidativos induzidos pela produção de radicais livres, principalmente espécies reativas de oxigênio (EROs). A maioria dos fitoquímicos possui propriedade antioxidante que pode estar relacionada

com o retardo do envelhecimento e a prevenção de doenças, caracterizando-os como alimentos funcionais (LIMA, 2002).

Os alimentos funcionais são alimentos que além do valor nutricional, são capazes de oferecer benefícios à saúde pela presença de nutrientes em maior concentração ou de compostos bioativos. A presença dessas substâncias bioativas pode influenciar no valor nutricional e na qualidade sensorial (ROCHA et al., 2011).

Além dos frutos nativos do cerrado, destacam-se também as plantas aromáticas, que além de fornecedoras de óleos voláteis ou essenciais, apresentam propriedades medicinais e estão presentes no cotidiano das pessoas. Estas plantas, ou as substâncias voláteis delas extraídas, têm sido usadas como flavorizantes e aromatizantes nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética (MARTINS, 2000).

Dessa forma, os estudos que possuem abordagem relacionada à composição química, propriedades físico-químicas, medicinais, biológicas e funcionais das plantas medicinais e aromáticas vem crescendo significativamente (MARTINS, 2000). Por isso, são de fundamental importância os ensaios relacionados a essas plantas de espécies nativas do cerrado, baseando-se na importância cultural que elas apresentam para a região e também na valorização das riquezas e diversidade deste domínio.

Nesse sentido, a extração de óleos essenciais tornou uma importante metodologia a fim de investigar informações intrínsecas das plantas que podem apresentar ações e características importantes. A utilização de óleos essenciais de plantas, que além da ação flavorizante, possui comprovada ação antioxidante, pode ser alternativa interessante para a conservação de alimentos, diminuindo a concentração de aditivos sintéticos nesses produtos (SILVESTRI, 2010).

O Cerrado, dentro da biodiversidade brasileira, é fonte de muitas espécies vegetais que desempenham importante papel na medicina popular. A família Myrtaceae é uma das maiores famílias de plantas da América do Sul e Central, ocorrendo na região neotropical e subtropical, com cerca de 200 a 250 espécies na região dos cerrados. O maior gênero da família Myrtaceae é a *Eugenia*. Dentre as espécies desse gênero, destacam-se as frutíferas como a pitangueira (*Eugenia uniflora*), cagaita (*Eugenia dysenterica*), cereja (*Eugenia cerasiflora*) e uvaia (*Eugenia pyriformis*) (VIEIRA et al., 2006).

Os frutos produzidos pelas espécies nativas do cerrado brasileiro proporcionam elevado valor nutricional, apresentando teores de açúcares, proteínas, vitaminas e minerais. Além disso, apresentam atrativos sensoriais como cor, aroma e sabores

peculiares e intensos, ainda pouco explorados comercialmente (RIBEIRO, 2011; SILVA et al., 2001).

Dentre esses frutos, destaca-se a pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana* Berg.), também denominada pera do campo, cabacinha do campo ou pereira do campo, caracterizada por uma árvore de porte arbustivo, medindo 1 a 2 metros de altura (SILVA et al., 2001). Os frutos maduros são coletados de outubro a dezembro e apresentam tamanho variável entre seis a dez centímetros de comprimento por quatro a sete centímetros de diâmetro, pesam entre 60 e 90 gramas, característica velutina, casca fina de coloração amarela quando maduro e polpa mole com certa adstringência e sabor ácido. Podem ser usadas para doce em compota e geleia (BRASIL, 2002; FARIA JUNIOR, 2010; SILVA et al., 2001).

A figura 1 representa o esquema das análises realizadas com a pera do cerrado, sendo utilizadas três partes da planta: folhas, flores e frutos.

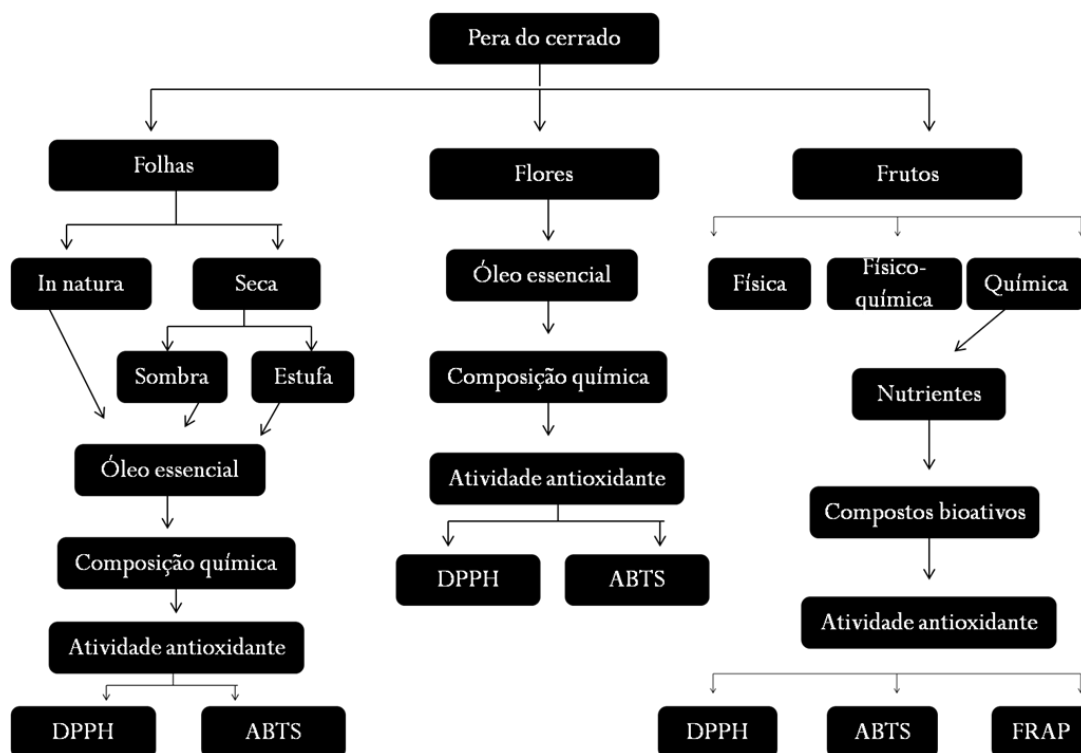


Figura1- Esquema representativo das análises realizadas com a pera do cerrado

1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKTER, S.; OH, S.; E, J.; A, M. Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit: a review. **Food Research International**, v. 44, p. 1728–1732, 2011.

ALBUQUERQUE, T.G.; SANTOS, F. SANCHES-SILVA, A.; OLIVEIRA, M.B.; BENTO, A.C.; COSTA, H.S. Nutritional and phytochemical compositions of *Annona cherimola* Mill fruits and by-products: potential health benefits. **Food Chemistry**, v.193, p. 187-195, 2014.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Alimentos regionais brasileiros**. Brasília, DF, 2002.

CONTRERAS-CALDERON, J.; CALDERON-JAIMES, L.; GUERRA-HERNANDEZ, E.; GARCIA-VILLANOVA, B. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v. 44, p. 2047–2053, 2011.

FARIA JUNIOR, J.E.Q. **O gênero Eugenia (Myrtaceae) nos estados de Goiás e Tocantins, Brasil**. 2010. 266 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) apresentada a Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

FERREIRA, I. C. F. R.; ABREU, R. M. V. Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. **Bioanálise**, v.4, n. 2, 2007.

LIMA, V. L. A G.; MELO, E. A.; LIMA, D. E. S. Fenólicos e carotenoides em pitanga. **Scientia Agricola**. v. 59, n. 3, p. 447 – 450, 2002.

MARTINS, P.M. **Influência da temperatura e da velocidade do ar de secagem no teor e na composição química do óleo essencial de capim –limão (*Cymbopogon citratus* DC)**. 2000. 91 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia agrícola) apresentada à Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

RIBEIRO, E.M.G. **Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com e sem casca**. 2011. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências farmacêuticas) apresentada à Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

ROCHA, W. S.; LOPES, R. M.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; SILVA, J. P.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p. 1215 – 1221, 2011.

SILVA, D. B.; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas do Cerrado**. 1. Ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 199 p.

SILVA, M. R.; LACERDA, D. B. C. L.; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência rural**. Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1790 – 1793, 2008.

SILVESTRI, J. D. F.; PAROUL, N.; CZYEWSKI, E.; LERIN, L.; ROTAVA, I.; CANSIAN, R. L.; MOSSI, A.; TONIAZZO, G.; OLIVEIRA, D.; TREICHEL, H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n.5, p. 589-594, 2010.

VIEIRA, R.F.; AGOSTINI-COSTA, T.S.; SILVA, D.B.; FERREIRA, F.R. SANO, S.M. Frutas nativas da região centro-oeste do Brasil. **Embrapa**, Brasília, 2006.

2. OBJETIVO

2.1 Geral

Avaliar a composição química, físico-química e atividade antioxidante da polpa dos frutos da pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana* Berg) e extrair óleo essencial das flores e folhas e avaliar sua composição química e atividade antioxidante.

2.2 Específicos

- Analisar a composição química e físico-química da polpa do fruto da pera do cerrado;
- Extrair o óleo essencial das folhas (frescas e secas) e das flores da pera do cerrado;
- Verificar a influência da secagem das folhas sobre o teor e composição química dos óleos essenciais;
- Analisar e comparar a constituição química dos óleos essenciais extraídos das folhas e das flores da pera do cerrado;
- Avaliar a atividade antioxidante dos óleos essenciais das flores, folha e do extrato da pera do cerrado.

3. CAPÍTULO I

(Normas de acordo com a Revista Brasileira de Fruticultura)

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS E FLORES DE *Eugenia klotzschiana*

RESUMO - *Eugenia klotzschiana* é uma espécie nativa pouco explorada do Cerrado brasileiro, pertencente à família Myrtaceae. Os óleos essenciais das flores e das folhas *in natura*, secas à sombra e em estufa com circulação forçada de ar foram obtidos e analisados por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). Cerca de trinta e cinco compostos foram identificados representando cerca de 75,52 a 92,66%. Os compostos majoritários foram o β -elemeno para óleo das folhas frescas, α -cariofileno para o óleo essencial das folhas secas e D-germacreno para o óleo essencial das flores. A atividade antioxidante dos óleos essenciais demonstraram semelhanças nos dois métodos analisados (DPPH e ABTS⁺). Os resultados sugeriram moderada a elevada atividade antioxidante (EC₅₀ entre 5,70 a 29,77 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 57,81 a 143,85 μM trolox/g).

Termos para indexação: *Eugenia*, antioxidante, terpenos, secagem, substâncias voláteis.

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL FROM LEAVES AND FLOWERS OF *Eugenia klotzschiana*

ABSTRACT- *Eugenia klotzschiana* is a unexplored native species of the Brazilian Cerrado that belongs to the Myrtaceae family. Essential oils from the *in natura* leaves and flowers, dry in the shade and in the stove with forced air circulation were obtained and analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). About thirty-five compounds were identified representing about 75.52 to 92.66%. The major compounds were the β -elemene for oil from fresh leaves, α -caryophyllene in the essential oil from dried leaves and germacrene-D for oils from flowers. The antioxidant activity of essential oils showed similarities between the two analyzed methods (DPPH and ABTS). The results suggest moderate to high antioxidant activity (EC_{50} between 5.70 to 29.77 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and 57.81 to 143.85 $\mu\text{M Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$).

Index terms: *Eugenia*, antioxidant, terpenes, drying, volatile compounds.

3.1 INTRODUÇÃO

Eugenia klotzschiana, também conhecida comumente em Goiás (Brasil) como pera do cerrado ou pera do campo, é uma espécie frutífera pouco conhecida do gênero *Eugenia* (família Myrtaceae). Esta espécie nativa do cerrado é caracterizada por uma árvore de porte arbustivo, medindo 0,80 a 1 metro de altura (SILVA et al., 2001). A família Myrtaceae é uma das maiores famílias da América do Sul e Central, ocorrendo na região neotropical e subtropical, com cerca de 200 a 250 espécies na região dos cerrados (VIEIRA et al., 2006). O Cerrado, dentro da biodiversidade brasileira, é fonte de muitas espécies vegetais que desempenham importante papel na medicina popular. Devido a sua diversidade, vários compostos podem ter componentes ativos com atividade terapêutica, tal como os metabólicos especiais presentes nos óleos essenciais (LOURENÇO et al., 2015).

Óleos essenciais (OES) são misturas líquidas de compostos voláteis obtidos a partir de plantas aromáticas, geralmente pela destilação a vapor. Eles constituem o que se denomina essências ou fragrâncias de uma planta e geralmente são agradavelmente perfumados (AMORATI et al., 2013). Podem ser também designados de óleos voláteis ou óleos etéreos (VITTI & BRITO, 2003). De acordo com Valeriano (2012), os óleos

essenciais se originam do metabolismo secundário das plantas, sendo constituídos por mistura de compostos, principalmente monoterpenos, sesquiterpenos, e derivados oxigenados (álcoois, aldeídos, éster, éteres, cetonas, fenóis e óxidos), além de outros compostos voláteis. Esses metabólitos são responsáveis por atribuírem suas características sensoriais e sua bioatividade (BIZZO & REZENDE, 2009; TIAN et al., 2014).

As plantas aromáticas, em particular os seus óleos essenciais, estão sendo amplamente avaliadas em relação à sua atividade antioxidante, pela aplicação em indústrias de alimentos e bebidas como antioxidante natural (AMIRI, 2012). Este atributo é por causa da capacidade inerente de alguns dos seus componentes, particularmente fenóis, em parar ou retardar a oxidação. Embora o procedimento pelo qual o óleo é obtido a partir da matéria-prima (destilação) limita o teor de fenólicos na matriz final, pois muitos desses compostos não são voláteis, existem OES livres de fenóis que expressam comportamento antioxidante pela sua estrutura química, ou seja, possuem outras classes de compostos (AMORATI et al., 2013).

