



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
FACULDADE DE QUÍMICA

JAMILE SILVA DA COSTA

**ESTUDO SAZONAL E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DO
QUIMIOTIPO CURZERENO DE *Eugenia uniflora* L. (MYRTACEAE)**

BELÉM - PA

2018

JAMILE SILVA DA COSTA

**ESTUDO SAZONAL E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DO
QUIMIOTIPO CURZERENO DE *Eugenia uniflora* L. (MYRTACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Química Industrial, Faculdade de Química, Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará.

Orientadora: Dra. Joyce Kelly do Rosário da Silva.

Co-orientador: Prof. Msc. Pablo Luis Baia Figueiredo.

BELÉM - PA

2018

JAMILE SILVA DA COSTA

ESTUDO SAZONAL E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DO
QUIMIOTIPO CURZERENO DE *Eugenia uniflora* L. (MYRTACEAE)

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito para obtenção
do título de Bacharel em Química
Industrial, Faculdade de Química, Instituto
de Ciências Exatas e Naturais,
Universidade Federal do Pará.

Orientadora: Prof. Dra. Joyce Kelly do
Rosário da Silva.

Co-orientador: Prof. Msc. Pablo Luis Baia
Figueiredo.

Data da Apresentação: 21 de dezembro de 2018

Conceito: Excelente

BANCA EXAMINADORA

Joyce Kelly do R. da Silva

Profa. Dra Joyce Kelly do Rosário da Silva.

Faculdade de Biotecnologia-UFGA- Orientadora

Pablo Luis Baia Figueiredo

Prof. Msc Pablo Luis Baia Figueiredo

Departamento de Ciências Naturais-UEPA- Co-orientador

Rafaela Cabral dos Santos da Trindade

Profa. Msc Rafaela Cabral dos Santos da Trindade

UFPA-Membro

Eloisa Helena de Aguiar Andrade

Profa. Dra Eloisa Helena de Aguiar Andrade

Faculdade de Química- UFPA-Membro

AGRADECIMENTO

À Deus por minha vida e por guiar meus passos.

À Universidade Federal do Pará pela estrutura física e ao apoio financeiro por meio da bolsa de iniciação científica. Ao Museu Paraense Emílio Goeldi pela identificação botânica.

Aos meus pais, **Maria Gracilene Costa** e **João Costa**, pelo incentivo, suporte e forças dadas a todo momento. Às minhas irmãs, **Janaína Rodrigues**, mesmo longe me aconselhando, e **Júlia Costa**, por estar sempre comigo, me escutando e ajudando. Ao meu avô, **Damião Bezerra**, por me acompanhar nas coletas. E à minha bolinha de pelos, **Jake**, por ser companheiro mesmo nos meus dias de cansaço.

Aos demais familiares e amigos que servem de suporte para mim.

Ao meu namorado, **Renan Silva**, por sua colaboração não só no decorrer do trabalho, mas durante a minha jornada acadêmica, desde quando nos conhecemos. Por sua paciência, carinho e por estar comigo todos os dias e torna-los mais leves.

Aos meus colegas de laboratório, **Erisléia Meireles**, **Henryck Fernandes**, **Rafaela Cabral**, **Jair Leão**, **Joyce Solange**, **Laís Almeida**, **Leonardo Maia**, **Luccas Miranda**, **Maycow Leão**, **Nayara Sabrina**, **Shirley Ferreira**, e técnicas do laboratório **Rafaela Oliveira** e **Samara Marques**, por sua colaboração e companhia na rotina diária de laboratório, tornando o ambiente de trabalho o mais agradável possível.

À professora Dra. **Joyce Kelly da Silva**, por sua orientação, enriquecendo o trabalho com seu conhecimento e experiência.

Ao professor Msc. **Pablo Figueiredo**, por seus ensinamentos e ajuda, importantes para o desenvolvimento do trabalho.

Ao professor Dr. **José Guilherme Maia**, pela oportunidade de fazer parte de seu grupo de pesquisa e ser fundamental para o desenvolvimento do projeto.

Enfim, agradeço a todos que participaram da minha caminhada e tornaram possível minha formação. Muito obrigada!

“Quando o mundo estiver unido na busca do conhecimento, e não mais lutando por dinheiro e poder, então nossa sociedade poderá enfim evoluir a um novo nível.”

Thomas Jefferson

RESUMO

A atividade biológica dos óleos essenciais (OEs) de muitas espécies de gênero *Eugenia* (Myrtaceae) tem sido reportada na literatura, tais como antioxidante, anticolinesterásica, antibactericida e antifúngica. No entanto, estas atividades podem ser afetadas pela sazonalidade, a qual promove mudanças na composição química. Neste sentido, este estudo objetivou a avaliação sazonal dos compostos voláteis das folhas de *Eugenia uniflora*, quimiotipo curzereno, e suas atividades antioxidantes. O material botânico foi coletado em Belém (PA, Brasil) durante os períodos do inverno e do verão Amazônico (outubro/ 2017 – setembro/2018). Os OEs foram obtidos por hidrodestilação e analisados por Cromatografia gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) e a aquisição dos dados climatológicos (temperatura, umidade relativa, radiação solar e precipitação acumulada mensal) foi realizada no site do Instituto Nacional de Meteorologia. Para a avaliação da atividade antioxidante utilizou-se o método do sequestro dos radicais livres DPPH. O rendimento médio dos OEs durante a estação seca foi $1,4 \pm 0,6\%$ e na estação chuvosa $1,8 \pm 0,8\%$. O sesquiterpeno oxigenado curzereno foi o composto principal durante os períodos do estudo anual com quantidades de 42,7% e 40,8% nos períodos seco e chuvoso, respectivamente. A análise estatística multivariada da composição química apresentou alto nível de similaridade (46,58%) entre as amostras. Além disso, os OEs exibiram inibição dos radicais DPPH com valores médios de $55,0 \pm 6,6\%$. A variação sazonal não afetou o rendimento médio e teor de curzereno do óleo essencial, e também teve pouca influência em sua composição química e potencial antioxidante.

Palavras-chave: Voláteis, sesquiterpeno, fatores climáticos, DPPH.

ABSTRACT

The biological activity of essential oils (EOs) of several species of *Eugenia* (Myrtaceae) genus have been reported in the literature such as antioxidant, anti-acetylcholinesterase, antibacterial and antifungal activities. However, these activities can be affected by seasonality which promotes changes in the chemical composition. In this sense, this study aimed the evaluation seasonal of volatile compounds from *Eugenia uniflora* leaves, chemotype curzerene, and their antioxidant activity. The plant material was collected in Belém (PA, Brazil) during the periods of the Amazonian Winter and Summer (October/2017-September/2018). The EOs were obtained by hydrodistillation and analyzed by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS) and the acquisition of climatological data of the collection site. The EOs yields during the dry season ($1.4 \pm 0.6\%$) did not display a statistical difference in comparison to the rainy season ($1.8 \pm 0.8\%$). The oxygenated sesquiterpene curzerene was the main compound during all periods of the annual study with amounts of 42.7% and 40.8 % in the dry and rainy period, respectively. The multivariate statistical analysis of chemical composition showed a high similarity level (46.58%) among the samples. Also, the EOs exhibited inhibition of DPPH radicals with average values of $55.0 \pm 6.6\%$. The seasonal variability did not affect the oil yield and curzerene content of the oils, and also have a low influence on its chemical composition and antioxidant potential.

Key-words: Volatile, sesquiterpene, climatic factors, DPPH.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Fatores que podem influenciar na produção dos metabólitos secundários	14
Figura 2. Terpenos oriundos da junção das unidades de isoprenos	16
Figura 3. Rota do mevalonato	17
Figura 4. Via do fosfato de metileritritol	18
Figura 5. Formação dos precursores dos terpenos	19
Figura 6. Cátions formados a partir do difosfato de geranila (GPP)	20
Figura 7. Alguns monoterprenos formados a partir do cátion α -terpinila	21
Figura 8. Cátions formados a partir do difosfato de farnesila (FPP)	22
Figura 9. Biossíntese de alguns sesquiterpenos	23
Figura 10. Distribuição geográfica de espécies de Myrtaceae	24
Figura 11. Espécie <i>Eugenia uniflora</i> (A: Visão geral; B: Flor; C: Fruto)	26
Figura 12. Alguns constituintes químicos isolados de extrato das folhas de <i>Eugenia uniflora</i>	27
Figura 13. Estruturas de compostos identificados nos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i>	31
Figura 14. Rendimento de óleos essenciais (%) de <i>Eugenia uniflora</i> e parâmetros climáticos monitorados durante estudo sazonal: umidade relativa do ar (%); precipitação (mm); temperatura (°C) e radiação solar (KJ / m ²)	38
Figura 15. Estruturas químicas de compostos identificados nos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i>	41
Figura 16. Variação nos teores das classes de compostos e curzereno presentes nos óleos essenciais	41
Figura 17. Análise Hierárquica de Agrupamento da composição química (>3%) dos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i>	47
Figura 18. Análise dos componentes principais feito a partir da composição química (>3%) dos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i>	48
Figura 19. Teste Tukey das inibições dos radicais DPPH pelos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i>	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química e propriedades biológicas do óleo essencial de <i>Eugenia uniflora</i>	28
Tabela 2. Condições do CG/EM utilizado na análise da composição química	34
Tabela 3. Composição química dos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i>	42
Tabela 4. Correlação entre os principais constituintes dos óleos com os parâmetros climáticos.....	46
Tabela 5. Atividade antioxidante dos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i>	49

LISTA DE SIGLAS

Abr.: abril	IPP: Difosfato de 3-isopentenila
Abs: Absorbância	IR(C): Índice de retenção calculado
Ago.: agosto	IR(L): Índice de retenção da literatura
AV: Destilação por arraste a vapor	Jan.: janeiro
BLU: Base Livre de Umidade	Jul.: julho
CG/EM: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas	Jun.: junho
Dez.: dezembro	LPP: Difosfato de linalila
DMAPP: Difosfato de 3,3'-dimetilalila	Mai.: maio
DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil	Mar.: março
DXP: 1-desoxi-D-xilulose-5-fosfato	MVA: Ácido mevalônico
Fev.: fevereiro	Nov: novembro
FID: Detector de Ionização em chamas	NPP: Difosfato de nerila
FPP: Difosfato de farnesila	OE: Óleo essencial
GPP: Difosfato de geranila	Out.: outubro
GGPP: Difosfato de geranil-geranila	p.: Página
HCA: Análise Hierárquica de Agrupamento	PCA: Análise dos componentes principais
HMG-CoA: Ester β -hidróxi- β -metilglutaril-CoA	R: Coeficiente de correlação de Pearson
INMET: Instituto Nacional de Meteorologia e Estatística	Set.: setembro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	12
2.1	GERAL	12
2.2	ESPECÍFICOS	12
3	REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1	ÓLEOS ESSENCIAIS	13
3.2	FATORES QUE INTERFEREM QUALITATIVAMENTE E QUANTITATIVAMENTE O ÓLEO ESSENCIAL	14
3.3	BIOSSÍNTESE DOS MONOTERPENOIDES E SESQUITERPENOIDES ...	15
3.4	A FAMÍLIA MYRTACEAE E O GÊNERO <i>Eugenia</i>	23
3.5	<i>Eugenia uniflora</i> L.	25
4	METODOLOGIA	32
4.1	LOCAL DE COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO	32
4.2	PROCESSAMENTO DO MATERIAL BOTÂNICO	32
4.3	EXTRAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES VOLÁTEIS	33
4.3.1	Extração dos óleos essenciais	33
4.3.2	Cálculo do rendimento dos óleos essenciais	33
4.3.3	Análise da composição química	33
4.3.4	Quantificação dos voláteis	35
4.4	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	35
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
4.5.1	Análise Hierárquica de Agrupamento	36
4.5.2	Análise dos Componentes Principais	36
4.5.3	Teste de Tukey	36
4.5.4	Correlação de Pearson	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	RENDIMENTO EM ÓLEO ESSENCIAL VS PARÂMETROS CLIMÁTICOS ...	38
5.2	ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA.....	39
5.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL.....	49
6	CONCLUSÕES	52
	REFERÊNCIAS	53

APÊNDICE A – CROMATOGRAMAS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DO ESTUDO SAZONAL DE <i>Eugenia uniflora</i>	62
---	-----------

1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OEs) são utilizados desde as civilizações antigas como cosméticos, remédios, em rituais religiosos e na culinária (VIEIRA, DIAS e LEONEL, 2016). O interesse por esse produto natural é crescente devido suas diversas propriedades biológicas que vão desde bactericida a antioxidante, e por essa razão possuem aplicações em vários setores industriais (BAKKALI et al., 2008).

As inúmeras propriedades biológicas que os OEs possuem são consequência de seus constituintes químicos complexos, geralmente da classe dos terpenos (SANGWAN et al., 2001; ANDRADE et al., 2014). Para a aplicação dos óleos essenciais, é importante a caracterização química, pois a composição pode variar entre indivíduos de uma mesma espécie botânica. Essas variações devem-se a ocorrência de diferentes quimiotipos, de acordo com a adaptação da planta ao ambiente circundante ou seu desenvolvimento (CHAMORRO et al., 2012).

