

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**FRUTOS NATIVOS DA FLORESTA AMAZÔNICA: CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO**  
**DOS AROMAS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

**FRANCIMILTON RABELO RODRIGUES**

MANAUS - AM

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**FRUTOS NATIVOS DA FLORESTA AMAZÔNICA: CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO  
DOS AROMAS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

**Aluno: Francimilton Rabelo Rodrigues**

**Orientador: Prof. Dr. Jefferson Rocha de Andrade Silva**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, área de concentração: Biotecnologia para saúde, como requisito para a obtenção da aprovação do referido projeto de mestrado.

Manaus - AM

2016

## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

FRANCIMILTON RABELO RODRIGUES

FRUTOS NATIVOS DA FLORESTA AMAZÔNICA: CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DOS AROMAS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, área de concentração: Biotecnologia para saúde, como requisito para a obtenção da aprovação do referido projeto de mestrado.

Aprovado em: 01/02/2016

Banca Examinadora

---

Dr. Jefferson Rocha de Andrade Silva  
Universidade Federal do Amazonas - UFAM

---

Dra. Sandra Patrícia Zanotto  
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

---

Dr. Neliton Marques da Silva  
Universidade Federal do Amazonas - UFAM

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Rodrigues, Francimilton Rabelo  
R696f Frutos nativos da floresta amazônica: contribuição ao estudo dos  
aromas e avaliação da atividade antioxidante / Francimilton Rabelo  
Rodrigues. 2016  
102 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Jefferson Rocha de Andrade Silva  
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal  
do Amazonas.

1. Compostos voláteis. 2. atividade antioxidante. 3. SPME. 4.  
frutos. I. Silva, Jefferson Rocha de Andrade II. Universidade  
Federal do Amazonas III. Título

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Jefferson Rocha de Andrade Silva por transmitir os conhecimentos necessários para a realização deste projeto e pelo apoio exercido durante a minha orientação.

A Dra. Ana Cláudia Fernandes Amaral, por ter me recebido no Laboratório de Produtos naturais da Fundação Oswaldo Cruz-RJ e pelas inúmeras contribuições neste projeto.

Aos meus pais, pela imensa colaboração.

Aos meus irmãos, pelo apoio moral e votos de confiança, o que me deixa sempre mais forte.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Cromatografia pelo companheirismo e incentivo.

Aos professores do programa de pós-graduação em Biotecnologia pelos ensinamentos.

A todos os colegas e amigos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e também pela amizade. Obrigado.

## RESUMO

A busca por compostos com características aromáticas desejáveis e que possuam atividade antioxidante, é largamente explorada pelas indústrias de aroma, farmacêutica e alimentícia. Afim de encontrar compostos que apresentem tais características, os frutos das espécies *Psidium acutangulum*, *Duroia macrophylla*, *Matisia cordata* e *Borojoa sorbilis* foram avaliados neste trabalho. Para o estudo dos compostos voláteis foi utilizada a técnica de microextração em fase sólida (SPME), utilizando o cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massa para identificação dos constituintes, e para avaliação da capacidade antioxidante foram utilizados os métodos de captura de radicais livres DPPH e ABTS. Com os resultados obtidos, foi possível verificar que o perfil de compostos voláteis identificados na casca e polpa do fruto de *Psidium acutangulum* é altamente complexo, na casca houve a predominância de compostos da classe terpeno, destacando  $\beta$ -elemeno,  $\alpha$ -copaeno e  $\alpha$ -selineno, já na polpa do fruto à classe majoritária foi a dos ésteres, como, butil octanoato, butil n-hexanoato e octanoato de etila. Para o fruto de *Duroia macrophylla*, na casca e polpa, as principais classes identificadas foram ácido, álcool e éster, o ácido graxo, ácido octanóico foi a substância mais abundante tanto na casca quanto na polpa. Em *Matisia cordata* a classe predominante na casca foi a dos terpenos, destacando o composto eucaliptol e na polpa a principal classe foi a dos ésteres, benzoato de etila foi o principal composto. Para o fruto de *Borojoa sorbilis*, a classe mais abundante na casca e polpa foi a dos ésteres, hexanoato de metila, foi o composto majoritário. Quanto a avaliação da atividade antioxidante os extratos dos frutos *Psidium acutangulum* e *Matisia cordata* apresentaram os melhores resultados em comparação com os padrões utilizados pelos métodos de DPPH, ABTS e fenóis totais, destacando a maior atividade advinda dos extratos das cascas.

**Palavras-chave:** Compostos voláteis; atividade antioxidante; SPME; frutos.

## ABSTRACT

The search for compounds with aromatic characteristics desirable and which have antioxidant activity, is widely exploited by industries, pharmaceutical and food flavoring. In order to find compounds that exhibit these characteristics, the fruits of the species *Psidium acutangulum*, *Duroia macrophylla*, *Matisia cordata* and *Borojoa sorbilis* were evaluated in this work. For the study of the volatile compounds was used the technique of solid-phase microextraction (SPME), using the gaseous chromatograph coupled to mass spectrometer for identification of constituents, and for assessment of antioxidant capacity were used the methods of capture of DPPH free radicals and ABTS. With the results obtained, it was possible to verify that the profile of volatile compounds identified in the peel and pulp of the fruit of *Psidium acutangulum* is highly complex, in the compound of the terpene class predominating, including  $\beta$ -elemene,  $\alpha$ -copaene and  $\alpha$ -selinene, the fruit pulp in the majority was the class of the esters, such as butyl octanoate, butyl n-hexanoate and ethyl octanoate. For the fruit of *Duroia macrophylla*, on peel and pulp, the main classes identified were acid, alcohol and ester, fatty acid, octanoic acid was the most abundant substance in both peel and pulp. In *Matisia cordata* the predominant class in the shell was of terpenes, highlighting the compound eucalyptol and pulp the main class was that of esters, ethyl benzoate was the main compound. For the *Borojoa sorbilis* fruit, the most abundant class on peel and pulp was the esters, methyl hexanoate, was the major compound. As the evaluation of antioxidant activity of fruits extracts *Psidium acutangulum* and *Matisia cordata* presented the best results compared to the standards used by the DPPH, ABTS and total phenols, highlighting the major activity of the extracts from the shells.

**Keywords:** Volatile compounds; antioxidant activity; SPME; fruits.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Procedimento básico de SPME: A- extração e B – dessorção. Fonte: BATISTA, 2010. ....	16
Figura 2: Composição química de polidimetilsiloxano (PDMS), poliacrilato (PA) e divinilbenzeno (DVB) em fibras SPME. ....	17
Figura 3: Fruto: <i>Psidium acutangulum</i> . Fonte: Elaborado pelo autor. ....	22
Figura 4: Estrutura molecular do flavonoide 3'-formil-2',4',6' trihidroxidihidrochalcone. ....	23
Figura 5: Fruto: <i>Duroia macrophylla</i> . Fonte: Elaborado pelo autor. ....	24
Figura 6: Fruto: <i>Matisia cordata</i> . Fonte: Elaborado pelo autor. ....	25
Figura 7: Fruto: <i>Borojoa sorbilis</i> . Fonte: Elaborado pelo autor. ....	27
Figura 8: Frutos: (A) <i>Psidium acutangulum</i> , (B) <i>Duroia macrophylla</i> , (C) <i>Matisia cordata</i> e (D) <i>Borojoa sorbilis</i> . Fonte: Elaborado pelo autor. ....	31
Figura 9: Fluxograma da obtenção dos extratos. ....	32
Figura 10: Extração dos compostos voláteis por SPME-HEADSPACE e análise CG-EM. Fonte: Elaborado pelo autor. ....	34
Figura 11: Teste antioxidante DPPH em microplaca de 96 poços. ....	36
Figura 12: Cromatograma dos constituintes presente na casca de <i>Psidium acutangulum</i> através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B). ....	41
Figura 13: Classe de compostos presente na casca do fruto de <i>Psidium acutangulum</i> utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB. ....	42
Figura 14: Cromatograma dos constituintes presente na polpa de <i>Psidium acutangulum</i> através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B). ....	42

Figura 15: Classe de compostos presente na polpa do fruto <i>Psidium acutangulum</i> utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB. ....	43
Figura 16: Cromatograma dos constituintes presente na casca de <i>Duroia macrophylla</i> através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B).....	50
Figura 17: Classe de compostos presente na casca do fruto <i>Duroia macrophylla</i> utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB. ....	50
Figura 18: Cromatograma dos constituintes presente na polpa de <i>Duroia macrophylla</i> através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B).....	52
Figura 19: Classe de compostos presente na polpa do fruto <i>Duroia macrophylla</i> utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB. ....	53
Figura 20: Cromatograma dos constituintes presente na casca de <i>Matisia cordata</i> através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B). ....	57
Figura 21: Classe de compostos presente na casca de <i>Matisia cordata</i> utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB. ....	58
Figura 22: Cromatograma dos constituintes presente na polpa de <i>Matisia cordata</i> através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B). ....	59
Figura 23: Classe de compostos presente na casca de <i>Matisia cordata</i> utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB. ....	60
Figura 24: Cromatograma dos constituintes presente na casca do fruto <i>Borojoa sorbilis</i> obtidos através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B). ....	64
Figura 25: Classe de compostos presente na casca do fruto <i>Borojoa sorbilis</i> utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB. ....	65

Figura 26: Cromatograma dos constituintes presente na polpa do fruto <i>Borojoa sorbilis</i> obtidos através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B). .....	67
Figura 27: Classe de compostos presente na polpa do fruto <i>Borojoa sorbilis</i> utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB. ....	68
Figura 28: Percentual relativo da classe éster presente na casca dos frutos. ....	72
Figura 29: Percentual relativo da classe éster presente na polpa dos frutos. ....	73
Figura 30: Curva padrão do ácido gálico. ....	78
Figura 31: Perfil cromatográfico do extrato Arg11CASMeOH. ....	81
Figura 32: Espectro de ultravioleta referente ao pico 11 do extrato ArG11CASMeOH. ....	82

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Espécies em estudo, nome científico e número de depósito.....	30
Tabela 2: Obtenção da casca e polpa dos frutos liofilizados.....	38
Tabela 3: Obtenção dos extratos vegetais para avaliação antioxidante.....	39
Tabela 4: Obtenção dos extratos para avaliação antioxidante.....	40
Tabela 5: Constituintes presente na casca e polpa do fruto <i>Psidium acutangulum</i> utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB (Padrão interno: 3-octanol 400mg/L).....	44
Tabela 6: Constituintes presente na casca e polpa do fruto <i>Duroia macrophylla</i> utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB (Padrão interno: $\alpha$ -bisabolol 100mg/L).....	53
Tabela 7: Constituintes presente na casca e polpa do fruto <i>Matisia cordata</i> utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB (Padrão interno: 3-octanol 10mg/L).....	61
Tabela 8: Constituintes presente na casca e polpa do fruto <i>Borojoa sorbilis</i> utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB (Padrão interno: $\alpha$ -bisabolol 10mg/L).....	69
Tabela 9: Atividade antioxidante dos frutos pelos métodos DPPH e ABTS. ....	75
Tabela 10: Conteúdo de fenóis totais (extrato metanólico).....	79
Tabela 11: Conteúdo de fenóis totais (extrato ácido).....	80

## ABREVIATURAS

ISO – Organização Internacional para Padronização

SDE – destilação e extração simultânea

LLE – extração líquido-líquido

SPE – extração em fase sólida

SPME – microextração em fase sólida

PDMS – polidimetilsiloxano

PA – poliacrilato

Cwx – carbowax

DVB – divinilbenzeno

ERO – espécies reativas de oxigênio

UV – ultravioleta

CG-EM – cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas

HCl – ácido clorídrico

NaCl – cloreto de sódio

EI – impacto de elétrons

eV – eletro volts

m/z – massa carga

HPLC-DAD – cromatógrafo líquido de alta performance – díodos

HCOOH – ácido fórmico

DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

IC<sub>50</sub> – concentração inibitória a 50%

AA – atividade antioxidante

ABS – absorbância

ABTS - 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico

I.R. (L) – índice de retenção da literatura

P.I. – padrão interno

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO BILIOGRÁFICA.....	14
2.1 AROMA .....	14
2.2 EXTRAÇÃO E CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS .....	15
2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	18
2.3.1 Radicais Livres .....	18
2.3.2 Antioxidantes.....	19
2.4 ESPÉCIES FRUTÍFERAS .....	21
2.4.1 <i>Psidium acutangulum</i> .....	21
2.4.2 <i>Duroia macrophylla</i> .....	23
2.4.3 <i>Matisia cordata</i> .....	24
2.4.4 <i>Borojoa sorbilis</i> .....	26
3 OBJETIVOS.....	29
3.1 GERAL.....	29
3.2 ESPECÍFICOS .....	29
4 METODOLOGIA.....	30
4.1 MATERIAL BOTÂNICO.....	30
4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS PARA AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE .....	31
4.2.1 Extração por maceração seletiva .....	31

4.2.2 Extração por maceração ácida .....	32
4.4 EXTRAÇÃO POR HEADSPACE-SPME .....	32
4.5 ANÁLISES QUÍMICAS .....	34
4.5.1 Análise Cromatográfica – SPME .....	34
4.5.2 Cromatografia Líquida de Alta Performance acoplada a um Detector de Díodos (HPLC-DAD) .....	35
4.5.3 Ensaio utilizando 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) .....	35
4.5.2 Ensaio utilizando ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS)....	36
4.5.3. Fenóis Totais .....	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
5.1 RENDIMENTOS OBTIDOS .....	38
5.1.1 Liofilização dos frutos .....	38
5.1.2 Obtenção dos extratos vegetais por maceração .....	39
5.1.3 Obtenção dos extratos vegetais por maceração ácida.....	40
5.2 ANÁLISE DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS POR HEADSPACE-SPME/CG-EM. ....	40
5.2.1 <i>Psidium acutangulum</i> .....	40
5.2.2 <i>Duroia macrophylla</i> .....	49
5.2.3 <i>Matisia cordata</i> .....	56
5.2.4 <i>Borojoa sorbilis</i> .....	63
5.3 RESULTADOS ANTIOXIDANTE .....	74
5.4 ANÁLISE CROMATOGRAFICA POR HPLC-DAD .....	81

5.4.1 Perfil do extrato metanólico da casca do fruto de <i>Psidium acutangulum</i> – ArG11CASMeOH .....	81
6 CONCLUSÃO.....	83
7 REFERÊNCIAS .....	85

## 1 INTRODUÇÃO

A alimentação sempre foi um fator primordial na vida do ser humano e a exigência do consumidor por alimentos, com características aceitáveis e saudáveis tem estimulado a procura por novas fontes alimentícias.

Conhecidos pelo seu alto valor nutricional, os frutos sempre tiveram lugar de destaque na alimentação e a busca por espécies exóticas que produzam compostos de interesse e que satisfaçam o consumidor se faz necessário.

Considerado um grande centro de biodiversidade vegetal, o Brasil é detentor de uma vasta variedade de frutos tropicais, aromáticos e de sabores diversos (FREITAS; MATTIETRO, 2013). Na Amazônia brasileira, existem aproximadamente 220 frutos comestíveis produzidos por espécies vegetais, representando 44% da diversidade de frutas nativas do Brasil, possuindo um grande potencial para o desenvolvimento de novos produtos (NEVES et al., 2012).

O aroma apresentado pelos frutos tem atraído o interesse do consumidor em todo o mundo, vislumbrando tais características a indústria de aromas tem investido largamente na caracterização química dessas substâncias (FRANCO, 2005). Apesar dos aromas sintéticos serem produzidos em larga escala pela indústria, os aromas de origem natural são indispensáveis, servindo como subsídio para combinação com substâncias sintéticas, além disso, algumas características aromáticas de substâncias não são possíveis sintetizar a um preço competitivo e a exigência por aromas naturais em determinados produtos é desejável (SURBURG, 2005).

Vale ressaltar que um dos compostos aromatizantes mais consumidos no mundo é a vanilina, secretada em torno das sementes do fruto *Vanilla planifolia* Andrews é um dos aromatizantes largamente utilizados em alimentos, bebidas e fármacos (PAK et al., 2004).

Do mesmo modo, outra característica notória em alguns frutos, é a presença de substâncias antioxidantes. Hoje se sabe que tais substâncias são capazes de se ligar aos diferentes tipos de radicais livres presente no organismo humano. Certamente essa atividade tem sido foco de inúmeras indústrias farmacêuticas e alimentícias, que apresentam em seu cartel de produtos a diferenciada atividade antioxidante, prometendo o retardo do envelhecimento e a prevenção de algumas doenças.

Dessa forma, pesquisas com frutos visando extrair substâncias antioxidantes e aromáticas de interesse comercial, vêm ganhando atenção especial principalmente com frutos que ocorrem em regiões de grande diversidade. Plantas da região amazônica, possuem um valor inestimável no que se refere a existência dos denominados produtos naturais, em sua maioria ainda inexplorados. Sendo relevantes estudos que possam investigar o perfil químico de frutos, que possuam substâncias aromáticas e antioxidantes, visando principalmente à identificação e quantificação dessas moléculas. Diante disso a realização deste projeto justifica-se com intuito de caracterizar os compostos voláteis e investigar a atividade antioxidante dos frutos de *Psidium acutangulum*, *Duroia macrophylla*, *Matisia cordata* e *Borojoa sorbilis*. Ainda convém lembrar que o conhecimento do conteúdo de compostos voláteis e da capacidade antioxidante visa agregar valor comercial e industrial a estas frutas, atraindo mais ainda investimentos em biotecnologia para a região.

## 2 REVISÃO BILIOGRÁFICA

### 2.1 AROMA

Segundo a norma técnica ISO 5942 (2008) aroma é o atributo sensorial perceptível pelo órgão olfativo através da parte de trás do nariz quando degustação. A percepção pelo órgão olfativo é devido a uma mistura altamente complexa de moléculas voláteis, principalmente hidrofóbicas que ocorrem em concentrações em nível de ppm ou ppb, induzindo sensação de odor específico (ZELLER, 2008).

Uma das características dos compostos aromáticos é a sua volatilidade que impressiona os mais de 400 tipos de receptores olfativos em humanos. Para atingir os receptores, estes compostos precisam ter uma elevada pressão de vapor e seu peso molecular não deve exceder 300 Da. (FACUNDO et al., 2013; GUIMARÃES, 2009; JELÉN et al., 2012).

Por outro lado, vários compostos aromáticos são encontrados em frutos, o aroma de um fruto é resultado de uma combinação complexa de diversos metabólitos, possuidores de moléculas alifáticas e aromáticas com esqueletos de carbono variadas e diversos grupos, incluindo ésteres, aldeídos, cetonas, álcoois, ácidos e terpenos (FIRESTEIN, 2001).

O estudo dos compostos aromáticos, tem se destacado devido à complexidade de moléculas que compõe um aroma. Considera-se que em alimentos ao redor do mundo mais de 12.000 compostos já foram identificados, e estima-se que apenas uma fração mínima desempenha um papel significativo na formação do aroma de um produto. Um bom exemplo a ser citado é o chá preto, ele contém 89 ésteres, 81 cetonas, 75 aldeídos, 74 ácidos, 68 álcoois, 52 hidrocarbonetos, 21 furanos, 19 compostos de enxofre, 64 compostos básicos, 18 lactonas, 13 fenóis e 17 outros que fazem um total de 591 compostos, e apenas 16 foram assumidos como compostos chave, fragrância de impacto (JELÉN et al., 2012).

O sabor e o aroma atraente dos frutos tem impulsionado o interesse do consumidor em todo o mundo, vislumbrando tais características a indústria de aromas tem investido largamente na caracterização química desses compostos aromatizantes (FRANCO, 2005).

Em resumo, um dos principais objetivos da indústria de aroma são a análise e o estudo dos compostos aromáticos, servindo como ferramenta de classificação da origem das frutas e possíveis mudanças ocorridas durante o seu processamento, como a formação de aromas desagradáveis. O isolamento dos compostos voláteis através de técnicas instrumentais deve chegar o mais próximo possível do verdadeiro aroma natural do produto, ou seja, deve ser eficiente, simples e rápida para evitar reações químicas indesejáveis, tais como oxidação e rearranjo, fazendo com que o perfil do composto volátil se torne muito diferente da amostra original (ALVES, 2004; FACUNDO et al., 2013).

## 2.2 EXTRAÇÃO E CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS

Diversos métodos extrativos de compostos de aroma em alimentos têm sido utilizados e descritos na literatura, entre eles estão: SDE (destilação e extração simultânea), LLE (extração líquido-líquido), SPE (extração em fase sólida) e SPME (microextração em fase sólida).

A grande maioria das técnicas convencionais para extração e concentração de compostos voláteis são demoradas e requerem passos exaustivos. A técnica de microextração em fase sólida (SPME), descrita pela primeira vez em 1990 por Arthur & Pauliszyn, é uma alternativa de extração (OLIVEIRA et al., 2010), ideal para a extração de compostos orgânicos voláteis, em que os processos de extração e pré-concentração do analito ocorrem em uma única etapa, além disso, possui múltiplas vantagens em comparação com outras técnicas convencionais, dispensa o uso de solventes, possui alta sensibilidade, facilidade na preparação da amostra, a extração dos compostos ocorre em um período curto de tempo, além da

possibilidade de manipulação de pequenas quantidades de amostra (ARTHUR; PAWLISZYN, 1990).

Os compostos aromáticos são caracterizados pelo seu limiar de odor, possuindo valores muito baixos em um  $\text{ng L}^{-1}$  ou  $\text{ng Kg}^{-1}$ , tornando um desafio tanto para isolá-los a partir de alimentos e em seguida identificar e quantificar (JELÉN et al., 2012). Técnicas de microextração são ferramentas atraentes na caracterização de compostos aromatizantes de alimentos.

Logo, a captura dos compostos voláteis que provém de uma amostra em um recipiente fechado pode ser recolhida no *headspace*. A fibra é inserida no espaço *headspace* acima da matriz sólida ou líquida por um determinado tempo, até que haja a sorção dos compostos voláteis e atinja o equilíbrio (ARTHUR AND PAWLISZYN, 1990; TUNICK, 2014) (Figura 1).

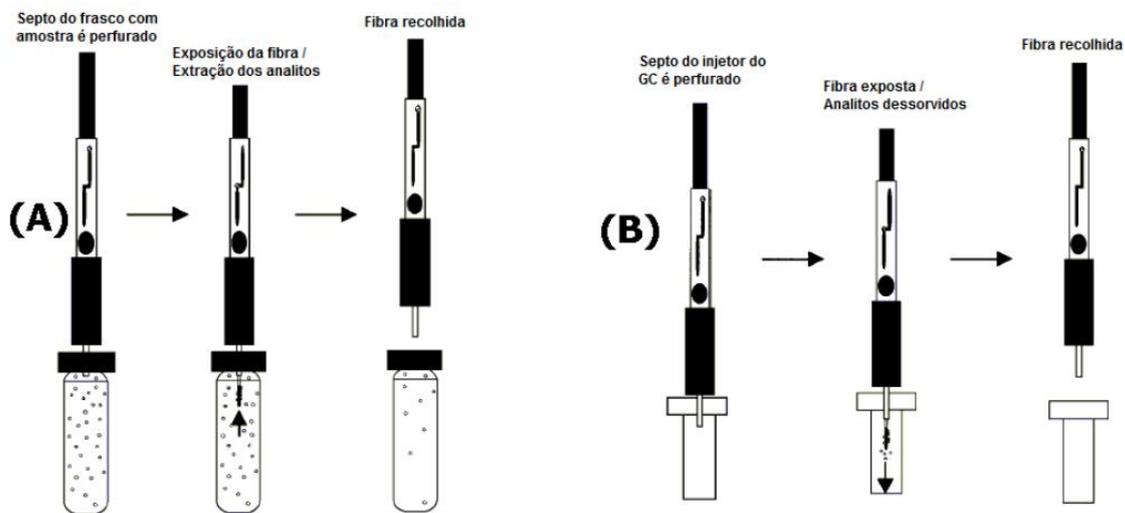


Figura 1. Procedimento básico de SPME: A- extração e B – dessorção. Fonte: BATISTA, 2010.

As principais diferenças entre a SPME e as técnicas convencionais, ocorre devido ao processo extrativo dos analitos não ser exaustivo, e na habilidade em isolar e concentrar compostos voláteis sem a interferência de outros componentes na matriz (GODINHO, 2009).

O dispositivo SPME consiste de um bastão de fibra ótica, de sílica fundida de 100 mm de diâmetro, com 10 mm de uma extremidade recoberto com um filme fino de um polímero (polidimetilsiloxano = PDMS, poliacrilato = PA, Carbowax = Cwx, Divenilbenzeno = DVB) (VALENTE; AUGUSTO, 2000).