Portanto, devido a preocupações toxicológicas ligadas à utilização de antioxidantes sintéticos por um longo período e pelo aumento da conscientização sobre alimentos saudáveis, há maior interesse na utilização de substâncias naturais como antioxidantes (SINGH et al., 2012). Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a composição química e atividade antioxidante *in vitro* dos óleos essenciais das folhas e flores de *Eugenia klotzschiana*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Material vegetal

As folhas e flores da pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana*) (Figura 1) foram coletadas em plantas adultas em uma propriedade rural particular com áreas de vegetação nativa típica do cerrado, no município de Portelândia (Goiás) (latitude sul 17° 23' e longitude oeste 52° 38') durante os meses de março de 2014 a março de 2015. As amostras foram coletadas no início da manhã e a exsicata foi depositada no Herbário Germano Guarim Neto da Universidade Federal de Goiás, sob os registros HJ 7413 e HJ 7414.



Figura 1 – Representação fotográfica das flores e folhas da pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana*). Fonte: A autora.

3.2.2 Secagem

Para avaliar a influência da secagem sobre o teor e composição do óleo essencial das folhas de pera do cerrado, as folhas foram submetidas a três tratamentos de secagem: *i*) folhas *in natura* (sem secagem para comparação), *ii*) secagem natural à temperatura ambiente e, *iii*) secagem em estufa com circulação forçada de ar a temperatura de $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

A secagem natural na temperatura ambiente foi realizada dispondo 1000g de folhas frescas em camadas finas à temperatura ambiente, sem incidência solar direta, no Laboratório de Química de Produtos Naturais do Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde. Durante o período de secagem das folhas foi feito monitoramento gravimétrico da redução do teor de água, com auxílio de balança com resolução de 0,01g. A secagem foi realizada durante 72 horas até a redução de 50% do peso da massa inicial. Após a redução da massa inicial as folhas foram submetidas a hidrodestilação para extração do óleo essencial.

A secagem em estufa com circulação forçada de ar, 1000g de folhas foram colocadas em embalagens de papel kraft, identificados e colocados na estufa a uma temperatura de $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ por 48 horas. O monitoramento da redução do teor de água foi executado conforme a metodologia descrita para a secagem na temperatura ambiente e o término da secagem foi determinado até a redução de 50% da massa inicial.

As flores foram coletadas em novembro de 2014 e foram diretamente submetidas à extração de óleo essencial, sem nenhum processo de secagem.

3.2.3 Extração de óleo essencial

Os óleos essenciais das folhas frescas, secas à sombra e em estufa com circulação forçada de ar e das flores foram extraídos por hidrodestilação, utilizando um aparelho de Clevenger adaptado a um balão de fundo redondo com capacidade de 1 litro, por um período de 120 minutos conforme metodologia descrita pela Farmacopeia Brasileira (2010). O hidrolato obtido foi submetido a partição líquido-líquido com três porções de 15 mL de diclorometano e as frações orgânicas foram reunidas e secas com sulfato de sódio anidro procedendo a sua filtração. Os óleos essenciais foram acondicionados em frascos de vidro âmbar e armazenados sob refrigeração até o momento das análises. O rendimento do óleo das folhas e flores da pera do cerrado foi calculado através da relação: $\text{Massa do óleo(g)}/\text{Massa de material vegetal (g)} \times 100$.

3.2.4 Identificação dos constituintes dos óleos essenciais

A identificação dos constituintes dos óleos essenciais das folhas e flores foi realizada empregando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), utilizando aparelho Agilent Technologies 7820A CG e MSD 5975. Na identificação dos constituintes químicos foi empregada coluna com 25m de comprimento, diâmetro interno de 0,25mm. As condições programadas no aparelho foram: temperatura inicial de 50°C com elevação da temperatura a 240°C na razão de 4°C permanecendo por 5 minutos e elevação a 280°C. O volume de 1µL de óleo essencial foi injetado com razão de split 5mL/min e temperatura de injeção de 260°C. A identificação dos compostos foi feita pela comparação de seus espectros de massas com os disponíveis no banco de dados da espectroteca *National Institute of Standards and Technology* (NIST), pelos índices de retenção, além da comparação dos espectros de massas disponíveis na literatura (ADAMS, 2007).

3.2.5 Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada pelo método DPPH conforme descrito por Rufino et al. (2007) modificando o solvente metanol e acetona por etanol para melhor solubilização dos óleos essenciais, baseado na captura do radical livre 2,2 difenil-1-picril-hidrazina (DPPH) por substâncias antioxidantes. As amostras dos óleos essenciais das folhas e flores (0,1 mL) em diferentes concentrações (2000, 4000, 6000, 8000, 10000 mg.L⁻¹) foram adicionadas a 3,9 mL da solução de DPPH e reagiram por 60 minutos na ausência de luz. A absorbância foi lida em um comprimento de onda de 515

ηm em quatro repetições em espectrofotômetro digital de UV-Vis marca Bel Engineering modelo UV-M51. Uma curva padrão de DPPH foi construída utilizando soluções com concentrações de 10 a 60 μM . A equação de calibração do DPPH obteve coeficiente de correlação $R^2 = 0,9983$ (Figura 2). Os resultados foram expostos em EC_{50} $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (quantidade de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH), em g de óleo/g de DPPH e percentual de inibição de cada concentração de acordo com a seguinte equação proposta por Mensor (2001):

$$\%AA = \{(\text{Abs controle} - \text{Abs amostra}) \times 100\} / \text{Abs controle}$$

Para o ensaio da atividade antioxidante pelo método da *Trolox equivalent antioxidant capacity* (TEAC) foi realizada verificando a captura do radical ABTS^+ (2,2 azinobis-3-etilbenzolina-6-ácido sulfônico), conforme o procedimento descrito por Rufino et al. (2007). O radical ABTS^+ foi preparado a partir da reação de 5mL da solução aquosa de ABTS (7mM) com 88 μL da solução de persulfato de potássio (140mM), deixando reagir por 16 horas no escuro. Em seguida essa mistura foi diluída com etanol até obter a absorvância de $0,70 \eta\text{m} \pm 0,05$ a $734\eta\text{m}$. Uma alíquota de 30 μL de cada diluição dos óleos essenciais das folhas e flores (2000 a 10000 mg.L^{-1}) foi adicionada a 3 mL do radical ABTS^+ em tubos de ensaio e deixado por 6 minutos no escuro. A absorvância foi lida a $734\eta\text{m}$ em um espectrofotômetro utilizando etanol como branco. Uma curva de Trolox com diferentes concentrações (100 a 2000 μM) foi construída e utilizada como padrão (Figura 3). Os resultados foram expressos como micromolar de Trolox por grama de óleo (μM trolox/g).

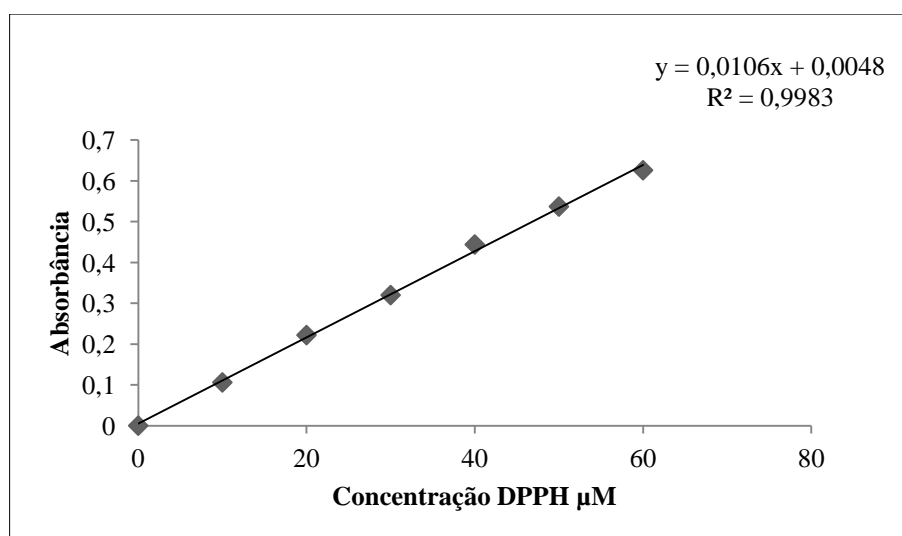


Figura 2 – Curva padrão da atividade antioxidante para o teste DPPH.

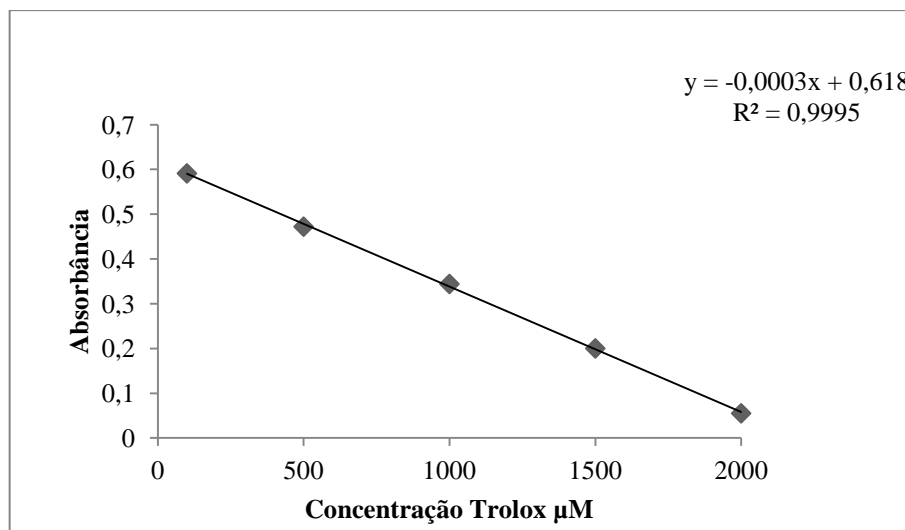


Figura 3 – Curva padrão de Trolox para o teste ABTS⁺.

3.2.6 Análise estatística

Os resultados das análises antioxidantes foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e o teste de Tukey ($p < 0,05$) foi aplicado para a comparação entre as médias. Os cálculos estatísticos foram efetuados nos programas Excel (versão 2007) e Assistat versão 7.7.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial extraído por hidrodestilação das folhas e flores de *E. klotzschiana* apresentou coloração amarelo pálido com elevada viscosidade e odor acentuado. Os óleos essenciais das folhas frescas, secas a sombra, em estufa e das flores foram obtidos com rendimentos de 0,10%; 0,17%; 0,07% e 0,09%, respectivamente. Apesar de intensa sensação odorífica nas amostras, os rendimentos dos óleos essenciais foram médios como o óleo essencial da polpa do pequi (*Caryocar brasiliense*), também nativo do cerrado, com rendimento entre 0,004 a 0,012%. Tian et al. (2014) obtiveram elevado teor de óleo essencial de *Perilla frutescens* (entre 0,18 e 1,11%), tornando-se de interesse comercial. Entretanto, diversos constituintes voláteis podem influenciar no aroma, inclusive aqueles que não estejam em concentrações elevadas ou com alto rendimento (CORDEIRO et al., 2012).

Foram identificados 35 componentes em cada óleo essencial estudado, que compreende 75,52 a 92,66% da composição total de óleo essencial volátil (Tabela 1).

TABELA 1 – Perfil dos constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas frescas, folhas secas à sombra, folhas secas em estufa e flores de *Eugenia klotzschiana*.

Constituintes	IR*	Folhas frescas	Folhas secas à sombra	Folhas secas em estufa	Flores
Monoterpenos hidrocarbonados					
2-careno	1001	1,10	-	-	-
4-careno	1001	-	-	0,21	0,25
D-limoneno	1031	0,40	0,49	0,16	0,37
γ -terpineno	1062	-	0,85	-	-
Monoterpenos oxigenados					
Cis-geraniol	1276	-	-	-	1,59
Citronelol	1233	-	-	-	1,43
Sesquiterpenos hidrocarbonados					
α -copaeno	1376	1,83	0,95	2,50	1,03
β -elemeno	1375	10,65	1,74	2,32	1,17
γ -elemeno	1430	2,42	3,66	13,24	12,06
Aloaromadendreno	1461	0,73	0,77	0,65	0,43
α -humuleno	1440	3,14	3,78	4,18	2,46
Aromadendreno	1439	0,70	-	0,86	-
γ -muuroleno	1477	1,16	0,80	0,89	0,64
α -muuroleno	1480	0,43	0,63	0,68	0,58
β -copaeno	1416	1,24	3,80	0,47	0,72
Viridifloreno	1493	1,34	0,80	-	-
Biciclogermacreno	1494	1,45	5,44	-	-
β -amorfenoleno	1485	1,01	-	-	-
δ -cadineno	1524	1,14	1,46	2,68	0,38
Trans-calameneno	1510	0,92	0,75	0,86	-
Epizonareno	1497	0,52	-	-	0,43
γ -Selineno	1484	3,82	0,51	-	0,43
α -Guaieno	1439	1,58	-	-	0,36