Dentre as espécies ricas em óleo essencial, destacam-se os táxons de Myrtaceae pertencentes ao gênero *Eugenia* devido grande número de pesquisas sobre as atividades antioxidante, anti-acetilcolinesterase (FEITOSA et al., 2017), antibacteriana (LAWAL et al., 2016) e fungicida (RAHIMIFARD et al., 2008) de seus óleos essenciais.

Eugenia uniflora L. conhecida popularmente como ginja ou pitangueira, é utilizada por comunidades tradicionais contra diversos sintomas como: cólica, dor abdominal, dor nas articulações e náuseas. Além disso, são atribuídas aos óleos atividades como hipotérmica, antinociceptiva e antimicrobiana (STEFANELLO, PASCOAL e SALVADOR, 2011; VENDRUSCOLO, RATES e MENTZ, 2005).

Com base nestas informações, o objetivo deste estudo foi avaliar as variações sazonais da composição química dos óleos essenciais de *E. uniflora*, quimiotipo curzereno, e sua atividade antioxidante.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar a influência dos fatores climáticos sob o rendimento, composição química e atividade antioxidante do óleo essencial da espécie *Eugenia uniflora* L., quimiotipo curzereno.

2.2 ESPECÍFICOS

- Analisar variações quantitativas e qualitativas dos compostos majoritários provenientes do estudo sazonal;
- Analisar estatisticamente a composição química dos voláteis por análise hierárquica de agrupamento (HCA) e análise dos componentes principais (PCA);
- Avaliar a atividade antioxidante dos óleos essenciais pelo método de sequestro do radical DPPH.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OEs) são substâncias voláteis, líquidas, naturais, imiscíveis em substâncias polares e que apresentam um forte odor. São considerados metabólitos secundários sintetizados pelas plantas aromáticas, e responsáveis pelo sabor e aroma. Na planta, apresentam importantes funções como: proteção contra bactérias, fungos e vírus, e podem também atrair insetos para favorecer a polinização ou repelir os indesejáveis (BAKKALI et al., 2008; TISSERAND e YOUNG, 2014).

Além disso, os OEs possuem outras características físico-químicas como baixa estabilidade na presença de ar, luz, calor, e umidade, propriedades ópticas, e em sua maioria, apresentam a coloração amarelada ou incolor. A composição química dos OEs é complexa, seus principais constituintes são derivados terpênicos e fenilpropanoides. Dentre as diferentes classes químicas presentes nos OEs estão os hidrocarbonetos (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos), aldeídos, cetonas, ésteres, furanos, lactonas, entre outras (SANGWAN et al., 2001; SIMÕES e SPITZER, 2007).

É possível extrair OEs de diversos órgãos das plantas: flores, folhas, frutos, raízes, cascas dos caules e sementes. As estruturas vegetais secretoras destes voláteis variam de acordo com a família botânica, tais como pelos glandulares (Lamiceae), células idioblastos (Lauraceae, Piperaceae, Poaceae), canais oleíferos (Apiaceae) ou em cavidades lisígenas ou esquizolisígenas (Pinaceae, Rutaceae) (SIMÕES e SPITZER, 2007; TISSERAND e YOUNG, 2014). Em relação aos métodos de extração, os mais utilizados são enfloração, expressão (prensagem), extração com solvente, CO₂ supercrítico, arraste por vapor d'água e hidrodestilação (BUCKLE, 2003). Porém, independentemente do tipo de extração, o rendimento em óleo essencial ao final da extração geralmente é muito baixo quantitativamente (SILVEIRA et al., 2012).

Diversos fatores influenciam na composição química e no rendimento dos óleos essenciais como órgão da planta, fatores ambientais (clima, solo, temperatura), estresse hídrico e período de coleta, esses são ditos parâmetros intrínsecos. Outros parâmetros que podem afetar o óleo qualitativamente e quantitativamente são os

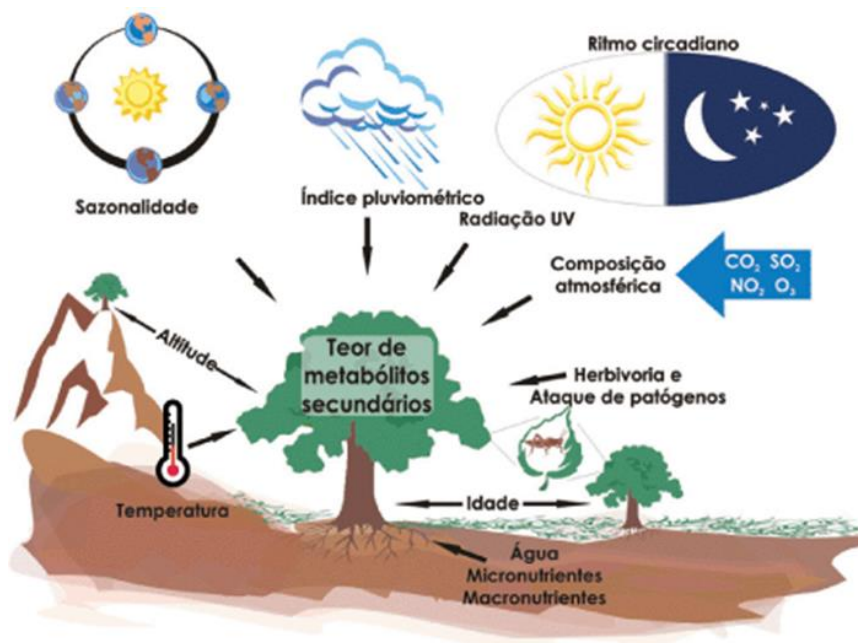
extrínsecos que incluem o método e tempo de extração e armazenamento do material botânico (DUARTE et al., 2018; LI, FABIANO-TIXIER e CHEMAT, 2014).

A aplicação de OEs está sendo cada vez mais difundida como alternativa a substâncias sintéticas em produtos farmacêuticos, alimentícios, agrônômicos, cosméticos e sanitários. Tal fato se deve as propriedades biológicas, algumas conhecidas desde a antiguidade, tais como bactericida, fungicida, citotóxica, inseticida, antiparasitária, anti-inflamatória, analgésica e antioxidante (BAKKALI et al., 2008; BHARDWAJ, ALOK e KHANNA, 2013; SCHMIDT, 2010).

3.2 FATORES QUE INTERFEREM QUALITATIVAMENTE E QUANTITATIVAMENTE O ÓLEO ESSENCIAL

A composição química do óleo essencial e o rendimento podem ser afetados por fatores fisiológicos, ambientais e geográficos (FIGUEIREDO et al., 2008). Alguns desses fatores estão ilustrados na Figura 1.

Figura 1. Fatores que podem influenciar na produção dos metabólitos secundários



Fonte: Gobbo-Neto e Lopes (2007).

Dentre os fatores fisiológicos estão inclusos: desenvolvimentos de órgãos (flores, folhas, raízes), ciclo de atividade dos polinizadores, tipo de estrutura secretora e agressões mecânicas ou químicas (FIGUEIREDO et al., 2008). Segundo Gobbo-

Neto e Lopes (2007) a idade, o desenvolvimento da planta e dos órgãos vegetais podem influenciar não só a quantidade total de metabólitos produzidos, mas também as proporções relativas dos componentes da mistura.

Quanto aos fatores ambientais diversos, estudos afirmam que o clima, solo, deficiência de nutrientes, estações do ano, variação sazonal, forma de plantio, adubação, uso de agrotóxicos, irrigação, tempo e condições ambientais, ataque de patógenos e irradiação-UV podem afetar a composição química dos OEs (AKULA; RAVISHANKAR, 2011; RIBEIRO et al., 2018).

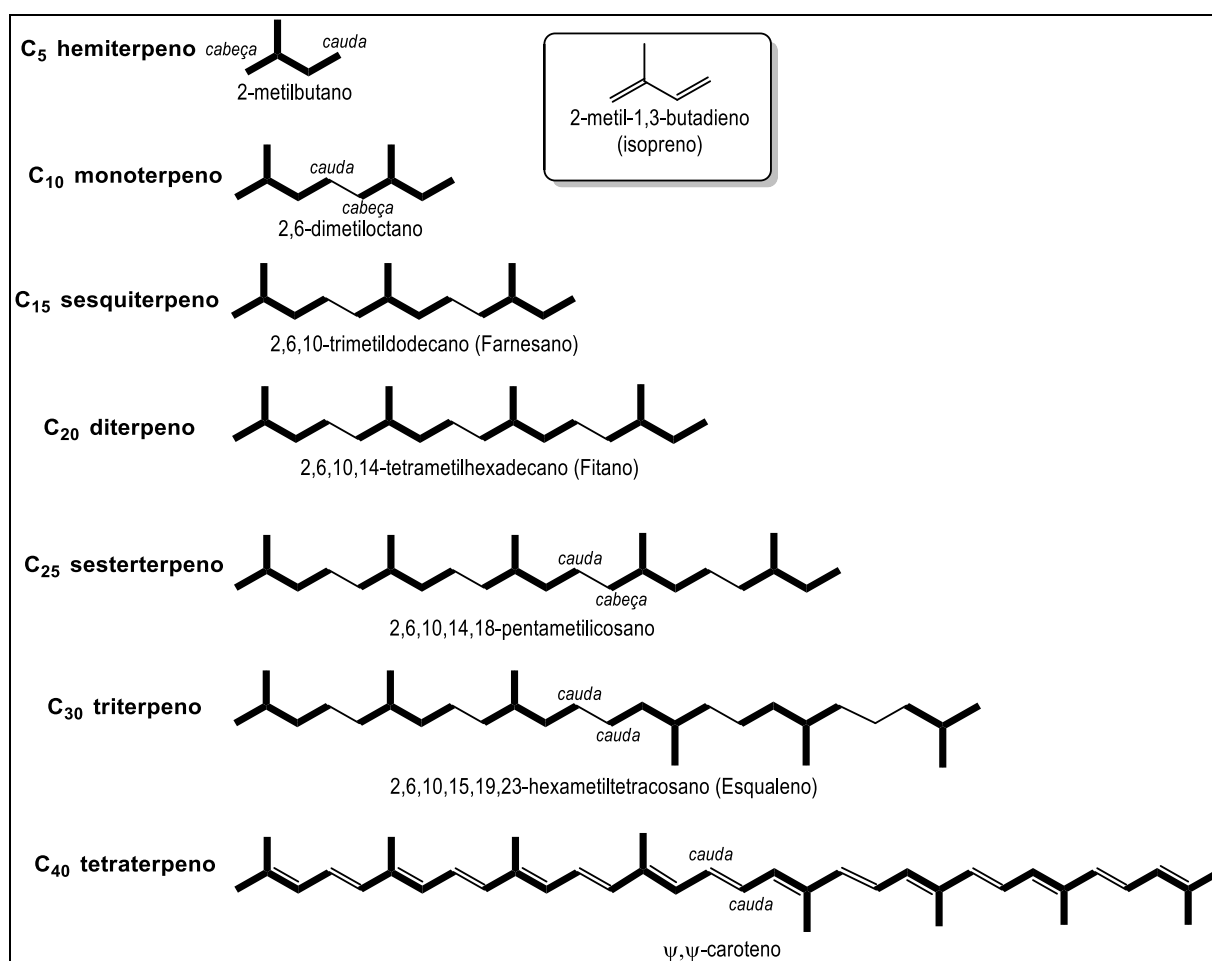
Com relação a influência das variações geográficas no rendimento e composição dos voláteis, existem inúmeros exemplos da existência de quimiotipos distintos/raças químicas para várias espécies. As variações nos óleos essenciais de *Zingiber officinale*, *Myristica fragans* (FIGUEIREDO et al., 2008) e *Psidium guineense* (FIGUEIREDO et al., 2018) de diferentes origens podem ser dadas como exemplos.

O conhecimento dos fatores de influência no óleo é importante para a otimização das condições de cultivo para obter OE de alta qualidade que atendam às exigências do mercado. Além da importância comercial, as possíveis mudanças também na composição dos OEs podem ser usadas como ferramentas quimiotaxonômicas (FIGUEIREDO et al., 2008).

3.3 BIOCÍNTese DOS MONOTERPENOIDES E SESQUITERPENOIDES

Os OEs são constituídos principalmente de derivados terpenoides ou fenilpropanoides (SIMÕES e SPITZER, 2007). No geral, os terpenoides são predominantes e compõem uma classe de produtos naturais com cerca de 40.000 compostos encontrados na natureza (THOLL, 2015). O esqueleto desses compostos é formado por unidades isoprênicas (2-metilbutano), comumente condensadas por um mecanismo de junção denominado “cabeça-cauda”, como ilustrado na Figura 2 (p. 16) (LUDWICZUK, SKALICKA-WOZNIAK e GEORGIEV, 2016).

Figura 2. Terpenos oriundos da junção das unidades de isoprenos



Fonte: Adaptado de Breitmaier (2006).