Diversos tipos de fibras estão disponíveis comercialmente podendo ser divididas em dois grupos de acordo com seu recobrimento, podendo ser polímeros puros como polidimetilsiloxano (PDMS) ou poliacrilato e filmes mistos como carboxen-PDMS (CAR-PDMS), divinilbenzeno-PDMS (DVD-PDMS), carbowax-DVB e divinilbenzeno-carboxen-PDMS (GODINHO, 2009) (Figura 2).

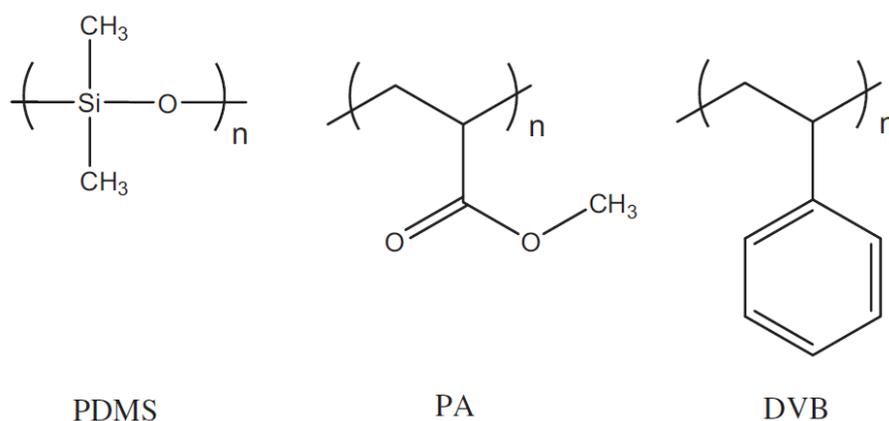


Figura 2: Composição química de polidimetilsiloxano (PDMS), poliacrilato (PA) e divinilbenzeno (DVB) em fibras SPME.

Diversos trabalhos podem ser encontrados na literatura que demonstram a aplicação da técnica de SPME, como na área alimentícia (SUN et al., 2010; ZHENG, 2012; KRAUJALYTE, 2012; BALASUBRAMANIAN; PANIGRAHI, 2011), investigação e análise de pesticida (MILHOME et al., 2011; BOUSSAHEL et al., 2002; VIDAL et al., 2009), análises biomédicas (KATAOKA; SAITO, 2011; SZULTKA et al., 2012) e análise de poluentes ambientais (WANG et al., 2011).

## 2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

### 2.3.1 Radicais Livres

A transferência de elétrons é um processo metabólico essencial para a realização das atividades celulares. Entretanto, esse metabolismo produz uma série de radicais chamados “espécies reativas de oxigênio” (ERO), altamente reativos, que ao se ligarem em tecidos e outros componentes importantes do organismo causam danos oxidativos (ALVES; DAVID, 2010).

Inúmeras pesquisas realizadas nos últimos anos correlacionam os radicais livres em processos fisiopatológicos como câncer, artrite, processos degenerativos como envelhecimento, incluindo doenças de Parkinson e Alzheimer (ALI et al., 2008).

Os radicais livres podem ser produzidos de diversas maneiras, o próprio organismo humano de forma endógena gera radicais como subprodutos do metabolismo oxidativo nas mitocôndrias e, em concentrações fisiológicas desempenham funções essenciais, desde a sinalização do ciclo celular, a defesa imunológica, outras fontes advêm do próprio meio ambiente como radiação UV, poluentes e xenobióticos. (RAHMAN, 2007; CHEN, 2012, DEL RÉ, 2012).

Como forma de proteção, o organismo humano desenvolveu mecanismos de defesa antioxidantes para combater os radicais livres e prevenir os danos oxidativos, além disso, substâncias com capacidade de sequestrar radicais livres podem ser obtidas de fontes externas como alimentos e bebidas (ALVES; DAVID, 2010).

### 2.3.2 Antioxidantes

O termo antioxidante refere-se a qualquer substância capaz de estabilizar ou inativar os radicais livres, antes de causarem alterações oxidativas nas moléculas (RAHMAN, 2007).

Os mecanismos de defesa antioxidante utilizados pelo organismo humano podem ser classificados como enzimáticos e não-enzimáticos, capazes de proteger as células e os sistemas do organismo contra danos causados pelos radicais livres (DEL RÉ, 2012).

Dentre os mecanismos de defesa enzimáticos os mais eficientes envolvem as enzimas glutathione peroxidase, catalase e superóxido dismutase que trabalham de forma fundamental para a manutenção da integridade celular, seja agindo na desintoxicação e biotransformação de drogas quimioterápicas, ou realizando reações oxidativas como a catálise do peróxido de hidrogênio (LEONEL et al., 2014; ALBERTS et al., 2010; RAAMSDONK, 2012).

Outra forma de defesa contra os agentes oxidantes é a defesa não-enzimática que incluem a vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico), carotenoides e flavonoides, podendo ser obtidos exogenamente como parte de uma dieta ou como suplementos alimentares (RAHMAN, 2007; DEL RÉ, 2012).

Descoberta a mais de 90 anos a vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) é um importante antioxidante encontrado em alimentos e que cumpre os requisitos em humanos. Em seu papel biológico atuando na fase lipídica das biomembranas a vitamina  $\alpha$ -tocoferol protege os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa e assim mantém suas concentrações para eventos importantes de sinalização (TRABER; ATKINSON, 2007).

A vitamina C é considerada como um dos principais agentes antioxidantes que pode ser obtido através de uma alimentação diária (ALMEIDA et al., 2011). O termo vitamina C é a definição genérica para todos os compostos que exibem atividade biológica do ácido L-ascórbico (LEE & KADER, 2000). Solúvel em água, funciona livremente em ambientes

aquosos do corpo, além de agir de forma cooperativa com a vitamina E, regenerando radicais  $\alpha$ -tocoferol em membranas e lipoproteínas (RAHMAN, 2007).

Os carotenoides são um grande grupo de pigmentos presente em plantas superiores e alguns animais, seus pigmentos variam do amarelo ao vermelho. Pertencem ao grupo químico conhecido como polienos isoprenóides. Devido a inúmeras ligações conjugadas duplas e grupos cíclicos finais, carotenoides apresentam uma variedade de estereoisômeros com diferentes propriedades físicas e químicas. Desempenham funções vitais na saúde humana sendo a principal fonte de vitamina A (TANAKA et al., 2012; VENOJO et al., 2007). Podem ser encontrados em vários gêneros alimentícios. Em vegetais são encontrados carotenoides como  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, licopeno,  $\beta$ -criptoxantina, luteína, zeaxantina, capsantina e crocetina. Os frutos cítricos contém  $\beta$ -criptoxantina e carotenoides marinhos incluem astaxantina,  $\beta$ -caroteno, zeaxantina, cantaxantina, fucoxantina e licopeno (TANAKA et al., 2012).

Em relação aos flavonoides, esses metabólitos secundários são encontrados abundantemente no reino vegetal. Pertencente a classe dos compostos fenólicos, possui em sua estrutura um ou mais núcleos aromáticos contendo substituintes hidroxilados e seus derivados funcionais (ésteres, éteres, glicosídeos e outros) (SIMÕES et al., 2003). As principais categoriais estruturais são as flavonas, flavononas, flavonóis, antocianidinas e as isoflavonas (ROBBERS et al., 1997).

Diversas funções podem ser atribuídas aos flavonoides nas plantas, como: antioxidante, controle de hormônios vegetais, inibidores de enzimas etc. Além disso, estes compostos possuem importância farmacológica, atribuídas a alguns compostos representantes da classe, por exemplo, antitumoral, antiviral, antioxidante e outros (SIMÕES et al., 2003).

Segundo Halliwell (1996), o efeito antioxidante presente em frutos pode estar associado com a presença de três grupos de compostos como, ácido ascórbico, fenólicos (hidrofílicos) e carotenoides (lipofílicos).

Atualmente diversos métodos são utilizados para avaliar a capacidade antioxidante de substâncias ativas *in vitro*. Esses testes tem se tornado ferramentas usuais e necessárias, auxiliando pesquisadores na busca por novas substâncias ativas oriunda de produtos naturais e que possam ser usadas como fármacos. Além disso, dificilmente existirá um único método que comprove a atividade antioxidante de uma determinada substância de maneira precisa e quantitativamente, devido aos diferentes tipos de radicais livres e suas diferentes atuações no organismo vivo (ALVES; DAVID, 2010).

## 2.4 ESPÉCIES FRUTÍFERAS

A biodiversidade representa o conjunto de seres vivos presentes na natureza, e a particularidade de cada um deles representa um patrimônio genético de valor econômico inestimável. A respeito dos frutos vegetais e suas possibilidades de aplicação na área de aroma e compostos antioxidante são as mais diversas possíveis. O Brasil é detentor da maior biodiversidade vegetal do planeta, composta por aproximadamente 40.000 espécies, o que o torna como país mais promissor na busca por novos compostos naturais (JOLY et al., 2011).

### 2.4.1 *Psidium acutangulum*

A família Myrtaceae possui uma grande diversidade de árvores frutíferas, nesta família está incluído o gênero *Psidium*, que se destaca por apresentar espécies com grande potencial terapêutico e diversas atividades biológicas e farmacológicas, dentre elas: antimalárica, anti-inflamatória, antioxidante e antifúngica (HOUEL et al., 2014; FETTER et al., 2010; MILES et al., 1991). Espécies desse gênero são produtoras de frutos comestíveis, os mesmos possuem

elevados níveis de vitaminas e substâncias antioxidantes o que acaba chamando a atenção das indústrias alimentícia e farmacêutica (FRAZON et al., 2009).

Na região amazônica destaca-se a espécie *Psidium acutangulum* (Figura 3), conhecida popularmente como araçá-goiaba, araçá-pêra, dentre outros nomes, é nativa da Bacia Amazônica, sendo também encontrada nas Guianas e em países como Colômbia e Peru. No Brasil os araçazeiros são amplamente distribuídos, podendo ser encontradas 61 espécies, sendo 45 endêmicas (SOBRAL et al., 2015). Seus frutos são carnosos e utilizados para consumo tanto *in natura* quanto na forma processada, doces, geleias e sucos (FRAZON et al., 2009; SOBRAL et al., 2015).



Figura 3: Fruto: *Psidium acutangulum*. Fonte: Elaborado pelo autor.

Os frutos de *Psidium acutangulum* apresentam-se como uma baga grande, pesando entre 140 e 245 gramas, quando maduro apresenta cor amarelada de forma globosa e elipsóide, com 6 a 8 centímetros de diâmetro. O fruto possui elevado nível de acidez (pH 2,77), apresenta sabor suave, aroma agradável e textura variável, rica em vitamina C e fibras alimentares (WILLE, 2004).

Miles e colaboradores (1991), demonstraram que o extrato dos galhos e folhas de *Psidium acutangulum* possui propriedades antifúngicas contra *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium teres* e *Pythium ultimum*. A investigação química dos extratos resultou no isolamento do flavonoide 3'-formil-2',4',6'-trihidroxidihidrochalcone (Figura 4).

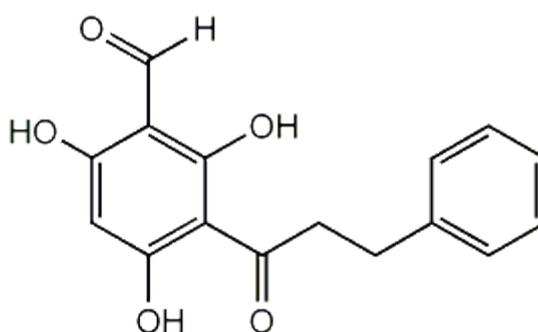


Figura 4: Estrutura molecular do flavonoide 3'-formil-2',4',6' trihidroxidihidrochalcone.

#### 2.4.2 *Duroia macrophylla*

Uma das maiores famílias de angiospermas, Rubiaceae, ocorre em todas as regiões do mundo. No Brasil essa família inclui aproximadamente 125 gêneros e 1392 espécies, distribuídas por diversas formações vegetacionais (BARBOSA, 2015). As espécies desse gênero são árvores de pequeno porte ou arbustos, seus frutos são carnosos, variando em cores e tamanho, na Reserva Ducke várias espécies apresentam associações com formigas (TAYLOR et al., 2007).

*Duroia macrophylla* Huber conhecida popularmente como apuruí e puruí-grande-da-mata (Figura 5), possui uma altura de 15 a 20 metros. Está espécie ocorre nas Guianas e no Brasil, nos estados do Pará, Amapá, Rondônia e Amazonas (ZAPPI, 2015; TAYLOR, 2007; RESQUE, 2007).



Figura 5: Fruto: *Duroia macrophylla*. Fonte: Elaborado pelo autor

Substâncias importantes já foram detectadas nesta espécie como taninos hidrolisados, alcaloides e compostos fenólicos. Dentre os compostos isolados, os principais foram os triterpenos: ácido oleanólico e ursólico relatados pela primeira vez no gênero *Duroia*. Estudos sobre esta espécie com o intuito de avaliar a atividade antimicrobiana do extrato diclorometânico das folhas de *D. macrophylla*, revelou ser efetivo, a alta atividade foi atribuída a presença de terpenos (MARTINS et al., 2014).

Em um trabalho realizado por Martins e colaboradores (2014), os extratos diclorometânico e metanólico das folhas e ramos da espécie *D. macrophylla* foram avaliados quanto a presença de determinadas atividades, constatando-se a presença de atividade antioxidante, inseticida e citotóxica.

#### 2.4.3 *Matisia cordata*

A família Malvaceae possui no território brasileiro cerca de 70 gêneros e 765 espécies (BOVINI et al., 2016). Dentro desta família existe a espécie *Quararibea cordata* ou *Matisia cordata* (sinonímia), pertencente ao gênero *Quararibea* Aubl., conhecida como sapota-do-

solimões (Figura 6). Esta espécie é originária da Amazônia Ocidental, podendo ser encontrada na forma silvestre (RABELO, 2012).



Figura 6: Fruto: *Matisia cordata*. Fonte: Elaborado pelo autor.

Vale ressaltar que a sapotizeira é caracterizada como uma árvore de grande porte, atingindo 40 metros de altura em ambiente silvestre e quando cultivada em ambientes abertos, alcança em média 20 metros. Possui tronco retilíneo com raízes tabulares ou sapopemas na base, a copa é densamente ramificada, fechada e abundante, estampando-se em uma conformação ornamental (RABELO, 2012).

Seus frutos são bagas com forma globosa e subglobosa e com presença de cálice persistente na extremidade superior; o peso de um fruto varia em torno de 250 à 1.200 gramas atingindo 7-18 cm de comprimento por 6-16 cm de diâmetro, a casca é carnosa, com consistência grossa e superfície pulverulenta de coloração marrom. Possui polpa volumosa, com rendimento em torno de 65% do total do fruto, com característica suculenta, coloração

alaranjada, baixa acidez, sabor agradável e consideráveis teores de proteínas, carotenoides e minerais.

No município de Tefé Amazonas seus frutos são comercializados nos mercados e feiras livres da cidade, seu consumo é realizado tanto *in natura* como na forma de sucos e doces em calda (BRAGA et al., 2003).

Braga e colaboradores (2003), determinaram as características físico-químicas da casca e polpa da sapota-do-solimões, seus resultados mostraram que o fruto possui peso variável em torno de 373 a 1.088g, além disso, apresenta 12,06% de sólidos solúveis totais, 0,064% de acidez total titulável, 84,04% de umidade, 6,92% de proteínas, 1,38% de lipídios, 4,28% de cinzas, 3,66% de carboidratos e 1612,53 UI de vitamina A, também foi observado um elevado conteúdo de minerais na casca, a tornando um fruto com elevado valor nutricional.

Weller e Breithaupt (2003), identificaram 22 carotenoides diferentes presente em sapota, dentre eles  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -criptoxantina,  $\beta$ -caroteno-5 e 6-epóxido.

#### **2.4.4 *Borojoa sorbilis***

A espécie *Borojoa sorbilis* pertencente à família Rubiaceae e ao gênero *Borojoa* Cuatrec., é conhecida popularmente como puruí (Figura 7) (RABELO, 2012). É uma espécie endêmica do Brasil encontrada na região Norte (Acre, Amazonas, Pará e Rondônia) (BARBOSA, 2015), onde é cultivada em pequenos sítios, quintais residenciais e jardins botânicos (RABELO, 2012).



Figura 7: Fruto: *Borojoa sorbilis*. Fonte: Elaborado pelo autor.

Considerada uma árvoreta chegando até 5 metros de altura, o puruizeiro apresenta caule curto, duro e casca estriada, a copa possui ramagens laterais espalhadas e densas folhagens nas extremidades. Seus frutos são bagas de forma globosa e subglobosa, medindo em média 6 cm de comprimento e 8 cm de diâmetro. Quando maduro possui casca rígida, superfície lisa e coloração castanho cinzenta (RABELO, 2012), possuindo sementes numerosas e comprimidas envolvidas em uma polpa gelatinosa (TAYLOR et al., 2007), com forte aroma e sabor adocicado, no entanto, pouco apreciada para consumo *in natura* por ser acidífero, contudo, é utilizado na preparação de sucos e sorvetes (RABELO, 2012).

Laterme e colaboradores (2006), avaliando o conteúdo mineral de frutos tropicais, determinou que *Borojoa sorbilis*, possui em seu conteúdo os minerais, cálcio (76 mg/100g), fósforo (3 mg/100g), potássio (410 mg/100g), magnésio (56 mg/100g), sódio (11 mg/100g), cloro (5 mg/100g) e enxofre (16 mg/100g).

*Borojoa sorbilis* é uma frutífera da Amazônia de grande importância regional, porém pouco conhecida e explorada (BRAGA, et al., 1999).

Diante essas informações, a busca por compostos que possuam características aromáticas e antioxidante em espécies vegetais da flora amazônica constitui um objetivo de investigação. Por isso, o presente trabalho propõe a busca por compostos voláteis com características aromáticas e substâncias antioxidantes em quatro espécies vegetais da região amazônica: *Psidium acutangulum*, *Duroia macrophylla*, *Matisia cordata* e *Borojoa sorbilis*. Adicionalmente, as espécies selecionadas possuem poucos estudos científicos, portanto, os resultados obtidos no presente projeto são relevantes para o estudo da flora da região amazônica.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

- Avaliar os compostos voláteis e a atividade antioxidante dos frutos de *Psidium acutangulum*, *Duroia macrophylla*, *Matisia cordata* e *Borojoa sorbilis*.

#### 3.2 ESPECÍFICOS

- Obtenção dos constituintes voláteis da polpa e casca dos frutos por meio da técnica de SPME-HEADSPACE.
- Analisar o perfil cromatográfico dos compostos voláteis por CG-EM
- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos frutos.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MATERIAL BOTÂNICO

Primeiramente os frutos maduros foram coletados na comunidade Vila Vale que se localiza na zona rural do município de Tefé-Amazonas (Latitude Sul 3°21' e Longitude 64°40' Oeste) no mês de janeiro de 2015. As exsicatas das espécies coletadas foram preparadas e levadas para identificação botânica no herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), por comparação de exsicata pelo parobotânico José Ferreira Ramos, conforme tabela 1.

Tabela 1: Espécies em estudo, nome científico e número de depósito.

<b>Espécies</b>	<b>Nome científico</b>	<b>Número de depósito</b>
Araçá-goiaba	<i>Psidium acutangulum</i> DC.	107389
Apuruí	<i>Duroia macrophylla</i> Huber	177923
Sapota-do-solimões	<i>Matisia cordata</i> Humb & Bonpl.	84389
Puruí	<i>Borojoa sorbilis</i>	257689

Os frutos (Figura 8) após serem coletados foram lavados com água e mantidos no congelador. Congelados foram armazenados em caixa de isopor e encaminhados até a cidade de Manaus. Destinados ao laboratório de Produtos Naturais na UFAM uma parte dos frutos foi separada manualmente em casca, polpa e semente, e liofilizada. O restante dos frutos foram armazenado a - 20 °C para futuras análises.

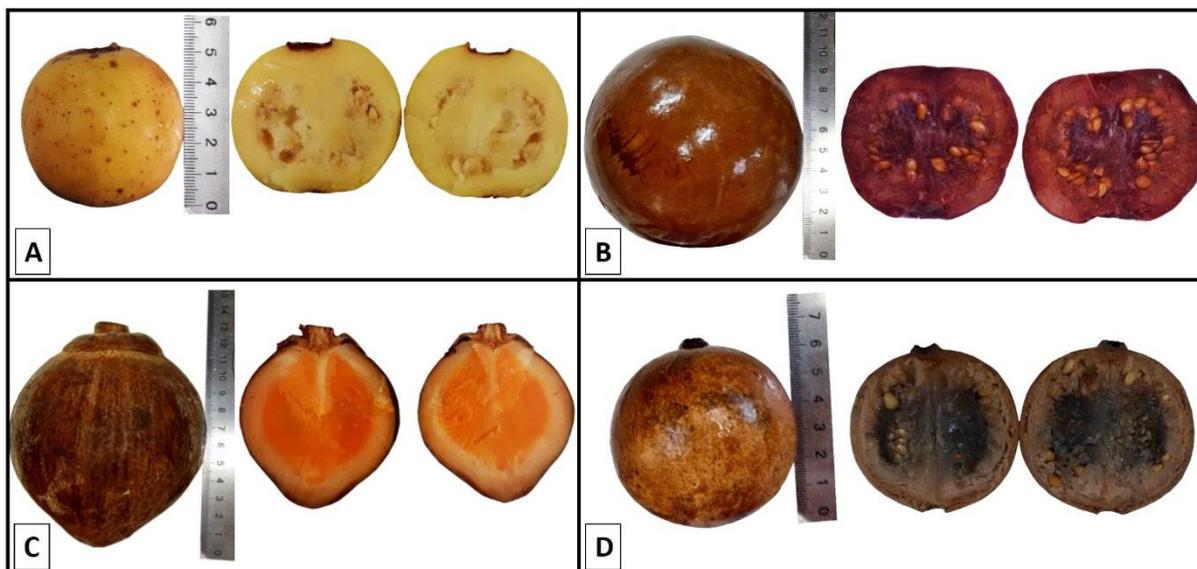


Figura 8: Frutos: (A) *Psidium acutangulum*, (B) *Duroia macrophylla*, (C) *Matisia cordata* e (D) *Borojoa sorbilis*. Fonte: Elaborado pelo autor.

#### 4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS PARA AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE

No presente estudo foram realizadas dois tipos de extração, na primeira o material liofilizado foi submetido a maceração seletiva utilizando três tipos de solvente de acordo com a polaridade e na segunda, utilizou-se uma metodologia consistindo de uma mistura de solvente orgânico com ácido.

##### 4.2.1 Extração por maceração seletiva

O material liofilizado (casca e polpa), foram submetidos a extração em temperatura ambiente, em um processo denominado maceração sob agitação constante utilizando um agitador orbital shaker, com solventes de diferentes polaridades: n-hexano (3 x 50 mL), diclorometano (3 x 50 mL) e metanol (4 x 50 mL). Em seguida a solução filtrada foi transferida para um balão de fundo redondo e submetida a concentração em evaporador rotatório, sob vácuo, obtendo-se assim os extratos, conforme ilustrado na figura 9.

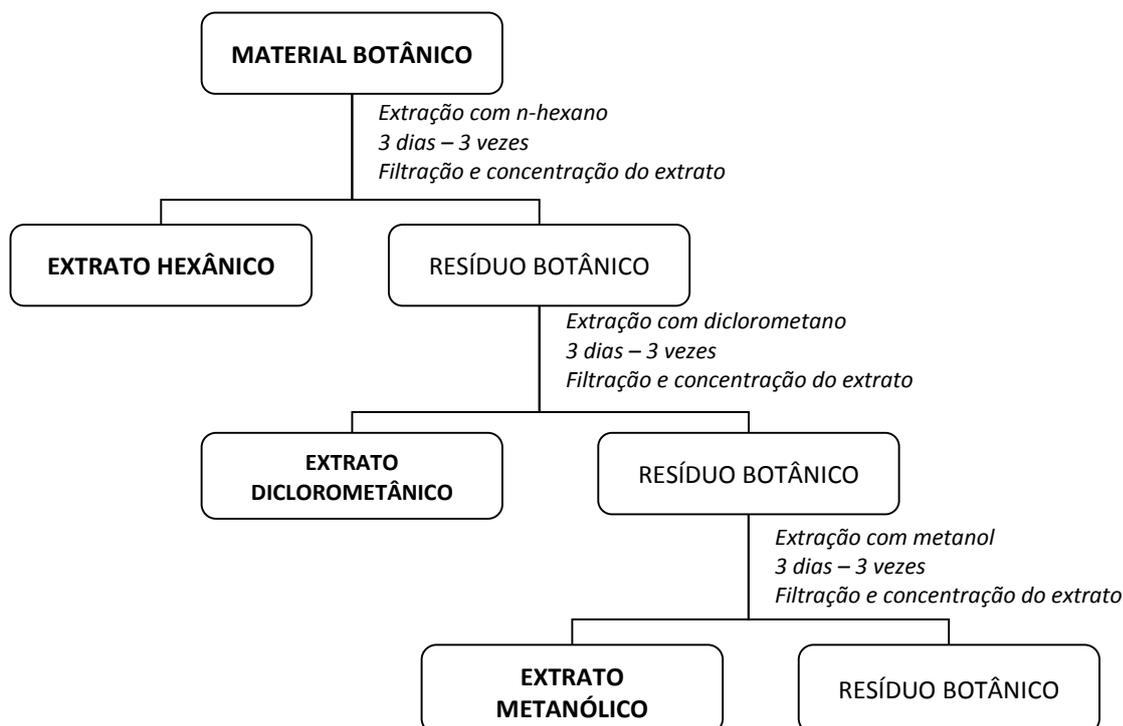


Figura 9: Fluxograma da obtenção dos extratos

#### 4.2.2 Extração por maceração ácida

O método de extração foi utilizado conforme Liu e colaboradores (2008). A amostra liofilizada de cada fruto (casca e polpa) (2 g) foi extraído com 40 mL de etanol 70% contendo 1.2 M HCl. A extração foi conduzida usando banho-maria durante duas horas a temperatura de 60°C, sob agitação com auxílio de barra magnética. A amostra extraída foi filtrada e submetida à concentração em evaporador rotatório, sob vácuo, obtendo-se assim os extratos.