Copaeno	1376	1,80	2,16	-	-
α -Bulneseno	1505	0,57	2,32	-	-
α -cariofileno	1454	-	14,04	17,38	10,14
Bicyclosesquiphellandreno	1482	-	-	-	0,33
D-germacreno	1480	-	-	10,03	29,90
Epizonareno	1497	-	-	-	0,43
α -Cedreno	1409	-	-	-	0,58
γ -Gurjuneno	1473	-	-	1,89	1,83
β -Burboneno	1384	-	0,28	-	-
Ciclosativeno	1368	-	0,42	-	-
α -Calacoreno	1548	-	0,50	-	-
Elixeno	1514	-	5,43	10,20	-
α -Farneseno	1508	-	0,40	-	-
Longifoleno	1402	-	0,53	-	-
Thujopseno	1429	-	1,69	-	-
Eremofileno	1486	-	0,49	-	-
δ -guaiano	1505	-	0,67	0,45	-
α -cubeneno	1351	-	-	0,19	-
β -bourboneno	1384	-	-	0,34	-
Valenceno	1491	-	-	0,57	-
Neoisolongifoleno	1387	-	-	0,43	-
β -patchouleno	1380	-	-	0,78	-
Sesquiterpenos oxigenados					
Cubedol	1642	0,41	0,64	0,44	-
Epiglobulol	1532	0,41	0,73	-	4,58
Espatulol	1575	8,76	10,97	7,20	0,85
Óxido de cariofileno	1581	7,44	6,23	3,66	-
Globulol	1576	4,62	1,67	1,47	1,42
Ledol	1565	0,53	0,28	-	-
t-muurolol	1608	5,34	-	2,53	-

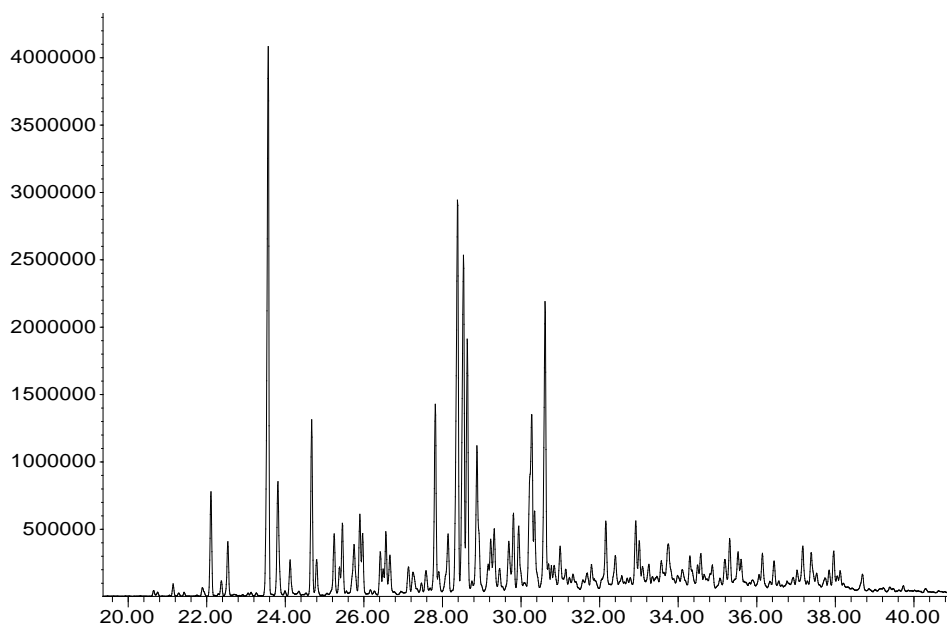


FIGURA 4 - Cromatograma do óleo essencial extraído das folhas frescas de *Eugenia klotzschiana*

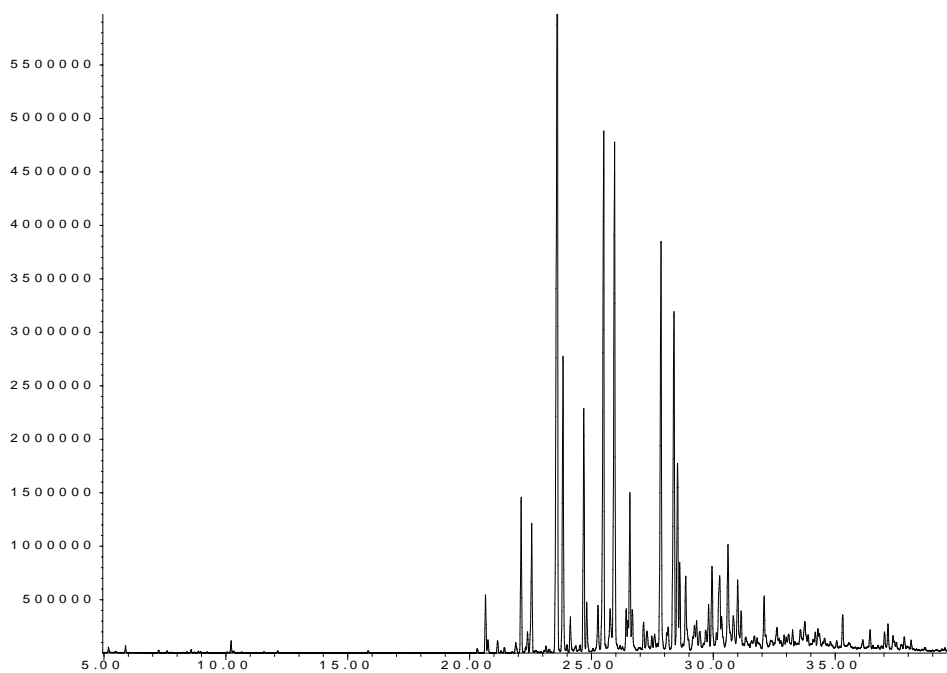


FIGURA 5 - Cromatograma do óleo essencial extraído das folhas secas em estufa de *Eugenia klotzschiana*

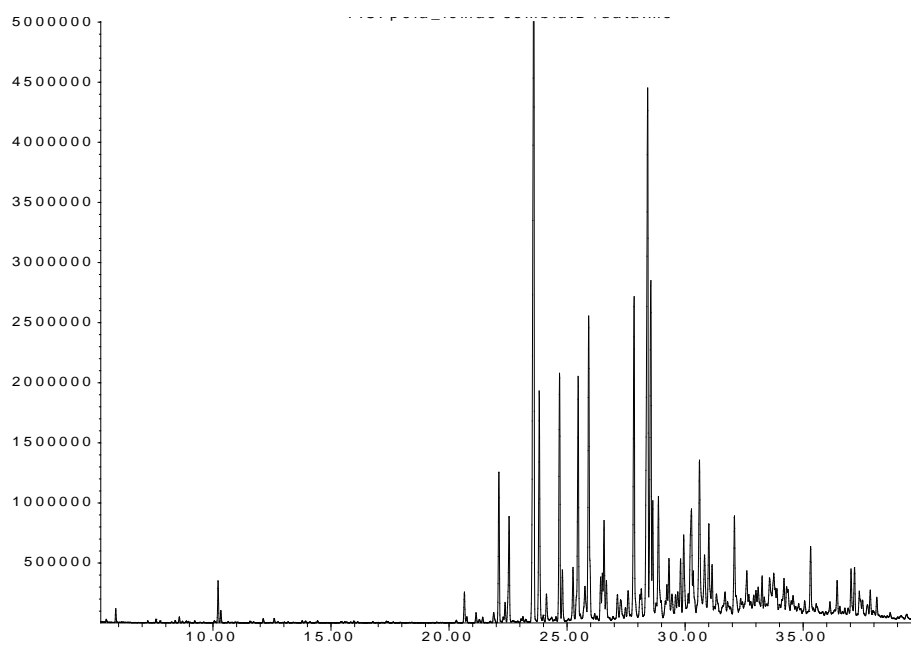


FIGURA 6 - Cromatograma do óleo essencial extraído das folhas secas à sombra de *Eugenia klotzschiana*

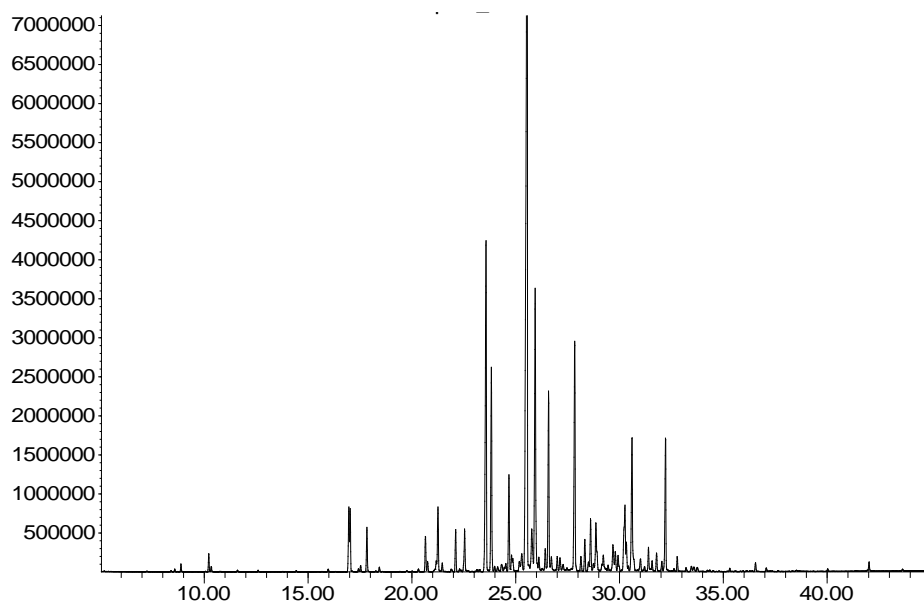


FIGURA 7 - Cromatograma do óleo essencial extraído das flores de *Eugenia klotzschiana*

O óleo essencial das folhas *in natura* foi particularmente rico em sesquiterpenos. O componente majoritário foi o β -elemeno (10,65%), um sesquiterpeno hidrogenado; seguido pelo espatulenol (8,76%), óxido de cariofileno (7,44%), α -cadinol (6,22%) e t-muurolol (5,34%), pertencentes à classe dos sesquiterpenos oxigenados.

O óleo essencial obtido das folhas submetidas à secagem a sombra em temperatura ambiente, revelou ter predominantemente compostos sesquiterpenos, destacando-se o α -cariofileno (14,04%) e espatulenol (10,97%), assemelhando-se aos constituintes encontrados no óleo essencial das folhas frescas. A secagem das folhas promoveu alterações na produção dos metabólitos secundários, que é condizente com o relatado por Gobbo-Neto e Lopes (2007), por causa das variações de temperatura e o desenvolvimento das plantas.

Das 35 substâncias identificadas, os que apresentaram maior concentração foram α -cariofileno (17,38%), γ -elemeno (13,14%), elixeno (10,20%) e D-germacreno (10,03%), todos sesquiterpenos hidrogenados. A produção dos terpenos foi influenciada pela secagem das folhas em comparação com as folhas *in natura*, porém o composto majoritário na secagem natural e artificial foi o mesmo. A secagem em estufa com circulação forçada de ar também interferiu na composição química do óleo essencial.

A secagem de plantas medicinais e aromáticas é um método amplamente utilizado para retirar a água livre das células e dos tecidos vegetais, impedindo os processos de degradação enzimática, mantendo a sua composição química. O processo de secagem proporciona a conservação das plantas, mantendo características físicas e químicas íntegras permitindo armazenamento por um período de tempo elevado. Entretanto, observou-se que a composição do óleo essencial sofre alterações durante os processos de pós-colheita, devido a reações espontâneas que ocorrem continuamente, ocasionando alterações na composição do óleo essencial (OLIVEIRA et al., 2011).

As estruturas químicas dos principais componentes identificados nos óleos essenciais das folhas e flores da pera do cerrado estão ilustrados na Figura 4.

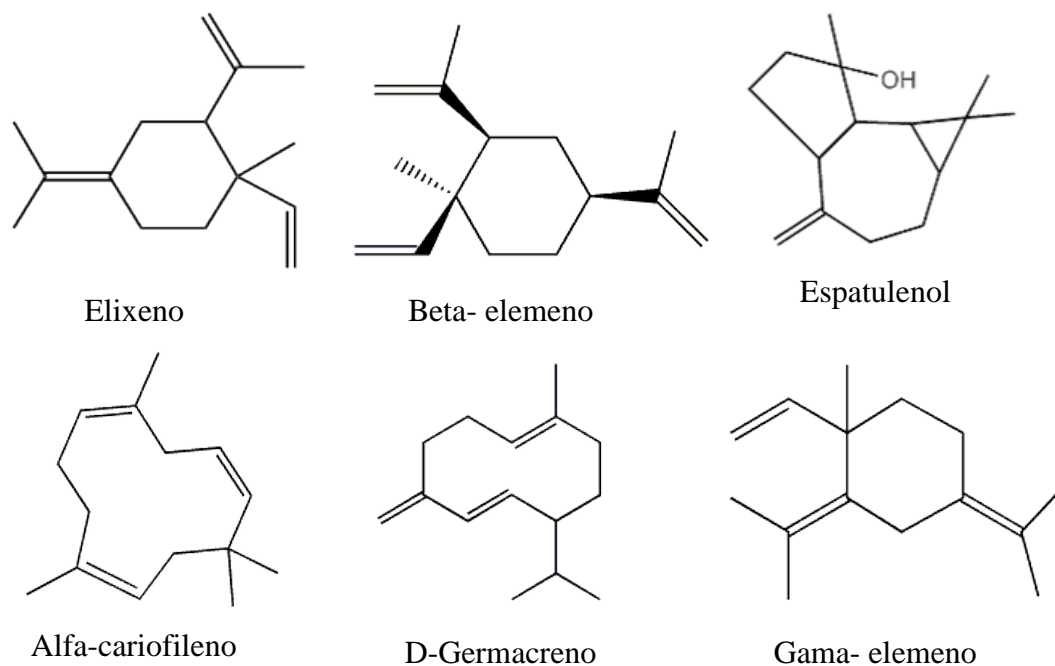


FIGURA 8 – Estrutura química dos compostos majoritários identificados nas folhas e flores de *Eugenia klotzschiana*

Machado et al. (2013) realizaram ensaios utilizando folhas frescas, secagem natural e secagem em estufa a 40°C das folhas de pimenta longa (*Piper hispidinervum*) e observaram que o tipo e tempo de secagem alteraram a constituição química do óleo essencial, aumentando o safrol, constituinte principal para o mercado consumidor industrial. No óleo extraído das folhas frescas apenas 78,2% de safrol foi encontrado, quando o material vegetal foi seco a temperatura ambiente e a 40 °C, a porcentagem de safrol foi elevada para 90,1% e 92,6%, respectivamente. O aumento da concentração de algumas substâncias durante o processo de secagem pode ser elucidado pela redução do excesso de umidade, danificando as estruturas das células vegetais, facilitando a extração do óleo essencial.