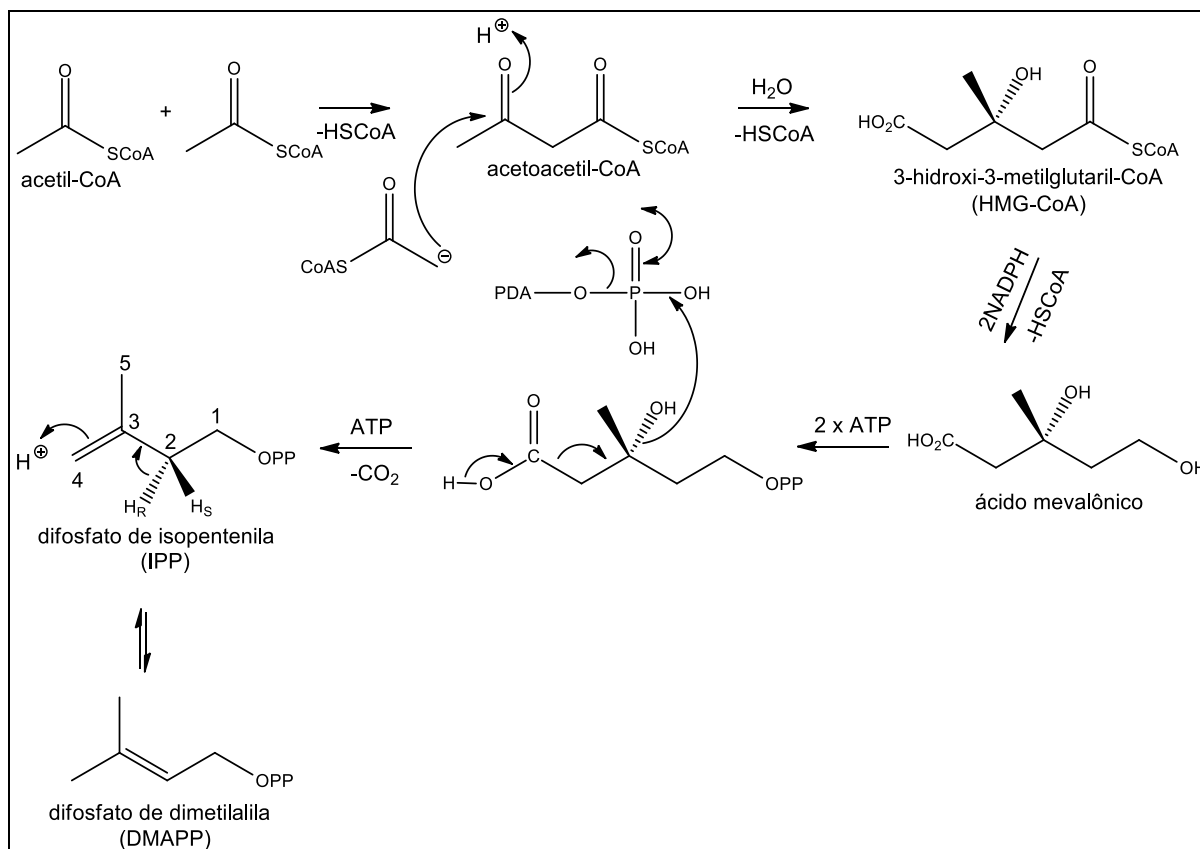
Os terpenos são classificados de acordo com o número de unidades isoprênicas. Os hemiterpenos constituem a classe mais simples, com apenas uma unidade isoprênica; os monoterpeneos contêm duas unidades isoprênicas (C₁₀); os sesquiterpenos (três unidades isoprênicas, C₁₅); diterpenos (quatro unidades isoprênicas, C₂₀); sesterterpenos (cinco unidades isoprênicas, C₂₅); triterpenos (seis unidades isoprênicas, C₃₀); tetraterpenos (oito unidades isoprênicas, C₄₀) e ainda os politerpenos com mais de oito unidades isoprênicas (BREITMAIER, 2006). Dentre as classes dos terpenoides, a classe dos diterpenos raramente ocorre nos OEs, já as classes dos sesterterpenos, triterpenos e tetraterpenos não ocorrem (TISSERAND e YOUNG, 2014).

Os terpenoides são produzidos a partir da condensação do difosfato de isopentenila (IPP) e do difosfato de dimetilalila (DMAPP), seu isômero alílico (TISSERAND e YOUNG, 2014). Por muito tempo pensou-se que o IPP fosse derivado

somente da rota biosintética do ácido mevalônico (MVA), porém foi descoberta a produção de IPP por uma via diferente, a rota do fosfato de metileritritol (MEP) (BOUREAU et al., 2013).

A via do MVA consiste na formação do ácido mevalônico a partir da condensação de três moléculas de acetil-CoA resultando no 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) que posteriormente é reduzido a ácido mevalônico. Para a formação do IPP, o ácido mevalônico sofre duas sucessivas fosforilações nas hidroxilas alcoólicas, seguida de descarboxilação e desidratação. A formação do DMAPP ocorre a partir da incorporação de um próton em C-4 e remoção do próton *pro-R* (H_R) de C-2 pela enzima isomerase, como ilustrado na Figura 3 (DEWICK, 2009; THOLL, 2015).

Figura 3. Rota do mevalonato

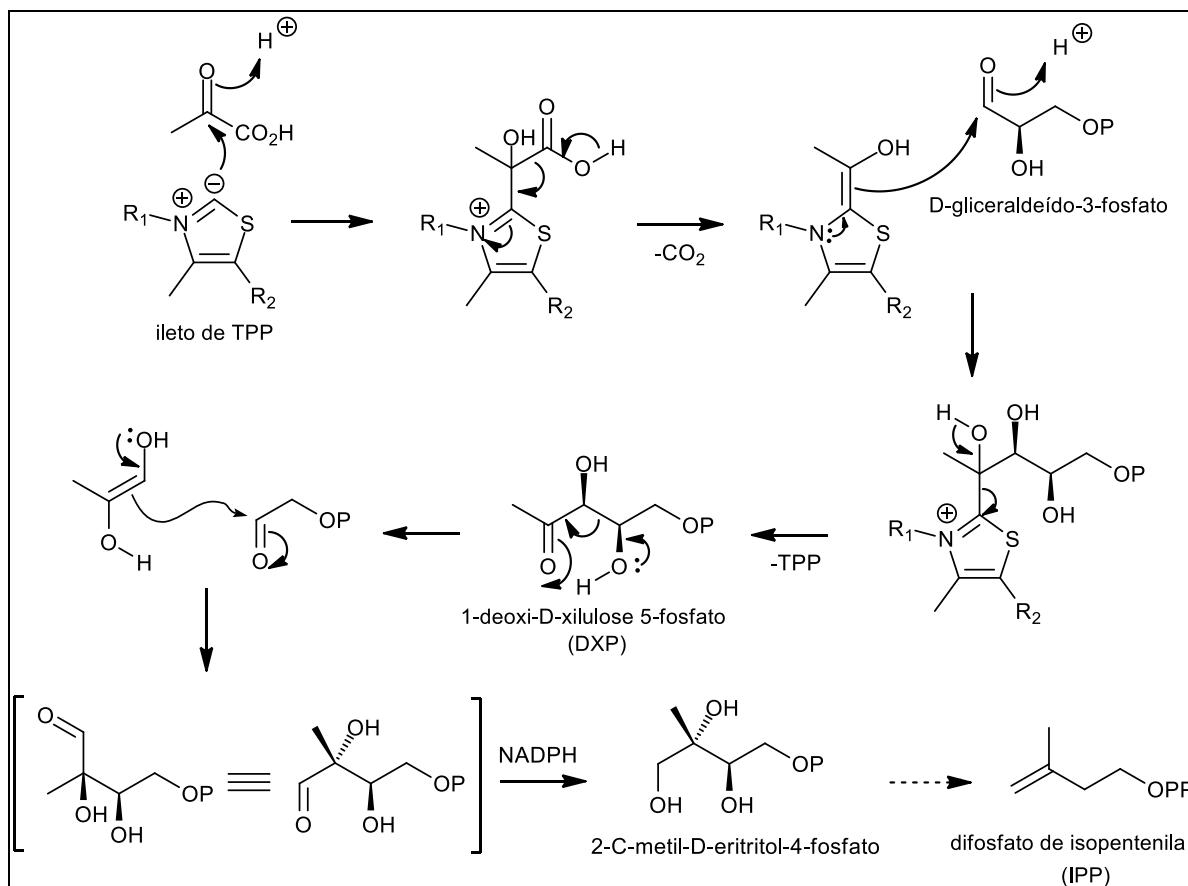


Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

A via do MEP envolve o ácido pirúvico e o D-gliceraldeído-3-fosfato oriundos da via glicolítica, com a finalidade de produzir 1-desoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXP) em um processo mediado pelo difosfato de tiamina (TPP). DXP a partir de uma reação aldólica seguida de reação aldólica reversa e redução, é convertido em 2-C-metil-D-

eritritol-4-fosfato. Etapas posteriores levam a formação do IPP e DMAPP, entretanto essas etapas ainda não são bem elucidadas, como mostrado na Figura 4 (DEWICK, 2009).

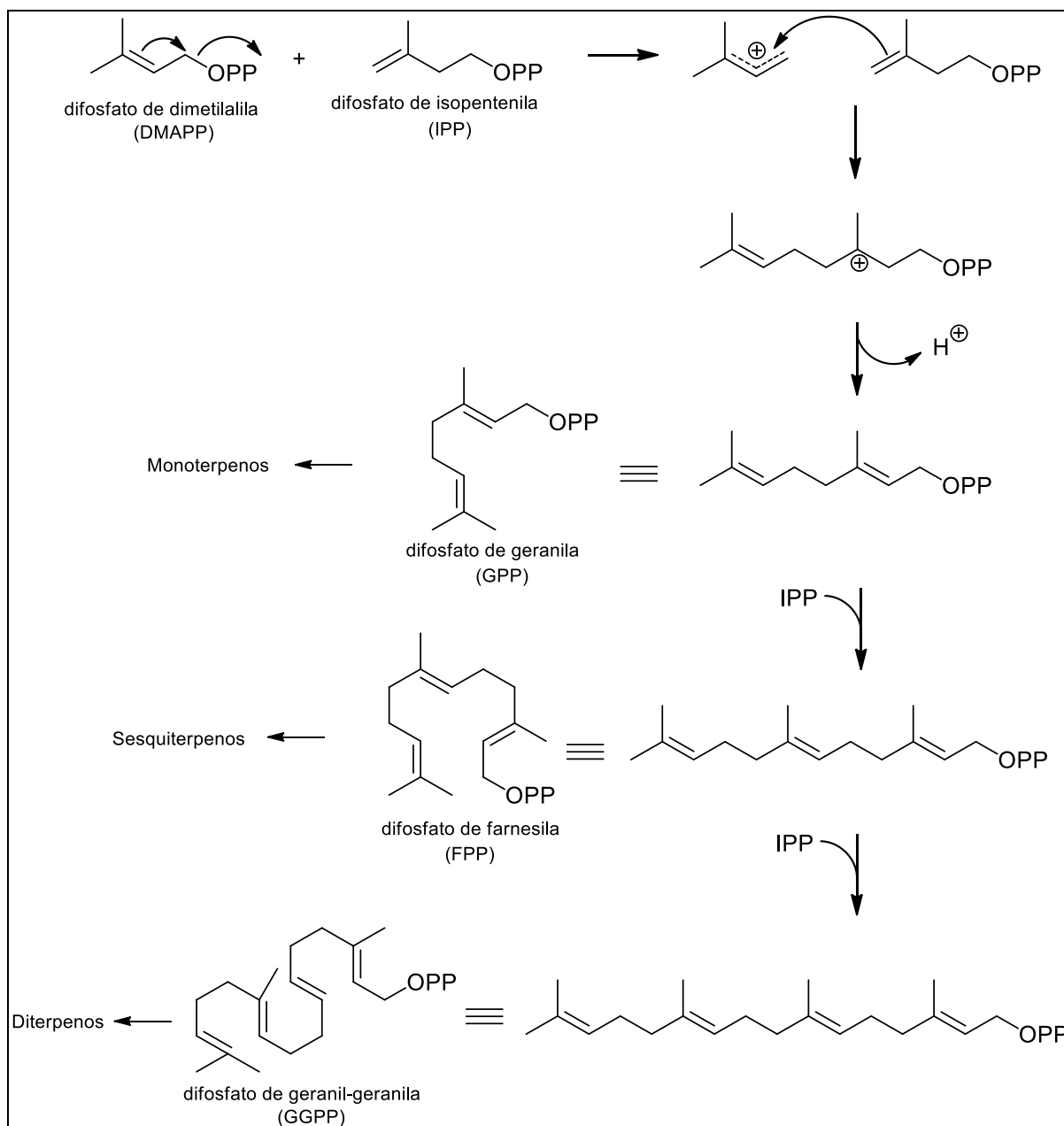
Figura 4. Via do fosfato de metileritritol



Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

A condensação das moléculas de IPP e DMAPP são catalisadas pelas enzimas preniltransferases (isoprenil difosfato sintases). Assim é possível a formação do difosfato de geranila (GPP, C_{10}), difosfato de farnesila (FPP, C_{15}) e difosfato de geranylgeranila (GGPP, C_{20}), os precursores dos monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos, respectivamente como ilustrado na Figura 5 (p. 19) (SCHMIDT et al., 2010; BOUREAU et al., 2013).