#### 4.4 EXTRAÇÃO POR HEADSPACE-SPME

A extração dos compostos voláteis foi realizada utilizando-se microextração em fase sólida (SPME). Um dispositivo SPME (Supelco, Bellefonte, PA, EUA) contendo uma fibra de

sílica fundida (comprimento 10 mm). As amostras dos frutos frescos (casca e polpa) foram descongeladas e foram feitos cortes finos, realizados manualmente, com auxílio de facas. O método foi realizado conforme descrito por Facundo e colaboradores (2011), com algumas modificações.

Para análise de *headspace*, foram utilizadas as fibras PDMS 100  $\mu\text{m}$  (Polidimetilsiloxano) e PDMS/DVB 65  $\mu\text{m}$  (Polidimetilsiloxano/Divinilbenzeno), a qual foram pré-condicionada a 260 °C, durante 30 minutos, seguindo as especificações do fabricante. Para cada uma das extrações 3,0 g de fruto, juntamente com NaCl (25%: 0,75 g por 3 g do fruto) e 5 mL de água Milli-Q, foram colocados em frascos de vidro com capacidade de 20 mL, adicionalmente foi adicionado 50 $\mu\text{L}$  do padrão interno em concentrações pré-determinadas, o frasco foi selado com lacre de alumínio e septo. O frasco foi colocado em banho-maria a 40 °C com um agitador magnético para promover a transferência dos compostos da amostra para o espaço superior. Após 10 minutos de equilíbrio entre a solução e a câmara de expansão, a fibra foi exposta ao espaço superior do frasco tapado para adsorver os analitos durante 40 minutos (Figura 10). A adição de um padrão interno foi utilizado para quantificar os resultados SPME. As análises foram realizadas em triplicata.

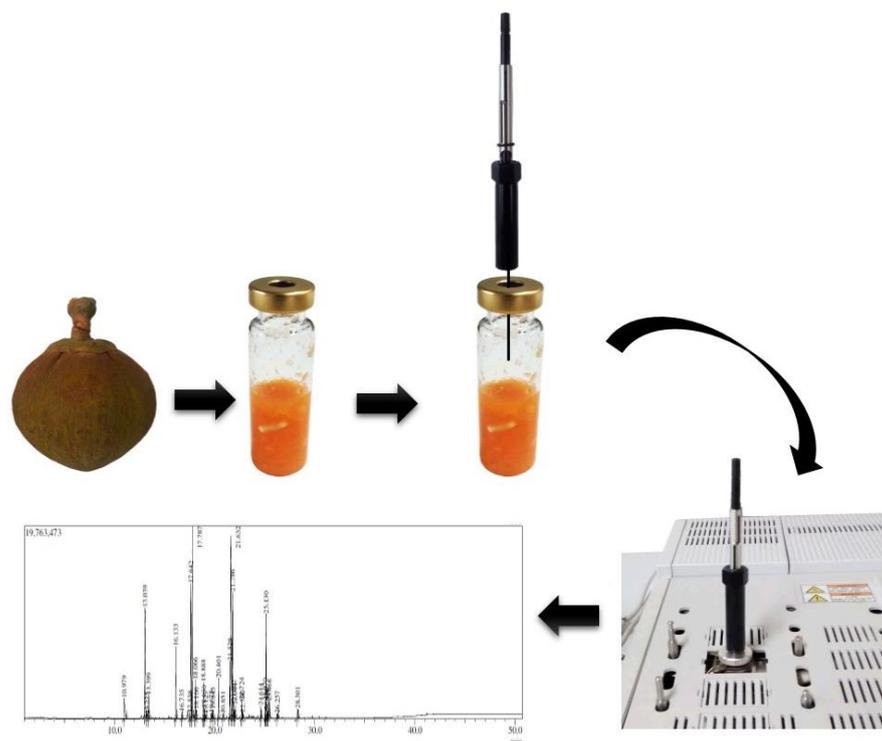


Figura 10: Extração dos compostos voláteis por SPME-HEADSPACE e análise CG-EM. Fonte: Elaborado pelo autor.

## 4.5 ANÁLISES QUÍMICAS

### 4.5.1 Análise Cromatográfica – SPME

Foi utilizado um cromatógrafo a gás Shimadzu GCMS-QP2012 equipado com um detector de massa seletivo, para separação dos analitos foi utilizada uma coluna capilar DB-5MS (30 m x 0,25 mm de diâmetro, 0,25  $\mu$ m de espessura de filme). A fibra de SPME foi dessorvida e mantida na porta de injeção a 260 °C durante 10 minutos. Cada extração foi injetada no modo *splitless*. A temperatura do forno foi mantida a 40 °C durante 5 minutos, depois aumentada para 290 °C a uma taxa de 7 °C por minuto e mantida a 290 °C durante 10 minutos. Utilizou-se hélio como gás de arraste. O espectro de massa foi operado em modo de impacto de elétrons (EI) a 70 eV, digitalizando o intervalo de 35-550 m/z, e a temperatura da fonte iônica foi de 200°C.

Todos os compostos foram identificados por comparação de seus espectros de massa com os registros na base de dados Wiley 275L do equipamento, e por comparação com a literatura (ADAMS, 2009), foram aceitos os compostos que apresentaram o índice de similaridade de 90%.

#### **4.5.2 Cromatografia Líquida de Alta Performance acoplada a um Detector de Díodos (HPLC-DAD)**

Os extratos obtidos foram avaliados por HPLC-DAD (Shimadzu 2010A) em um aparelho automático que consiste de duas bombas LC-10AD, desgaseificador DGU-12A, injetores SIL-10AD e coluna de forno. As amostras (3 mg) foram diluídas em 1 mL de acetonitrila e 10 µL da amostra foi injetada. O protocolo para o gradiente de eluição consiste em diferentes proporções dos solventes A e B (A: água + 0,1% de HCOOH, B: acetonitrila) num total de 25 minutos com velocidade de fluxo 0,5 mL/min como segue: 5% de B (0-15 minutos); 5-95% de B (15-18 min); 95-5% de B (18-19 min); 5-5% de B (19-24 min). A coluna utilizada foi uma Kinetex.

#### **4.5.3 Ensaio utilizando 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)**

A atividade sequestrante do radical livre DPPH foi determinada de acordo com Molyneux (2004). O DPPH é um radical estável de coloração violeta que na presença de um antioxidante é reduzido adquirindo uma coloração amarelada.

Inicialmente foram preparadas soluções estoque das amostras e padrão na concentração 1 mg/ml utilizando metanol como solvente. O ensaio foi realizado em microplaca de 96 poços com 300 µl de volume total, onde foram adicionados 30 µl da amostra ou padrão e 270 µl da

solução de DPPH e após diluições sucessivas foi obtida a faixa com sete pontos nas concentrações de 1; 0,5; 0,25; 0,125 e 0,062, 0,031 e 0,015 mg/ml. Posteriormente, a reação foi incubada por 30 minutos na ausência de luz. Após a incubação foi realizada a leitura da microplaca no espectrômetro de ultravioleta (Biochrom ASYS UVM 340) em 515 nm. O ensaio foi realizado em triplicata conforme figura 11.

Foi utilizada a quercetina como padrão de referência (controle positivo). O preparo da solução de DPPH foi feito em um balão volumétrico de 100 mL, pesou-se 3,9 mg de DPPH e completou-se o volume, obtendo a concentração de 100  $\mu$ M.

A atividade sequestrante do radical livre DPPH foi expressa em termos de IC<sub>50</sub> (concentração inibitória a 50%) calculada pela equação  $AA (\%) = 100 - [(ABS_{amostra} - ABS_{branco}) * 100] / ABS_{controle}$ .

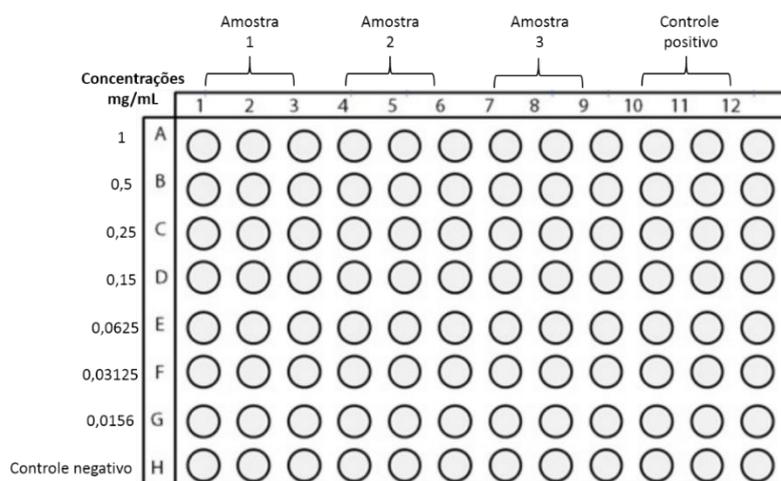


Figura 11: Teste antioxidante DPPH em microplaca de 96 poços.

#### 4.5.2 Ensaio utilizando ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS)

O método foi baseado na redução do ABTS realizado conforme descrito por Re e colaboradores (1999) com modificações. Foi preparada uma solução catiônica de ABTS (7 mM, 50% de solução de ABTS, 50% solução de persulfato de potássio 2,45 mM), que reagiu por 14 horas, em temperatura ambiente e ausência de luz. Antes de usar a solução catiônica de ABTS,

realizou-se a diluição com etanol até a absorvância de  $0,700 \pm 0,02$ . Esta solução foi monitorada pela leitura em 714 nm no leitor de microplaca (Biochrom ASYS UVM 340). O ensaio foi realizado em microplaca de 96 poços onde adicionou-se 270  $\mu\text{L}$  da solução etanólica de ABTS mais 30 $\mu\text{L}$  de etanol como controle negativo. Em seguida, 270  $\mu\text{L}$  da solução etanólica de ABTS foi adicionado, assim como 30  $\mu\text{L}$  das amostra em diferentes concentrações de 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625, 0,03125 e 0,015625 mg/mL. A reação foi incubada por 15 minutos a temperatura ambiente e na ausência de luz. Após a incubação realizou-se a leitura no leitor de microplaca em 714 nm. Para expressar a atividade antioxidante foi calculado a  $\text{IC}_{50}$  e como padrão desse ensaio foi utilizado como antirradical de referência o trolox.

A atividade antioxidante foi calculada pela fórmula:

$$\% \text{ inibição} = 100 - (\text{ABS}_{\text{amostra}} / \text{ABS}_{\text{controle}}) \times 100$$

#### **4.5.3. Fenóis Totais**

O teor de compostos fenólicos totais foi baseado em microplaca de 96 poços. O método foi baseado segundo Al-Duais e colaboradores (2009) e Müller e colaboradores (2010), com algumas modificações, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu. Um total de 20  $\mu\text{L}$  de extrato em diferentes concentrações foi misturado com 100  $\mu\text{L}$  de 1:4 do reagente Folin-Ciocalteu, agitou-se durante 60 segundos e depois repousou por 240 segundos, logo em seguida, adicionou-se 75  $\mu\text{L}$  de uma solução de carbonato de sódio (100 g/L), agitou-se por mais 60 segundos. Após 2 horas em temperatura ambiente, foi feita a leitura em 750 nm no leitor de microplaca (Biochrom ASYS UVM 340). Foram utilizadas diluições de ácido gálico (200-10 mg/L) como padrões de calibração.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 RENDIMENTOS OBTIDOS

#### 5.1.1 Liofilização dos frutos

As Informações quanto aos pesos úmido e seco da polpa e casca relacionando com as quantidades de frutos estão relatadas na tabela 2.

Tabela 2: Obtenção da casca e polpa dos frutos liofilizados.

<b>Frutos</b>	<b>Quantidade (uni.)</b>	<b>Peso fresco (g)</b>	<b>Peso seco (g)</b>
<i>Psidium acutangulum</i>	10		
<i>Polpa</i>		833	108
<i>Casca</i>		144	28
<i>Duroia macrophylla</i>	03		
<i>Polpa</i>		1,588	317
<i>Casca</i>		55	18,81
<i>Matisia cordata</i>	04		
<i>Polpa</i>		525	85
<i>Casca</i>		223	54
<i>Borojoa sorbilis</i>	09		
<i>Polpa</i>		381	224
<i>Casca</i>		351	218

### 5.1.2 Obtenção dos extratos vegetais por maceração

Na tabela 3, está descrito o rendimento dos extratos vegetais obtidos a partir do fruto (casca e polpa).

Tabela 3: Obtenção dos extratos vegetais para avaliação antioxidante.

<b>Espécie</b>	<b>Parte</b>	<b>Massa (g)</b>	<b>Extrato</b>	<b>Código</b>	<b>Massa obtida (g)</b>
<b><i>Psidium acutangulum</i></b>	Casca	8,1772	Hexano	Arg11CASHEX	0,0292
			Diclorometano	Arg11CASDCM	0,0345
			Metanol	Arg11CASMeOH	2,3600
	Polpa	21,6471	Hexano	Arg11POLHEX	0,0457
			Diclorometano	Arg11POLDCM	0,0374
			Metanol	Arg11POLMeOH	4,1400
<b><i>Duroia macrophylla</i></b>	Casca	6,8552	Hexano	Ag22CASHEX	0,0369
			Diclorometano	Ag22CASDCM	0,0438
			Metanol	Ag22CASMeOH	1,4100
	Polpa	22,9173	Hexano	Ag22POLHEX	0,0264
			Diclorometano	Ag22POLDCM	0,0147
			Metanol	Ag22POLMeOH	7,1400
<b><i>Matisia cordata</i></b>	Casca	13,5928	Hexano	Sp33CASHEX	0,0280
			Diclorometano	Sp33CASDCM	0,0258
			Metanol	Sp33CASMeOH	2,9500
	Polpa	22,2344	Hexano	Sp33POLHEX	0,0136
			Diclorometano	Sp33POLDCM	0,0412
			Metanol	Sp33POLMeOH	3,7900
<b><i>Borojoa sorbilis</i></b>	Casca	24,1921	Hexano	App44CASHEX	0,0187
			Diclorometano	App44CASDCM	0,0495
			Metanol	App44CASMeOH	4,0800
	Polpa	17,7199	Hexano	App44POLHEX	0,0271
			Diclorometano	App44POLDCM	0,0159
			Metanol	App44POLMeOH	6,6500

### 5.1.3 Obtenção dos extratos vegetais por maceração ácida

Utilizando um segundo método extrativo, denominado maceração ácida, foram obtidos os extratos para avaliação antioxidante, conforme a tabela 4, listando as espécies utilizadas, o código de identificação, parte utilizada, massa para extração e massa obtida após o processo extrativo.

Tabela 4: Obtenção dos extratos para avaliação antioxidante.

<b>Espécie</b>	<b>Código</b>	<b>Parte</b>	<b>Massa obtida (g)</b>
<i>Psidium acutangulum</i>	Arg11CASEtOH	Casca	0,424
	Arg11POLEtOH	Polpa	0,617
<i>Duroia macrophylla</i>	Ag22CASEtOH	Casca	0,509
	Ag22POLEtOH	Polpa	0,761
<i>Matisia cordata</i>	Sp33CASEtOH	Casca	0,444
	Sp33POLEtOH	Polpa	1,287
<i>Borojoa sorbilis</i>	App44CASEtOH	Casca	0,357
	App44POLEtOH	Polpa	0,868

## 5.2 ANÁLISE DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS POR HEADSPACE-SPME/CG-EM.

### 5.2.1 *Psidium acutangulum*

Na figura 12, é possível observar os cromatogramas da casca de *Psidium acutangulum* extraídos com as fibras PDMS (A) e PDMS/DVB (B). O nível de complexidade é evidente em ambos os cromatogramas, contudo, uma avaliação visual, permite observar uma variação quantitativa expressiva nos voláteis extraídos com a fibra PDMS/DVB.

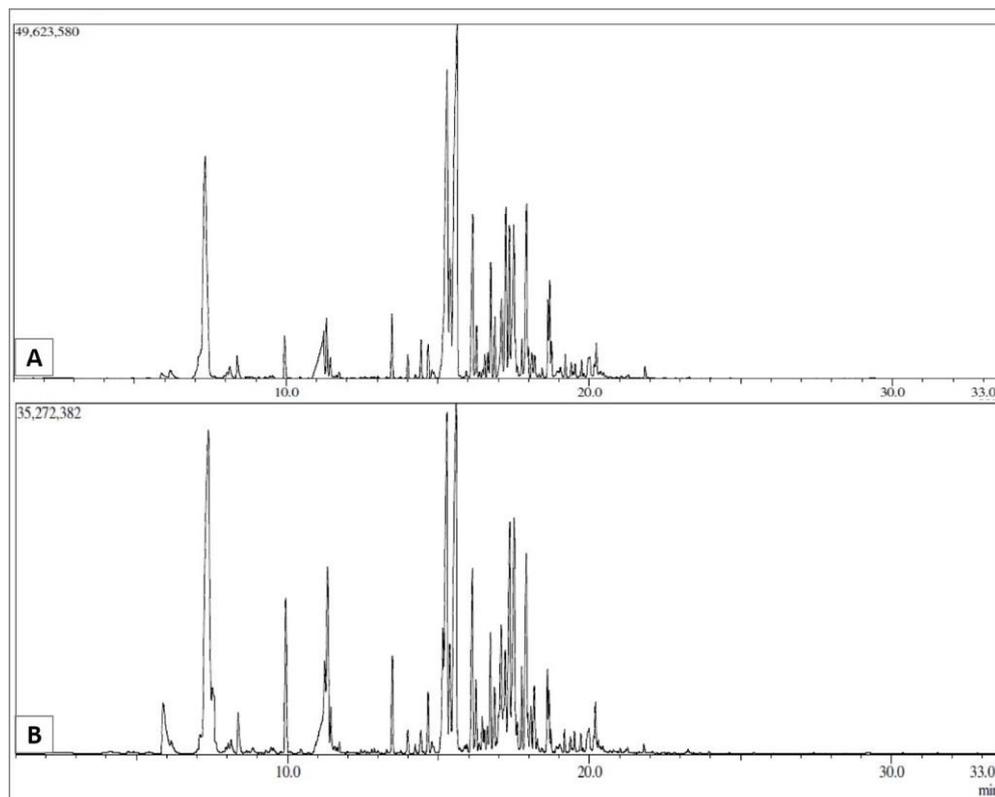


Figura 12: Cromatograma dos constituintes presente na casca de *Psidium acutangulum* através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B).

A análise cromatográfica dos voláteis extraídos da casca de *Psidium acutangulum* com a fibra PDMS (tabela 5), permitiu a identificação de um total de 44 compostos classificados, conforme a sua natureza, em 6 classes químicas (Figura 13), sendo 1 álcool, 31 terpenos, 9 ésteres, 1 ácido, 1 cetona e 1 éter.

A classe dos terpenos representou 63,5% dos compostos voláteis totais, sendo  $\alpha$ -copaeno (12,71%),  $\beta$ -elemeno (18,61%) e  $\alpha$ -selineno (5,01%) os componentes principais. Já a fibra PDMS/DVB, de acordo com a tabela 5, evidência um total de 56 compostos identificados na casca do fruto, dentre eles 1 álcool, 34 terpenos, 15 ésteres, 2 ácidos, 1 éteres, 1 alceno, 1 fenilpropanóide e 1 aldeído. Os terpenos representaram os compostos majoritários com 57,68%, dentre eles se destacam  $\beta$ -elemeno (11,69%),  $\alpha$ -copaeno (9,24%),  $\alpha$ -selineno (5,93%) e  $\delta$ -cadineno (4,30%). A segunda classe mais abundante foi a dos ésteres com 18,76% dos compostos totais.

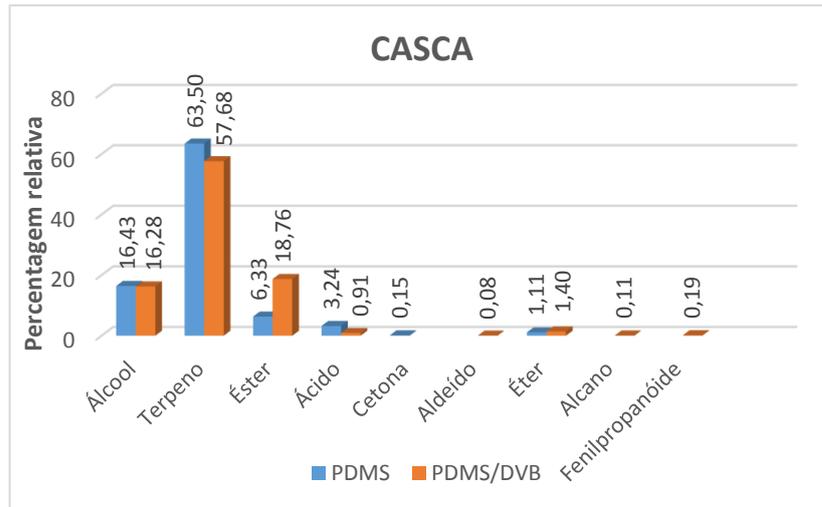


Figura 13: Classe de compostos presente na casca do fruto de *Psidium acutangulum* utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB.

Os cromatogramas da polpa de *Psidium acutangulum*, são mostrados na figura 14, PDMS (A) e PDMS/DVB (B). Os perfis cromatográficos observados são muito semelhantes, evidenciando uma correlação no número de picos obtidos utilizando ambas as fibras.

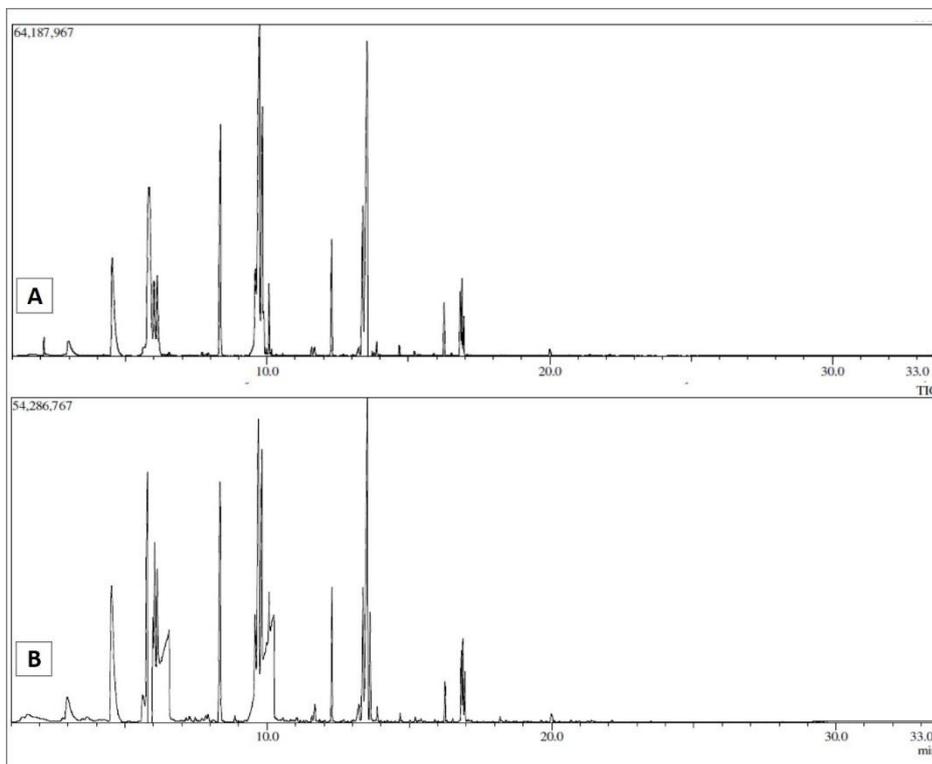


Figura 14: Cromatograma dos constituintes presente na polpa de *Psidium acutangulum* através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B).