Em relação ao óleo essencial extraído das flores de *E. klotzschiana*, verificou-se que os constituintes químicos se assemelharam aos óleos essenciais das folhas frescas e secas, e, também apresentaram maior teor de sesquiterpenos hidrocarbonados (63,90%), destacando o D-germacreno (29,90%), γ -elemeno (12,06%) e α -cariofileno (10,14%). Observou-se a presença de monoterpenos oxigenados (geraniol, citronelol) e fenilpropanoide (eugenol) apenas no óleo essencial das flores, evidenciando seu potencial na indústria de alimentos e farmacêutica.

Teixeira et al. 2013 realizaram a identificação da composição química de nove óleos essenciais e constataram predominantemente monoterpenos hidrocarbonados nos

óleos de limão, toranja, coentro e alho. Dentre os óleos de citronela, sementes de aipo e de cenoura, mais de 35% dos compostos eram sesquiterpenos hidrocarbonados principalmente o β -elemeno, um dos constituintes majoritários do óleo essencial das folhas *in natura* encontrado neste estudo.

O óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*) apresentou como composto majoritário o eugenol, substância que foi identificada apenas no óleo essencial das flores (SILVESTRI et al., 2010). Victoria et al. 2012 encontraram no óleo essencial de *Eugenia uniflora* (pitanga) constituintes classificados como sesquiterpenos oxigenados e não oxigenados, sendo o composto majoritário o D-germacreno, que também foi evidenciado no óleo essencial das flores de *Eugenia klotzschiana*.

Entre os compostos comuns na pera do cerrado e os encontrados por Singh et al. (2012) para as folhas de eucalipto estão o geraniol, β -elemeno, α -humuleno, aromadendreno, D-germacreno, oxido de cariofileno, globulol e viridiflorol. *Eucalyptus citriodora* é uma das espécies de eucalipto mais utilizadas em perfumaria e diversos estudos demonstraram suas propriedades antibacteriana, antifúngica, inseticida, acaricida, antitrypanosomal e herbicida, evidenciando sua aplicabilidade comercial.

Para mensuração da atividade antioxidante foram utilizados os radicais livres DPPH e ABTS⁺. A Tabela 2 demonstra a capacidade dos óleos essenciais obtidos das folhas (frescas e secas) e flores de *E. klotzschiana* na captação dos radicais livres. Os óleos essenciais apresentaram moderada a alta atividade sequestradora comparando com antioxidantes sintéticos e substâncias comprovadamente antioxidantes.

TABELA 2 – Atividade antioxidante dos óleos essenciais de *Eugenia klotzschiana* pelo teste DPPH e ABTS⁺.

Ensaio	Folhas frescas	Folhas secas à sombra	Folhas secas em estufa	Flor
Rendimento (%)	0,10ab	0,17a	0,07b	0,09b
DPPH - EC ₅₀ $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$	29,77 \pm 2,25a	6,48 \pm 0,69b	7,61 \pm 0,10b	5,70 \pm 0,37b
DPPH - g/g	3,25 \pm 0,24a	0,71 \pm 0,07b	0,83 \pm 0,01b	0,62 \pm 0,04b
ABTS ⁺ - μM trolox/g	57,81 \pm 4,80c	143,85 \pm 5,35a	106,27 \pm 4,75b	104,61 \pm 4,46b

Valores constituem média \pm desvio-padrão de três amostras. Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

No teste utilizando o radical DPPH, o EC₅₀ reflete o nível de descoloração por meio da capacidade de doação de hidrogênio de um composto. Quando a forma de

radicais DPPH é eliminada por um antioxidante para formar uma molécula de DPPH estável, isto leva a mudança de cor de púrpura para amarelo e a diminuição na absorbância, demonstrando sua atividade antioxidante. Notavelmente, o óleo essencial das folhas apresentou alto EC_{50} ($29,77 \mu\text{g.mL}^{-1}$), seguido pelas folhas secas em estufa ($7,61 \mu\text{g.mL}^{-1}$), folhas secas à sombra ($6,48 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e flores ($5,70 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

Os resultados de EC_{50} se equiparam aos valores obtidos em g óleo essencial/g DPPH, corroborando a elevada atividade antioxidante das flores (0,62g óleo essencial/g DPPH). Tian et al. (2014) reportaram alto EC_{50} $36,80 \text{ mg.mL}^{-1}$ para o óleo essencial de *Perilla frutescens*, assim como Amiri (2012) para as espécies de *Thymus* (99,6 a $278 \mu\text{g.mL}^{-1}$). O óleo volátil de *Eupatorium adenophorum* apresentaram potente atividade antioxidante com valores de EC_{50} $8,3 \mu\text{L.mL}^{-1}$ (PANDEY et al., 2014), sendo uma alternativa de aditivo natural para utilização na indústria alimentícia. A elevada capacidade antioxidante do óleo essencial das flores pode ser atribuída à presença da alta quantidade do hidrocarboneto sesquiterpênico D-germacreno (29,90%), que revelou ser um forte antioxidante pela sua estrutura química possuir um metileno cíclico extra (VICTORIA et al., 2012).

Os resultados da atividade antioxidante dos óleos essenciais em diferentes concentrações estão representados na Figura 5 e demonstraram que o percentual antioxidante aumentou com a concentração de óleo adicionado, atingindo o valor máximo de 43,07% de inibição do radical DPPH para a concentração de 10000 mg.L^{-1} para o óleo das folhas frescas.

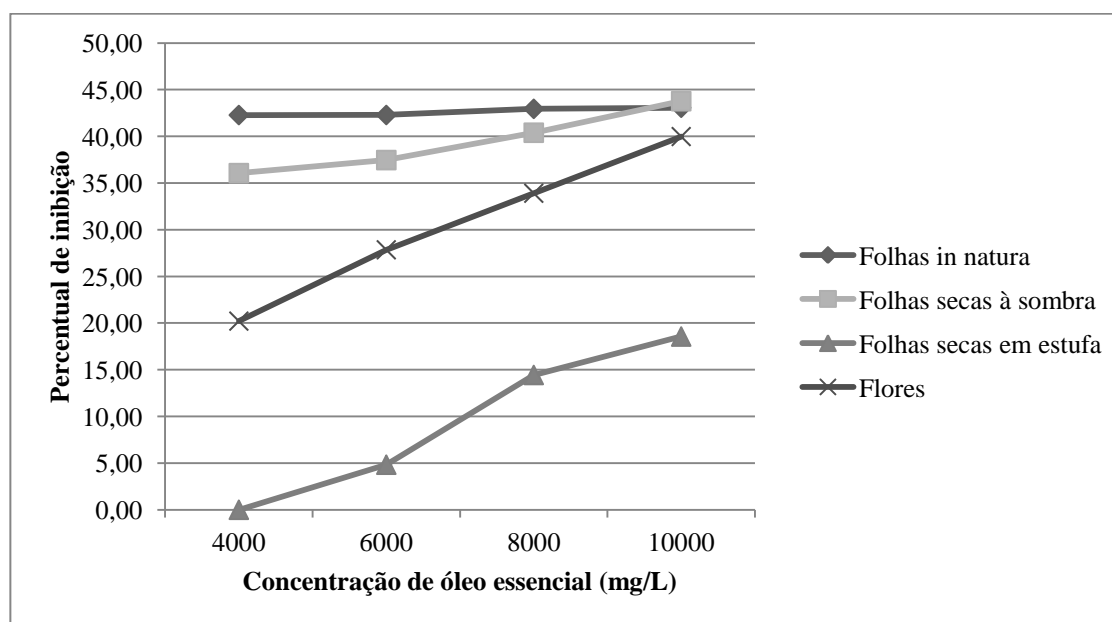


FIGURA 9 - Percentual de inibição do radical DPPH pelos óleos essenciais de *E. klotzschiana* de cada concentração.

Silvestri et al. 2010 reportaram percentual de inibição do óleo essencial do cravo-da-índia entre 44,01 e 95,6% nas concentrações de 150 a 10000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, resultado bem superior ao encontrado para o óleo da pera do cerrado. Segundo Teixeira et al., (2013), a alta capacidade sequestradora atribuída pelos autores se deve a presença do composto majoritário eugenol, que é conhecido como potente antioxidante, que também foi identificado no óleo essencial das flores da pera do cerrado.

A mensuração da capacidade antioxidante usando teste de habilidade em sequestrar o radical ABTS se mostrou com resultados similares aos obtidos utilizando o DPPH. O óleo essencial das folhas submetidas à secagem natural foi o que obteve melhor resultado pelo teste ABTS⁺ (143,85 $\mu\text{M trolox/g}$), seguido pelas folhas secas em estufa (106,27 $\mu\text{M trolox/g}$), óleo essencial das flores (104,61 $\mu\text{M trolox/g}$) e das folhas frescas (57,81 $\mu\text{M trolox/g}$). Comparando-se com o ácido ascórbico (1593,6 $\mu\text{M trolox/g}$) e BHA (1329 $\mu\text{M trolox/g}$), antioxidante sintético utilizado em alimentos, constatou-se que os óleos essenciais de *E. klotzschiana* exibiram baixa eficácia contra o radical livre, sendo necessário aumentar a concentração para demonstrarem uma atividade mais acentuada (DAMASCENO et al., 2011). Observa-se que nas duas metodologias, o óleo essencial das folhas frescas foi o que se apresentou menos eficiente.

A eficiência antioxidante de um óleo essencial é principalmente atribuída aos seus componentes majoritários, embora possa também ser causada pelo efeito sinérgico dos componentes minoritários, bem como possível interação entre os compostos (TIAN et al., 2014). Portanto, o estudo dos óleos essenciais possui a finalidade de maximizar a sua bioatividade e aplicabilidade, e minimizar as concentrações para não haver interferência diante das características sensoriais dos alimentos (FRUTUOSO et al., 2013).

3.4 CONCLUSÕES

1. Os resultados sobre a extração de óleo essencial da espécie *Eugenia klotzschiana*, bem como sua atividade antioxidante, são inéditos na literatura.
2. A análise dos constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas e flores de *E. klotzschiana* identificaram monoterpenos e principalmente sesquiterpenos.
3. Este estudo concluiu que os óleos essenciais da pera do cerrado são boa fonte de sesquiterpenos já que eles representaram mais de 80% da constituição química total.

4. As principais substâncias identificadas foram espatulenol, α -cariofileno, D-germacreno e γ -elemeno.
5. Os óleos essenciais exibiram moderada a alta atividade antioxidante implicando no potencial protetor contra os radicais livres, podendo ser utilizados como antioxidante natural em alimentos industrializados.

3.5 REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectroscopy. Illinois: **Allured Publishing Corporation**, 2007. 468p.

AMIRI, H. Essential oils composition and antioxidant properties of three *Thymus* Species. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 2012.

AMORATI, R.; FOTI, M.C.; VALGIMIGLI, L. Antioxidant activity of essential oils. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 61, p. 10835–10847, 2013.

BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

CORDEIRO, M. W. S.; CAVALLIERI, A. L. F.; FERRI, P. H.; NAVES, M. M. V. Características físicas, composição químico-nutricional e dos óleos essenciais da polpa de *Caryocar brasiliense* nativo do estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 4, p. 1127-1139, 2013.

DAMASCENO, E.I.T.; SILVA, J. K.R.; ANDRADE, E. H.A.; SOUSA, J.C; MAIA, J.G. Antioxidant capacity and larvicidal activity of essential oil and extracts from *Lippia grandis*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, Curitiba, v. 21, v. 1, p. 78-85, 2011.

FRUTUOSO, A.E.; NASCIMENTO, N.T.; LEMOS, T.L.G.; COELHO, E.L.; TEIXEIRA, D.M.A. Óleos essenciais aplicados em alimentos: uma revisão. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Campo Mourão. v.4, n.2, p.69-81, 2013.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

LOURENÇO, H. A. O.; SALES, J. F.; SILVA, F. G.; RIBEIRO, N. L. F; SOUSA, J. L.; PEREIRA, P. S. Content and chemical composition of the essential oil from *Byrsonima versicolor* Rich ex a Juss collected in different seasons in times of day. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.9, n.12, p. 412-418, 2015.

MACHADO, M. P.; BERGO, C. L.; DESCHAMPS, C.; BIZZO, H. R.; BIASI, L. A. Efeito da secagem natural e artificial da biomassa foliar de *Piper hispidinervum* na composição química do óleo essencial. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 265-270, 2013.

MENSOR L. L.; MENEZES F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; COUBE C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 53, p. 127-130. 2011.

NIST (National Institute of Standards and Technology). <http://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser.html>. Acesso em novembro 2015.

PANDEY, A.K.; MOHAN, M.; SINGH, P.; PALNI, U.T.; TRIPATHI, N.N. Essential composition, antibacterial and antioxidant activity of essential oil of *Eupatorium adenophorum* Spreng from Easterns Uttar Pradesh, Índia. **Food Bioscience**, 80-87, 2014.

RUFINO, M.S.M., ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PEREZ-GIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Embrapa**, Fortaleza, 2007.