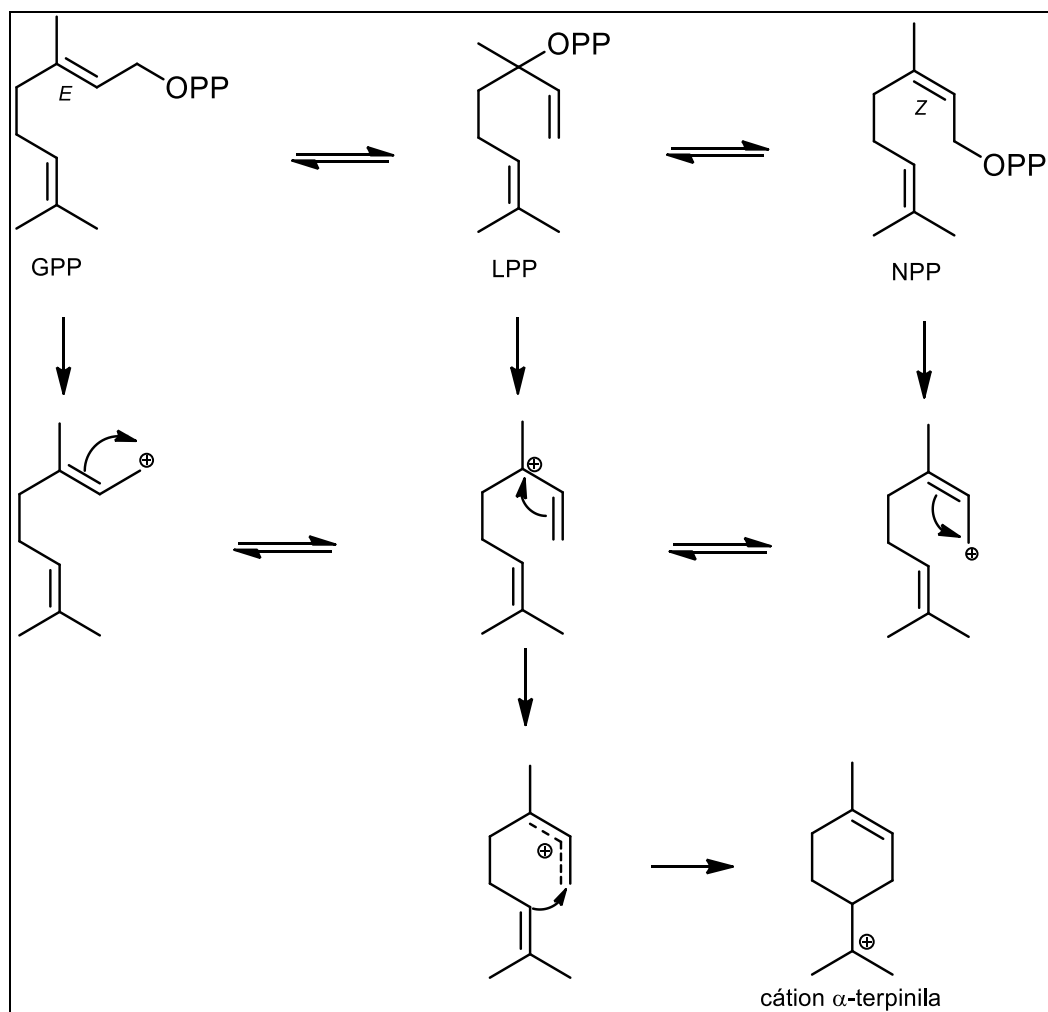
Figura 5. Formação dos precursores dos terpenos



Fonte: Adaptado de Davis e Croteau (2000).

A ionização seguida do ataque do grupo difosfato ou mudança da estereoquímica da dupla ligação do GPP leva aos seus isômeros difosfato de linalila (LPP) e difosfato de nerila (NPP). GPP e seus isômeros formam cátions ilustrados na Figura 6 (p. 20). FPP origina o principal cátion α -terpinila que a partir de ciclização, deslocamento de hidreto ou rearranjo gera a maioria dos esqueletos dos monoterpenos (DEWICK, 2009; KUTCHAN et al., 2015).

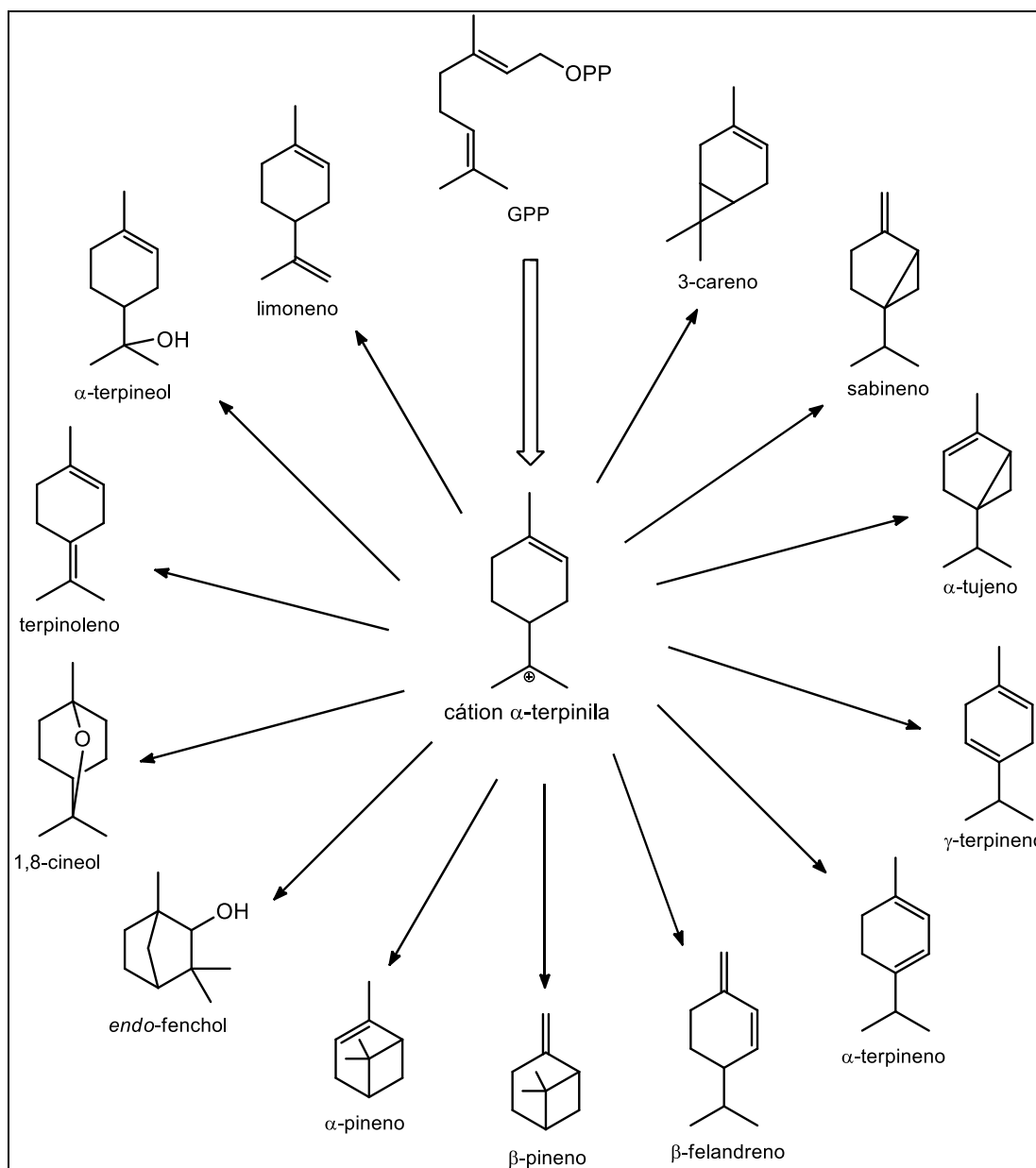
Figura 6. Cátions formados a partir do difosfato de geranila (GPP)



Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

As possíveis reações subsequentes ao cátion geram a diversidade de monoterpenos, alguns desses mostrados na Figura 7 (p. 21).

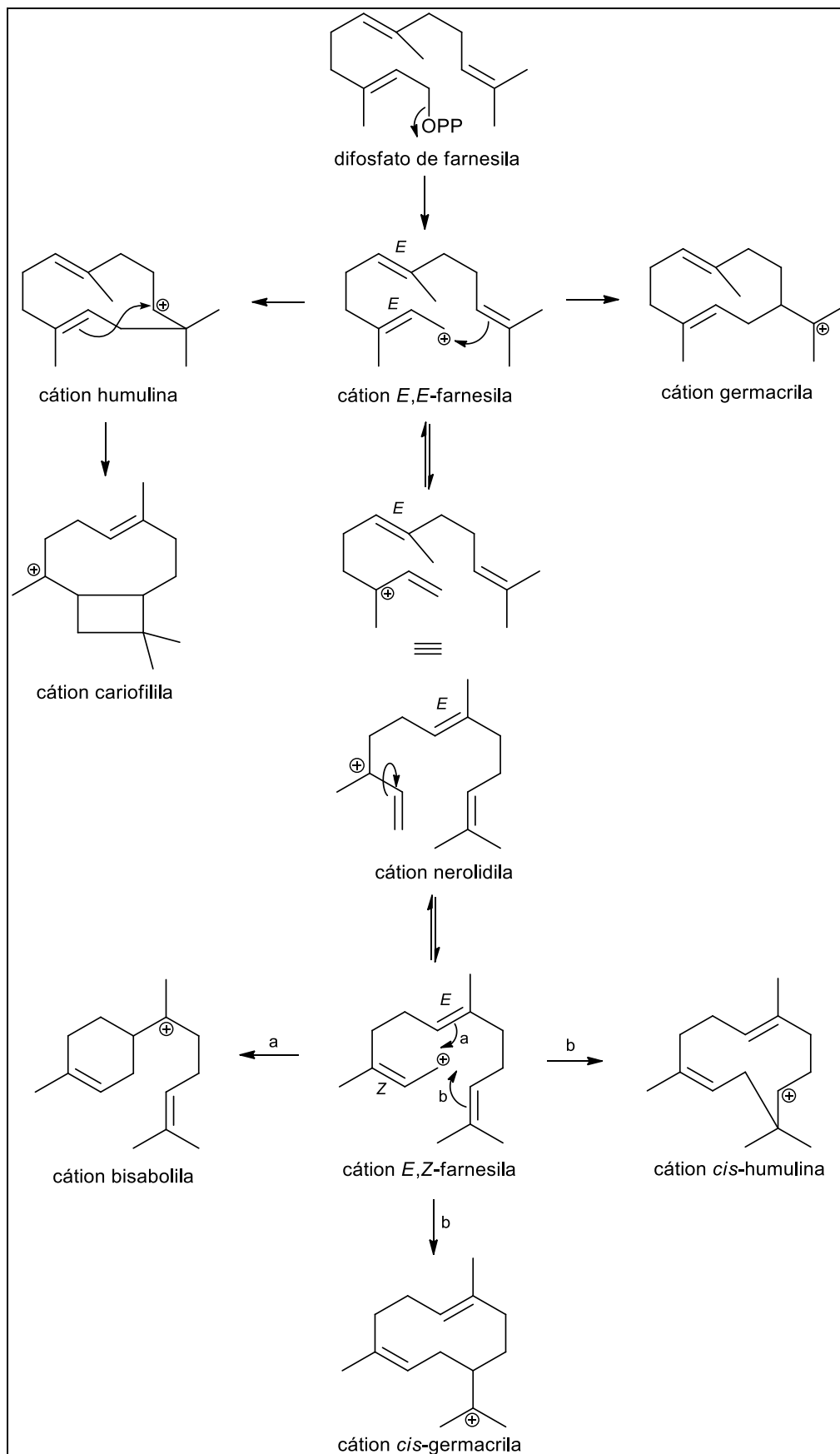
Figura 7. Alguns monoterpênos formados a partir do cátion α -terpinila



Fonte: Adaptado de Davis e Croteau (2000).

A formação dos sesquiterpenos, assim como a dos monoterpênos, também é a partir de cátions, porém vindos do difosfato de farnesila (FPP). Devido a maior cadeia carbônica e a presença de uma ligação dupla a mais, quando comparado ao GPP, a variedade estrutural dos compostos é maior (DEGENHARDT et al., 2009). Alguns dos cátions advindos do FPP são ilustrados na Figura 8 (p. 22).