Utilizando a fibra PDMS para extração dos voláteis, foi possível identificar 31 compostos conforme a tabela 5, dentre eles 1 álcool, 1 terpeno, 24 ésteres, 2 ácidos, 1 cetona, 1 éter, 1 aldeído, totalizando 7 classes químicas (Figura 15). Os ésteres representaram 75,56% dos compostos totais, butil octanoato (15,06%), butil n-hexanoato (14,87%), octanoato de etila (7,53%) e octanoato de metila (7,25%) foram os compostos principais.

Enquanto isso, na fibra PDMS/DVB foram extraídos 35 compostos (Tabela 5), dentre eles 3 álcoois, 2 terpenos, 22 ésteres, 3 ácidos, 2 cetonas, 2 éteres e 1 aldeído. Os ésteres representaram 75,08% dos compostos totais, dentre eles o butil octanoato (11,06%), butil n-hexanoato (10,91%) e octanoato de metila (7,11%) foram os majoritários.

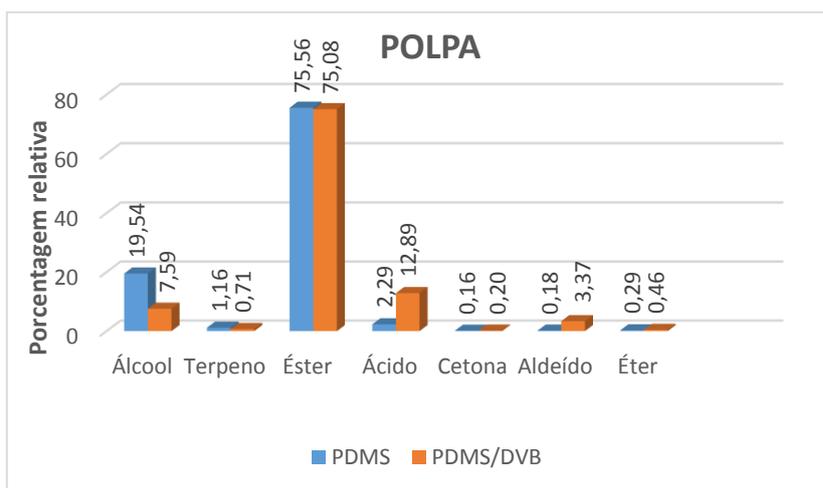


Figura 15: Classe de compostos presente na polpa do fruto *Psidium acutangulum* utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB.

Tabela 5: Constituintes presente na casca e polpa do fruto *Psidium acutangulum* utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB (Padrão interno: 3-octanol 400mg/L).

Compostos	*I.R.(L)	PDMS		PDMS/DVB		
		Casca	Polpa	Casca	Polpa	
Concentração em área %						
<b>Álcool</b>						
1-octanol	1063	-	-	-	0,12	
*P.I. 3-octanol	991	16,43	19,54	16,28	7,48	
<b>Terpeno</b>						
$\alpha$ -pineno	932	-	-	0,37	-	
p-Cimeno	1020	-	-	0,09	-	
Limoneno	1024	0,11	-	0,14	-	
1,8-cineol	1026	0,35	-	0,27	-	
$\delta$ -3-careno	1008	0,48	-	0,81	-	
Linalol	1095	-	-	0,05	0,12	
Biciclogremacreno	1500	0,06	-	-	-	
Bicicloelemeno	1345	0,57	-	0,38	-	
$\alpha$ -cubebeno	1345	0,48	-	0,89	-	
Fenol, 2-metoxi-4-(1-propenil)	1428	0,24	-	-	-	
$\alpha$ -copaeno	1374	12,71	-	9,24	-	
$\beta$ -elemeno	1389	18,61	-	11,69	-	
cis-cariofileno	1417	-	-	0,07	-	
$\alpha$ -gurjuneno	1409	0,07	-	0,08	-	
trans-cariofileno	1408	3,86	-	3,29	-	
Musk ambrette	1929	-	1,16	-	0,59	
$\gamma$ -Muuroleno	1478	0,31	-	0,95	-	
$\alpha$ -guaiano	1437	0,10	-	0,20	-	
Germacreno-D	1484	-	-	0,35	-	
1-isopropil-4-metil-7-metileno- 1,2,3,4,4A,5,6,7-octahidronaftaleno	1435	0,36	-	0,41	-	
$\alpha$ -humuleno	1452	2,18	-	1,84	-	
Neoalocimeno	1134	0,92	-	0,50	-	

Naftaleno, decahidro-4a-metil-1-metileno-7-(1-metiletilideno)-, (4AR-trans)	1530	-	-	3,18	-
Valenceno	1496	2,23	-	1,07	-
$\beta$ -cubebeno	1387	4,08	-	2,18	-
$\beta$ -selineno	1489	3,32	-	4,82	-
$\alpha$ -selineno	1498	5,01	-	5,93	-
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-	-	0,32	-	1,25	-
$\delta$ -cadineno	-	4,47	-	4,30	-
4-isopropil-1,6-dimetil-1,2,3,7,8,8A-hexahidronaftaleno	-	0,47	-	-	-
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-	1524	-	-	0,84	-
Nerolidol	1531	0,18	-	-	-
1H-ciclopro[E]azulen-7-ol, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-	1577	0,19	-	0,21	-
Cariofileno oxide	1582	-	-	0,15	-
Guaiol	1600	0,44	-	0,30	-
Veridiflorol	1592	0,30	-	0,20	-
Di-epi- $\alpha$ -cedreno	1388	-	-	0,20	-
10-epi $\gamma$ -eudesmol	1622	0,07	-	-	-
Torreiol	1644	-	-	0,58	-
Bulnesol	1670	0,11	-	-	-
Juniper cânfora	1700	0,91	-	0,85	-
<b>Éster</b>					
Butil acetato	807	-	1,35	-	1,93
Hexanoato de metila	921	-	6,28	2,09	8,31
Hexenil acetato	1004	-	2,75	-	4,61
Hexil acetato	1009	-	2,61	-	4,77
4-Hexenil acetato	1001	-	-	1,50	-
propanoato de heptila	-	-	0,08	-	-
Octanoato de metila	1123	0,79	7,25	2,62	7,11
Hexenil butanoato	1184	-	3,94	3,49	3,52

Acetato de octanol	1211	0,09	1,10	0,11	5,03
Isoamil hexanoato	1249	-	0,10	-	-
2-propenóico ácido, 2-metil-, ciclohexil éster	-	-	-	-	0,05
Salicilato de metila	1190	-	-	0,12	-
Butil n-hexanoato	1186	1,05	14,87	3,64	10,91
Octanoato de etilo	1196	0,39	7,53	0,56	7,69
Hexanoato de pentila	-	-	0,18	-	0,11
Neril acetato	1359	-	-	-	0,03
E-3-Hexenil hexanoato	1378	-	5,02	-	3,10
Metil 2-oxononanoato	-	-	-	0,04	-
Butil octanoato	-	-	15,06	-	11,06
Decanoato de etila	1395	-	-	-	1,42
Z-3,5-hexadienil butanoato	-	-	0,08	-	-
Decanol acetato	1407	-	0,30	-	0,20
Decanoato de metila	1321	0,35	2,30	0,26	2,22
Ácido hexanóico, 3-hexenil éster, (Z)	1378	-	-	2,40	-
Pentil octanoato	1468	-	0,13	-	0,08
Metil dodecanoato	1524	-	0,05	-	-
Geranil butanoato	1562	-	0,05	-	-
Hexil octanoato	1581	1,35	1,67	0,97	1,07
Butil octanoato	1373	1,56	1,82	0,61	1,13
Butil decanoato	1570	0,48	0,82	0,23	0,61
Ácido dodecanóico, hex-3-enil éster	-	-	0,26	0,13	0,17
Ácido dedecanóico, 2-hexen-1-il éster	-	0,29	-	-	-
<b>Ácido</b>					
Ácido hexanóico	967	-	-	0,84	8,45
Ácido octanóico	1167	3,24	1,91	-	4,00
Ácido decanóico	1364	-	0,38	0,07	0,44
<b>Cetona</b>					
$\gamma$ -Octalactona	1250	-	-	-	0,10
Neril acetona	1434	0,15	-	-	-
Geranil acetona	1455	-	0,16	-	0,10

**Aldeído**

Decanal	1201	-	0,18	0,08	3,37
---------	------	---	------	------	------

**Éter**

Éter, heptil éster	-	-	-	-	0,14
--------------------	---	---	---	---	------

Safrol	1285	1,11	0,29	1,40	0,32
--------	------	------	------	------	------

**Alcano**

Biciclo[4.3.0]nonano, 7-metileno-2,4,4-trimetil-2-vinil	-	-	-	0,11	-
---	---	---	---	------	---

**Fenilpropanóide**

3-Alil-6-metoxifenol	1350	-	-	0,19	-
----------------------	------	---	---	------	---

<b>Total de substâncias</b>		90,75	99,19	95,41	100
-----------------------------	--	-------	-------	-------	-----

---

\*I.R. (L) – Índice de retenção da literatura

\*P.I. – Padrão interno

A captura de compostos voláteis utilizando duas fibras, PDMS e PDMS/DVB apresentaram resultados semelhantes. No entanto, a fibra PDMS extraiu uma menor quantidade de analitos tanto na casca quanto na polpa em relação a fibra PDMS/DVB. O polímero de revestimento da fibra PDMS possui característica apolar extraindo com eficiência compostos de baixo peso molecular ou compostos voláteis, já a fibra PDMS/DVB, por possuir um revestimento misto apresenta propriedades complementares potencializando a captura de compostos apolares e polares, esse fato justifica o maior número de substâncias capturados pela fibra PDMS/DVB.

Como já mencionado, na casca de *Psidium acutangulum*, nota-se a maior abundância de terpenos tanto em número quanto em concentração, sendo que esta classe de substância foi capturada em 63,50% na fibra PDMS e 57,68% na PDMS/DVB, os principais terpenos foram:  $\alpha$ -copaeno (PDMS: 12,71%, PDMS/DVB: 9,24),  $\beta$ -elemeno (PDMS:18,61%, PDMS/DVB:11,69),  $\alpha$ -selineno (PDMS:5,01%, PDMS/DVB: 5,63%), trans-cariofileno (PDMS: 3,86%, PDMS/DVB: 3,29%) e  $\delta$ -cadineno (PDMS: 4,47%, PDMS/DVB: 4,30%).

Em geral, os terpenos são definidos como produtos naturais cuja estrutura pode ser dividida em unidade de isopreno, podem ser classificados como monoterpenos, compostos de

duas unidades de isopreno e sesquiterpeno, contendo três unidades de isopreno. A característica fundamental dos monoterpenos são a volatilidade e odor intensamente pungente, sendo eles os componentes responsáveis por fragrâncias e aromas em plantas, possuindo um grande interesse comercial, nas indústrias de perfumes e fragrâncias alimentícias (ROBBERS et al., 1997). Em um estudo sobre o aroma de frutos tropicais Franco & Janzantti (2005) observaram que em umbu-cajá e camu-camu os compostos terpênicos são os principais constituintes, 87% e 98% respectivamente.

Pelo menos 22.000 terpenos são conhecidos, em sua grande maioria produzidos por espécies vegetais (POULOPOULOR, 2012). Dentre os terpenos, foi detectado o  $\alpha$ -copaeno, um sesquiterpeno tricíclico presente em vários óleos essenciais de espécies medicinais e aromáticas (TURKEZ, 2014), possuindo notas aromáticas como canela, picante e floral (JORDÁN et al., 2003). Estudos anteriores mostram que esse composto possui importantes atividades biológicas, incluindo antígeno tóxico e atividade antioxidante (TURKEZ et al., 2013). Shelly (2005) estudando o óleo de gengibre demonstrou que o  $\alpha$ -copaeno pode estar envolvido com a melhora no desempenho de acasalamento de moscas mediterrânicas machos, exercendo um efeito no comportamento sexual do inseto. Outro importante terpeno detectado, possuidor de notas aromáticas de ervas frescas e cera é o  $\beta$ -elemeno, adicionalmente é descrito na literatura a sua ação como potencial droga antitumoral de células cancerígenas como o cancro de pulmão (WANG et al., 2005), inibidor do crescimento de melanona (CHEN et al., 2011), efeito citotóxico contra glioma maligno (ZHU et al., 2013) e células cancerígenas de mama (GUAN, et al., 2014).

O sesquiterpeno bicíclico trans-cariofileno é encontrado no óleo essencial de várias espécies vegetais. Tradicionalmente tem sido utilizado em perfumes e cosméticos, além disso, foi relatado possuir várias atividade como anti-inflamatória, anestésica, antioxidante e anticarcinogênico (WU et al., 2014).

Já na polpa de *Psidium acutangulum* a classe majoritária encontrada utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB foi a dos ésteres. A presença dessa classe é relatada em diversos estudos sobre o perfil volátil de frutos, demonstrando que os ésteres são compostos abundantes, comuns e de maior importância no aroma, como no fruto, cupuaçu, acerola, abacaxi, banana, maçã, pêssigo, dentre outros, e normalmente esta classe está envolvida com as notas frutais doce no fruto (FRANCO & JANZANTTI, 2005; ORTIZ et al., 2010; ORTIZ et al., 2011 ZHENG et al., 2012).

Entre os ésteres identificados nos compostos voláteis extraídos em ambas as fibras se destaca o hexanoato de metila. Conforme Berger (2007), esse éster é um dos compostos responsáveis pelo aroma do morango, com característica doce, frutoso e notas verdes, além disso, esta substância caracteriza o aroma frutado do abacaxi (CALDERÓN et al., 2010). Já o octanoato de etila é citado por Damiani e colaboradores (2009) por ser considerado um composto de impacto no aroma de pequi, sendo encontrado em porcentagens elevadas. Outro éster majoritário em ambas as fibras foi o hexanoato de butila, este composto está relacionado ao aroma da polpa de maracujá (MACORIS et al., 2011).

### **5.2.2 *Duroia macrophylla***

Os compostos voláteis da casca de *Duroia macrophylla* caracterizados nesse estudo, utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB, estão listados na tabela 6 e seus cromatogramas estão presentes na figuras 16. É possível observar uma grande complexidade em ambos os cromatogramas, no entanto, uma análise visual permite identificar uma maior quantidade de substâncias extraídas com a fibra PDMS/DVB.

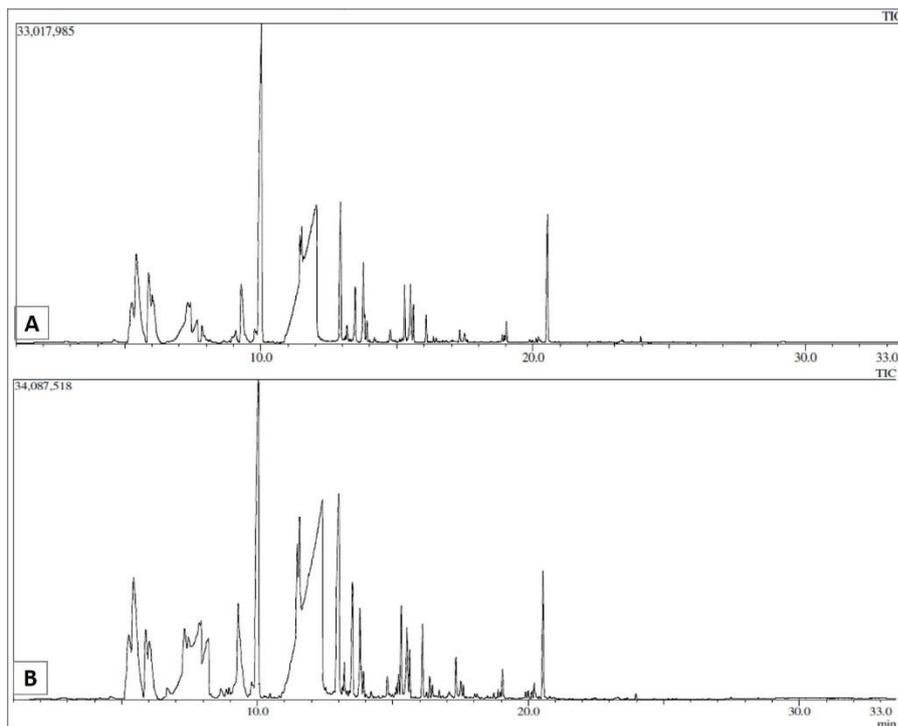


Figura 16: Cromatograma dos constituintes presente na casca de *Duroia macrophylla* através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B).

Na extração com a fibra PDMS, foram identificados 32 compostos presente na casca de *Duroia macrophylla*. Esses composto voláteis foram divididos em 7 classes químicas, sendo 4 álcoois, 5 terpenos, 13 ésteres, 3 ácidos, 2 cetonas, 4 alcanos e 1 éter. O percentual relativo de cada classe se encontra na figura 17.

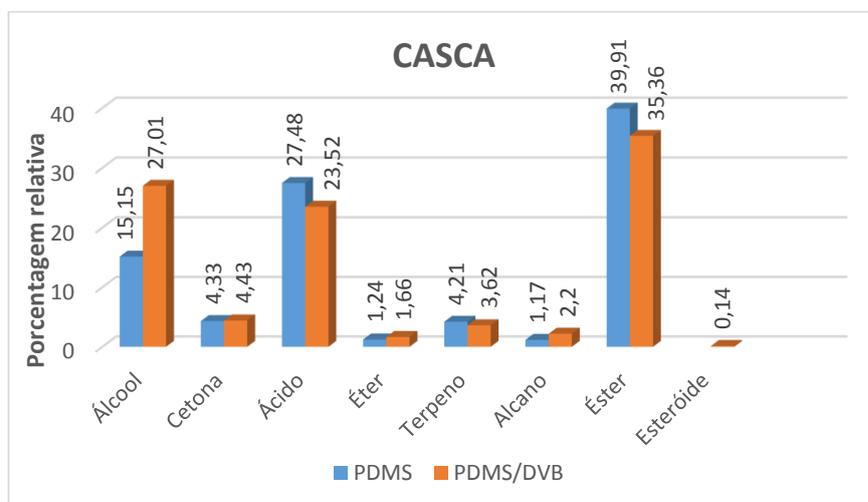


Figura 17: Classe de compostos presente na casca do fruto *Duroia macrophylla* utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB.

Dentre as classes, os ésteres se destacaram possuindo o maior número de substâncias e percentual relativo em área, em relação às demais substâncias com 39,91%, octanoato de metila (14,92%) e octanoato de etila (10,54%), importantes contribuintes para o aroma de frutos como pêsego, morango e graviola (HUI, 2010), foram os ésteres majoritários. Outra classe que apresentou um elevado percentual em área foi a dos ácidos com 27,48%, dentre eles o ácido octanóico foi o mais significativo com 26,5%, possuidor de um odor aromático gorduroso e ceroso (TAKAKURA, 2014), este ácido é relatado como sendo um dos principais compostos voláteis de frutos como uva (*Vitis vinífera* L.) e abacaxi (*Ananas cosmosus* L. Merr.) (HADI et al., 2013), além disso, é conhecido por suas propriedades bactericidas (LAVIERI et al., 2014) e repelente, onde, Nazzi e Bortolomeazzi (2009), estudando a geleia real determinaram que o ácido octanóico principal composto detectado confere ação repelente contra o ácaro *Varroa destructor*. A terceira classe mais abundante foi a dos álcoois com 15,15%, seu principal constituinte foi o 2-heptanol com 8,16%.

Conforme a tabela 6, é possível observar os compostos identificados na casca de *Duroia macrophylla* utilizando a fibra PDMS/DVB e seu respectivo cromatograma se encontra na figura 16. No total foram identificados 42 compostos. Tais compostos foram separados nas seguintes classes químicas, sendo 6 álcoois, 9 terpenos, 17 ésteres, 3 ácidos, 3 cetonas, 1 éter, 2 alcanos e 1 esteroide.

A quantidade de substâncias extraídas pela fibra PDMS/DVB da casca de *Duroia macrophylla* foi superior a PDMS, no entanto, as principais classes identificadas como ésteres (35,36%) e ácidos (23,52%) obtiveram percentual relativo em área maior na PDMS, conforme a figura 17. Os compostos majoritários extraídos com a fibra PDMS também foram obtidos a partir da PDMS/DVB, como: 2-heptanol (7,96%), octanoato de metila (11,96%), octanoato de etila (6,03%) e ácido octanóico (20,25%). Em relação as classes com percentual em área minoritário houve uma semelhança aos identificados na PDMS.

Na figura 18, estão presentes os cromatogramas da polpa de *Duroia macrophylla* extraídos pelas fibras PDMS (A) e PDMS/DVB (B). Através de uma análise visual é possível observar uma diferença quantitativa nos perfis cromatográficos, evidenciando um maior número de picos extraídos com a fibra PDMS.

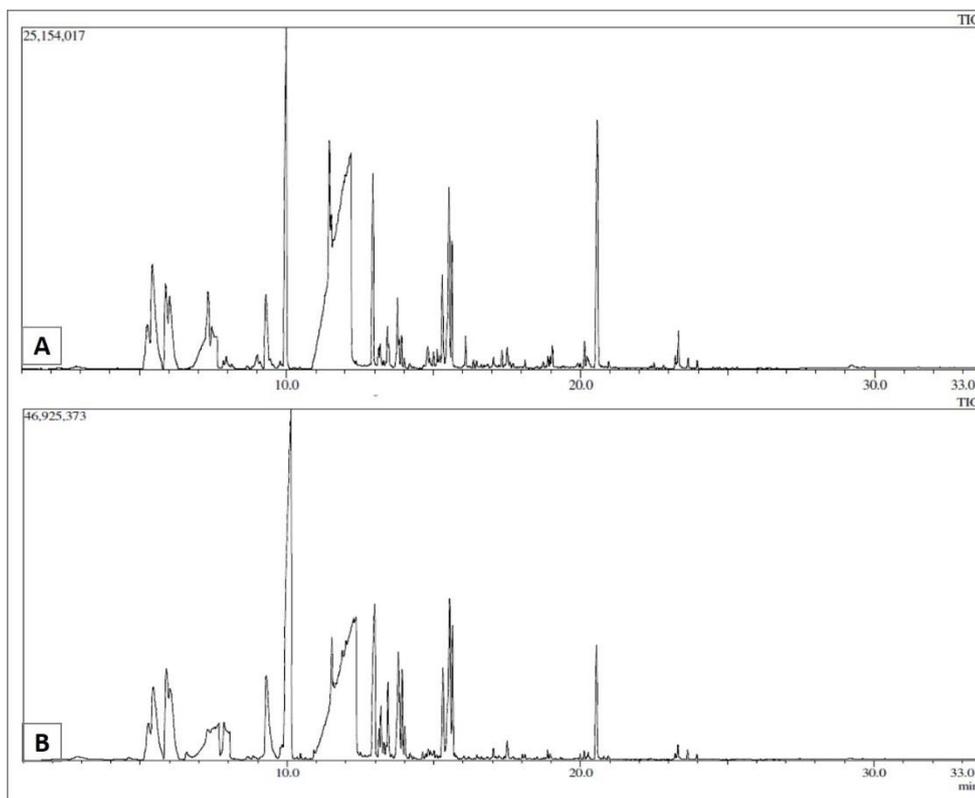


Figura 18: Cromatograma dos constituintes presente na polpa de *Duroia macrophylla* através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B).

Os compostos majoritários identificados em ambas as fibras foram da classe dos ésteres, ácidos e álcoois (Figura 19). Com a utilização da fibra PDMS no processo extrativo, foi possível identificar 42 compostos (Tabela 6). Os compostos foram divididos em 7 classes químicas, álcool (5), terpeno (7), éster (17), ácido (5), cetona (4), éter (1) e alcano (3).

Os ésteres com 46,86%, foram os compostos majoritários, dentre eles se destacam, octanoato de etila (12,51%) e octanoato de metila (8,92%), vale ressaltar que os mesmos compostos estão presente na casca de *Duroia macrophylla*.

Outra classe representativa foi a dos álcoois com 11,01% em relação aos constituintes totais, destacando o composto 2-heptanol, com 5,75% em área.

Já a fibra PDMS/DVB, de acordo com a tabela 6, evidência um total de 27 compostos identificados na polpa do fruto.

Os compostos foram divididos nas seguintes classes, 7 álcoois, 1 terpeno, 14 ésteres, 1 alcano, 2 cetonas e 2 ácidos. Os ésteres novamente foram os principais constituintes com 43,14%, destacando o octanoato de metila com 21,07% em relação aos demais, e a segunda classe mais abundante foi a dos álcoois com 15,09%.