RUFINO, M.S.M., ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PEREZ-GIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS⁺. **Embrapa**, Fortaleza, 2007.

S. A. Maissonneuve, *European Pharmacopoeia*, vol. 1, **Sainte Ruffine**, France, 1983.

SILVA, D. B.; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas do Cerrado**. 1. Ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 199 p.

SILVESTRI, J. D. F.; PAROUL, N.; CZYEWski, E.; LERIN, L.; ROTAVA, I.; CANSIAN, R. L.; MOSSI, A.; TONIAZZO, G.; OLIVEIRA, D.; TREICHEL, H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 5, p. 589-594, 2010.

SINGH, H. P.; KAUR, S.; NEGI, K.; KUMARI, S.; SAINI, V.; BATISH, D.R.; KOHLI, R.K. Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of *Eucalyptus citriodora* (lemon-scented Eucalypt; *Myrtaceae*) and its major constituents. **Food Science and Technology**, Washington, v. 48, 2012.

TEIXEIRA, B.; MARQUES, A.; RAMOS, C.; NENG, N.R.; NOGUEIRA, J.M.F.; SARAIVA, J.A.; NUNES, M. L. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 43, p. 587– 595, 2013.

TIAN, J.; ZENG, X.; ZHANG,S.; WANG, Y.; ZHANG, P.; LU, A.; PENG, X. Regional variation in components and antioxidant and antifungal activities of *Perilla frutescens* essential oils in China. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 59, p. 69–79, 2014.

VALERIANO, C.; PICCOLI, R. H.; CARDOSO, M.G.; ALVES, E. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.1, 2012.

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**, v. 50, p. 2668–2674, 2012.

VIEIRA, R.F.; AGOSTINI-COSTA, T.S.; SILVA, D.B.; FERREIRA, F.R. SANO, S.M. Frutas nativas da região centro-oeste do Brasil. **Embrapa**, Brasília, 2006.

VITTI, A.M.S.; BRITO, J.O. Óleo essencial de eucalipto. **Documentos florestais**, n.17, p. 1-26. 2003.

4. CAPÍTULO II

Normas de acordo com a Revista Food Chemistry

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE FRUTOS DE *Eugenia klotzschiana*

RESUMO- Este estudo objetivou avaliar a composição proximal e quantificar os compostos bioativos e atividade antioxidante da fruta do cerrado brasileiro *Eugenia klotzschiana*. A polpa analisada apresentou alta umidade (89.47%) e valor energético (96.07 kcal. 100g⁻¹) e baixo conteúdo de proteínas (0.59%) e lipídeos (2.35%). Para a composição de minerais, a polpa demonstrou altas concentrações de ferro (16.5mg.100g⁻¹). A polpa da pera do cerrado também se destacou pelo seu elevado teor de fibras (6.45%). Em relação aos compostos bioativos, evidenciou-se a presença de carotenoides (0.034-0,055mg 100 g⁻¹) e ácido ascórbico (8.66mg 100 g⁻¹). As duas frações extraídas (com água e solventes metanol e acetona) apresentaram valores significativos de compostos fenólicos (333.41 - 566.33mg EAG. 100g⁻¹) e flavonoides (225 – 550 mg EQ.100g⁻¹), que repercutiram em sua atividade antioxidante. A polpa apresentou alto potencial antioxidante para os testes DPPH, ABTS e FRAP.

Palavras-chave: pera do cerrado, nutrientes, compostos bioativos, antioxidante

**DETERMINATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS, ANTIOXIDANT
ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF THE *Eugenia klotzschiana*
FRUITS**

ABSTRACT- This study aimed to evaluate the proximal composition and quantify the bioactive compounds and antioxidant activity of the Brazilian cerrado fruit *Eugenia klotzschiana*. The analyzed pulp showed high humidity (89.47%) and energy density (kcal 96.07. 100g⁻¹) and low protein content (00.59%) and lipids (2.35%). For the mineral composition pulp showed high concentrations of iron (16.5mg.100g⁻¹). The Brazilian pear pulp also stood out for its high fiber content (6.45%). With regard to bioactive compounds, it showed the presence of carotenoids (0.034-0.055mg.100 g⁻¹) and ascorbic acid (8.66mg.100g⁻¹). The two extracted fractions (solvents with water and methanol and acetone) showed significant amounts of phenolic compound (333.41 - 566.33mg EAG 100g⁻¹) and flavonoid (225 - 550 mg EQ.100g⁻¹), which reflected in their antioxidant activity. The pulp showed high antioxidant potential for testing DPPH, ABTS and FRAP.

Key words: Brazilian pear, nutrients, bioactive compounds, antioxidant

4.1 Introdução

Mostrando sua importância internacional e nacional, o Cerrado constitui um dos *hotspot* mundiais de biodiversidade e também o segundo maior bioma brasileiro (sendo 2 milhões de km² distribuídos na América Latina representando 22% do território nacional). A expansão da agricultura e o uso de tecnologias modernas no Cerrado geraram benefícios socioeconômicos inegáveis. No entanto, é comum encontrar áreas no Cerrado que como resultado de manejo do solo deficiente possuem alta erosão ou invasão por espécies exóticas. Estima-se que cerca de 55% da área original do Cerrado já foi desmatado ou transformado pela ação humana. Além disso, ele é constituído por grande biodiversidade com espécies ameaçadas da fauna e da flora brasileira. Em relação à diversidade biológica, esta região é reconhecida como a savana mais rica do mundo, possuindo cerca de 10.000 espécies vegetais nativas catalogadas (MYERS et al., 2000).

Muitas espécies nativas do Cerrado brasileiro proporcionam frutas que possuem características sensoriais (cor, aroma e sabor) únicas e alto valor nutricional, apresentando elevados teores de açúcares, proteínas, vitaminas, sais minerais e

compostos com alta atividade antioxidante, entre outros. Entre os compostos presentes nos alimentos que possuem propriedades funcionais, substâncias com atividade antioxidante tem recebido significativa atenção pela proteção ao corpo humano contra o estresse oxidativo, prevenindo uma série de doenças crônicas degenerativas (KAUR & KAPOOR, 2001). Estas frutas nativas, apesar de apresentarem valor nutricional elevado, ainda são desvalorizadas sob o aspecto econômico, pois além de serem consumidas pela população local, poderiam desempenhar funções importantes como potencial para agroindústria e comercialização (CARDOSO et al., 2011; ALMEIDA et al., 2011). Muitos estudos têm sido realizados no sentido de caracterizar estes frutos nativos do cerrado para promover a valorização destes produtos e incentivar o desenvolvimento sustentável (CARDOSO et al., 2011; LEMOS et al., 2012; ROESLER et al., 2006; SOUZA et al., 2012).

A pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana* Berg.), também denominada pera do campo ou cabacinha do campo, pertencente à família das Myrtaceae, é nativa da região do Cerrado brasileiro e é pouco conhecida pela indústria de alimentos. A planta é um arbusto pequeno de 1 a 2 metros de altura, com fruto de tamanho variável, característica velutina, casca fina de coloração amarela quando madura e polpa mole com certa adstringência e sabor ácido (por causa da alta acidez) (DONADIO & MORO, 2004; FARIA JUNIOR, 2010). Os frutos possuem valores significativos de fibra alimentar ($4.57 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e ácido ascórbico ($31.2 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$), além de elevada acidez (pH 2.54) (VALLILO, 2003). O pouco conhecimento com relação aos frutos de pera do cerrado pode ser pela sua restrita distribuição geográfica e a grande dificuldade de aproveitamento das sementes obtidas para o plantio (CORRÊA, 1931; RIBEIRO et al., 1985). Além disso, sua utilização se resume ao consumo de frutos *in natura* ou seu uso para doce em compota e geleia.

Estudos com relação à caracterização física, aos compostos bioativos e atividade antioxidante da polpa não foram encontrados. Portanto, o objetivo deste estudo foi caracterizar a composição proximal, teor de compostos bioativos e atividade antioxidante da polpa de frutos de *Eugenia klotzschiana* Berg., nativos do Cerrado.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Material vegetal

Frutos da pera do cerrado (*E. klotzschiana*) foram coletadas em áreas de vegetação nativa típica do cerrado, em Portelândia (latitude sul 17 ° 23' de longitude oeste e 52 ° 38 '), Goiás, Brasil, durante a época de colheita (a partir de dezembro de 2014 a janeiro de 2015). Os frutos morfológicamente perfeitos com maturação completa foram higienizados com água para remover a sujeira e armazenados na temperatura ambiente. A pera do cerrado foi considerada madura quando a cor da casca se apresentava com coloração amarela. Esta cor foi relacionada à luminosidade (L *) variando de 40.34 a 40.68, a razão de vermelho para cor verde (a *) variando de 12,64 a 13,96 e a proporção de amarelo para cor azul (b *), variando de 25,72 a 26.84, de acordo com o sistema *Comission Internationale de l'Eclairage* (CIE). A polpa dos frutos da pera do cerrado foi separada manualmente das sementes e a casca imediatamente antes da utilização nas análises. A cor da polpa de pera cerrado foi relacionada à luminosidade (L *) variando de 56.70 a 65.20, a razão de vermelho para cor verde (a *) que varia de 3.18 a 4.74 e a razão de amarelo para cor azul (b *) variando de 33.72 a 37.48, de acordo com o sistema CIE.

4.2.2 Reagentes químicos

O reagente para fenol Folin e Ciocalteu, ABTS 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine), BHT (3,5-Di-tert-4-butylhydroxytoluene) e os padrões: trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), quercetina, ácido gálico e glicose foram adquiridas da Sigma (Steinheim, Germany).

Os outros reagentes foram utilizados em grau analítico: carbonato de sódio, clorofórmio, hexano, sulfato de cobre, selenito de sódio, sulfato de sódio, ácido bórico, ácido 3,5-dinitrosalicílico, vermelho de metila e persulfato de potássio (marca Neon), cloreto de alumínio hexaidratado, ácido clorídrico, ácido sulfúrico, acetona e ácido acético glacial marca Vetec (Rio de Janeiro, RJ, Brasil), álcool etílico (marca Fmaia) (Tucuruvi, SP, Brasil), álcool metílico, ácido oxálico, fosfato de sódio, ácido ascórbico e 2,6-diclorofenolindofenol (marca Dinâmica Química contemporânea) (Diadema, SP, Brasil), cloreto férrico e sulfato ferroso (marca Alphatec) e nitrito de sódio (marca Synth) (Diadema, SP, Brasil). Enzimas utilizadas: amilase termoestável, protease e amiloglicosidase.

4.2.3 Caracterização física

Após a coleta, 20 frutos *in natura* foram selecionados aleatoriamente para as análises físicas. Medições individuais de massa, diâmetros transversal e longitudinal foram realizadas utilizando um paquímetro digital (Mitutoyo). As massas dos frutos (MF), da polpa (MP) e do resíduo (casca+sementes) foram obtidas por pesagem direta em balança analítica (Shimadzu). O rendimento de polpa foi determinado pela relação entre a massa da polpa e a massa do fruto $(MP/MF) \times 100$.

4.2.4 Análises químicas

As análises químicas foram realizadas usando quatro repetições. Valores de acidez titulável, sólidos solúveis e pH ((IAL—Instituto Adolfo Lutz, 2005); umidade (método 925.09), cinzas (método 923.03), proteínas (método 920.87), lipídios (método 925.38) e fibra dietética total (método 985.29) (AOAC—Association of Official Analytical Chemists, 2008) foram determinados. Os carboidratos foram calculados por diferença usando a fórmula: $(100 - \% \text{ umidade} - \% \text{ lipídios} - \% \text{ proteína} - \% \text{ fibra dietética total} - \% \text{ cinzas})$. O valor energético foi estimado considerando o fator de conversão de 4 kcal g^{-1} para proteína ou carboidratos e 9 kcal g^{-1} para lipídios (MERRIL & WATT, 1973). O teor de açúcares redutores e não redutores foram determinados por Miller (1959) e o resultado expresso em $\text{g glicose } 100\text{g}^{-1}$ peso fresco (PF). A curva de calibração de açúcares está demonstrada na Figura 1.

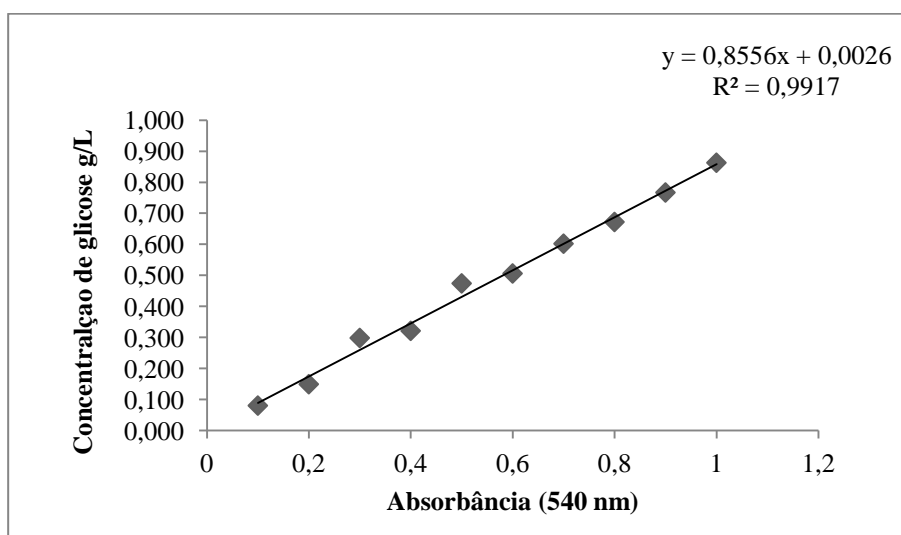


Figura 1 – Curva padrão de açúcar

4.2.5 Minerais

Os níveis de minerais foram avaliados com a amostra triturada e homogeneizada utilizando a metodologia descrita por Salinas e Garcia (1985). A quantificação dos elementos foi realizada por espectrofotometria utilizando uma curva padrão para cada mineral. Para determinar a concentração de cálcio, manganês, ferro, cobre, magnésio e zinco, foi utilizado espectrofotômetro de absorção atômica. Para determinação de fósforo foi utilizado um espectrofotômetro de absorção molecular. Um fotômetro de chama foi usado para determinação de potássio.