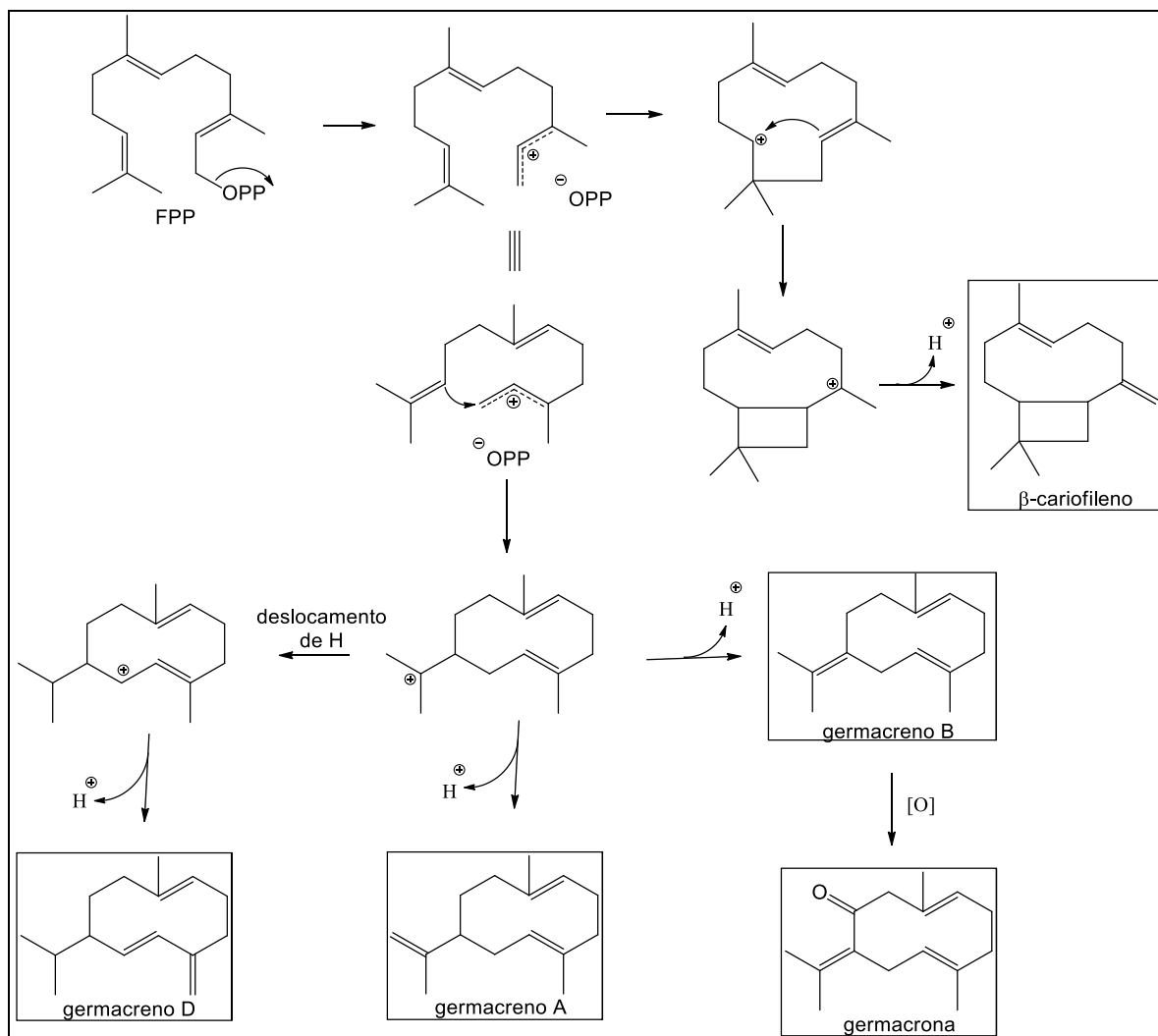
Figura 8. Cátions formados a partir do difosfato de farnesila (FPP)



Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

Conforme Figura 9, a ciclização do cátion humulina seguida de desprotonação forma o β -cariofileno. Já o deslocamento de hidreto do cátion germacrila com desprotonação subsequente gera o germacreno D. O germacreno A e B são produzidos a partir de desprotonação. Enquanto germacrona é obtido a partir da oxidação deste (DAVIS e CROTEAU, 2000).

Figura 9. Biossíntese de alguns sesquiterpenos



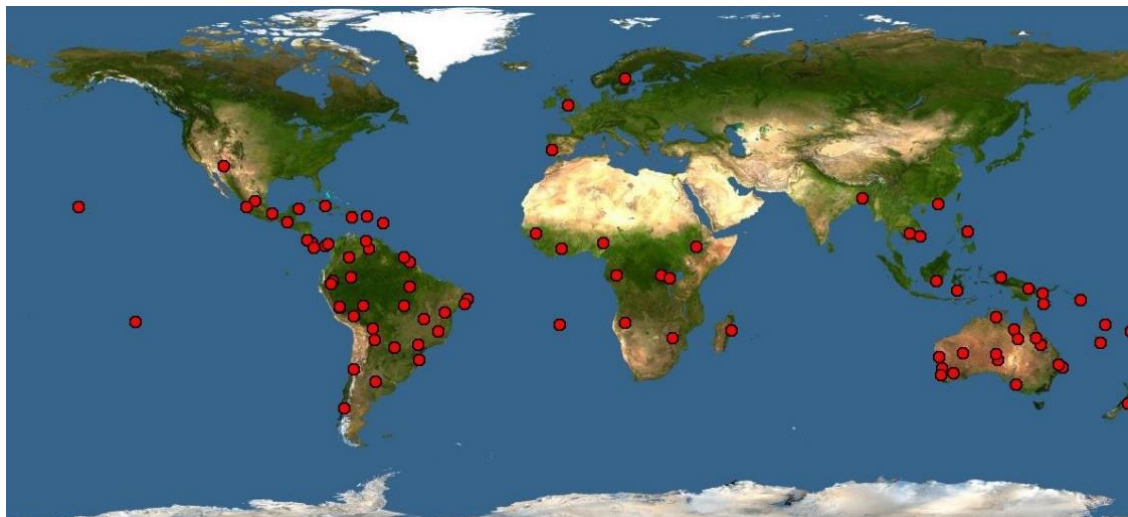
Fonte: Adaptado de Davis e Croteau (2000).

3.4 A FAMÍLIA MYRTACEAE E O GÊNERO *Eugenia*

A família Myrtaceae compreende 145 gêneros e 5970 espécies de árvores e arbustos e encontra-se distribuída principalmente no hemisfério Sul, destacando-se em diversos habitats na Austrália e na América do Sul (Figura 10) (THE PLANT LIST,

2013; WILSON, 2011). No Brasil, encontra-se representada por 23 gêneros e 1029 espécies (794 endêmicas) e com cerca de 14 gêneros e 224 espécies no bioma Amazônia (SOBRAL et al., 2015a).

Figura 10. Distribuição geográfica de espécies de Myrtaceae



Fonte: Discover Life (2018).

Muitas espécies dessa família destacam-se por seu grande potencial econômico, evidenciado pela exploração da madeira (*Eucalyptus*) e utilização como plantas ornamentais (*Callistemon*, *Verticordia*, *Leptospermum*). Além disso, a família possui uma grande variedade de frutos comestíveis como jambo (*Syzygium malaccense*), goiaba (*Psidium guajava*), guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) e ubaia (*Eugenia patrisii*) (MITRA et al., 2012) e ainda espécies produtoras de óleos essenciais, ricos em monoterpenos, sesquiterpenos, ou uma mistura de ambos (WILSON, 2011).

Dentre os gêneros pertencentes a família Myrtaceae, destacam-se os *Eucalyptus*, *Melaleuca*, *Psidium* e *Eugenia* (SIANI et al., 2000), sendo o *Eugenia* um dos que apresenta o maior número de espécies (CARDOSO e SAJO, 2004). Além de destacar-se quantitativamente, esse gênero possui espécies com grande potencial econômico e farmacológico (QUEIROZ et al., 2015). O gênero *Eugenia* compreende aproximadamente 1000 espécies, com ocorrência principalmente na América Central e do Sul, e poucas no continente africano (VAN DER MERWE, VAN WYK e BOTHA, 2005). No Brasil, é representado por 384 espécies, onde 297 são endêmicas. Dentre

os domínios fitográficos presentes no Brasil, na Mata Atlântica ocorre o maior número de espécies, seguido da Floresta Amazônica e Cerrado (SOBRAL et al., 2015b).

Espécies de *Eugenia* são amplamente empregados na medicina popular principalmente no tratamento de diarreia, dores de garganta, doenças cardíacas, distúrbios gástricos, como hipotensora e antipirética. São exploradas comercialmente, devido a produção de frutos comestíveis como pitanga (*Eugenia uniflora*), araçá-boi (*E. stipitata*), uvaia (*E. pyriformes*) e grumixama (*E. brasiliensis*), madeira (*E. biflora*, *E. paraensis*, *E. catharinae*), e também como plantas ornamentais (*Eugenia sprengelii*) e fornecedoras de óleos essenciais (LAMARCA et al., 2013; QUEIROZ et al., 2015).

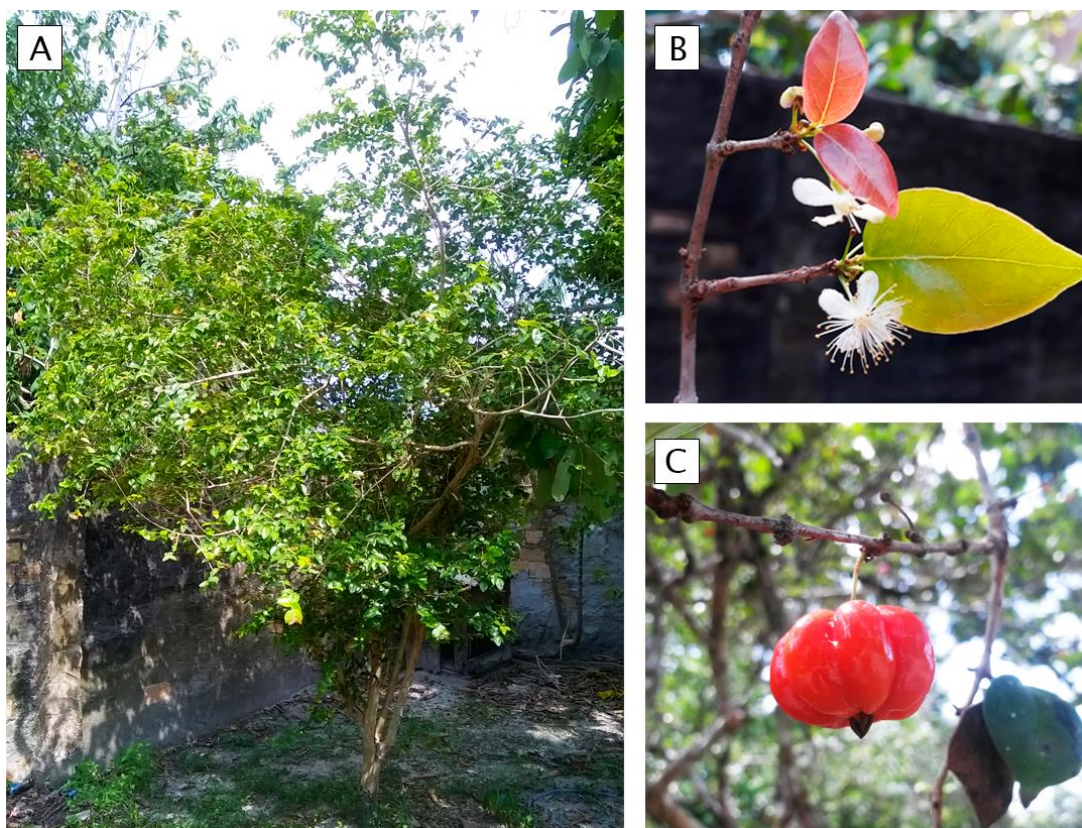
Nos OEs de espécies de *Eugenia* geralmente ocorre o predomínio dos sesquiterpenos cíclicos, além de um pequeno teor de monoterpenos. O monoterpeno α -pineno e o sesquiterpeno β -cariofileno são os compostos mais comuns. Poucas espécies produzem óleos com compostos alifáticos ou aromáticos, como por exemplo, *E. stigmatorosa* DC., a qual possui o ácido fisetérico (90,50%) e *E. patrisii* que apresenta (2E, 6E)-farnesol (34,5%), (2E, 6Z)-farnesol (23,2%), além de uma mistura dos sesquiterpenos cíclicos cariofila-4(12),8(13)-dien-5 α -ol e cariofila-4(12),8(13)-dien-5 β -ol (15,6%), compostos alifáticos, como componentes majoritários. *E. confusa* é abundante em compostos aromáticos (DA SILVA et al., 2017; STEFANELLO, PASCOAL e SALVADOR, 2011).

Segundo Queiroz et al., (2015), dentre as espécies desse gênero, *Eugenia uniflora* é considerada a mais investigada devido sua ampla distribuição geográfica, além de estudos botânicos, fitoquímicos e farmacológicos.

3.5 *Eugenia uniflora* L.