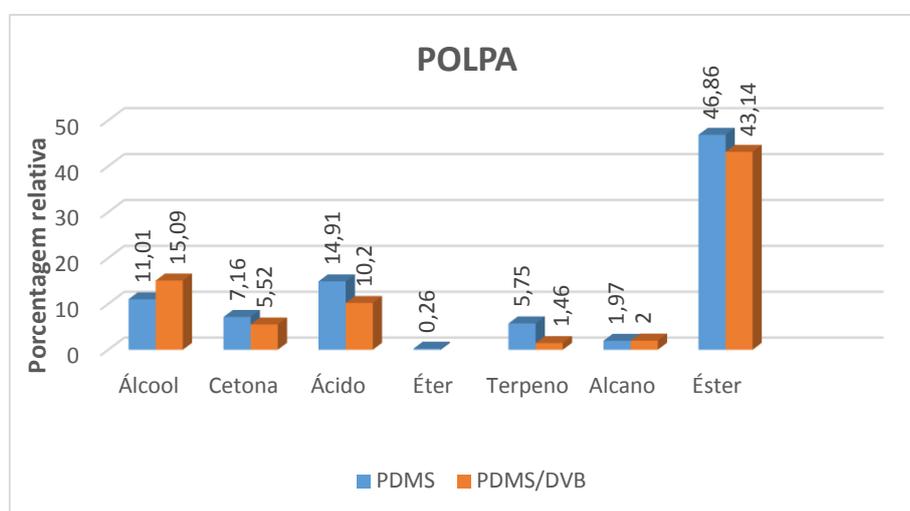


Figura 19: Classe de compostos presente na polpa do fruto *Duroia macrophylla* utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB.

Tabela 6: Constituintes presente na casca e polpa do fruto *Duroia macrophylla* utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB (Padrão interno:  $\alpha$ -bisabolol 100mg/L).

Compostos	*I.R.(L)	PDMS		PDMS/DVB	
		Casca	Polpa	Casca	Polpa
Concentração em área %					
<b>Álcool</b>					
3-Hepten-6-ol	-	-	-	3,28	-
4-Metil-5-hexen-2-ol	-	3,24	2,09	-	1,82
1,2-Hexanediol	-	-	-	0,8	0,33
2-Heptanol	894	8,16	5,75	7,96	4,99

3-Ciclohexen-1-ol, 4-metil-1-(1-metiletil)	1174	-	-	-	1,82
1,2-Octanediol	-	3,68	2,62	6,85	5,93
8-Pentadecanol	-	0,07	-	8,06	0,05
5,7-Undecadienol	-	-	-	-	0,15
Tetraciclo[6.3.2.0(2,5).0(1,8)]tridecan-9-ol, 4,4-dimetil	-	-	-	0,06	-
(Z)6,(Z)9-Pentadecadien-1-ol	-	-	0,13	-	-
9,12,15-Octadecatrien-1-ol	-	-	0,42	-	-
<b>Cetona</b>					
5-Hidroxi-2,7-dimetil-4-octanona	-	1,64	-	-	-
1-fenil-4-cloro-butan-1-ona	-	-	-	0,15	-
2-Nonanona	1087	2,69	2,35	4,2	4,32
2-Undecanona	1293	-	0,62	-	1,2
Triciclo[4.2.2.0(1,5)]decan-4-ona	-	-	-	0,08	-
2-Oxepanona, 5-(1,1-dimetiletil)	-	-	4,09	-	-
2-Heptadecanona	1882	-	0,1	-	-
<b>Ácido</b>					
Ácido hexanóico	967	0,6	-	0,98	-
Ácido 3-hexenóico	983	-	-	2,29	-
Ácido heptanóico	1065	0,38	0,25	-	-
Ácido octanóico	1167	26,5	14,18	20,25	10,09
Ácido docosanóico	-	-	0,22	-	-
Ácido decanóico	1335	-	0,09	-	-
Ácido 9-Decenóico	1359	-	0,17	-	0,11
<b>Éter</b>					
1,3-Benzodioxole, 5-(2-propenil)	1285	1,24	0,26	1,66	-
<b>Terpeno</b>					
p-Cimeno	1020	-	0,19	-	-
trans-Cariofileno	1417	0,64	0,4	0,51	-
$\alpha$ -Guaieno	1437	0,16	0,1	0,18	-
1H-Ciclopropa[A]naftaleno, 1A,2,4,5,6,7,7A,7B-octahidro-1,1,7,7A- tetrametil, [1AS-(1A $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,7A. $\alpha$ ,7B $\alpha$ )]	-	-	-	0,13	-

biciclo[5.3.0]decano, 2-metileno-5-(1-metilvinil)-8-metil	-	-	-	0,42	-
$\delta$ -Guaieno	1505	-	0,07	0,11	-
cis- $\alpha$ -Bisaboleno	1514	-	-	0,06	-
(-)-Cariofilleno oxide	1582	0,45	0,29	0,25	-
$\alpha$ -Bisabololoxide-B	1656	0,08	0,25	0,07	-
<b>*P.I.</b> $\alpha$ -Bisabolol	1685	2,88	4,45	1,89	1,46
<b>Alcano</b>					
Heptano, 3,5-dimetil	837.4	-	-	1,59	-
1,1'-Bicicloheptil	-	0,61	1,66	0,61	2
Biciclo[5.3.0]decano, 2-metileno-5-(1-metilvinil)-8-metil	-	0,28	0,21	-	-
Spiro[2.9]Dodeca-3,7-Dieno, 11,11-Dimetil	-	0,2	-	-	-
Biciclo[5.2.0]nonano, 2-metileno-4,8,8-trimetil-4-vinil	-	0,08	0,1	-	-
<b>Éster</b>					
Hexanoato de metila	921	2,87	2,61	2,83	3,54
Metil 4-metil-4-pentenoato	-	2,18	3,34	3,22	3,86
Hexanoato de etila	997	-	1,31	-	-
Ácido 3-Hexenóico, etil éster	1003	-	1,08	-	-
Heptanoato de metila	1021	0,29	0,11	-	0,71
Ácido acético, pentil éster	911	-	-	0,17	-
Ácido 4-Octenóico, metil éster	1115	0,39	-	0,54	0,19
Octanoato de metila	1123	14,92	8,92	11,96	21,07
Ácido 2-Octenóico, metil éster	1150	-	-	0,2	0,23
Octanoato de etila	1196	10,54	12,51	6,03	-
Nonanoato de metila	1223	-	-	-	4,3
Ácido octanetióico, S-propil éster	-	4,54	12,51	5,99	4,56
5-Tetradecen-1-ol, acetato	1790	-	-	0,09	-
1-Norbornanemetanol, acetato	-	0,27	0,33	0,39	0,75
Metil decadienoato	-	1,92	1,32	1,63	0,09
Ácido 4-Decenóico, metil éster	-	0,39	0,52	0,37	1,4

Decanoato de metila	1323	-	0,15	-	0,48
Metil-6-Clorooctanoato	-	-	-	0,03	-
Fenol, 2-metoxi-4-(1-propenil)	1448	-	-	0,27	-
Etil linoleolato	-	-	0,25	-	-
Ácido 2-Propenóico, 3-fenil, metil éster	1376	1,38	1,55	1,5	1,86
Ácido octanóico, 2-pentil éster		0,09	0,13	0,08	0,1
Hexadecanoato de metila	-	0,13	0,13	0,06	-
Isopropil Tetradecanoato	1812	-	0,09	-	-
<b>Esteróide</b>					
Androstan-17-ona, 3-etil-3-hidroxi, (5 $\alpha$ )	-	-	-	0,14	-
<b>Total de substâncias</b>		93,49	87,92	97,94	77,41

\*I.R. (L) – Índice de retenção da literatura

\*P.I. – Padrão interno

### 5.2.3 *Matisia cordata*

A análise da fração volátil presente na casca de *Matisia cordata* é evidenciada nos cromatogramas presente na figura 20, utilizando as fibras PDMS (A) e PDMS/DVB (B). Os perfis cromatográficos obtidos utilizando ambas as fibras, evidência uma boa separação dos compostos voláteis, além disso, destaca diferenças significativas nos analitos presente nos cromatogramas.

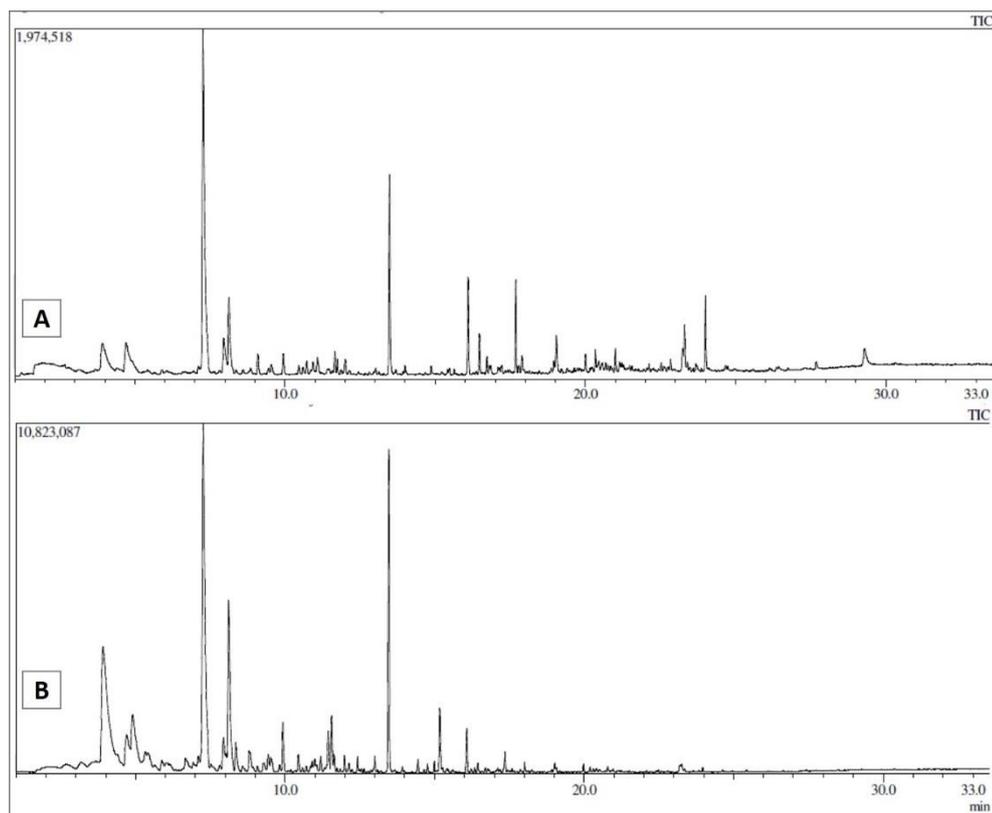


Figura 20: Cromatograma dos constituintes presente na casca de *Matisia cordata* através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B).

Na figura 20, está presente os cromatogramas da casca de *Matisia cordata* extraídos pelas seguintes fibras (A) PDMS e (B) PDMS/DVB. Utilizando-se a fibra PDMS, foi possível identificar 27 compostos. A tabela 7, mostra a área relativa e o tempo de retenção em que cada substância foi identificada. Os compostos voláteis foram distribuídos em 7 classes químicas, como: álcool, terpeno, éster, cetona, alcano, aldeído e éter (Figura 21). Desconsiderando o padrão interno 3-octanol que apresentou uma elevada área, as classes mais representativas foram, terpenos, ésteres e éteres. Seis terpenos foram identificados, representando 17,76% em relação aos constituintes totais. Dentre os terpenos, o 1,8 cineol (8,66%), conhecido como eucaliptol, é um composto aromático encontrado em ervas que inclui gengibre, manjeriço, manjeriço doce e canela, derivados oxigenados do eucaliptol são usados em medicamentos, perfumes e preparações de sabor (LEELAPHIWAT et., 2011). Outro terpeno detectado foi o trans-cariofileno com 5,6%.

Éteres representaram 13,24% dos voláteis totais, sendo que o composto 1,3-benzodioxole, 5-(2-propenil), conhecido por safrol, está presente em 10,86%, desse complexo. O safrol é um constituinte presente em vários óleos vegetais, possui característica incolor a ligeiramente amarelo líquido, e possui um grande interesse econômico, podendo ser convertido em eugenol, vanilina, piperonal e outros (MAAR; ROSENBROCK, 2012).

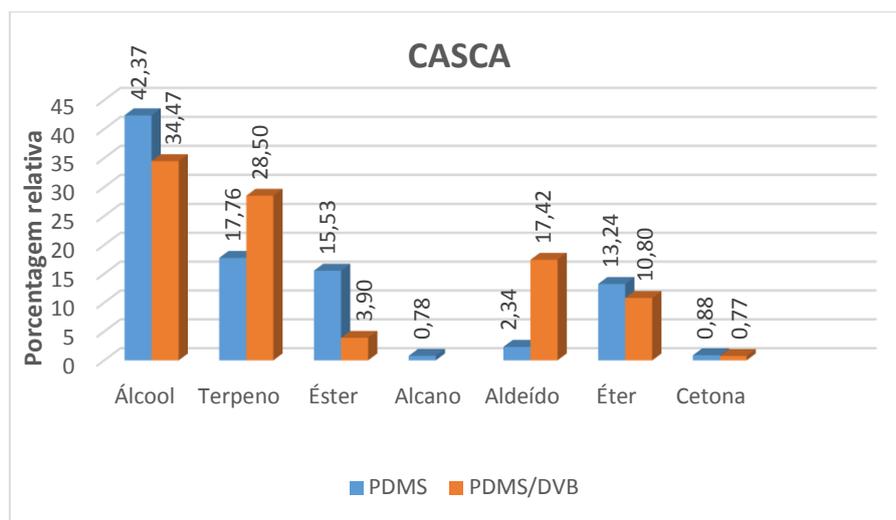


Figura 21: Classe de compostos presente na casca de *Matisia cordata* utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB.

Os compostos identificados na casca de *Matisia cordata* utilizando a fibra PDMS/DVB se assemelham com da fibra PDMS em relação às classes químicas identificadas, no entanto, na concentração das substâncias houve variação.

Na classe dos terpenos e aldeídos houve um maior percentual relativo na fibra PDMS/DVB (Figura 21). No total foram identificadas 27 substâncias (Tabela 7), novamente desconsiderando a classe dos álcoois onde se encontra o padrão interno utilizado, a classe majoritária foi a dos terpenos, 15 compostos foram identificados, totalizando 28,5%, corroborando com os compostos extraídos pela fibra PDMS, 1,8-cineol e trans-cariofileno foram os majoritários.

A classe química éter representou 10,8% com o composto 1,3-benzodioxole, 5-(2-propenil). Outra classe química representativa foi a dos aldeídos (17,42%), hexanal foi o

principal composto com 15,42%, vale ressaltar que está substância não foi identificada na fibra PDMS. Formado a partir da decomposição do ácido linoleico, a contribuição para o aroma do hexanal depende da sua concentração, em baixas, possui aroma agradável e gramínea, em elevada concentração é altamente rançoso e seboso (GONZÁLEZ et al., 2013).

Na figura 22, está presente os cromatogramas da polpa de *Matisia cordata* extraídos pelas fibras PDMS (A) e PDMS/DVB (B). Conforme a figura, é possível observar diferenças significativas em ambos os cromatogramas. A figura A, referente a extração com a fibra PDMS, ilustra um maior número de voláteis identificados, enquanto a figura B, evidência uma elevada intensidade nos picos, referente a uma maior concentração.

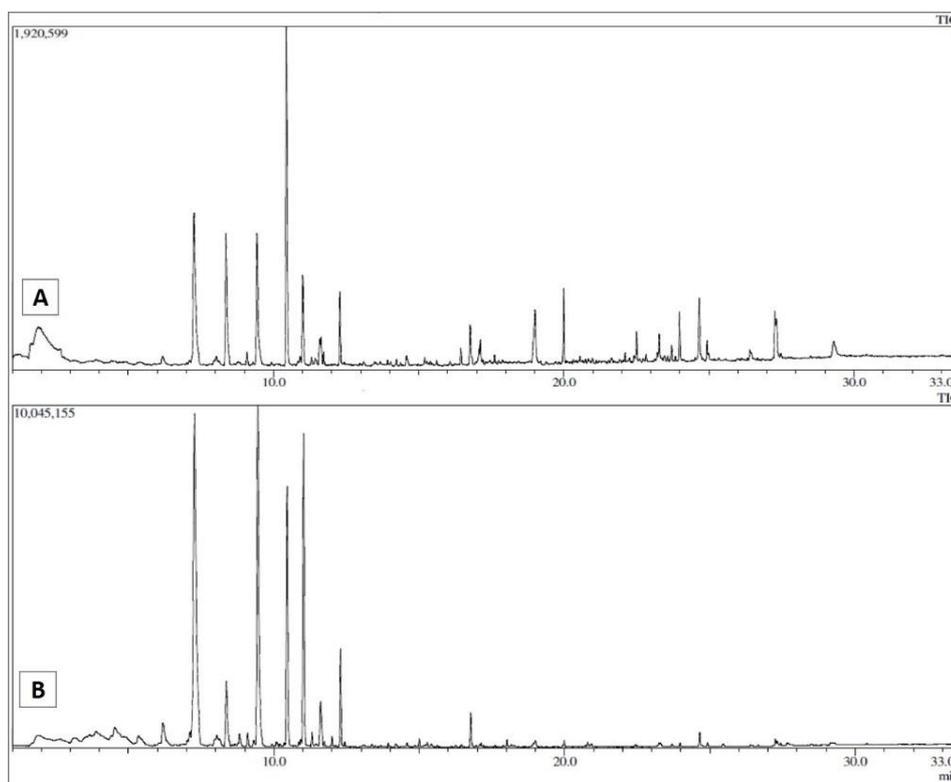


Figura 22: Cromatograma dos constituintes presente na polpa de *Matisia cordata* através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B).

Os compostos majoritários identificados em ambas as fibras foram da classe dos ésteres e terpenos. A partir da extração com a fibra PDMS, foi possível identificar 18 substâncias

(Tabela 7). Os compostos foram divididos em 7 classes químicas, como: álcool, terpeno, éster cetona, alcano, aldeído e éter (Figura 23).

Os ésteres, com 10 substâncias, foram os compostos majoritários (35,82%), dentre eles o benzoato de metila compôs 13,7%, sintetizado a partir do ácido benzoico este éster é um componente de aroma floral, possui poder atrativo para insetos polinizadores (SCHWAB, 2008), além de ser um importante contribuinte para o aroma do mamão (PINO, 2014). Benzoato de etila obteve 6,81%, possui notas aromáticas mentolado, doce e frutal (The Good Scents Company, 2015), linoleato de etila (3,21%) e etil 9-hexadecenoato (2,74%) também foram representativos.

Outra classe representativa foi a dos terpenos com 12,52%, sendo o monoterpreno acíclico  $\beta$ -ocimeno a substância principal com 10,79%. Essa substância, também é constituinte de, muitos aromas frutais (FÄLDT et al., 2003), embora possa ser encontrado no óleo essencial de muitas frutas, seu uso é restrito a perfumaria (SURBURG; PANTEN, 2006).

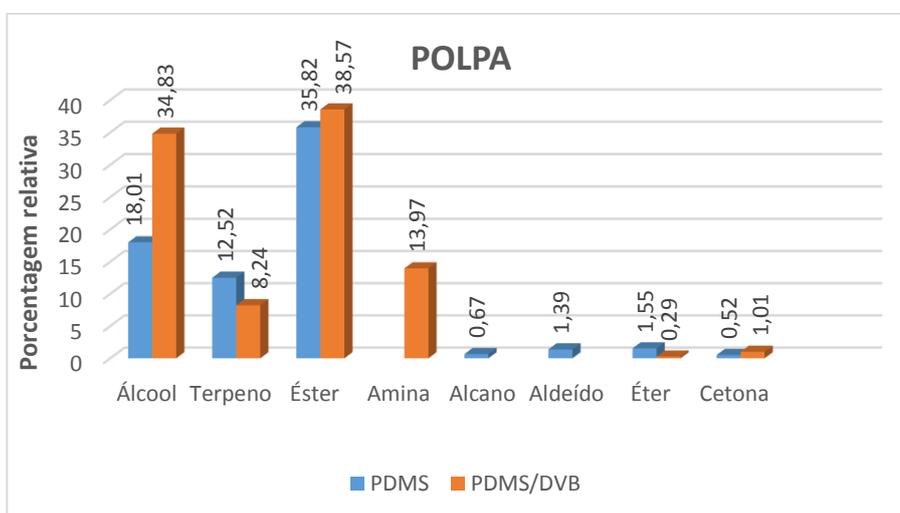


Figura 23: Classe de compostos presente na casca de *Matisia cordata* utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB.

Conforme a tabela 7, foi possível identificar 14 substâncias utilizando a fibra PDMS/DVB na análise da polpa. Os compostos foram dividido em 6 classes químicas, como: álcool, terpeno, éster, cetona, éter e amina, conforme explícito na figura 23. É possível observar

que a fibra PDMS obteve um maior número de compostos e classes distintas em comparação com a PDMS/DVB. A classe dos terpenos obteve 8,24%, tendo como substância principal o trans- $\beta$ -ocimeno (4,67%). Já a classe dos ésteres (38,57%), apesar do menor número de substâncias identificadas (6), os compostos principais apresentaram um maior percentual relativo em área em relação a PDMS, dentre eles se destacam o benzoato de metila (24,19%) e benzoato de etila (10,28%).

Tabela 7: Constituintes presente na casca e polpa do fruto *Matisia cordata* utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB (Padrão interno:3-octanol 10mg/L).

Compostos	*I.R.(L)	PDMS		PDMSDVB	
		Casca	Polpa	Casca	Polpa
Concentração em área %					
<b>Álcool</b>					
*P.I. 3-Octanol	988	36,78	18,01	34,28	34,52
1-Hexanol, 2-etil	1029	4,82	-	-	-
1-Nonanol	1165	-	-	0,20	0,31
1-Dodecanol	1469	0,78	-	-	-
<b>Terpeno</b>					
$\beta$ -Pino	974	-	-	-	0,53
1,8-Cineol	1026	8,66	-	8,43	-
$\beta$ -ocimeno	1032	-	10,79	-	-
Linalol oxide	1067	-	-	0,37	-
L-(-)-Mentol	1167	1,30	-	-	-
Terpinen-4-ol	1174	-	-	0,39	-
$\alpha$ -Terpienol	1186	-	-	0,88	-
Benzeno, 1-metoxi-4-(2-propenil)	-	-	1,73	-	3,04
trans- $\beta$ -ocimeno	1044	-	-	-	4,67
p-Cimeno	1020	-	-	1,41	-
$\alpha$ -Cubebeno	1345	-	-	0,21	-
4-Pentilbutan-4-olide	-	0,36	-	-	-
$\alpha$ -Copaeno	1374	-	-	2,77	-

$\beta$ -Elemeno	1389	-	-	0,41	-
trans-Cariofileno	1408	5,60	-	5,40	-
$\alpha$ -Guaieno	1437	-	-	2,32	-
$\beta$ -Panasinseno	1381	-	-	1,28	-
$\alpha$ -Humuleno	1452	1,01	-	0,61	-
$\alpha$ -Guaieno	1437	-	-	0,28	-
Biciclo[5.3.0]decano, 2-metileno-5-(1-metilvinil)-8-metil	-	-	-	2,56	-
$\delta$ -Guaieno	1508	-	-	1,19	-
$\delta$ -Cadineno	1522	0,83	-	-	-
<b>Éster</b>					
Benzoato de metila	1088	-	13,70	0,36	24,19
Octanoato de metila	1123	1,87	-	1,78	2,17
Benzoato de etila	1169	-	6,81	0,21	10,28
Hexanoato de butila	1186	-	-	-	0,94
Ácido benzóico, 2-hidroxi, metil éster	-	-	-	1,55	-
Nonanoato de metila	1223	1,33	-	-	-
Decanoato de metila	1323	0,52	-	-	-
Carbamato, N-(2,2-dietioxietyl), metil éster	-	1,54	1,16	-	-
Etil cinamato	1465	-	2,42	-	0,70
Dodecanoato de metila	1524	4,18	-	-	-
1-(4-Isopropilfenil)-2-Metilpropil acetato	-	0,81	-	-	-
Tetradecanoato de metila	1722	1,36	-	-	-
Isopropil miristate	1812	0,36	-	-	-
Ácido 9-Hexadecenóico, metil éster	1896	-	0,71	-	-
Hexadecanoato de metila	1921	3,57	1,87	-	-
Etil 9-Hexadecenoato	-	-	2,74	-	0,31
Hexadecanoato de etila	-	-	0,83	-	-
Ácido 9-Octadecenóico (Z), etil éster	-	-	2,37	-	-
Linoleato de etila	-	-	3,21	-	-
<b>Amina</b>					
1,3,5-Triazina-2,4(1H,3H)-diona, 6-(etilamino)	-	-	-	-	13,97

<b>Alcano</b>					
Nonadecano	1900	0,50	0,31	-	-
Eicosano	2000	-	0,36	-	-
Octadecano	1800	0,28	-	-	-
<b>Aldeído</b>					
Hexanal	801	-	-	15,42	-
Benzenoacetaldeído	1036			1,16	-
2,6-Nonadienal	1150	0,57	-	-	-
2-Nonenal	1144	0,84	-	-	-
Decanal	1201	0,93	1,39	0,54	-
Citral	-	-	-	0,29	-
<b>Éter</b>					
safrol	1285	10,86	-	10,80	-
Octano, 1,1'-oxibis	-	0,88	1,55	-	0,29
Hexametil-piranoindane	-	1,50	-	-	-
<b>Cetona</b>					
3-Octanona	979	0,88	-	0,77	1,01
$\alpha$ -iso-metil ionona	-	-	0,52	-	-
<b>Total de substâncias</b>		<b>92,89</b>	<b>70,46</b>	<b>96</b>	<b>96,91</b>

\*I.R. (L) – Índice de retenção da literatura

\*P.I. – Padrão interno

#### 5.2.4 *Borojoa sorbilis*

Os compostos voláteis da casca do fruto *Borojoa sorbilis*, utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB estão listados na tabela 8 e seus cromatogramas estão ilustrados na figura 24. Através de uma análise visual é possível notar uma alta complexidade em ambos os cromatogramas, no entanto, quantitativamente é observável um maior número de picos na figura A, equivalente a extração com a fibra PDMS.