4.2.6 Carotenoides totais e clorofila

O conteúdo total de carotenoides foi determinado de acordo com Nagata e Yamashita (1992). Resumidamente, 2 g de polpa foi extraída em 20 mL de acetona:hexano (4:6), no escuro, foi então centrifugado por 3 minutos a 20 °C a 15.000 rpm (ITR modelo 8BT, Med. Instruments, Warsaw, Mazowieckie, Poland). Depois, o extrato foi filtrado com filtro de papel Whatman nº 4 e a absorbância foi mensurada a 453 nm, 505 nm, 645 nm e 663 nm. Resultados foram expressos em mg β-caroteno por 100 g of PF e mg licopeno por 100 g PF.

O teor de clorofila foi determinado de acordo com ARNON (1949). Resumidamente, 1 g de polpa foi homogeneizada em 30 mL de acetona: água (80:20, v/v) e filtrado em filtro Whatman nº 4. O volume da mistura foi ajustado para 50 mL e a absorbância foi mensurada a 645 e 663 nm. O conteúdo total de clorofila foi calculado pela equação abaixo. Resultados foram expressos em mg por 100 g PF.

$$\text{Clorofila total } (\mu\text{g.mL}^{-1}) = 20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663}$$

Em que, A_{645} é a absorbância a 645 nm e A_{663} é a absorbância a 663 nm.

4.2.7 Vitamina C

A análise de ácido ascórbico foi realizada pelo método oficial da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1984), modificado por BENASSI e ANTUNES (1988). 5 g de polpa de pera do cerrado foram homogeneizadas com 50 mL de ácido oxálico 2% e filtrada com filtro Whatman nº 4. Uma alíquota de 10 mL foi titulada com diclorofenol-indofenol 0.2%. Resultados foram obtidos como miligramas de (ácido ascórbico) AA por 100 g de peso fresco (PF).

4.2.8 Extrações

Para a determinação de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante (métodos DPPH, ABTS e FRAP) dois métodos de extração foram usados para comparação. *Método 1*: 20 g de polpa fresca foram homogeneizadas com 100 mL de água e filtradas com Whatman nº 4 (LIMA et al., 2013). *Método 2*: O procedimento desenvolvido por LARRAURI, RUPÉREZ e SAURA-CALIXTO (1997) foi empregado com modificações e é resumidamente descrito como: 20 g polpa fresca extraída sequencialmente com 40 ml de metanol:água (50:50, v/v) a temperatura ambiente por 1 hora e filtrado com Whatman nº 4. O sobrenadante foi recuperado e extraído com 40 mL de acetona:água (70:30, v/v) a temperatura ambiente, extraído por 60 min e filtrado. Os extratos com metanol e acetona foram unidos, completando o volume para 100 mL com água.

4.2.9 Compostos fenólicos totais (CFT)

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo ensaio Folin–Ciocalteu, baseado em Waterhouse (2002). Uma alíquota de 100 µL da amostra foi adicionada a 500 µL do reagente Folin-Ciocalteu. Posteriormente foram adicionados 7,4 mL de água destilada e deixados por 1 minuto e após uma solução de carbonato de sódio 15% foi adicionada e deixada por 2 minutos. Em seguida, a solução foi homogeneizada e deixada em repouso por 2 horas e logo após foram realizadas as leituras das absorbâncias em espectrofotômetro a 720 nm. Foi realizada a mesma leitura com o branco contendo os mesmos reagentes exceto a amostra. Uma curva padrão de ácido gálico foi construída utilizando soluções com concentrações de 10 a 350 µg/mL. A quantidade total de fenóis foi quantificada por meio da curva padrão e expressa como mg de equivalentes de ácido gálico por 100g de polpa (EAG.100g⁻¹). A equação de calibração do ácido gálico obteve um coeficiente de correlação $R^2 = 0,9956$ (Figura 2).

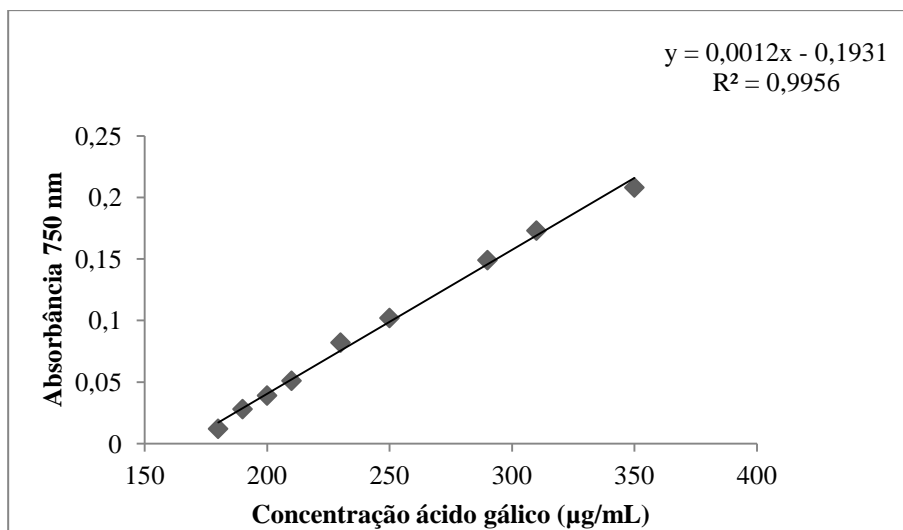


Figura 2 – Curva padrão de ácido gálico

4.2.10 Flavonoides totais (TF)

O teor de flavonoides de *E. klotzschiana* foi determinado por colorimetria, de acordo com SUBHASREE et al. (2009). Resumidamente, 250 µl do extrato foi adicionado a 1,5 mL de água destilada e 150 µl de NaNO₂ 5% (m/v). Após 5 min, 300 µl de AlCl₃.6H₂O 10% (m/v) foram adicionados a mistura, homogeneizados e deixado por 6 minutos a temperatura ambiente (25 °C). Depois, 1,0 ml de NaOH 1M foi adicionado a mistura e o volume foi ajustado para 5 mL. A absorbância da mistura foi lida a 510 nm. Quercetina foi usada como padrão (Figura 3) e os resultados foram expressos em g de quercetina por 100 g de peso fresco.

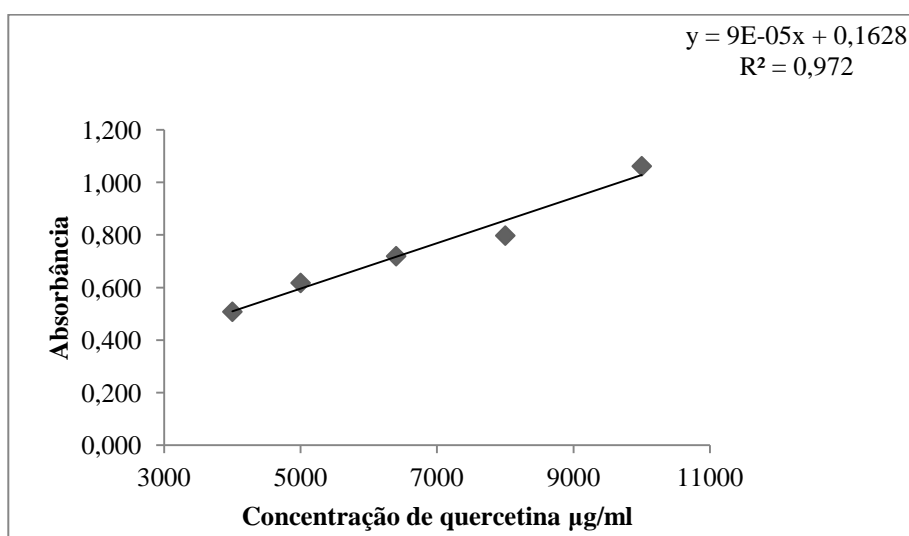


Figura 3 – Curva padrão de quercetina

4.2.11 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada por três diferentes métodos. Para o ensaio DPPH (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER, & BERSET, 1995), 100 μ l de extrato bruto foi adicionado a 3.9 ml de solução metanólica 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 60 μ M. Depois de 60 min de incubação, a temperatura ambiente e no escuro, a absorvância foi mensurada a 515nm. A capacidade antioxidante foi expressa como concentração de antioxidante necessário para reduzir a quantidade original de radicais livres a 50% ((EC₅₀) e valores expressos como g polpa fresca/g DPPH[•].

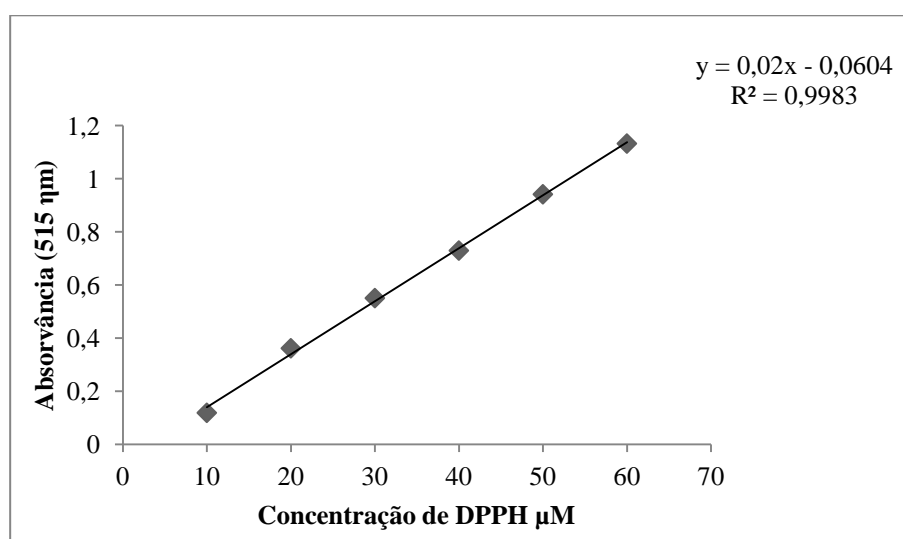


Figura 4 – Curva padrão de DPPH

Para o ensaio da captura do radical ABTS⁺ (2,2 azinobis-3-etilbenzolina-6-ácido sulfônico), de acordo com o procedimento descrito por Re et al. (1999). O radical ABTS⁺ foi preparado a partir da reação de 5mL da solução aquosa de ABTS (7mM) com 88 μ L da solução de persulfato de potássio (140mM), deixado reagir por 16 horas no escuro. Em seguida essa mistura foi diluída com etanol até absorvância de 0,70 η m \pm 0,05 a 734 η m. Uma alíquota de 30 μ L de cada diluição dos extratos (aquoso e metanol-acetona) foi adicionada a 3 mL do radical ABTS⁺ em tubos de ensaio e deixado por 6 minutos no escuro. A absorvância foi lida a 734 η m em um espectrofotômetro utilizando etanol como branco. Uma curva de Trolox com diferentes concentrações (100 a 2000 μ M) foi construída e utilizada como padrão. Os resultados foram expressos como micromolar de Trolox por grama de fruta (μ M trolox/g).

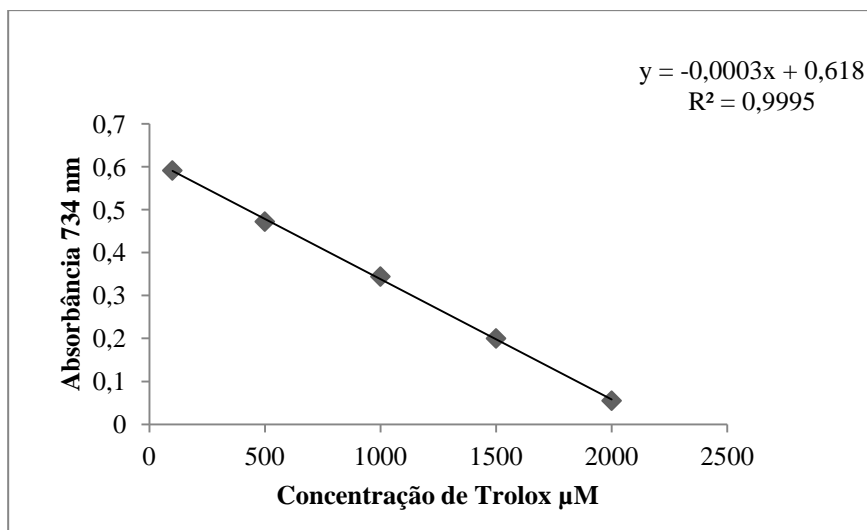


Figura 5 – Curva padrão de Trolox para o teste ABTS

A capacidade antioxidante pelo método FRAP, seguindo o procedimento descrito na literatura (BENZIE & STRAIN, 1996) com modificações. Resumidamente, 2,7 ml do reagente FRAP recém-preparado (TPTZ, FeCl_3 e tampão acetato) a 37°C foi misturado com $90\ \mu\text{L}$ do extrato do fruto e $270\ \mu\text{L}$ de água destilada. Usando o branco contendo o reagente FRAP como referência, a absorbância a $595\ \text{nm}$ foi determinada após 30 min. Solução aquosa de Fe (II) com concentrações no intervalo de 250–2000 μM (Fe_2SO_4) foram usadas para calibração.