Eugenia uniflora L. (Figura 11, p. 26) é uma árvore frutífera nativa do Suriname, Guiana e Guiana Francesa, Brasil e Uruguai (WILSON, 2009) com ampla distribuição na América do Sul (COSTA et al., 2013). É conhecida popularmente como pitanga, denominação originada do tupi que significa “vermelho profundo”. Outras denominações para essa espécie são conhecidas, como cereja brasileira ou ginja (GALLUCCI et al., 2010).

Figura 11. Espécie *Eugenia uniflora* (A: Visão geral; B: Flor; C: Fruto)



Fonte: O autor.

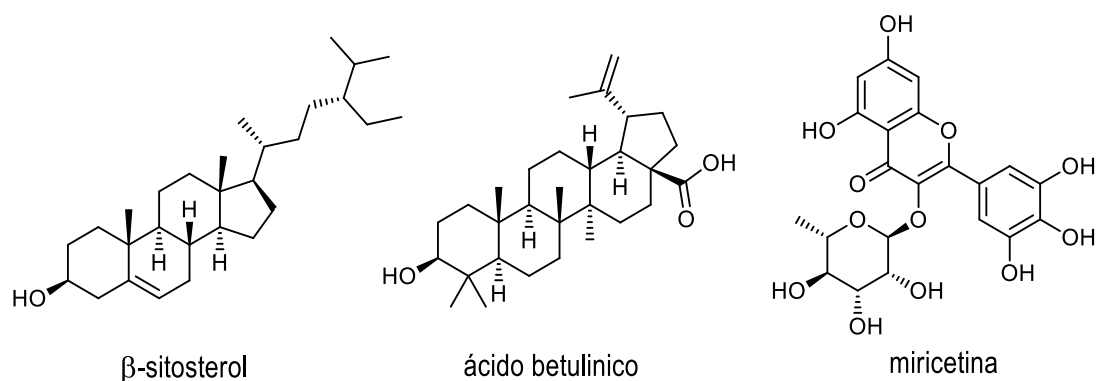
Seus frutos, ilustrado na Figura 11C, são ricos em cálcio, magnésio, fósforo, potássio e vitaminas C (BENDER, 2006), além de possuírem antocianinas, flavonóis e carotenoides (LIMA et al., 2002). Devido seu sabor adocicado, são geralmente consumidos *in natura* ou como refrescos e sucos, sorvetes, doces, licores, vinho e geleias (CORADIN, SIMINSKI e REIS, 2011).

A infusão de suas folhas e cascas é utilizada por muitas comunidades tradicionais como anti-hipertensivo, antipirético, e no tratamento de gripe, tosse, doenças cardiovasculares, asma, sinusite, cólica, diarreia, disenteria, febre e reumatismo (STEFANELLO, PASCOAL e SALVADOR, 2011; VENDRUSCOLO, RATES e MENTZ, 2005). A ampla utilização dessa espécie na medicina tradicional desperta interesse dos pesquisadores.

Das folhas da planta foram isolados e identificados o esteroide β -sitosterol, o triterpeno ácido betulínico e flavonoide miricetina (SAMMY et al., 2014) (Figura 12, p. 27). Quanto as atividades biológicas descritas para essa espécie, o extrato das folhas possui propriedade antimicrobiana contra *Candida albicans* (FIÚZA et al., 2008),

larvicida frente *Aedes aegyptii* (FAMUYIWA e ADEBAJO, 2012) e antiparasitária diante *Leishmania infantum* e *Trypanosoma cruzi* (SOUZA et al., 2017). Os ramos apresentam efeitos antioxidantes, analgésicos e anti-inflamatórios (FERNANDES et al., 2016). Já extrato dos frutos possui efeito antidepressivo (OLIVEIRA et al., 2017) e atividade antioxidante (BAGETTI et al., 2011).

Figura 12. Alguns constituintes químicos isolados de extrato das folhas de *Eugenia uniflora*



Fonte: Samy et al. (2014).

O OE dessa espécie apresenta grande variabilidade química evidenciada pela existência de quimiotipos relatados na literatura, além de possuir muitas propriedades biológicas como listados na Tabela 1 (p. 28).

Tabela 1. Composição química e propriedades biológicas do óleo essencial de *Eugenia uniflora*

Local de coleta	OE	Compostos majoritários (> 5%)	Atividade do OE	Referência
Pelotas, RS, Brasil	Folhas (HD)	Germacreno B (21,2%), epóxido de selina-1,3,7-(11)-trien-8-ona (19,3%), β -cariofileno (12,6%), germacreno A (11,6%), germacreno D (11,4%), selina-1,3,7-(11)-trien-8-ona (9,7%)	Antimicrobiano, método de difusão em ágar e microdiluição em caldo (<i>Staphylococcus aureus</i> , MIC 0,8 mg/mL; <i>Listeria monocytogenes</i> , MIC 1,04 mg/mL; <i>Candida lipolytica</i> , MIC 93,7 μ g/mL; <i>C. guilliermondii</i> , MIC 109,4, μ g/mL). Antioxidante (radicais DPPH, IC50 833 μ g/mL; ABTS IC50 8,1 μ g/ml). Efeito hepatoprotetor em ratos	VICTORIA et al., 2012 VICTORIA et al., 2013
São Lourenço do Sul, RS, Brasil	Folhas (HD)	NI (38,3%), β -cariofileno (8,2%), espatulenol (7,7%), 9,10-deidro- isolongifoleno, (6,2%), viridiflorol (5,8%), <i>allo</i> -aromadendreno (5,7%), δ -cadineno (5,2%), deidro- <i>cis</i> - α -copaeno-8-ol (5,2%), α -epi-cadinol (5,1%)	Antimicrobiano, método de microdiluição em caldo (<i>Enterobacter aerogenes</i> MIC 3,125%; <i>Salmonella typhimurium</i> (MIC 3,125%)	BECKER et al., 2017
São Luís, MA, Brasil	Folhas (HD)	Curzereno (47,3%), γ -elemeno (14,2%), <i>trans</i> - β -elemenona (10,4%), β -elemeno (5,5%)	anti-Leishmania (<i>L. amazonenses</i> promastigotas, IC ₅₀ 3,04 μ g/mL; <i>L. amazonenses</i> amastigotas, IC ₅₀ 1,92 μ g/mL)	RODRIGUES et al., 2013
Águas de Santa Bárbara, SP, Brasil	Folhas (AV)	Selina-1,3,7-(11)-trien-8-ona (34,0%), epóxido de selina-1,3,7-(11)-trien-8-ona (17,0%), germacreno B (10,5%), β -cariofileno (5,0%), curzereno (5,5%)		GALLUCCI et al., 2010
Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Folhas (HD)	furanodieno e curzereno (50,2%), β -elemeno (5,9%)		MELO et al., 2007
Seropédia, RJ, Brasil	Folhas jovens (HD)	germacrona (37,9%), curzereno (16,6%), germacreno B (13,6%), β -cariofileno (6,0%)		SANTOS, BRAZ-FILHO e CASTRO, 2015

OE: Óleo essencial; **HD:** Hidrodestilação; **AV:** Destilação por arraste a vapor; **SPME:** Microextração na fase sólida; **MIC:** Concentração inibitória mínima.

Tabela 1. Continuação

Local de coleta	OE	Compostos majoritários (> 5%)	Atividade do OE	Referência
Seropédia, Brasil	RJ, Folhas maduras (HD)	curzereno (22,4%), furanodieno (19,0%), germacreno B (14,4%), β -cariofileno (9,4%)		SANTOS, BRAZ-FILHO e CASTRO, 2015
Anápolis, Brasil.	GO, Partes aéreas (HD) ^a	Selina-1,3,7-(11)-trien-8-ona (43,0%), epóxido de selina-1,3,7-(11)-trien-8-ona (20-29%), espatulenol (7,5-10,0%)		COSTA et al., 2009
Goiás, Brasil	Folhas (HD)	curzereno (20,5%), germacreno B (21,6%), germacrona (17,3%), β -cariofileno (8,7%)	Antimicrobiano, método de microdiluição em caldo (<i>Paracoccidioides brasiliensis</i> , MIC 500 μ g/mL; MFC 500 μ g/mL)	COSTA et al., 2010
Goiás, Brasil	Folhas (HD)	curzereno (42,6%), germacrona (13,5%), germacreno D (8,8%), germacreno A (7,4%), β -cariofileno (7,0%)	Antimicrobiano, ensaio com microdiluição em caldo (<i>P. brasiliensis</i> , MIC 62,5 μ g/mL; MFC 125 μ g/mL)	COSTA et al., 2010
Goiás, Brasil	Folhas (HD)	Selina-1,3,7-(11)-trien-8-ona (48,2%), epóxido de selina-1,3,7-(11)-trien-8-ona (19,3%), atractilona (11,7%), germacreno B (5,9%)	Antimicrobiano, ensaio com microdiluição em caldo (<i>P. brasiliensis</i> , MIC 250 μ g/mL; MFC 250 μ g/mL)	COSTA et al., 2010
Osasco, SP, Brasil	Folhas (AV)	Atractilona (26,8%), curzereno (18,0%), germacreno B (9,3%)	Antimicrobiano, ensaio com difusão em ágar e microdiluição em caldo (<i>Streptococcus equi</i> , MIC 7,50 mg/mL; <i>Staphylococcus epidermis</i> , MIC 7,5 mg/mL; <i>Candida dubliniensis</i> , MIC 0,23 mg/mL; <i>C. tropicalis</i> , MIC 0,90 mg/mL; <i>C. albicans</i> , MIC 1,80 mg/mL; <i>C. glabrata</i> , MIC 0,93 mg/mL; <i>C. parapsilosis</i> , MIC 3,75 mg/mL; <i>C. grubii</i> serotipo A, MIC 0,45 mg/mL; <i>C. gattii</i> serotipo C, MIC 1,80 mg/mL; <i>C. gattii</i> serotipo B, MIC 0,22 mg/mL; <i>C. neoformans</i> serotipo D, MIC 0,11 mg/mL; <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , MIC 0,22 mg/mL.	LAGO et al., 2011

OE: Óleo essencial; HD: Hidrodestilação; AV: Destilação por arraste a vapor; SPME: Microextração na fase sólida; MIC: Concentração inibitória mínima.