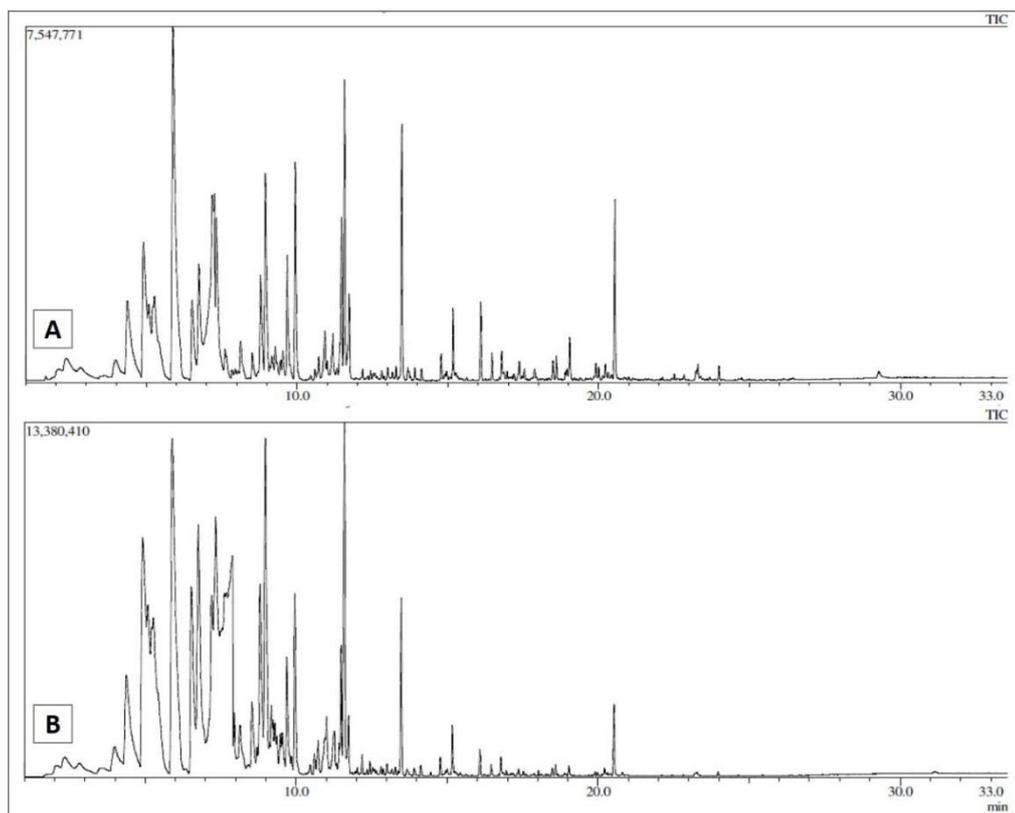


Figura 24: Cromatograma dos constituintes presente na casca do fruto *Borojoa sorbilis* obtidos através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B).

Utilizando a fibra PDMS, foram extraídos e identificados 46 compostos como componentes da casca do fruto *Borojoa sorbilis*. Esses compostos voláteis foram separados nas seguintes classes químicas, sendo 8 álcoois, 6 terpenos, 13 ésteres, 6 cetonas, 4 éteres, 4 aldeídos, 1 alcano, 3 ácidos e 1 fenilpropanóide, o percentual relativo de cada classe pode ser observado na figura 25.

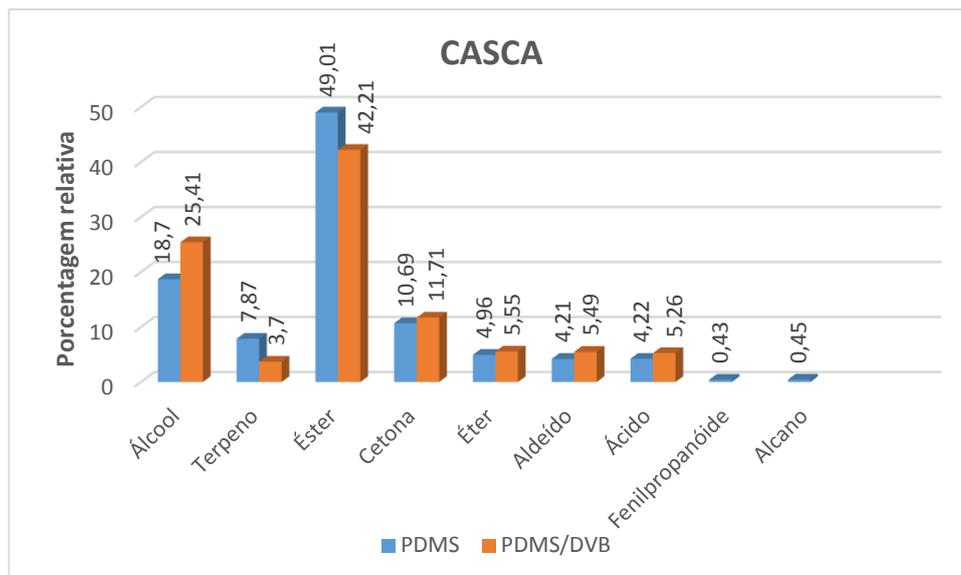


Figura 25: Classe de compostos presente na casca do fruto *Borojoa sorbilis* utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB.

Nesse sentido, a classe dos ésteres se destacou por possuir o maior número de compostos e maior percentual relativo em área, em relação aos compostos voláteis totais com 49%. Hexanoato de metila (18,41%), ácido acético, pentil éster (5,8%), ácido benzoico, 2-hidróxi-, metil éster (5,77%) e metil 2-vinilbutanoato (4,36%) foram os principais representantes.

Outra classe que apresentou uma grande variedade foi a dos álcoois, composta por 8 membros totalizando 18,7%. Dentre eles o 1-hexanol representa em média 7,75% da concentração e o 1-heptanol 3,45%, seus odores são descritos como notas verdes e de ervas (KASHIMA; MIYAZAWA, 2014), outros como 1-octen-3-ol (2,71%), descrito como componente dos constituintes voláteis do cogumelo (TAKAKURA et al., 2014b) e 1-undecin-4-ol (3,06%) foram identificados.

Convém ressaltar que a presença de compostos da classe cetona (10,6% dos voláteis totais) também foi evidenciada, com a identificação de 6 substâncias. As principais cetonas foram: 2-octanona (6,68%), 3-heptanona (1,39%) e 2-heptanona (1,75%). Alguns estudos sugerem que as rotas de formação de cetonas podem ser derivadas de precursores como os ácido graxos, aminoácidos e açúcares (WELDEGERGIS et al., 2011).

Conforme a tabela 8, é possível observar os compostos identificados na casca do fruto *Borojoa sorbilis* utilizando a fibra PDMS/DVB, seu respectivo cromatograma se encontram na figura 24. No total foram identificados 40 compostos. Tais compostos foram separados em diferentes classes, sendo 8 álcoois, 7 terpenos, 13 ésteres, 3 ácidos, 4 cetonas, 2 éteres e 3 aldeídos conforme a figura 25.

Com o intuito comparativo utilizando a fibra PDMS/DVB, é possível observar que as principais classes identificadas e seus respectivos percentuais relativos como: álcoois (25,41%), terpenos (3,72%), ésteres (42,21%) e cetonas (11,71%), se assemelham aos identificados na fibra PDMS, tanto em número quanto em área.

Além dos majoritários, outras classes foram representativas em ambas as fibras como, ácido e aldeídos, substâncias dessas classes são de grande importância para a indústria desde que o seu sabor seja responsável por uma sensação organoléptica verde (notas verdes) (BERGER, 2007).

Na figura 26, está presente os cromatogramas da polpa do fruto *Borojoa sorbilis* extraídos pelas fibras PDMS (A) e PDMS/DVB (B). Os compostos majoritários identificados em ambas as fibras foram da classe dos álcoois, ésteres e cetonas.

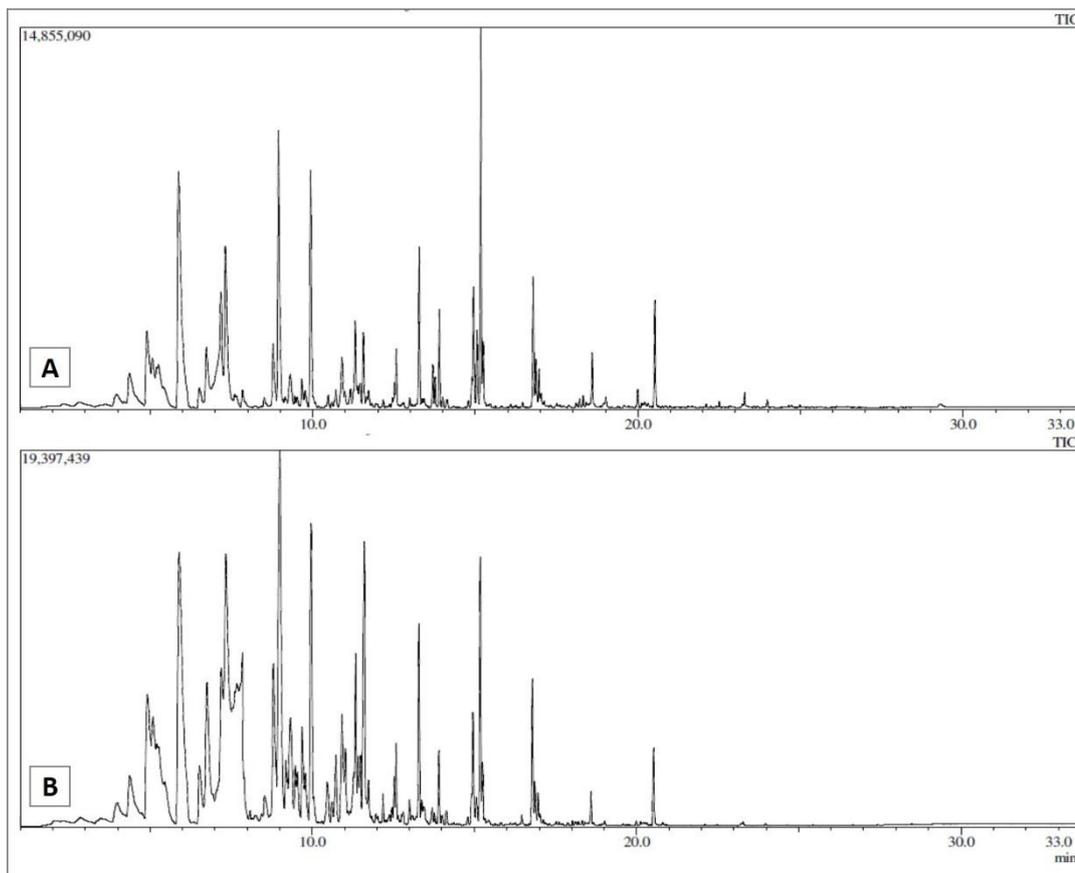


Figura 26: Cromatograma dos constituintes presente na polpa do fruto *Borojoa sorbilis* obtidos através da técnica de Headspace-SPME/CG-EM. Fibra utilizada: PDMS (A) PDMS/DVB (B).

Através da extração com a fibra PDMS, foi possível identificar 41 substâncias (Tabela 8). Os compostos foram divididos em 9 classes químicas, álcool (6), terpeno (3), éster (20), cetona (5), éter (1), aldeído (2), fenilpropanóide (1), alcano (1) e ácido (1) (Figura 27). Os ésteres com 20 substâncias foram os compostos majoritários (65,46%), dentre eles o hexanoato de metila compôs 13,88% e hexanoato de etila 5,7%, esses dois ésteres são um dos principais compostos responsáveis pelo aroma do morango (BERGER, 2007), outros que se destacaram foram, 1-pentanol, 5-cloro-, acetato (8,84%), ácido 4-octenóico, metil éster (5,37%) e hexanoato de hexila (8,51%). Outra classe representativa foi a dos álcoois com 16,15%, os compostos majoritários identificados na polpa como o 1-hexanol (3,84%), 1-heptanol (4,1%) e 1-octen-3-ol (1,35%) se equivalem aos identificados na casca do puruí. A terceira classe mais

abundante foi das cetonas, com um total de 8,79%, seus principais constituintes foram: 2-octanona (3,9%), 3-heptanona (1,43) e 5-dodecanona (2,81%).

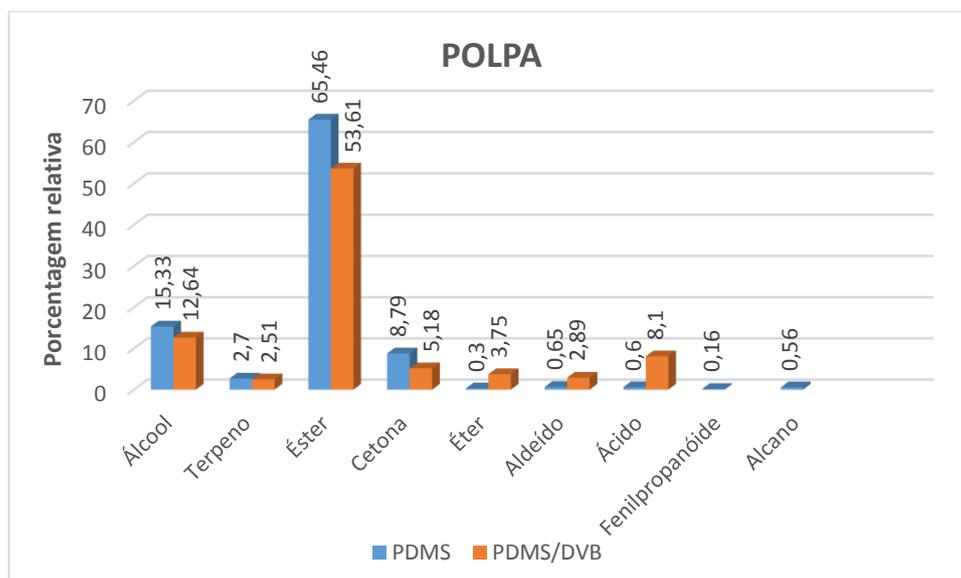


Figura 27: Classe de compostos presente na polpa do fruto *Borojoa sorbilis* utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB.

Conforme a tabela 8, foi possível identificar 46 substâncias utilizando a fibra PDMS/DVB, os compostos foram divididos em 8 classes químicas, álcool (8), terpeno (3), éster (22), ácido (5), cetona (4), éter (1) e aldeído (3) (Figura 27). É possível observar que a fibra PDMS/DVB foi mais eficaz na captura dos compostos voláteis, obtendo um maior número de compostos. A classe dos ésteres obteve o maior percentual relativo em área com 53,61%, um pouco a menos do que o obtido pela fibra PDMS, os principais compostos foram os mesmos detectados utilizando a fibra PDMS, como hexanoato de metila (10,70%), hexanoato de etila (8,02%), 1-pentanol, 5-cloro, acetato (9,94%) e ácido 4-octenóico, metil éster (4,66%). É importante ressaltar que outras classes com percentual relativo de área minoritário obtiveram melhores resultados com a fibra PDMS/DVB, como: ácidos (8,10%), éteres (3,75%) e aldeídos (2,89%), conforme a figura 27.

López e colaboradores (2015a), estudando os compostos voláteis da espécie *Borojoa patinoi*, através da técnica de SPME e utilizando a fibra de revestimento DVB/CAR/PDMS,

identificou 21 substâncias, divididas nas seguintes classes, álcool (8), éster (8), ácido (2), cetona (2) e terpeno (1), onde seu principal constituinte foi o 2-nonanol com 53,52% dos constituintes totais, das 21 substâncias identificadas, 6 delas foram identificadas no perfil volátil do fruto em estudo, puruí (*Borojoa sorbilis*), tais como, 1-hexanol, hexanoato de metila, hexanoato de etila, etil octanoato, ácido hexanóico, 2-heptanona e 2 nonanona.

Tabela 8: Constituintes presente na casca e polpa do fruto *Borojoa sorbilis* utilizando as fibras PDMS e PDMS/DVB (Padrão interno:  $\alpha$ -bisabolol 10mg/L).

	I.R.	PDMS		PDMS/DVB	
		Casca	Polpa	Casca	Polpa
Concentração em área					
<b>Álcool</b>					
1-Hexanol	863	7,75	4,69	9,88	3,84
1-Octen-3-ol	974	2,71	2,16	5,29	1,35
1-Heptanol	959	3,45	2,05	7,05	4,1
3-Octen-1-ol	1047	0,72	-	1,36	0,56
1-Undecin-4-ol	1107	3,06	2,38	-	-
1-Nonen-3-ol	1078	0,44	-	0,86	0,9
Benzenoetanol	1106	-	-	0,17	-
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil	1223	-	-	-	0,23
11-Dodecenol	1466	-	-	0,61	-
1,2-Octanediol	1214	-	-	-	0,15
Cicloheptanemetanol	-	-	1,04	-	-
undecan-5-ol	1284	0,4	3,01	0,19	1,51
Tetraciclo[6.3.2.0(2,5).0(1,8)]tridecan-9-ol, 4,4-dimetil	-	0,17	-	-	-
<b>Tepeno</b>					
1,8-Cineol	1026	0,79	-	0,58	-
Linalol	1095	0,27	0,24	0,46	0,65
Borneol	1165	0,23	0,44	0,55	1,01
trans-Cariofileno	14,17	0,9	-	0,24	-

Neril acetona	1434	-	-	0,15	-
(-)-Cariofileno oxide	1582	0,63	-	0,09	-
<b>P.I. <math>\alpha</math>-Bisabolol</b>	1685	5,05	2,02	1,63	0,85
<b>Éster</b>					
Metil 2-vinilbutanoato	-	4,36	-	4,96	1,52
Hexanoato de metila	921	18,41	13,88	13,7	10,7
Hexanoato de etila	997	3,62	5,7	4,07	8,02
1-Pentanol, 5-cloro, acetato	-	-	8,84	0,43	9,94
Ácido acético, pentil éster	911	5,8	-	6,28	-
Propil hexanoato	1081	-	1,58	-	2,14
2-Undecenil acetato	-	0,42	-	-	-
3-Hepten-1-ol, acetato	-	-	-	0,67	-
Ácido acético, heptil éster	1112	2,18	1,07	1,79	0,95
Ácido 4-Octenóico, metil éster	-	3,6	5,37	2,19	4,66
Ácido 2-Octenóico, metil éster	-	-	1,96	-	1,79
Hexanoato de butila	997	-	2,7	-	1,65
3-Octen-1-ol, acetato	-	2,42	0,83	-	-
Ácido butanóico, 1-etenilhexil éster	-	-	-	1,25	0,42
Ácido benzóico, 2-hidroxi, metil éster	-	5,77	3,23	5,28	4,56
Ácido acético, octil éster	1211.65	1,06	0,51	-	-
Ácido acético, nonil éster	1311	-	-	0,9	-
Etil 2-octenoato	1243	-	-	-	0,09
Ácido octanóico, 3-metilbutil éster	1430	-	0,51	-	0,37
Hexanoato de hexila	1382	0,8	8,51	0,57	2,3
3-Metilbutil hexanoato	1233	-	1,23	-	0,65
Hexanoato de pentila	-	-	3,89	-	1,76
Metil cis-4-decenoato	-	-	1,45	-	-
Ácido 4-Decenóico, metil éster	-	-	-	-	0,62
Ácido 3-Metil-4-hidroxiocetanóico, $\gamma$ -lactona	-	-	-	0,12	0,22
Ácido 5-Oxohexanetióico, S-t-butil éster	-	-	0,67	-	-
Ácido acético, 4-oxociclohexil éster	-	-	1,47	-	0,47
Ácido hexanóico, 3-butenil éster	-	-	1,29	-	0,4

Hexanoato de heptila	1482	-	0,77	-	0,16
9-Oxabiciclo[4.2.1]nonan-2-ol, acetato	-	-	-	-	0,22
Isopropil tetradecanoato	1828	0,22	-	-	-
Hexadecanoato de metila	1921	0,35	-	-	-
<b>Cetona</b>					
3-Heptanona	895	1,39	1,43	2,77	-
2-Heptanona	889	1,75	-	6,43	-
2-Octanona	988	6,68	3,9	1,83	3,37
2-Nonanona	1087	0,28	-	0,68	-
2-Decanona	1190	-	0,44	-	0,47
6-Dodecanona	1353	-	0,21	-	-
5-Decanona	1155	-	-	-	0,19
3-Metil-4-hidroxiocetanoico, $\gamma$ -lactona	-	0,19	-	-	-
5-Dodecanona	-	-	2,81	-	1,15
5,9-Undecadien-2-ona, 6,10-dimetil	1453	0,4	-	-	-
<b>Éter</b>					
(u)-2-Butil-3-clorometiloxirane	-	-	-	3,92	3,75
1,3-Benzodioxole, 5-(2-propenil)	1285	4,28	-	1,63	-
1,3-Benzodioxole, 4-metoxi-6-(2-propenil)	1520	0,2	-	-	-
Octano, 1,1'-oxibis	-	0,22	0,3	-	-
Hexametil-piranoindano	-	0,26	-	-	-
<b>Aldeído</b>					
2-Heptenal	947	2,97	-	4,7	1,43
Nonanal	1100	-	0,31	-	0,57
2,6-Nonadienal	1150	0,28	-	0,25	-
2-Nonenal	1135	0,32	0,34	0,54	0,89
Decanal	1201	0,64	-	-	-
<b>Ácido</b>					
Ácido hexanoico	967	2,17	-	4,22	6,82
Ácido 3-Hexenoico	-	-	-	0,25	0,18
Trans 2 Ácido hexenoico	-	-	-	-	0,12
Ácido octanoico	1167	0,93	-	-	-
Ácido 7-Octenoico	-	1,12	0,6	0,79	0,68

Ácido 2-Octenóico	2182	-	-	-	0,3
<b>Fenilpropanóide</b>					
Fenol, 2-metoxi-3-(2-propenil)	-	0,43	-	-	-
3-Alil-6-metoxifenol	1350	-	0,16	-	-
<b>Alcano</b>					
Pentano, 2,2,4,4-tetrametil	-	0,45	0,56	-	-
<b>Total de substâncias</b>	-	100,5	94,55	99,3	88,68

\*I.R. (L) – Tempo de retenção da literatura

\*P.I. – Padrão interno

Dentre as quarta espécies de frutos investigadas em relação a composição volátil houve a predominância de compostos da classe éster. No entanto, na casca dos frutos esta classe de compostos foi predominante em *Duroia macrophylla* apresentando um percentual em área de 39,91% (PDMS) e 35,36% (PDMS/DVB) e no fruto *Borojoa sorbilis*, com 49,01% (PDMS) e 42,21% (PDMS/DVB) de área total, conforme figura 28.