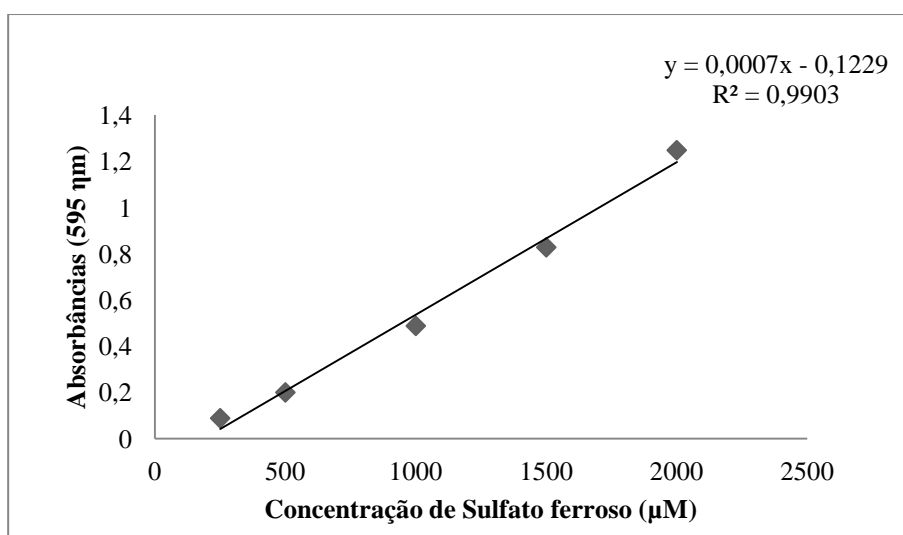


Figura 6 – Curva padrão de sulfato ferroso para o teste FRAP

4.2.12 Análise estatística

Os ensaios foram realizados em triplicata para cada amostra. Resultados foram expressos como valores médios \pm desvio padrão (DP). Para provar diferenças significativas entre os métodos de extração, a análise estatística dos dados foi realizada por análise unidirecional da variância, seguida pelo teste T a 95% de probabilidade.

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Caracterização física

A Tabela 1 demonstra as características físicas da polpa da pera do cerrado. A *Eugenia klotzschiana* apresentou rendimento inferior (64.35%) ao relatado por Cardoso et al. (2011) para os frutos da cagaita (86.43%) (*Eugenia dysenterica*). Entretanto, pode-se considerar um rendimento elevado, potencializando o uso comercial e industrial deste fruto. A avaliação do rendimento de frutos é considerada um atributo de qualidade, especialmente para aqueles utilizados na elaboração de produtos (HAMACEK et al. 2013).

Tabela 1. Características físicas de frutos da pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana*) do Cerrado (Portelândia, Goiás, Brasil).

Variáveis	Média ^a \pm DP ^b	Amplitude	
		Mínimo	Máximo
Diâmetro longitudinal (cm)	8.96 \pm 0.87	7.8	10.3
Diâmetro transversal (cm)	5.95 \pm 0.59	4.9	6.7
Massa (g)			
Frutos	101.73 \pm 29.24	74.42	172.53
Resíduo	38.34 \pm 13.90	24.20	72.29
Polpa	67.75 \pm 15.84	49.52	100.24
Rendimento da polpa (%)	64.35 \pm 3.16	58.10	67.17

^aMédia de 20 frutos ^bDesvio padrão

Os frutos da pera do cerrado apresentaram formato piriforme, com casca fina, amarela e aveludada, com polpa suculenta e bastante úmida de cor parda e numerosas sementes (Figura 1).



Figura 1. Representação fotográfica dos frutos da pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana*). Fonte: A autora.

4.3.2 Caracterização química

A pera do cerrado apresentou acidez titulável total (ATT) de 2.07 g de ácido cítrico 100 g^{-1} , pH de 3 e sólidos solúveis totais (SST) de 6 °Brix. O pH e a acidez titulável encontrada neste estudo corrobora com o que foi relatado por DONADIO & MORO (2004) que estabeleceu a pera do cerrado como uma fruta ácida. A relação SST/ATT fornece melhor avaliação do flavor das frutas, sendo mais representativo do que medidas isoladas de teor de açúcares ou acidez (PEREIRA et al., 2012). A SST/ATT encontrado neste trabalho foi de 2.89 ± 0.02 , assemelhando-se ao encontrado por Hamacek et al. 2013 para o jenipapo do cerrado (*Genipa americana L.*) que apresentou valor de 2.04 para essa relação.

A Tabela 2 apresenta as características químicas da polpa da pera do cerrado. A polpa apresentou alto teor de umidade (89.47%) que se encontra dentro da classe das frutas suculentas. A fragilidade da casca faz com que a pera do cerrado seja suscetível a deterioração enzimática e microbiana e, assim, torna-se difícil sua conservação. Comparando a composição proximal da pera do cerrado com outros frutos do cerrado, pode-se encontrar: teor de umidade similar ao da cagaita e murici (80.87% a 93.12%) (CARDOSO et al., 2011; SOUZA et al., 2012); conteúdo de proteínas semelhante aos valores presentes na macaúba e cagaita (0.60 e 0.63%, respectivamente) (ROCHA et al.,

2011; CARDOSO et al., 2011) e o teor de lipídios similar ao do araticum e coquinho-azedo (2.14 e 2.73%, respectivamente) (LOPES et al., 2012).

Tabela 2. Características químicas ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$) e valor energético total ($\text{kcal } 100 \text{ g}^{-1}$) da pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana*) do Cerrado (Portelândia, Goiás, Brasil).

Variáveis ^a	Média ^a \pm DP ^c
Umidade	89.47 \pm 0.29
Cinzas	0.04 \pm 0.00
Proteínas	0.59 \pm 0.01
Lipídios	2.35 \pm 0.14
Carboidratos	7.50 \pm 0.40
Fibra dietética total	6.45
Fibras solúveis	1.36
Fibras insolúveis	5.09
Valor calórico	96.07 \pm 2.33
Açúcares totais	1.35 \pm 0.03
Açúcares redutores	1.15 \pm 0.01
Açúcares não redutores	0.2 \pm 0.01

^aValores expressos em peso fresco. ^bMédia de 4 repetições. ^cDesvio padrão.

Em relação às fibras, a pera do cerrado pode ser considerada um alimento fonte, pois apresentou um nível de 6.45% de fibras totais, sendo 1.36% de fibras solúveis e 5.09% de fibras insolúveis. Valor semelhante foi encontrado por Bramorsk et al. 2011 para a fruta camarinha (6.53%), evidenciando o valor nutricional dos frutos brasileiros. Destaca-se a importância fisiológica do consumo das fibras insolúveis pela capacidade de absorverem água no intestino grosso, promovendo melhor funcionamento intestinal, reduzindo o risco de problemas relacionados ao cólon, tais como constipação e câncer, além de reduzir os níveis séricos de triglicérides e glicose (LAI et al., 2015).

O consumo de uma porção de 100 gramas da pera do cerrado perfaz 25% das necessidades diárias de fibra alimentar recomendadas para um indivíduo adulto (IOM, 2006).

Quanto aos açúcares totais, redutores e não redutores, foram observados valores médios de 1.35%, 1.15% e 0.2%, respectivamente, equiparando-se ao fruto do cerrado murici (1.83%) pelos baixos níveis de sólidos solúveis e açúcares totais, atributos que interferem diretamente na aceitabilidade dos consumidores (SOUZA et al., 2012). Baseado nestes resultados, o valor energético total da *E. klotzschiana* foi determinado, apresentando 96.07 kcal por 100 g de porção comestível, sendo considerado de elevado valor calórico.

4.3.3 Minerais

A composição dos minerais para a polpa da pera do cerrado está demonstrada na tabela 3. A contribuição de cada mineral para o *Dietary Reference Intake* (DRI) para um homem adulto saudável é dado em % por 100 g de polpa (IOM, 2006). Em geral, o fruto analisado não contribuiu significativamente para as DRI de cálcio, mas teve intermediária contribuição para a DRI de potássio, fósforo, magnésio e zinco. Porém, obteve contribuição importante para os íons ferro, manganês e cobre. Desses, destaca-se o mineral ferro ($16.5 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$), que possui funções indispensáveis ao corpo humano, como no armazenamento e utilização do oxigênio pelo organismo e apresentou valor muito superior ao relatado para a pera comum ($0.30 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) (USDA, 2015).

Tabela 3. Conteúdo de minerais da pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana*) (Portelândia, Goiás, Brasil) e contribuição do %DRI por 100 gramas de polpa.

Minerais	Pera do cerrado ^a	%DRI
Potássio	625	13.29
Fósforo	131	18.71
Cálcio	140	1.16
Magnésio	54	12.85
Ferro	16.5	206.25
Manganês	1.1	47.82
Cobre	0.57	63.33
Zinco	1.61	14.36

^a $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$

4.3.4 Compostos bioativos e atividade antioxidante

Não há informações disponíveis na literatura em relação aos compostos bioativos, conteúdo de compostos fenólicos ou capacidade antioxidante da pera do cerrado. A Tabela 4 demonstra os valores de ácido ascórbico, clorofila, carotenoides totais em β -caroteno e licopeno.

Tabela 4. Compostos bioativos (mg 100 g⁻¹ peso fresco) da pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana*) do Cerrado (Portelândia, Goiás, Brasil).

Variáveis ^a	Média ^b ± DP ^c
Clorofila	0,66 ± 0,00
Carotenoides totais (β-caroteno)	0,034 ± 0,01
Carotenoides totais (licopeno)	0,055 ± 0,01
Ácido ascórbico	8,66 ± 0,07

^aValores expressos em peso fresco. ^bMédia de 3 repetições. ^cDesvio padrão.

O baixo conteúdo de clorofila encontrado na pera do cerrado foi devido ao processo de maturação, no qual a clorofila é degradada, causando alterações na coloração do pericarpo até sua extinção gradual e aumento da síntese ou exibição dos pigmentos carotenoides (SCHOEFS, 2002).

A polpa da pera do cerrado evidenciou quantidade de carotenoides (teores de 0,034 mg β-caroteno 100g⁻¹ e 0,055 mg licopeno 100g⁻¹ FM) resultado bem inferior ao elucidado por Cardoso et al. 2011 para *E. dysenterica* que demonstrou baixo conteúdo de carotenoides (0,77 mg 100g⁻¹). No organismo humano, o β-caroteno sofre oxidação, resultando em dois aldeídos denominados retinal, que, por meio de reações bioquímicas são convertidos em vitamina A (SCHOEFS, 2002).

O teor de vitamina C encontrado neste trabalho para a polpa da pera do cerrado é similar ao reportado por Park et al. 2015 para a pera comum (8 mg.100g⁻¹) (*Pyrus communis*). A ingestão de alimentos contendo vitamina C é necessária em razão de importantes funções executadas no organismo humano, e o ácido ascórbico atua como substrato para hidroxilações importantes na resposta imunológica. Portanto, a vitamina C atua como antioxidante e pode prevenir o dano oxidativo (SCHOEFS, 2002).

A tabela 5 demonstra o teor de flavonoides, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante da polpa da pera do cerrado pelos dois métodos de extração.

Tabela 5. Flavonoides totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante da polpa da pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana*) Portelândia, Goiás, Brasil.

Variáveis	Método 1	Método 2
Total flavonoides mg EQ/100 g FM)	225 ^a ±0.10	550 ^b ±0.74
Compostos fenólicos totais (mg EAG. 100g ⁻¹)	333.41 ^a ±0,80	566.33 ^b ±0.98
Atividade antioxidante- DPPH (EC ₅₀ -µg.mL ⁻¹)	0.74 ^a	0.78 ^a
Atividade antioxidante – DPPH (g/g DPPH)	0.08 ^a	0.09 ^a
Atividade antioxidante – ABTS (µmol ET/g.p.f)	220.80 ^a	319.20 ^b
Atividade antioxidante – FRAP (µM Fe ²⁺ /g.p.f)	0.47 ^a ±0.01	0.80 ^b ±0.01

Média ± desvio padrão; n=4; ET: Equivalente de Trolox; GPF: grama de peso fresco. Médias na mesma linha seguidas por letras diferentes possuem diferença significativa (p<0.05).

O valor encontrado neste trabalho para compostos fenólicos totais (PCC) tanto na extração aquosa (333 mg EAG. 100g⁻¹) quanto com os solventes metanol-acetona (566 mg EAG. 100g⁻¹) foi maior do que havia sido relatado por ROCHA et al. 2011 para a extração com acetona 70% (217 mg EAG 100g⁻¹). Além disso, a pera do cerrado apresentou PCC comparável aos frutos de murici (*Byrsonima crassifolia*) (334 mg EAG.100g⁻¹) (SOUZA et al., 2012) e maior do que frutos de cagaita (*Eugenia dysenterica*) (111 mg EAG.100⁻¹), gabioba (*Campomanesia adamantium*) (259 mg EAG.100⁻¹), pitanga do cerrado (*Eugenia punicifolia*) (327 mg EAG.100⁻¹) (ROCHA et al., 2011) e uvaia (*Eugenia pyriformis*) (127 mg EAG.100⁻¹) (Rufino et al., 2010). Segundo a classificação de compostos fenólicos proposta por Vasco, Ruales e Kamal-Eldin (2008), a pera do cerrado é classificada com médio PCC (100-500 mg EAG.100g⁻¹). Os compostos fenólicos são produtos de metabolismo secundário que estão associados aos mecanismos de adaptação e defesa da planta, contra raios ultravioleta, microrganismos e insetos. Para a saúde humana, existem evidências epidemiológicas que indicam que o consumo de dietas ricas em frutas e vegetais está associado a redução do risco de doenças crônicas, efeito atribuído a presença dos polifenóis desses alimentos (SOUZA et al., 2012).