Tabela 1. Continuação

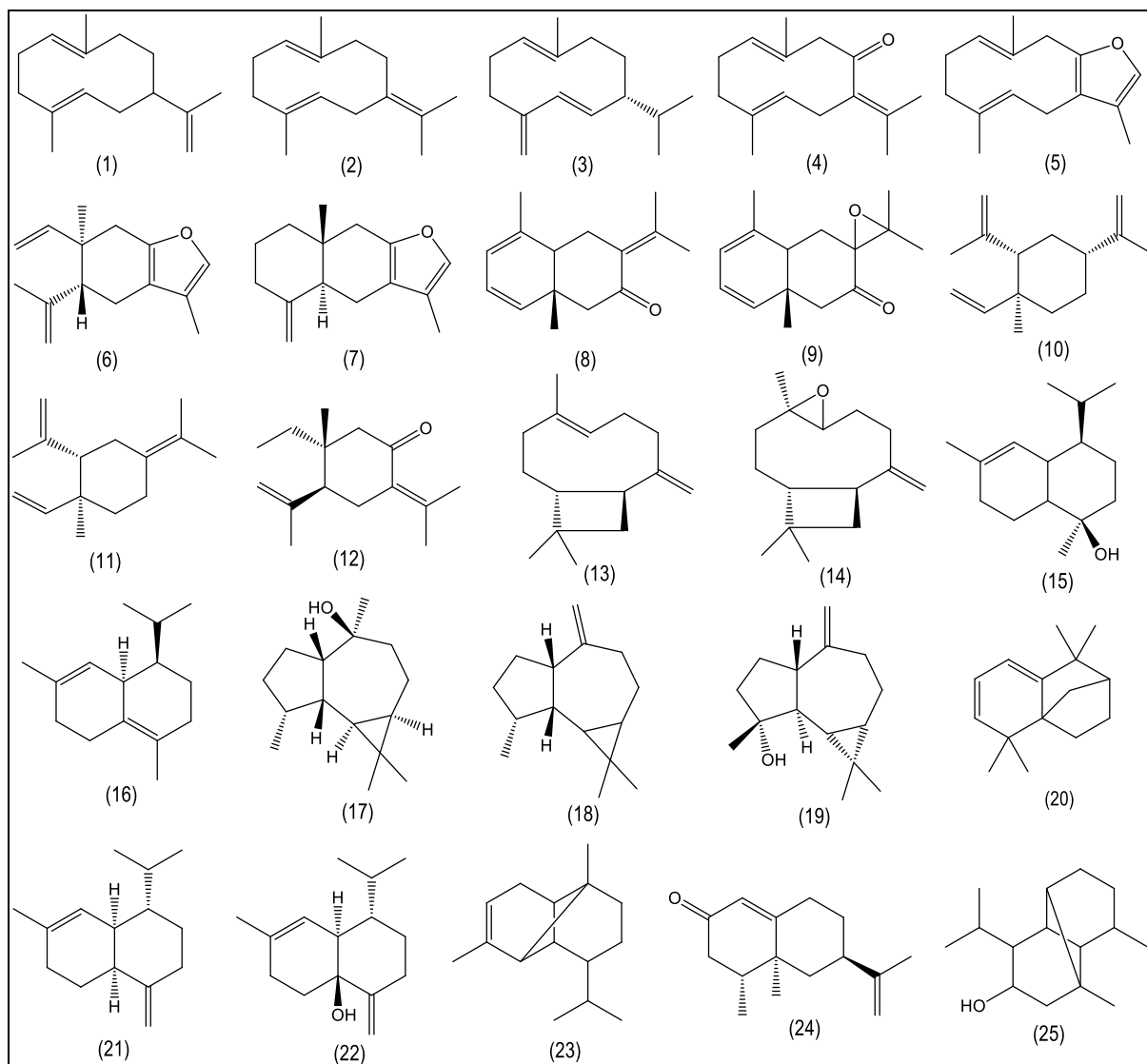
Local de coleta	OE	Compostos majoritários (> 5%)	Atividade do OE	Referência
Belém, PA, Brasil.	Folhas e ramos finos	Germacrona (32,8%), curzereno (30,0%), germacreno B (15,6%)		MAIA et al., 1999
Bahia, Brasil	Folhas (SPME)	β -cariofileno (7,1%), γ -elemeno (8,5%), germacreno D (5,5%), γ -muuroleno (5,3%), germacreno B (9,5%), (<i>E,E</i>)-germacrona (5,1%), β -elemeno (7,4%)		MESQUITA et al., 2017
Bahia, Brasil	Folhas (SPME)	γ -elemeno (8,1%), germacreno D (6,1%), γ -muuroleno (7,7%), germacreno B (9,0%), β -elemeno (5,0%)		MESQUITA et al., 2017
Bahia, Brasil	Folhas (SPME)	γ -elemeno (8,0%), germacreno D (6,5%), germacreno B (9,6%), β -elemeno (9,3%), β -cariofileno (5,2%), γ -muuroleno (5,0%)		MESQUITA et al., 2017
Oyo, Oyo, Nigéria	Folhas (HD)	Curzereno (19,7%), selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (17,8%), atractilona (16,9%), furanodieno (9,6%), epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (5,9%) germacreno B (5,8%)	Antimicrobiano, método de microdiluição em caldo (<i>Bacillus cereus</i> , MIC 39 μ g/mL; <i>Staphylococcus aureus</i> MIC 156 μ g/mL; <i>Escherichia coli</i> MIC 625 μ g/mL; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> MIC 625 μ g/mL) Citotóxico (PC-3 carcinoma humano de próstata, Mortes nas concentrações utilizadas: 99,55%; Hep G2 carcinoma hepatocelular, 99,96%; Hs 578T carcinoma humano ductal da mama, 100%)	OGUNWANDE et al., 2005
Cairo, Egito	Folhas	espatulenol (15,8%), α -copaeno (10,96%), muurola-4,10-dien-1- β -ol (9,3%), óxido de cariofileno (8,93%), <i>allo</i> -aromadendreno (5,50%), nootkatona (5,17%)	Antimicrobiano, ensaio com microdiluição em caldo (<i>Bacillus licheniformis</i> MIC 0,63 mg/mL) Citotóxico (MCF-7 carcinoma humano da mama IC ₅₀ 76,40 μ g/mL) anti- <i>Trypanosoma</i> (<i>Trypanosoma brucei brucei</i> , IC ₅₀ 11,20 μ g/mL)	SOBEH et al., 2016

OE: Óleo essencial; HD: Hidrodestilação; AV: Destilação por arraste a vapor; SPME: Microextração na fase sólida; MIC: Concentração inibitória mínima.

Fonte: O autor.

A Figura 13 ilustra as estruturas moleculares dos compostos identificados nos óleos essenciais de *E. uniflora*.

Figura 13. Estruturas de compostos identificados nos óleos essenciais de *Eugenia uniflora*



(1) germacreno A, (2) germacreno B, (3) germacreno D, (4) germacrona, (5) furanodieno, (6) curzereno, (7) atractilona, (8) selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, (9) óxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, (10) β-elemeno, (11) γ-elemeno, (12) *trans*-β-elemenona, (13) β-cariofileno, (14) óxido de cariofileno, (15) *epi*-α-cadinol, (16) δ-cadineno, (17) viridiflorol, (18) *allo*-aromadendreno, (19) espatulenol, (20) 9,10-deidroisolongifoleno, (21) γ-muuroleno, (22) muurola-4,10-dien-1-β-ol, (23) α-copaeno, (24) nootkatona, (25) deidro-*cis*-α-copaeno-8-ol

Fonte: O autor.

4 METODOLOGIA

4.1 LOCAL DE COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO

O material botânico de um espécime de *Eugenia uniflora* foi coletado na ilha de Caratateua (Outeiro), município de Belém, Pará (1°15'04,1" de latitude Sul 48°27'23,7" de longitude Oeste), as folhas foram coletadas mensalmente (outubro 2017 a setembro 2018) para avaliação sazonal. Ao todo foram coletadas 12 amostras.

A preparação de exsicatas, registro, incorporação no herbário e identificação da espécie foi feita segundo técnica tradicional em botânica, ou seja, prensagem, anotação de dados fenológico, etnobotânico, ambiente, tipo de vegetação. A identificação botânica foi feita por comparação morfológica com amostras autênticas, com a incorporação de uma exsicata no Herbário "João Murça Pires" do Museu Paraense Emílio Goeldi em Belém, Pará, sob número de registro MG-228493.

Os dados climáticos, como umidade da atmosfera, chuva acumulada mensal, temperatura média e radiação solar, foram consultados no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2014) na estação automática de Belém-PA. A estação é equipada com um Vaisala modelo MAWS 301 (Finlândia), usado como padrão para rede de estações automáticas de superfície. Os períodos climáticos foram determinados a partir do índice pluviométrico e dados da literatura.

4.2 PROCESSAMENTO DO MATERIAL BOTÂNICO

A preparação do material para destilação do óleo essencial no Laboratório de Engenharia de Produtos Naturais da Universidade Federal do Pará (UFPA) foi realizada em várias etapas. As folhas foram separadas dos galhos e colocadas sobre bandejas, em estufa, com ventilação (35°C), para secagem durante dois dias. Após secagem, foi cortado em moinho com facas, homogeneizada, pesada e submetida aos processos de extrações.

4.3 EXTRAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES VOLÁTEIS

4.3.1 Extração dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação, utilizando-se a metodologia descrita por Maia e Andrade (2009), em sistema de vidro do tipo Clevenger modificado, acoplado a um sistema de refrigeração para manutenção da água de condensação entre 10-15°C, durante 3 h.

Após a extração, os óleos foram centrifugados durante 5 min a 3000 rpm, desidratados com Na₂SO₄ anidro e novamente centrifugados nas mesmas condições. Os óleos foram armazenados em ampolas de vidro âmbar, vedadas com chama e acondicionados em geladeira a 5°C.

4.3.2 Cálculo do rendimento dos óleos essenciais

Os rendimentos (%) dos óleos essenciais extraídos da biomassa vegetal foram calculados das amostras livres de umidade (BLU) através da relação entre massa, óleo e umidade, equação 1.

$$\% \text{ óleo BLU} = \left(\frac{\text{vol. do óleo obtido (mL)}}{\text{massa do material (g)} - \left(\frac{\text{massa do material (g)} \cdot \text{umidade (\%)}}{100} \right)} \right) \times 100\% \quad \text{Equação 1}$$

A determinação da umidade residual das amostras foi realizada por meio de um determinador de umidade Gehaka®, modelo IV 2500 por secagem com infravermelho concomitantemente a extração.

4.3.3 Análise da composição química

A composição química dos óleos essenciais foi analisada por cromatografia de fase gasosa acoplada a espectrometria de massas em condições descritas na Tabela 2 (p. 34).

Tabela 2. Condições do CG/EM utilizado na análise da composição química

Equipamento	Shimadzu QP 2010 ultra, Auto-injetor: AOC-20i
Coluna	Coluna capilar de sílica Rtx-5MS (Restek, EUA) de 30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno revestido com 5%-difenil/95%-dimetil-polisiloxano (0,25 µm de espessura do filme)
Temperatura da coluna	60°C-240°C (3°C/min)
Temperatura do injetor	250°C
Gás de arraste	Hélio
Velocidade do gás de arraste	1mL/min
Tipo de injeção	Split 1:20 (solução de 5 µL de óleo em 500 µL de Hexano)
Volume de injeção	1 µL
Impacto eletrônico	70 eV
Temperatura da fonte de íons	200°C

Fonte: O autor.

Os constituintes voláteis foram identificados por comparação de seus espectros de massas e índices de retenção com aqueles existentes na literatura (ADAMS, 2007) e na base de dados do sistema (NIST, 2014). Os índices de retenção foram determinados de acordo com a equação de Van den Dool E Kratz (1963), demonstrada na Equação 2, que relaciona o tempo de retenção dos compostos ao tempo de retenção de uma série de hidrocarbonetos homólogos (C₈-C₂₀).

$$IR = \left(\frac{100}{T.R.(HP) - T.R.(HA)} \right) \times T.R.(X) - T.R.(HA) + I.K.(HA) \quad \text{Equação 2}$$

Onde,

T.R.: Tempo de retenção

HP: Hidrocarboneto que elui em tempo de retenção posterior a substância desconhecida

HA: Hidrocarboneto que elui em tempo de retenção anterior a substância desconhecida

I.K.: Índice Kóvalts

X: Substância desconhecida

4.3.4 Quantificação dos voláteis

A quantificação dos compostos voláteis foi feita por cromatografia gasosa com detector de ionização em chamas (FID) em sistema Shimadzu QP 2010 nas mesmas condições que a CG/EM, exceto que hidrogênio foi utilizado como gás de arraste.

4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para a avaliação da atividade antioxidante frente ao método do DPPH foi utilizada a metodologia adaptada de Da Silva et al. (2017). Foram preparadas soluções estoque de 10 mg/mL com os óleos essenciais em etanol. Alíquotas destas soluções (50 µL) foram misturadas com 900 µL de tampão tris-HCl 100 mM (pH 7,4), 50 µL de tween 20 a 0,5% (m/m) e 1000 µL de DPPH 60 µM e incubadas à temperatura ambiente no escuro por 120 min. Foi feito um branco substituindo a solução estoque por etanol. As absorbâncias foram medidas a cada 30 min a 517 nm (Shimadzu, UV 1800). A porcentagem de inibição dos radicais DPPH' (IDPPH) para os óleos essenciais foram calculadas de acordo com a equação 3.

$$I_{\text{DPPH}}(\%) = \left(\frac{A_b - A_a}{A_b} \right) \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Na qual:

A_b = Absorbância do branco a 517 nm

A_a = Absorbância da amostra a 517 nm

Todos os experimentos foram realizados em triplicatas. Os percentuais de inibição dos óleos essenciais foram comparados com a inibição induzida pelo padrão Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico), para tanto foi construída uma curva de calibração com Trolox nas concentrações de 30, 60, 150, 200 e 250 µg/mL em etanol nas mesmas condições utilizadas para determinar a inibição de óleos essenciais. A capacidade antioxidante total expressa em mg.ET/g foi calculada de acordo com a equação 4.

$$\text{mg} \frac{\text{ET}}{\text{g}} = \left(\frac{A_b - A_a}{A_b} \right) \times 100 \times a \times D \quad \text{Equação 4}$$

Onde,

A_b = Absorbância do branco a 517 nm

A_a = Absorbância da amostra a 517 nm

a = coeficiente angular da curva (I%)

D = fator de diluição do óleo na mistura final.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A composição química foi submetida a análise multivariada (Análise Hierárquica de Agrupamento e Análise dos Componentes Principais) no software Minitab® versão 18. Os rendimentos, teores de curzereno e atividade antioxidante foram analisados por teste de Tukey no software GraphPad Prism 5.0. Para verificação da correlação dos dados obtidos com os parâmetros climáticos foi realizada correlação de Pearson no software Minitab® versão 18.

4.5.1 Análise Hierárquica de Agrupamento

A composição química dos OEs foi submetida a Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA, do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*) tomando como variáveis os compostos com teores iguais ou superiores a 3%. O método empregado foi utilizando uma matriz de distância Euclidiana e ligação simples. Os dados foram pré-processados através do autoescalamento onde centram-se os dados na média e divide-se cada um pelo desvio padrão, de forma que todas as variáveis tenham o mesmo peso.

4.5.2 Análise dos Componentes Principais

Na Análise dos Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*), os dados multivariados também foram autoescalados e agrupados de acordo com as similaridades encontradas.

4.5.3 Teste de Tukey

Os dados do rendimento, teor de curzereno e atividade antioxidante foram analisados por análise de variância (ANOVA) de um fator, seguida de teste de Tukey, com 95% de significância, com o software GraphPad Prism 5.0.