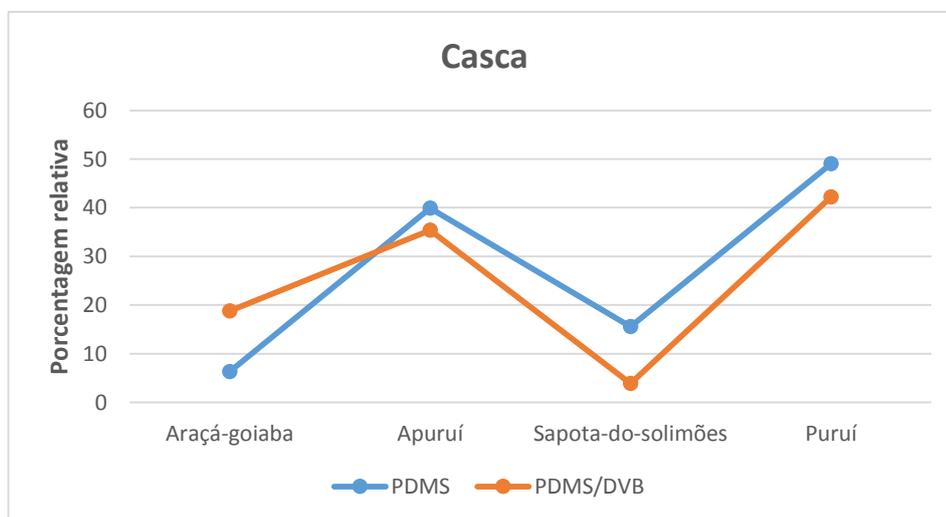


Figura 28: Percentual relativo da classe éster presente na casca dos frutos.

Já em relação a composição de compostos da classe éster na polpa dos frutos, os resultados são mais significativos. *Psidium acutangulum* apresentou 75,56 % (PDMS) e 75,08% (PDMS/DVB) de área total, *Duroia macrophylla* 46,86% (PDMS) e 43,14%

(PDMS/DVB), *Matisia cordata* 35,82% (PDMS) e 38,57% (PDMS/DVB) e *Borojoa sorbilis* 65,46% (PDMS) e 53,61% (PDMS/DVB) desta classe de compostos (Figura 29).

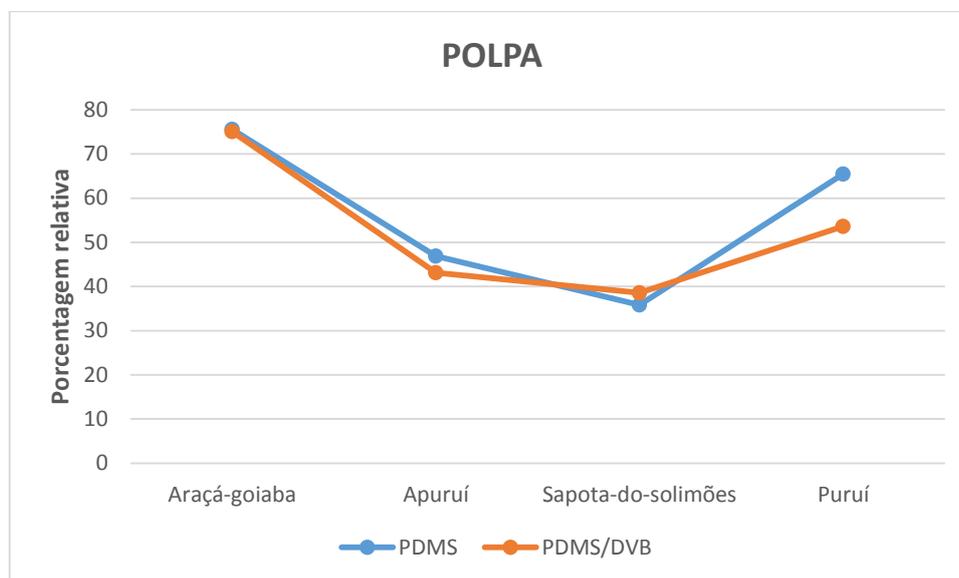


Figura 29: Percentual relativo da classe éster presente na polpa dos frutos

### 5.3 RESULTADOS ANTIOXIDANTE

Em diversos alimentos, a capacidade antioxidante é determinada por uma ou mistura de substâncias, as quais possuem mecanismos de ação diferenciados, e para avaliar a ação dessas substâncias *in vitro* é necessário a utilização de mais de um método antioxidante (ALVES et al., 2010). No presente estudo, foram selecionados dois métodos que avaliam essa capacidade, envolvendo a medição da cor em relação ao desaparecimento dos radicais livres ABTS e DPPH e os teste que avalia o teor de fenóis totais, onde a coloração permite a determinação da concentração dos compostos. Os métodos espectrofotométricos DPPH e ABTS estão envolvidos na capacidade de um agente antioxidante em eliminar o radical livre envolvido, DPPH<sup>\*</sup> e ABTS<sup>\*+</sup> (CRAFT et al., 2012).

Os resultados dos ensaios da atividade antioxidante dos frutos em estudo, utilizando DPPH e ABTS, foram expressos em IC<sub>50</sub>, o valor corresponde a quantidade da amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical livre. Um extrato que apresenta alta capacidade em sequestrar o radicais livres possui IC<sub>50</sub> baixo. Os padrões antioxidantes utilizados foram quercetina (DPPH) e trolox (ABTS).

Vale ressaltar que para cada parte utilizada do fruto (casca e polpa), foi utilizado dois tipos de extratos, sendo eles, o metanólico, obtido através do processo de maceração seletiva e o ácido, obtido através da extração com etanol e HCl. Para os extratos advindos da maceração seletiva, sendo eles, hexânico, diclorometânico e metanólico, foram realizados testes antioxidantes preliminares, com o intuito de averiguar a capacidade dos extratos. Com essa avaliação os resultados foram identificados somente nos extratos metanólicos.

A tabela 9 apresenta a atividade antioxidante dos frutos *Psidium acutangulum*, *Duroia macrophylla*, *Matisia cordata* e *Borojoa sorbilis*, obtidos pelos métodos DPPH e ABTS respectivamente.

Tabela 9: Atividade antioxidante dos frutos pelos métodos DPPH e ABTS.

Frutos			DPPH IC <sub>50</sub> (µg/mL)		ABTS IC <sub>50</sub> (µg/mL)	
Nome popular	Nome científico	Parte utilizada	Extrato Metanólico	Extrato Ácido	Extrato Metanólico	Extrato Ácido
<b>Araçá-goiaba</b>	<i>Psidium acutangulum</i>	Casca	20,99	22,32	17,43	19,31
		Polpa	492,77	294,65	412,50	120,84
<b>Apuruí</b>	<i>Duroia macrophylla</i>	Casca	442,10	216	274,74	121,08
		Polpa	925,62	374,44	968,47	610,51
<b>Sapota-do-solimões</b>	<i>Matisia cordata</i>	Casca	147,61	5,25	137	30,05
		Polpa	-	27,18	-	699,84
<b>Puruí</b>	<i>Borojoa sorbilis</i>	Casca	536,25	264,34	292,95	179,82
		Polpa	-	623,80	-	932,60
<b>Quercetina</b>			<b>5,64</b>			
<b>Trolox</b>					<b>20,78</b>	

Dentre os frutos em estudo, *Psidium acutangulum* apresentou uma elevada atividade antioxidante, tanto pelo método DPPH quanto ABTS, os melhores resultados se encontram na casca, onde, o IC<sub>50</sub> determinado a partir do DPPH foi 20,99µg/mL (extrato metanólico) e 22,32µg/mL (extrato ácido) e para o ABTS 17,43µg/mL (extrato metanólico) e 19,41µg/mL (extrato ácido).

Já na polpa do fruto o resultado encontrado foi diferente, o IC<sub>50</sub> pelo método DPPH foi 492,77µg/mL (extrato metanólico) e 294,65µg/mL (extrato ácido), e para o ABTS 412,5µg/mL (extrato metanólico) e 120,84µg/mL (extrato ácido).

Apesar de uma baixa atividade dos extratos obtidos a partir da polpa do fruto *Psidium acutangulum*, em comparação com a casca, os resultados mais expressivos foram do extrato ácido, obtido a partir da extração ácida. Alguns estudos mostram a importância do HCl no processo extrativo de substâncias antioxidantes, com o intuito de diminuir o pH da solução e prevenir a degradação dos compostos, além disso, é possível encontrar flavonoides como as antocianinas ligadas a açúcares, e a ação do HCl é justamente hidrolisar tais açúcares, deixando

a molécula livre, potencializando a ação antioxidante (NACZK; SHAHIDI, 2004; MARÇO; POPPI, 2008).

Ramos e colaboradores (2015) avaliando a capacidade antioxidante do fruto *Psidium acutangulum*, pelos métodos DPPH e ABTS, determinou que a  $CE_{50}$  dos frutos em sua forma *in natura* foram 24,96 para o DPPH e 90,57 para o ABTS, os resultados foram expressos em equivalência a vitamina C. Além disso, foi verificada a ação antioxidante do fruto liofilizado nas seguintes partes pelo método DPPH, como: fruto inteiro (201,30 $\mu$ g/mL), polpa (152,30 $\mu$ g/mL), polpa com semente (171,28 $\mu$ g/mL) e resíduo da semente (67,14 $\mu$ g/mL), os resultados foram expressos em  $IC_{50}$ . Além da avaliação pelos ensaios espectrofotométricos, o extrato da fruta *in natura* foi avaliado pelo método de atividade antioxidante celular (CAA), que mostrou uma CAA entre 82 e 100%, muito semelhante aos padrões utilizados, ácido ascórbico (93,9%) e quercetina (89,5%).

A ação antioxidante para os extratos do fruto de *Duroia macrophylla* também foi avaliada, conforme tabela 9. Em comparação com os padrões antioxidantes utilizados, é possível observar uma baixa atividade, no entanto, há uma variação nos resultados pelos dois métodos investigados.

No teste DPPH, o extrato metanólico da casca apresentou o  $IC_{50}$  equivalente a 442,10 $\mu$ g/mL, e o extrato ácido 294,65 $\mu$ g/mL. Já na polpa, o  $IC_{50}$  obtido foi 925,62 $\mu$ g/mL (extrato metanólico) e 374,44 $\mu$ g/mL (extrato ácido). Apesar da baixa atividade em sequestrar o radical DPPH, os melhores resultados se encontram na casca do fruto.

Para o método ABTS utilizando os extratos do fruto de *Duroia macrophylla* também foi observada uma baixa atividade antioxidante. Na casca o valor de  $IC_{50}$  correspondeu a 274,75 $\mu$ g/mL (extrato metanólico) e 121,08 $\mu$ g/mL (extrato ácido). Já na polpa, os resultados foram mais elevados, o  $IC_{50}$  estabelecido foi 968,47 $\mu$ g/mL (extrato metanólico) e 610,51 $\mu$ g/mL (extrato ácido).

Martins e colaboradores (2014) investigando a ação antioxidante das folhas e ramos da espécie *Duroia macrophylla*, constatou que o melhor resultado encontrado utilizando o ensaio DPPH, foi no extrato metanólico dos ramos, apresentando uma inibição do radical em 78,4% na concentração de 10 µg/mL. Além disso, esse mesmo extrato foi eficaz para o ensaio antioxidante Fe<sup>3+</sup>-fenantrolina.

Outro fruto em estudo que obteve resultados significativos foi *Matisia cordata*, através da tabela 9, é possível observar que os melhores resultados se encontram nos extratos da casca do fruto, o IC<sub>50</sub> obtido através do DPPH foi 147,61µg/mL (extrato metanólico) e 5,25µg/mL (extrato ácido), e para o ABTS, 137µg/mL (extrato metanólico) e 30,05µg/mL (extrato ácido). Novamente é evidente uma maior atividade antioxidante nos extratos ácidos em ambos os métodos.

Já na polpa do fruto de *Matisia cordata* os resultados para o extrato metanólico não foram estabelecidos, ou seja, não houve atividade antioxidante nas concentrações utilizadas, enquanto isso, o IC<sub>50</sub> do extrato ácido foi determinado em 27,18µg/mL (DPPH) e 699,84µg/mL (ABTS). Berto e colaboradores (2015) investigando o fruto *Quararibea cordata* (sapota-do-solimões) quanto a presença de substâncias fenólicas, identificou como principal composto o fenólico epicatequina, além disso, avaliando a capacidade antioxidante, verificou que o extrato da semente do fruto apresenta alta atividade contra espécies reativas de nitrogênio (RNS) e o extrato da casca possui eficiência contra espécies reativas de oxigênio (ROS).

Conforme a tabela 9, é possível observar os resultados encontrados para o fruto *Borojoa sorbilis*. Em comparação aos valores de IC<sub>50</sub> dos padrões antioxidantes, os extratos dos frutos apresentaram baixa atividade sequestrante dos radicais livres.

Os extratos da casca do fruto *Borojoa sorbilis*, apresentaram os seguintes valores para o teste DPPH, 536,25µg/mL (extrato metanólico) e 264,34µg/mL (extrato ácido). No teste

ABTS, os valores de IC<sub>50</sub> encontrados foram, 292,95µg/mL (extrato metanólico) e 179,82µg/mL (extrato ácido).

Para a polpa do fruto *Borojoa sorbilis*, não foi possível definir os valores de IC<sub>50</sub> do extrato metanólico nas concentrações utilizadas, em ambos os testes, DPPH e ABTS. No entanto, o extrato ácido, apresentou os seguintes valores, 623,80µg/mL (DPPH) e 932,60µg/mL (ABTS).

Apesar dos resultados para o fruto *Borojoa sorbilis* terem sido relativamente baixos, a ação antioxidante em frutos de espécies do mesmo gênero é evidenciada, López et al. (2015b) relataram que o extrato (etanol:acetona) obtido a partir do fruto da espécie *Borojoa patinoi*, apresentou considerável atividade antioxidante utilizando os testes DPPH e FRAP.

Os resultados obtidos na determinação dos fenóis totais pelo método Folin-Ciocalteu, expressos como equivalentes de ácido gálico, são apresentados na tabela 10 para os extratos metanólicos e 11 para os extratos ácidos.

De acordo com a figura 30, a equação da curva padrão do ácido gálico é:  $y = 0,0102x + 0,243$ , onde x representa a concentração de fenólicos correspondente a ácido gálico e y representa a absorbância. Após a obtenção da absorbância referente a cada concentração das amostras e usando a equação da curva padrão do ácido gálico, foi possível obter a concentração dos fenólicos totais.

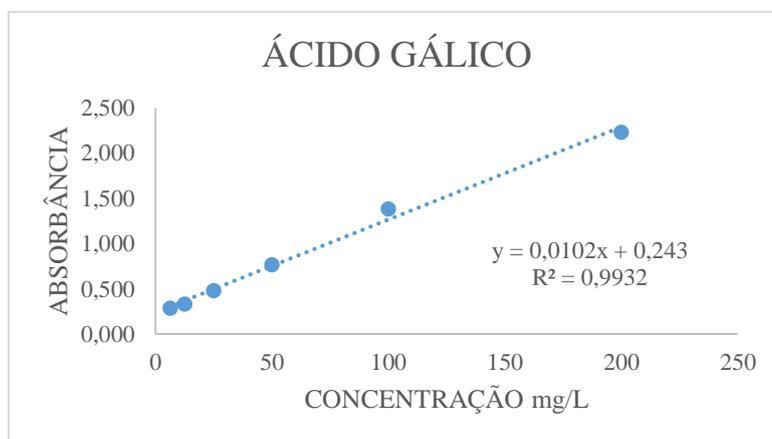


Figura 30: Curva padrão do ácido gálico.

Os extratos que possuem maiores conteúdos de fenóis totais em ordem decrescente conforme a tabela 10 e 11, foram: extrato metanólico da casca do fruto de *Psidium acutangulum* (211,01 mg GAE 100g<sup>-1</sup>), extrato ácido da casca de *Matisia cordata* (144,77 mg GAE 100g<sup>-1</sup>), extrato metanólico da polpa de *Psidium acutangulum* (128,20 mg GAE 100g<sup>-1</sup>) e extrato ácido da casca de *Psidium acutangulum* (127,06 mg GAE 100g<sup>-1</sup>).

Observou-se uma correlação positiva, entre os extratos que apresentaram maior teor de fenóis totais e o IC<sub>50</sub> dos extratos que apresentaram maior atividade antioxidante nos testes DPPH e ABTS, no entanto, o extrato ácido da polpa de *Matisia cordata* pelo teste DPPH evidenciou uma boa atividade antioxidante, esse comportamento não foi observado através do ensaio de fenóis totais, sugerindo que existe outros constituintes que contribuem para o efeito antioxidante na polpa de *Matisia cordata*, como a classe dos carotenoides, já descritos como constituinte químico do fruto.

Os extratos que apresentaram menores concentrações de fenóis totais foram das espécies *Duroia macrophylla* e *Borojoa sorbilis*, principalmente aqueles obtidos a partir da polpa dos frutos.

Tabela 10: Conteúdo de fenóis totais (extrato metanólico).

Concentração das amostras (µg/mL)	Concentração de Fenólicos Totais (mg GAE 100g <sup>-1</sup> de fruto)							
	<i>Psidium acutangulum</i>		<i>Duroia macrophylla</i>		<i>Matisia cordata</i>		<i>Borojoa sorbilis</i>	
	casca	polpa	casca	polpa	casca	polpa	casca	polpa
1000	211,01	18,46	39,71	13,37	55,85	10,03	42,48	18,20
500	128,20	13,40	16,99	-1,14	25,85	0,26	22,48	5,52
250	62,71	6,34	6,31	3,86	11,14	-3,20	11,63	4,74
125	35,56	0,07	-1,44	-2,65	-0,88	-6,70	9,54	2,42
62,5	17,61	-2,16	1,57	-0,85	1,37	0,29	5,33	3,20
31,25	10,13	-2,61	-0,13	0,00	-0,13	0,49	9,61	7,06
15,625	2,58	-2,94	0,62	0,85	1,54	-1,63	2,19	0,95

\*GAE – ácido gálico

Tabela 11: Conteúdo de fenóis totais (extrato ácido).

Concentração das amostras (µg/mL)	Concentração de fenólicos (mg ácido gálico/100 g de fruto)							
	<i>Psidium acutangulum</i>		<i>Duroia macrophylla</i>		<i>Matisia cordata</i>		<i>Borojoa sorbilis</i>	
	casca	polpa	casca	polpa	casca	polpa	casca	polpa
1000	127,06	61,86	49,67	26,31	144,77	10,95	56,01	28,89
500	58,53	24,22	30,36	15,07	69,31	9,22	25,42	14,67
250	30,69	9,41	18,24	7,52	41,24	7,61	13,63	9,08
125	21,27	4,41	16,73	7,42	29,74	1,41	10,72	4,08
62,5	11,37	0,88	3,14	-1,41	18,01	7,61	7,16	4,58
31,25	9,31	-0,88	2,78	-2,12	11,37	4,61	3,82	0,65
15,625	2,25	-0,98	4,74	-1,21	6,93	1,57	5,03	2,91

\*GAE – ácido gálico

Em geral, os extratos obtidos a partir das cascas, demonstraram teores significativamente mais elevados do que os da polpa, Barros e colaboradores (2012) avaliando o potencial antioxidante dos frutos de cinco espécies vegetais, sendo eles, duas espécies de laranja doce, duas espécies de limão e um cultivar de tangerina, evidenciaram que os melhores resultados, obtidos a partir dos testes DPPH, ABTS e fenóis totais, foram nas cascas. Outros trabalhos científicos demonstram essa maior capacidade antioxidante como nas cascas de maçã (LATA, 2007), pera (MANZOR et al., 2013) e algaborro (CALDERÓN et al., 2011).

Segundo Simões e colaboradores (2003), substâncias fenólicas em espécies vegetais podem atuar como agentes de proteção contra luz ultravioleta, patógenos e predadores. Esse fato justifica a maior concentração desses compostos na casca, tendo em vista ser a parte externa do fruto, possuindo a predisposição a sintetizar compostos fenólicos.

## 5.4 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA POR HPLC-DAD

### 5.4.1 Perfil do extrato metanólico da casca do fruto de *Psidium acutangulum* – ArG11CASMeOH

Devido a uma boa atividade antioxidante apresentada pelo extrato metanólico da casca do fruto de *Psidium acutangulum*, o mesmo foi avaliado pela técnica de cromatografia líquida de alta performance. O perfil cromatográfico obtido com monitoramento nos comprimentos de onda de 240-900 nm apresentou onze substâncias, conforme a figura 28.

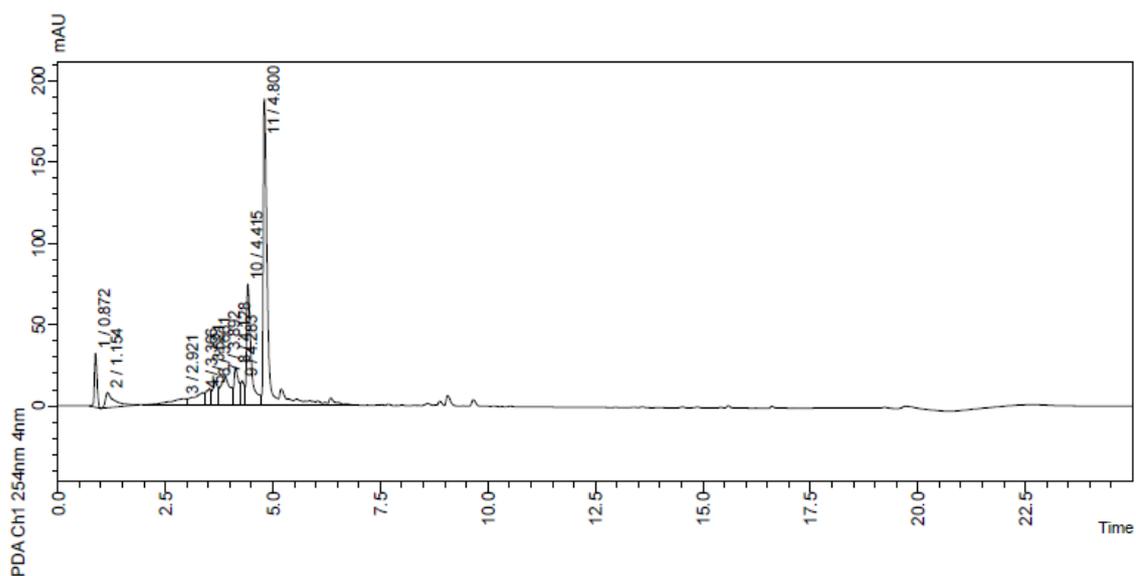


Figura 31: Perfil cromatográfico do extrato Arg11CASMeOH.

A figura 28 evidencia que o pico de número 11, com o tempo de detecção em 4,8 minutos, foi o principal composto identificado. O espectro de ultravioleta (Figura 29), apresenta absorções com características de substâncias fenólicas, que mostra máximos de absorção em 220 e 270. Esse resultado, pode explicar a atividade antioxidante observada, contudo, estudos adicionais devem ser realizados para uma completa caracterização dessa amostra.

Peak# : 11  
Retention Time : 4.800

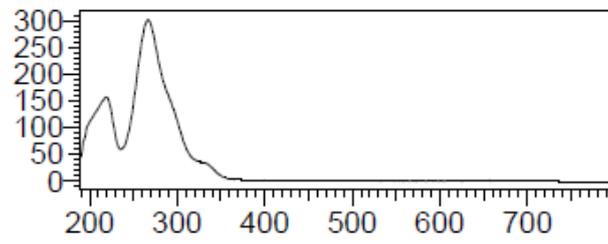


Figura 32: Espectro de ultravioleta referente ao pico 11 do extrato ArG11CASMeOH.

## 6 CONCLUSÃO

O estudo dos compostos voláteis dos frutos nativos da Floresta Amazônica, utilizando a técnica de microextração em fase sólida (SPME), possibilitou a identificação de um grande número de compostos e perfis voláteis altamente complexos. A partir dessa análise foi possível identificar as principais classes químicas envolvidas na constituição volátil, e além disso, verificou-se classes majoritárias presente em todos os frutos, como ésteres, relatados em diversos trabalhos científicos sua importância no aroma de frutos.

Para a captura destas substâncias voláteis, utilizou-se duas fibras com revestimentos poliméricos diferenciados, PDMS e PDMS/DVB. A diferença e a particularidade química destas fibras ficou evidente a partir dos resultados obtidos para algumas espécies vegetais, havendo diferença quantitativas nos perfis voláteis.

Pode-se dizer que o perfil volátil do fruto *Psidium acutangulum*, o mais complexo observado, é composto em sua maioria na casca de terpenos, enquanto na polpa é evidente a presença abundante de ésteres, as principais substâncias foram,  $\beta$ -elemeno,  $\alpha$ -copaeno, butil octanoato e butil n-hexanoato.

Os voláteis identificados nos frutos de *Duroia macrophylla*, *Matisia cordata* e *Borojoa sorbilis*, quando comparados entre si, mostraram perfis distintos.

Em relação ao potencial antioxidante dos frutos, determinados pelos métodos DPPH, ABTS e fenóis totais, para os extratos da casca e polpa, obtidos por dois processos de extração, os melhores resultados em valores de IC<sub>50</sub> e equivalente ao ácido áscorbico foram para os frutos de *Psidium acutangulum* e *Matisia cordata*. Os valores mais significativo em comparação com os padrões utilizados, foram encontrados na casca dos frutos.