Em relação ao conteúdo de flavonoides, observou-se o mesmo comportamento evidenciado no PCC: a extração metanol-acetona demonstrou níveis de flavonoides superiores (550 mg EQ/100 g⁻¹) a extração aquosa (225 mg EQ/100 g⁻¹). Nascimento et al. (2011) também registraram a presença de flavonoides em espécies *Eugenia sp.*, com aproximadamente 16 mg de equivalente de quercitina em uma porção de 100 g, valor

bem inferior ao encontrado neste estudo. O consumo de frutos ricos em flavonoides é recomendado, pois proporcionam o aumento da capacidade antioxidante do organismo, protegendo-o contra a peroxidação lipídica. Os principais flavonoides encontrados em frutas brasileiras *in natura* e processados são miricetina, quercetina e kaempferol.

O método DPPH é amplamente utilizado para avaliar a atividade antioxidante de uma matriz alimentar, baseando-se na capacidade de redução do radical livre através da transferência de elétrons que é medida pela diminuição da absorvância a 515nm. Baixos valores de EC₅₀ significam maior atividade antioxidante. A polpa analisada apresentou baixo EC₅₀ (0.74 µg.mL⁻¹ para a extração aquosa e 0.78 µg.mL⁻¹ para a extração metanol-acetona). Também foi calculada a atividade antioxidante em equivalente de parte comestível do fruto, chegando ao valor entre 0.08 e 0.09 g de fruto para neutralizar 1 g de DPPH.

Roesler et al. (2007) reportaram valores de EC₅₀ para o extrato etanólico de *Eugenia dysenterica* (cagaita), frutífera nativa do Cerrado brasileiro (14.15µg.mL⁻¹). Os extratos aquosos apresentaram alto EC₅₀ para todas as frações de frutas. Rufino et al. (2010) analisaram extratos de diversos frutos nativos do Brasil e constataram que as espécies avaliadas se destacaram pela sua capacidade antioxidante, principalmente a acerola (670 g/g DPPH), o camu-camu (478 g/g DPPH) e o puçá preto (414 g/g DPPH). Souza et al. (2014) também observaram em seu estudo que avaliou frutos brasileiros, que a amora preta apresentou o maior poder antioxidante (2142,42 g/g DPPH). Comparando o EC₅₀ encontrado neste estudo para a polpa da *E. klotzschiana* com substâncias comumente utilizadas como antioxidantes para alimentos, o valor obtido para ambas extrações foi inferior ao encontrado para o butilhidroxitolueno BHT (854 µg.mL⁻¹), para o ácido L-ascórbico (4 µg.mL⁻¹) e para o ácido gálico (2 µg.mL⁻¹), evidenciando sua potencialidade antioxidante (ALBUQUERQUE et al., 2014). Essa intensa atividade antioxidante pode ser atribuída à presença do ácido ascórbico, os compostos fenólicos e os carotenoides, substâncias confirmadas como potentes antioxidantes (Rufino et al., 2010).

Em relação ao método ABTS, tanto a extração aquosa quanto a extração com metanol e acetona apresentaram alto valor equivalente ao Trolox, demonstrando 220.80 e 319.20 µmol ET/g, respectivamente. Em seu estudo, Pereira et al. (2012) analisaram três espécies da família Myrtaceae nativas brasileiras e encontraram para esse ensaio valores semelhantes como 242.30 µmol ET/g para a goiaba (*Psidium cattleianum* Sabine), 507.49 µmol ET/g para a gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg) e

336.29 $\mu\text{mol ET/g}$ para a uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess), confirmando que essa família exibe potencial capacidade em inibir o radical ABTS+.

Além disso, os valores para o teste FRAP mostraram em média $0.47 \mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g.p.f}$ para a extração aquosa e $0.80 \mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g.p.f}$ para a extração com solventes, semelhante ao evidenciado por Chew et al. 2011 que analisaram frutos de *Canarium odontophyllum* e constataram resultados entre 0.27 e $1.74 \mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g.p.f}$, resultados que corroboram aos encontrados para a *E. klotzschiana*. Diversos autores já haviam relacionado melhores resultados para os testes DPPH, ABTS e FRAP utilizando solvente extrator, com a maior presença de compostos fenólicos totais e flavonoides, que é consistente com os resultados encontrados do presente estudo, confirmando que a pera do cerrado é uma boa fonte de antioxidantes e de fitoquímicos.

4.4 Conclusão

A polpa de *Eugenia klotzschiana* obteve alto valor nutricional. Com base em suas características físicas, nutricionais e funcionais, recomenda-se o consumo da pera do cerrado para complementar a ingestão diária de antioxidantes e fitoquímicos, auxiliando na proteção do organismo humano. A pera do cerrado pode ser considerada uma fonte de compostos bioativos tais como carotenoides, ácido ascórbico, compostos fenólicos e flavonoides. Além disso, os frutos apresentaram alta capacidade antioxidante. Estudos futuros terão importante contribuição em caracterizarem e isolarem os fenóis e flavonoides, elucidando suas propriedades funcionais. Portanto, este estudo fornece informações sobre o fruto pouco conhecido e explorado no Cerrado brasileiro.

4.5 Referências

Albuquerque, T.G., Santos, F., Sanches-silva, A., Oliveira M.B., Bento, A.C., Costa, H.S. (2016). Nutritional and phytochemical composition of *Annona cherimola* Mill fruits and by-products: potential health benefits. Food chemistry, 193, 187-195.

Almeida, M. M. B., Sousa, P. H. M., Arriaga, A. M. C., Prado, G. M., Magalhães, C. E. C., Maia, G. A.; Lemos, T. L. G. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. Food Research International, 44, 2155-2159.

AOAC — Association of Official Analytical Chemists (1984). Official methods of analysis (pp. 16). Washington DC.

AOAC — Association of Official Analytical Chemists (1998). (16 ed). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Vol. 2, Washington, D.C.

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in beta vulgaris. *Plant Physiology*, 24,1–15.

Benassi, M. T.; Antunes, A. J. (1988). A comparison of meta-phosphoric and oxalic acids as extractant solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. *Arq. Biol. Tech.*, 31, 507-513.

Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76.

Bramorski, A., Cherem, A. R., Mezdri, T., Melo, S. S., Deschamps, F. C., Gonzaga, L. V., Rothenbach, I. I., Fett, R. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Gaylussacia brasiliensis* (camarinha) grown in Brazil. *Food Research International*, 44, 2134–2138.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie - Food Science and Technology*, 28, 25–30.

Cardoso, L. M., Martino, H. S. D., Moreira, A. V. B., Ribeiro, S. M. R., & Sant'Ana, H. M. P. (2011). Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) of the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: Physical and chemical characterization, carotenoids and vitamins. *Food Research International*, 44, 2151–2154.

Chew, L.Y., Nagendra, P., Amin, I., Azrina, A., Lau, C.Y. (2011). Nutritional composition and antioxidant properties of *Canarium odontophyllum* Miq (dabai) fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 670–677.

Corrêa, M.P. (1931). Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. v.1-6. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura.

Donadio, L.C. and Moro, F.V. (2004). Potential of brazilian *Eugenia myrtaceae*- as ornamental and as a fruit crop. *Acta Hort.* 632, 65-68 DOI: 10.17660/ActaHortic.2004.632.7 <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.632.7>.

Faria Junior, J.E.Q. (2010). O gênero *Eugenia* (*Myrtaceae*) nos estados de Goiás e Tocantins, Brasil. 266 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) apresentada a Universidade de Brasília, Brasília.

IAL—Instituto Adolfo Lutz (2005). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo: Instituto.

Institute of Medicine. (1999–2011): Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes. National Academic Press, Washington D.C.

- Kaur, C.; Kapoor, H. C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 703-725.
- Lai, T. N. H., Andre, C., Rogez, H., Mignolet, E., Nguyen, T. B. T., Larondelle, Y. (2015). Nutritional composition and antioxidant properties of the sim fruit (*Rhodomyrtus tomentosa*). *Food Chemistry*, 168, 410–416.
- Larrauri, J. A., Rupérez, P., Saura-calixto F. (1997). Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1390-1393.
- Lemos, M. R. B., Siqueira, E. M. A., Arruda, S. F., Zambiasi, R. C. (2012). The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts [*Dipteryx alata* Vog.]. *Food Research International*, 48, 592-597.
- Lima, C. A., Faleiro, F.G., Junqueira, N. T. V., Cohen, K. O. Guimarães, T. G. (2013). Características físico-químicas, polifenóis e flavonoides amarelos em frutos de espécies de pitaias comerciais e nativas do cerrado. *Rev. Bras. Frutic.*, 35, 565-570.
- Lopes, R. M., Silva, J.P., Vieira, R. F., Silva, D. B., Gomes, I. S. (2012). Composição de ácidos graxos em polpa de frutas nativas do cerrado. *Rev. Bras. Frutic.*, 34, 635-640.
- Merril, A. L.; Watt, B. K. (1973). *Energy value of foods: Basis and derivation*. Washington: United States Department of Agriculture, 105p.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, Washington, 31, 426- 428.
- Myers, N., Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Fonseca, G.A.B.; Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853-858.
- Nagata, M., Yamashita, I. (1992). Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *J. Japan Soc. Food Sci. Technol.*, 39, 925-928.
- Nascimento, R. S.M., Cardoso, J.A., Coccozza, F.D.M. (2014). Caracterização física e físico-química de frutos de mangabeira (*Harconia speciosa* Gomes) no oeste da Bahia. *Revista brasileiro de engenharia agrícola e ambiental*. 18, 856-860.
- Park, Y.; I. M. H.; Ham, K.; Kang, S.; Park, Y.; N. J.; Leontowicz, H.; Leontowicz, M.; Trakhtenberg, S.; Gorinstein, S. (2015). Quantitative assessment of the main antioxidant compounds, antioxidant activities and FTIR spectra from commonly consumed fruits, compared to standard kiwi fruit. *LWT - Food Science and Technology*, 63, 346-352.
- Pereira, M. C., Steffens, R.S., Jablonski, A., Hertz, P.F., Rios, A. O., Vizzotto, M.; Flores, S. H. (2012). Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. *J. Agric. Food Chem.*, 60, 3061–3067.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology e Medicine*, 26, 1231–1237.
- Ribeiro, J.F., Silva, J.C., Batmanian, G.J. (1985). Fitossociologia de tipos fisionômicos do Cerrado em Planaltina-DF. *Revista Brasileira de Botânica*, 8, 131-142.
- Rocha, W.S., Lopes, R.M., Silva, D. B., Vieira, R. F., Silva, J. P., Agostini-Costa, T. S. (2011). Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. *Rev. Bras. Frutic.*, 33, 1215-1221.
- Roesler, R., Malta, L. G., Carrasco, L. C., Pastore, G. (2006). Evaluation of the antioxidante properties of the Brazilian Cerrado fruit *Annona crassiflora* (araticum). *Journal of Food Science*, 71, 2.
- Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Pérez-jiménez, J., Saura-calixto, F., Mancini-filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121, 996-1002.
- Salinas, Y. G., & Garcia, R. (1985). Métodos químicos para el análisis de suelos acidos y plantas forrajeras. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Schoefs, B. (2002). Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 13, 361–371.
- Souza, V. R., Pereira, P. A. P., Queiroz, F., Borges, S. V., Carneiro, J. D. S. (2012). Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. *Food Chemistry*, 134, 381-386.
- Souza, V. R., Pereira, P.A.P., Silva, T.L.T., Lima, L.C.O., Pio, R., Queiroz, F. (2014). Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry an sweet cherry fruits. *Food Chemistry*, 156, 362–368.
- Subhasree, B., Baskar, R., Laxmi Keerthana, R., Lijina Susan, R., Rajasekaran, P. (2009). Evaluation of antioxidant potential in selected green leafy vegetables. *Food Chemistry*, 115, 1213–1220.
- USDA-ARS (US Department of Agriculture, Agricultural Research Service) (2015). USDA nutrient database for standard reference, Release 25, Software 1.2.2, from the Nutrient Data Laboratory Page on the World Wide Web. <<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>>.
- Vallilo, M. I.; Baitello, J. B.; Lamardo, L.; Lobanco, C. M. (2003). Composição química do fruto de *Eugenia klotzschiana* Berg. (*Myrtaceae*). *Rev. Inst. Flor.*, 15, 37 – 44.
- Vasco, C., Ruales, J., Kamal-eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111, 816–823.

Waterhouse, A. L. (2002). Polyphenolics: Determination of total phenolics. In R. E. Wrolstad (Ed.), *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: John Wiley & Sons.

CONCLUSÃO GERAL

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que:

- Existem diferenças em relação ao rendimento, quantidade e a variabilidade de componentes dos óleos essenciais extraídos das folhas frescas, folhas secas à sombra e em estufa e das flores da pera do cerrado;
- Os óleos essenciais das folhas e flores de *E. klotzschiana* identificaram monoterpenos e sesquiterpenos;
- As principais substâncias identificadas foram espatulenol, α -cariofileno, D-germacreno e γ -elemeno;
- Os óleos essenciais exibiram moderada a alta atividade antioxidante;
- O fruto do Cerrado analisado demonstrou possuir características físicas, físico-químicas e químicas que possibilitam sua utilização na indústria de alimentos;
- A polpa da pera do cerrado apresentou carboidratos como macronutriente principal;
- O fruto se apresentou como elevado teor nutricional em relação ao aporte de minerais, principalmente de ferro;
- Os resultados revelaram que a polpa da pera do cerrado é uma boa fonte de fibra alimentar (solúvel e insolúvel);
- A pera do cerrado se destacou pelo conteúdo de compostos bioativos importantes ao consumo e a manutenção da saúde humana;
- Os frutos se apresentaram com alta capacidade antioxidante, tanto no extrato aquoso quanto no extrato metanol-acetona, atribuída ao alto teor de compostos fenólicos.