A partir do conhecimento destes compostos voláteis responsáveis pelo aroma dos frutos, sejam eles em maior ou menor quantidade de importância para o aroma, e também do potencial

antioxidante, é possível utilizá-los aplicando em produtos na área alimentícia, farmacêutica e de aromas. Desta forma, este estudo deverá contribuir para uma maior utilização destes frutos para fins industriais, além de possibilitar a maior valorização desses frutos.

## 7 REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Allured Publ. Corp.: Carol Stream, 2009.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Biologia molecular da célula**. 5. ed. – Porto Alegre: Artmed, 2010.

AL-DUAIS, M.; MÜLLER, L.; BÖHM, V.; JETSCHKE, G. Antioxidant capacity and total phenolics of *Cyphostemma digitatum* before and after processing: Use of different assays. **Eur Food Res Technol**. v. 228, p. 813-821, 2009.

ALI, S. S.; KASOIU, N.; LUTHRA, A.; SINGH, A.; SHARANABASAVA, H.; SAHU, A.; BORA, U. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. **Food Research International**. Toronto, v. 41, p. 1-15, 2008.

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. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2155-2159, 2011.

ALVES, C. Q. & DAVID, J. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Quim. Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

ALVES, G. L. **Identificação dos compostos voláteis importantes para o aroma de jenipapo (*Genipa americana* L.) e murici (*Byrsonima crassifolia* L. RICH) por CG-EM e CG-OSME.** 2004. 136 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, SP.

ARTHUR, C. L.; Pawliszyn, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **Anal Chem**, v.62, n.19, p. 2145-2148, 1990.

BALASUBRAMANIAN, S. & PANIGRAHI, S. Solid-Phase Microextraction (SPME) Techniques for quality characterization of food products: A review. **Food Bioprocess Technol**, v. 4, p. 1-26, 2011.

BARBOSA, M. R. et al. Rubiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB2010>. Acessado em: 31 Mai. 2015.

BARROS, H. R. M.; FERREIRA, T. A. P. C.; GENOVESE, M. I. Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. **Food Chemistry**. v. 134, n. 4, p. 1892-1898, 2012.

BERTO, A.; RIBEIRO, A. B.; SOUZA, N. E.; FERNANDES, E.; CHISTÉ, R. C. Bioactive compounds and scavenging capacity of pulp, peel and seed extracts of the Amazonian fruit *Quararibea cordata* against ROS and RNS. **Food Research International**. v. 77, p. 236-243, 2015.

SURBURG, H.; PANTEN, J. **Common fragrance and flavor materials**. (5TH ed.) WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006.

BERGER, R. G. **Flavours and fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability**. Springer Science & Business media, 2007.

BRAGA, L. F.; SOUSA, M. P.; SÁ, M. E. Efeito da temperatura na germinação de sementes de puruí (*Borojoa sorbilis* (Duque) Cuatre. – Rubiaceae): Aspectos morfológicos das sementes e plântulas. **Revista Brasileira de sementes**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 47-52, 1999.

BRAGA, L. F.; SOUSA, M. P.; CAMPOS, S. C. B.; ISEPON, J. S.; MARINHO, H. A.; CASTRO, J. S. Caracterização Físico-química da sapota-do-solimões (*Querabia cordata* (Humb. & Bonpl.) Vischer, Bombacaceae). **Revista do Programa de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v. 2, n. 1, p. 32-39, 2003.

BOUSSAHEL, R.; BOULAND, S.; MOUSSAOUI, K. M.; BAUDU, M.; MONTIEL, A. Determination of chlorinated pesticides in water by SPME/GC. **Water Research**, v. 36, p. 1909-1911, 2002.

BOVINI, M. G.; ESTEVES, G.; DUARTE, M. C.; TAKEUCHI, C.; KUNTZ, J. *Malvaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/floradobrasil/FB156>>. Acessado em 06 Jan. 2016.

CALDERÓN, M. M.; GRAÜ, M. A. R.; BELLOSO, O. M. Aroma profile and volatiles odor activity along gold cultivar pineapple flesh. **Journal of Food Science**. v. 75, p. 506-512, 2010.

CALDERÓN, J. C.; JAIMES, L. C.; HERNÁNDEZ, E. G.; VILLANOVA, B. G. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruit from Colombia. **Food Research International**. v. 44, n. 7, p. 2047-2053, 2011.

CHEN, W. LU, Y.; WU, J.; GAO, M.; WANG, A.; XU, B. Beta-elemene inhibits melanoma growth and metastasis via suppressing vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis. **Cancer Chemother Pharmacol**, v. 67, p. 799-808, 2011.

CHEN, L.; HU J. Y.; WANG, S. Q. The role of antioxidants in photoprotection: A critical review. **J AM ACAD DERMATOL**, v. 67, n. 5, p. 1013-24, 2012.

CRAFT, B. D.; KERRIHARD, A. L.; AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B. Phenol-Based antioxidants and the *in vitro* methods used for their assessment. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 11, p. 148-173, 2012.

DAMIANI, C.; BOAS, E. V. B. V.; FERRI, P. H.; PINTO, D. M.; RODRIGUES, L. J. Volatile compounds profile of fresh-cut peki fruit stored under different temperatures. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. v. 29, n. 2, p. 435-439, 2009.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Rer. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012.

ESTEVES, G. L. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Bombacaceae. **Rodriguésia**, v. 56, n. 86, p. 115-124, 2005.

FACUNDO, H. V. V.; GARRUTI, D. S.; ALVES, V. C. C.; CORDENUNSI, B. R.; LAJOLO, F. M. Procedimento para análise de compostos voláteis de banana pela técnica de micro extração em fase sólida. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2011.

FACUNDO, H. V. V.; GARRUTI, D. S.; CORDENUNSI, B. R.; LAJOLO, F. M. Isolation of volatiles compounds in banana by HS-SPME: Optimization for the Whole fruit and pulp. **International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics**, v. 3, n. 2, p. 110-115, 2013.

FÄLDT, J.; ARIMURA, J.; GERSHENZON, J.; TAKABAYASHI, J.; BOHLMANN, J. Functional identification of AtTPS03 as (E)- $\beta$ -ocimene: A monoterpene synthase catalyzing jasmonate- and wound- induced volatile formation in *Arabidopsis thaliana*. **Planta**, v. 216, p. 745-751, 2003.

FETTER, M. R.; VIZZOTTO, M.; CORBELINI, D. D.; GONZALEZ, T. N. Propriedades funcionais de araçá-amarelo, araçá-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) e araçá-pera (*P. acutangulum* D. C.) cultivados em Pelotas/RS. **Braz. J. Food Technol.**, III SSA, novembro de 2010.

FIRESTEIN, S. How the olfactory system makes sense of scents. **Nature**, v. 413, p. 211-218, 2001.

FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. Aroma of minor tropical fruits. **Flavour Fragr. J.**, v. 20, p. 358-371, 2005.

FRAZON, R. C.; CAMPOS, L. Z. O.; PROENÇA, C. E. B.; SILVA, J. C. S. **Araçás do gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2009.

FREITAS, D. G. C.; MATTIETTO, R. A. Ideal sweetness of mixed juices from Amazon fruits. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 33, p. 148-154, 2013.

GODINHO, R. B. **Avaliação de fragrância em detergente em pó por cromatografia gasosa e métodos quimiométricos**. 2009. 84 f. Dissertação – Mestrado Em Química Analítica, Instituto de Química. Campinas, SP.

GONZÁLEZ, D. L. G.; APARICIO, R.; RUIZ, R. A. Volatile and Amino acid profiling of dry cured hams from diferente swine breeds and processing methods. **Molecules**. v. 18, p. 3927-3947, 2013.

GUAN, C. LIU, W.; YUE, Y.; JIN, H.; WANG, X.; WANG, X. J. Inhibitory effect of  $\beta$ -elemene on human breast cancer cells. **Int J Clin Exp Pathol**, v. 7, n. 7, p. 3948-3956, 2014.

GUIMARÃES, M. **Os mistérios do cheiro**. Pesquisa FAPESP – 155. 2009.

HADI, M. A. M.; ZHANG, F. J.; WU, F. F.; ZHOU, C. H.; TAO, J. Advances in fruit aroma volatile research. **Molecules**, v. 18, p. 8200-8229, 2013.

HALLIWELL, B. Antioxidants in Human Health and Disease. **Annual Review of Nutrition**, v.16, p. 33-50, 1996.

HEAVEN, M. W.; NASH, D. Recent analyses using solid phase microextraction in industries related to food made into or from liquids. **Food Control**, v. 27, p. 214-227, 2012.

HUI, Y. H. **Handbook of fruit and vegetable flavours**. John Wiley & Sons, Inc, 2010.

HOUEL, E.; FLEURY, M.; ODONNE, G.; NARDELLA, F. BOURDY, G.; VONTHRON-SÉNÉCHEAU, C.; VILLA, P.; OBRECHT, A.; EPARVIER, V.; DEHARO, E.; STIEN, D. Antiplasmodial and anti-inflammatory effects of an antimalarial remedy from the Wayana Amerindians, French Guiana: Takamalaime (*Psidium acutangulum* Mart. Ex DC., Myrtaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, 2014.

International Organization for Standardization. Standard 5942. Terms relating to sensory analysis. **ISO**, 2008.

JELÉN, H. H.; MAJCHER, M.; DZIADAS, M. Microextraction techniques in the analysis of food flavor compounds: A review. **Analytica Chimica Acta**, v.738, p. 12-26, 2012.

JOLY, C. A.; HADDAD, C. F. B.; VERDADE, L. M.; OLIVEIRA, M. C.; BOLZANI, V. S.; BERLINCK, R. G. S. Diagnóstico da pesquisa em biodiversidade no Brasil. **Revista USP**, n.89, 2011.

JORDÁN, M. J.; MARGARÍA, C. A.; SHAW, P. E.; GOODNER, K. L. Volatile components and aroma active compounds in aqueous essence and fresh pink Guava fruit puree (*Psidium guajava* L.) by GC-MS and multidimensional GC/GC-O. **J. Agric. Food Chem.** v. 52, p. 1421-1426, 2003.

KASHIMA, Y; MIYAZAWA, M. Chemical composition and aroma evaluation of essential of essential oil from *Evolvulus alsinoides* L. **Chemistry & Biodiversity.** v. 11, p. 396-407, 2014.

KATAOKA, H.; SAITO, K. Recent advances in SPME techniques in biomedical analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 54, n.5, p. 926-950, 2011.

KRAUJALYTE, V.; LEITNER, E.; VENSKUTOINS, P. R. Chemical and sensory characterization of aroma of *Viburnum opulus* fruits by solid phase microextraction-gas chromatography-olfactometry. **Food Chemistry**, v. 132, n. 13, p. 7383-7392, 2012.

LATA, B. Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content year and cultivar variation. **J. Agric. Food Chem.** v. 55, n. 3, p.663-671, 2007.

LAVIERI, N. A.; SEBRANEK, J. G.; STECHER, B. F. B.; CORDRAY, J. C.; DICKSON, J. S.; HORSCH, A. M.; JUNG, S.; LARSON, E. M.; MANU, D. K.; MENDONCA, A. F. Invesstigating the control of *Listeria monocytogenes* on alternatively-cured frankfurters using natural antimicrobial ingredients or post-lethality interventions. **Meat Science.** v. 97, p. 568-574, 2014.

LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, p. 207-220, 2000.

LEELAPHIWAT, P.; CHONHENCHOB, V.; SINGH, S. P.; KRUEENATE, J.; WICHAI, U.; ONG, P. K. C. Transport coefficients of eucalyptol through various polymeric films. **Packag. Technol. and Sci.** v. 25, p. 161-172, 2012.

LEONEL C.; GELALETI, G. B.; JARDIM, B. V.; MOSCHETTA, M. G.; REGIANE, V. R.; OLIVEIRA, J. G.; ZUCCARI D. APC. Expression of glutathione, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase pi in canine mammary tumors. **BMC Veterinary Research**, v. 10, n. 49, 2014.

LETERME, P.; BULDGEN, A.; ESTRADA, F.; LONDONO, A. M. Mineral content of tropical fruit and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. **Food Chemistry**. v. 95, p. 644-652, 2006.

LIU, H.; QIU, N.; DING, H.; YAO, R. Polyphenols contents and antioxidant of 68 chinese herbals suitable for medical or uses. **Food Research International**. v. 41, p. 363-370, 2008.

LÓPEZ, C. C.; MAZZARRINO, G.; RODRÍGUES, A.; FERNÁNDES-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; VIUDA-MARTOS, M. Assessment of antioxidant and antibacterial potential of borojo fruit (*Borojoa patinoi* Cuatrecasas) from the rainforests of South America. **Industrial Crops and Products**. v. 63, p. 79-86, 2015.

MAAR, J. H.; ROSENBROCK, L. C. C. A química fina que poderia ter sido: a extração de óleo de sassafrás e de safrol no alto e médio vale do Itajaí. **Scientiae Studia**. v. 10, n. 4, p. 799-820, 2012.

MACORIS, M. S.; JANZANTTI, N. S.; GARRUTI, D. S.; MONTEIRO, M. Volatile compounds from organic and conventional passion fruit (*Passiflora edulis* F. *Flavicarpa*) pulp. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. v. 31, n. 2, p. 430-435, 2011.

MANZOOR, M.; ANWAR, F.; BHATTI, I. A.; JAMIL, A. A. Variation of phenolics and antioxidant activity between peel and pulp parts of pear (*Pyrus communis* L.) fruit. **Pak. J. Bot.** v. 45, n. 5, p. 1521-1525, 2013.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Quim. Nova**. v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008.

MARTINS, D.; FACHIN-ESPINAR, M. T.; OLIVEIRA, T. A.; LIMA, K. C. S.; CAVALCANTI, R. M.; TELES, B. R.; NUNEZ C. V. Anti-tuberculosis activity of oleanolic and ursolic acid isolated from the dichloromethane extract of leaves from *Duroia macrophylla*. **BMC Proceedings**, v. 8, n. 4, 2014.

MARTINS, D.; FACHIN-ESPINAR, M. T.; OLIVEIRA, T. A.; LIMA, K. C. S.; CAVALCANTI, R. M.; TELES, B. R.; NUNEZ C. V. Tamizaje fitoquímico y evaluación de las actividades biológicas de *Duroia macrophylla* (Rubiaceae). **Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research**, v. 2, n. 6, p. 158-171, 2014.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, 2008.

MILES, D. H.; MEDEIROS, J. M. R.; CHITTAWONG, V.; HEDIN, P. A.; SWITHEBANK, C.; LIDERT, Z. 3'-Formyl-2',4',6'-trihydroxydihydrochalcone from *Psidium acutangulum*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 4, p. 1131-1132, 1991.

MILHOME, M. A.; SOUSA, P. L. R.; KEUKELEIRE, R. F. N. Multiresidue methods for determination of pesticides using SPME and SPE followed by GC-NPD system: a comparative study. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.22 n.11, 2011.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin J. Sci. Technol.**, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.

MORTON, J. **Fruits of Warm Climates**. Julia F. Morton, Miami, FL, 1987.

MÜLLER, L.; GNOYKE, S.; POPKEN, A. M.; BÖHM, V. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. **LTW – Food. Sci Technol.** v. 43, p. 992-999, 2010.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**. v. 1054, p. 95-111, 2004.

NAZZI, F.; BORTOLOMEAZZI, R. Octanoic acid confers to royal jelly varroa-repellent properties. **Naturwissenschaften**. v. 96, p. 309-314, 2009.

NEVES, L. C.; CAMPOS, A. J.; BENEDETTE, J. M. T.; CHAGAS, E. A. Characterization of the antioxidant capacity of natives fruits from the Brazilian Amazon Region. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 34, n. 4, p. 1165-1173, 2002.

OLIVEIRA, A. P.; SILVA, L. R.; PINHO, P. G.; IZQUIERDO, A. G.; VALENTÃO, P.; SILVA, B. M.; PERERIRA, J. A.; ANDRADE, P. B. Volatile profiling of *Ficus carica* varieties by HS-SPME and GC-IT-MS. **Food Chemistry**. v.123, n.2, p. 548-557, 2010.

ORTIZ, A.; GRAELL, J.; LÓPEZ, M. L.; ECHEVERRÍA, G.; LARA, I. Volatile ester-synthesising capacity in 'Tardibelle' peach fruit in response to controlled atmosphere and 1-MCP treatment. **Food Chemistry**. v.123, n.1, p. 698-704, 2010.

ORTIZ, A.; GRAELL, J., LARA, I. Volatile ester-synthesising capacity throughout on-tree maturation of 'Golden Reinders' apples. **Scientia Horticulturae**. v. 131, p. 6-14, 2011.

PAK, F. E.; GROPPER, S.; DAI, W. D. Characterization of a multifunctional methyltransferase from the orchid *Vanilla planifolia*. **Plant Cell**, v. 22, p. 959-966, 2004.

PINO, J. A. Odour-active compounds in papaya fruit cv. Red Maradol. **Food Chemistry**. v. 146, p. 120-126, 2014.

POULOPOULOU, I.; ZOIDIS, E.; MASSOURAS, T.; HADJIGEORGIOU, I. Terpenes transfer to milk and cheese after oral administration to sheep fed indoors. **J. Anim Physiol Anim Nutr (Berl)**, v. 96, n. 2, p. 172-81, 2012.

RAAMSDONK, J. M. V.; HEKIMI, S. Superoxide dismutase is dispensable for normal animal lifespan. **PNAS**, v. 109 n. 15, p. 5785-5790, 2012.

RAMOS, A. S.; SOUZA, R. O. S.; BOLETI, A. P. A.; BRUGINSKI, E. R. D.; LIMA, E. S.; CAMPOS, F. R.; MACHADO, M. B. Chemical characterization and antioxidant capacity of the araçá-pera (*Psidium acutangulum*): Na exotic Amazon fruit. **Food Research International**. v. 75, p. 315-327, 2015.

RABELO, AFONSO. **Frutos nativos da Amazônia: comercializados nas feiras de Manaus-AM**. Manaus: INPA, 2012.

RAHMAN KHALID. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. **Clin Interv Aging**, v. 2, n. 2, p. 219-236, 2007.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 26, nos. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

RESQUE, O. R. **Vocabulário de frutas comestíveis na Amazônia**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeld, p. 99, 2007.

ROBBERS, J. E. et al. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. Tradução de - Editora Premier. São Paulo – Brasil, Impressão – Impreandes Presencia S.A. – Colômbia, 1997.

SCHWAB, W.; RIKANATI, R. D.; LEWINSOHN, L. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. **The Plant Journal**, v. 54, p. 712-732, 2008.

SHELLY, T. E. Exposure to  $\alpha$ -copaene-containing fruits enhances the mating success of males from a mass-reared, genetic sexing strain of the Mediterranean fruit fly (*Diptera tephritidae*). **Proc. Hawaiian Entomol. Soc.**, v. 37, p. 39-48, 2005.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB10853>>. Acessado em: 10 Mai. 2015

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. rev. Ampl. – Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGs/Editora da UFSC, 2003.

SUN, S. Y.; JIANG, W. G.; ZHAO, Y. P. Characterization of the aroma active compounds in five sweet cherry cultivars grown in Yantai (China). **Flavour Fragr. J.**, v. 25, p. 206-213, 2010.

SURBURG, H.; PANTEN, J. **Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses**. 5th Ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2005.

SZULTKA, M.; SZELIGA, J.; JACKOWSKI, M. Development of novel molecularly imprinted solid-phase microextraction fibers and their application for the determination of antibiotic drugs in biological samples by SPME-LC/MS. **Anal Bioanal Chem**, v. 403, p. 785-796, 2012.

TAKAKURA, Y.; SAKAMOTO, T.; HIRAI, S.; MASUZAWA, T.; WAKABAVASHI, H.; NISHIMURA, T. Characterization of the key aroma compounds in beef extract using aroma extract dilution analysis. **Meat Science**. v.9, n. 1, p. 27-31, 2014.

TAKAKURA, Y.; OSANI, H.; MASUZAWA, T.; WAKABAYASHI, H.; NISHIMURA, T. Characterization of the key aroma compounds in pork soup stock by using an aroma extract dilution analysis. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**. v. 78. n. 1, p. 124-129, 2014.

TANAKA, T.; SHNIMIZU, M.; MORIWAKI, H. Cancer chemoprevention by carotenoids. **Molecules**, v. 17, p. 3202-3242, 2012.

TAYLOR, C. M.; CAMPOS, M. T. V. A.; ZAPPI, D. Floresta da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Rubiaceae. **Rodriguésia**, v. 58 n. 3, p. 549-616, 2007.

The Good Scents Company. Disponível em: <[www.thegoodscentcompany.com/data/rw1004771.html](http://www.thegoodscentcompany.com/data/rw1004771.html)>. Acesso em: 09 de janeiro, 2016.

TRABER, M.; ATKINSON. Vitamin E, antioxidant and nothing more. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 43, p. 4-15, 2007.

TUNICK, M. H. Analyzing volatile compounds in dairy products. **J Sci Food Agric**, v. 94, p. 1701-1705, 2014.

TURKEZ, H.; CELIK, K.; TOGAR, B. Effects of copaene a tricyclic sesquiterpene, on human lymphocytes cells in vitro. **Cytotechnology**, v. 66, n. 4, 2013.

TURKEZ, H.; TOGAR, B.; TATAR, A.; GEYIKOGLU, F.; HACIMUFTUOGLU, A. Cytotoxic and cytogenetic effects of  $\alpha$ -copaene on rat neuron and N2a neuroblastoma cell lines. **Biologia**, v. 69, n. 7, p. 936-942, 2014.

VALENTE A. L. P.; AUGUSTO F. Microextração por fase sólida. **Quím. Nova**, v. 23, n. 4, p. 523-530, 2000.

VENOJO, M.; JUNIOR, M. R. M.; PASTORE, G. M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Quím. Nova**, v. 30, n. 3, p. 616-622, 2007.

VIDAL, J. L. M.; PLAZA, B. P.; ROMERO, G. R.; GARRIDO, F. A. Determination of pesticide transformation products: A review of extraction and detection methods. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 40, p. 6767-6788, 2009.

ZAPPI, D. *Duroia* in Lista de Espécies da Flora Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em. <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB38761>>. Acesso em 04 Abr. 2015.

ZELLNER, B. A.; DUGO, P.; DUGO, G.; MONDELLO, L. Gas chromatography-olfactometry in food flavor analysis. **Chromatogr. A**, v. 1186, p. 123-143, 2008.

ZHENG, L. Y.; SUN, G. M.; LIU, Y. G.; LV, L. L.; YANG, W. X.; ZHAO, W. F.; WEI, C. B..  
Aroma volatile compounds from two fresh pineapple varieties. **Int. J. Mol. Sci**, v. 13, p. 7383-7392, 2012.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis: A thin Layer chromatography atlas**.  
Springer Science & Business Media, 1996.

WANG, S.; OAKES, K. D.; BRAGG, L. M.; PAWLISZYN, J.; DIXON, G.; SERVOS, M. R..  
Validation and use of in vivo solid phase micro-extraction SPME for the detection of emerging  
contaminants in fish. **Chemosphere**, v. 85, n.9, p. 1472-1480, 2011.

WANG, X. G.; HUANG, L. F.; ZHAO, J.; DING, H.; CUNNINGHAM, C.; COAD, J. E.  
FLYNN, D. C.; REED, E.; LI, Q. Q. Antitumor effect of  $\beta$ -elemene in non-small-cell lung  
cancer cells is mediated via induction of cell cycle arrest and apoptotic cell death. **CMLS, Cell.  
Mol. Life Sci**. v. 62, p. 881-893, 2005.

WELDEGERGIS, B. T.; VILLIERS, A.; MCNEISH, C.; SEETHAPATHY, S.; MOSTAFA,  
A.; GÓRECKI, T.; CROUCH, A. M. Characterisation of volatile components of Pinotage wines  
using comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass  
spectrometry (GC x GC-TOFMS). **Food Chemistry**. v. 129, n. 1, p. 188-199, 2011.

WILLE, G. M. F. C.; MACEDO, R. E. F.; MASSON, S. C. S.; NETO, R. C.; LIMA, J. M.  
Desenvolvimento da tecnologia para a fabricação de doce em massa com araçá-pêra (*Psidium  
acutangulum* D.C.) para o pequeno produtor. **Ciênc. agrotec.**, v. 28, n. 6, p. 1360-1366, 2004.

WU, C.; JIA, Y.; LEE, J. H.; JUN, H. J.; LEE, H. S.; HWANG, K. Y.; LEE, S. J. trans-Caryophyllene is a natural agonistic ligand for peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ . **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, p. 3168-3174, 2014.

WELLER, P.; BREITHAUPT, DE. Identification and quantification of zeaxanthin esters in plants using liquid chromatography-mass spectrometry. **J Agric Food Chem**, v. 51, n. 24, p. 7044-9, 2003.