4.5.4 Correlação de Pearson

Os coeficientes de correlação de Pearson (R) foram calculados para determinar a correlação entre os parâmetros analisados (Minitab, versão 18).

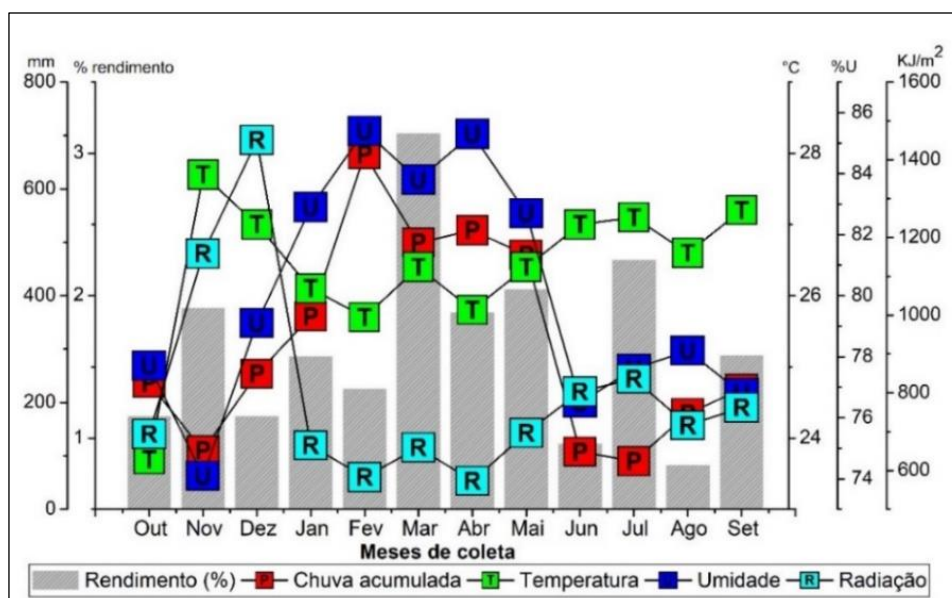
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO EM ÓLEO ESSENCIAL VS PARÂMETROS CLIMÁTICOS

Os parâmetros climáticos: temperatura, radiação solar, precipitação e umidade relativa do ar foram monitorados nos doze meses (outubro/2017 a setembro/2018), para avaliar a influência da sazonalidade no rendimento e composição do óleo essencial de *E. uniflora*. Durante o período de estudo, os valores médios de temperatura variaram de 23,7 °C (outubro) a 27,7 °C (novembro), a radiação solar de 573,4 KJ/m² (abril) a 1450,7 KJ/m² (dezembro), a umidade relativa média foi de 74,1% (novembro) a 85,4% (fevereiro), e a precipitação média variou de 90 mm (julho) a 664,4 mm (fevereiro).

Com base nos dados de precipitação, a estação chuvosa ocorreu no período de dezembro a abril (360,8 - 664,4 mm) e o período seco nos meses de outubro, novembro e junho a setembro (90 - 236,6 mm). O mês de maio (476,6 mm) foi de transição entre os dois períodos. Quanto a temperatura, esta variou de 25,7 °C (fevereiro) a 27,0 °C (dezembro) no período chuvoso e de 23,7 °C (outubro) a 27,7 °C (novembro). No mês de transição a temperatura média foi 26,4 °C (Figura 14).

Figura 14. Rendimento de óleos essenciais (%) de *Eugenia uniflora* e parâmetros climáticos monitorados durante estudo sazonal: umidade relativa do ar (%); precipitação (mm); temperatura (°C) e radiação solar (KJ / m²)



Fonte: O autor.

O clima da região amazônica brasileira é caracterizado por apenas duas estações: período seco e chuvoso. Devido ao clima úmido e quente, a Amazônia apresenta heterogeneidade espacial e sazonal pluviométrica. A cidade de Belém, localizada no hemisfério sul da região amazônica, geralmente apresenta os meses de fevereiro, março e abril com maior índice pluviométrico e junho, julho e agosto com o menor. Na porção sul da Amazônia, o período chuvoso normalmente se inicia em dezembro e termina em abril. Porém, o início e o fim do período chuvoso pode sofrer alteração ao longo dos anos (MARENGO e NOBRE, 2009).

No estudo anual, o rendimento em óleo essencial de *E. uniflora* variou de 0,8% (agosto) a 3,1% (março), com média de $1,7 \pm 0,6\%$ durante todo o período de estudo (Tabela 3, p. 42). Não houve diferença estatisticamente significativa no rendimento entre os períodos seco ($1,4 \pm 0,6\%$) e chuvoso ($1,8 \pm 0,8\%$), nem houve correlação significativa ($p < 0,05$) entre os fatores climáticos temperatura ($R = 0,17$), precipitação ($R = 0,31$), radiação solar ($R = -0,17$) e umidade relativa ($R = 0,32$) e o teor de óleo essencial.

Os resultados indicaram que os rendimentos dos OEs de *E. uniflora* não apresentaram correlação com as condições climáticas e ao período sazonal. Estudos anteriores relataram rendimentos de 1,8% e 0,7% em OE para amostras *E. uniflora* coletadas nas cidades de Belém (PA) e São Lourenço do Sul (RS), respectivamente (BECKER et al., 2017; MAIA et al., 1999). O estudo sazonal do OE de um espécime de *E. uniflora* coletada em Anápolis, Goiás, rico em epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (29,0%), indicaram que o rendimento obtido no período chuvoso foi $0,3 \pm 0,3\%$ e no período seco $0,2 \pm 0,2\%$ (COSTA et al., 2009).

Espécies de *Eugenia* coletadas em Brasília (DF) mostraram resultados divergentes em relação a este trabalho: o rendimento de *E. lutescens* foi maior na estação chuvosa ($0,25 \pm 0,01\%$), quando a temperatura foi menor e a umidade relativa maior. Por outro lado, *E. langsdorffii* apresentou o maior rendimento na estação seca ($0,60 \pm 0,03\%$), com maior temperatura e menor umidade. As diferenças no rendimento do óleo podem ser atribuídas aos fatores genéticos, ambientais e geográficos (RIBEIRO et al., 2016).

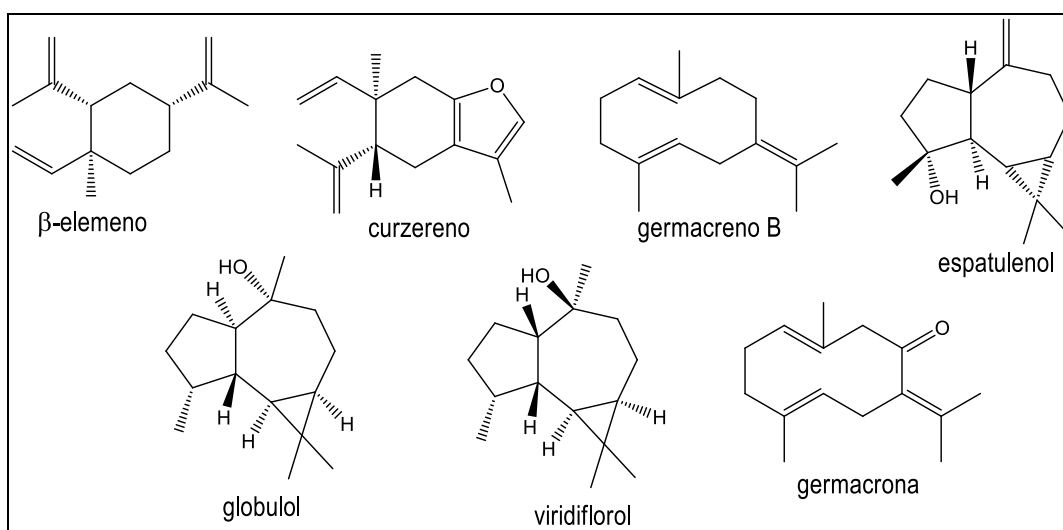
5.2 ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A Tabela 3 (p. 42) apresenta os oitenta e cinco constituintes identificados nos OEs de *E. uniflora*, listados em ordem crescente de seus respectivos índices de retenção (IR), representando em média 77,37% do conteúdo total dos OEs. Os cromatogramas encontram-se no apêndice A (p. 62). A Figura 15 (p. 41), mostra as estruturas químicas dos constituintes em maior teor (>5%) identificados.

A

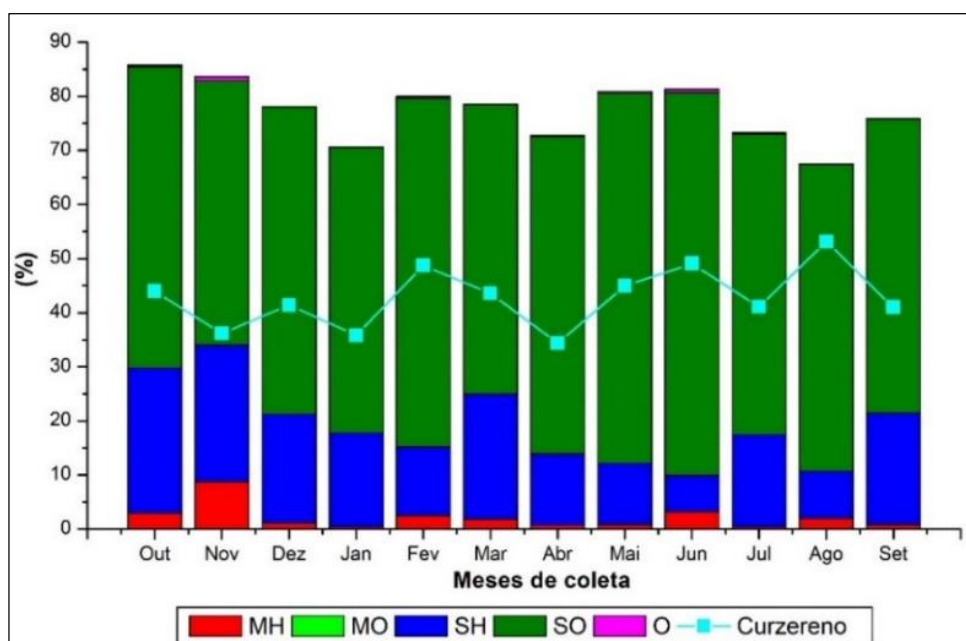
Figura 16 (p. 41) mostra que apesar do teor de curzereno ter permanecido praticamente constante, houve variação entre as classes de compostos presentes nos óleos, ou seja, os compostos minoritários contribuíram para essa alteração. Em todo o estudo, a classe dos sesquiterpenos oxigenados foi predominante nos óleos (49,0-70,8%), seguida dos sesquiterpenos hidrocarbonetos (6,6-26,9%). As classes dos monoterpenos hidrocarbonetos (0,5-8,7%) e oxigenados (0,0-0,1%) apresentaram-se em menor teor.

Figura 15. Estruturas químicas de compostos identificados nos óleos essenciais de *Eugenia uniflora*



Fonte: O autor.

Figura 16. Variação nos teores das classes de compostos e curzereno presentes nos óleos essenciais



MH: Monoterpenos hidrocarbonetos; **MO:** Monoterpenos oxigenados; **SH:** Sesquiterpenos hidrocarbonetos; **SO:** Sesquiterpenos oxigenados; **O:** Outros.

Fonte: O autor.

Tabela 3. Composição química dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora*

Rendimento (%)			1,2	1,9	1,2	1,6	1,3	3,1	1,9	2,0	1,0	2,2	0,8	1,6
IR _(C)	IR _(L)	Constituintes (%)	Out.	Nov.	Dez.	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.
785	782 ^a	Hexan-3-ona				tr				0,1				
788	786 ^b	Hexan-2-ona				tr	tr		tr	0,1	0,1	tr		
792	795 ^b	Hexan-3-ol				tr	tr	tr	0,1	0,1	0,1	tr		
795	802 ^a	Hexa-2-nol				tr	tr	tr	0,1	0,1	0,2			
847	846 ^a	Hex-2 <i>E</i> -enal	0,1	0,2	tr	tr	0,1	0,1	tr	tr	0,3	tr	tr	tr
849	850 ^a	Hex-3 <i>Z</i> -enol	0,1	0,1			0,1	tr					tr	
892	891 ^a	Estireno								tr		0,1		tr
991	988 ^a	Mirceno	0,5	1,6	0,2	0,1	0,5	0,3	0,2	0,4	1,1	0,1	0,3	0,2
1028	1025 ^a	β-felandreno	0,3	0,7		tr		0,1						
1028	1024 ^a	Limoneno			0,1		0,3		0,2	0,2	0,5	0,1	0,2	0,2
1036	1032 ^a	(<i>Z</i>)-β-ocimeno	0,6	2,0	0,2	0,1	0,5	0,4	0,1	0,1	0,6	0,1	0,4	0,1
1046	1044 ^a	(<i>E</i>)-β-ocimeno	1,5	4,3	0,6	0,2	1,1	1,0	0,2	0,2	1,0	0,1	1,1	0,2
1098	1099 ^a	Óxido de α-pineno					0,1							
1099	1095 ^a	Linalool	tr	0,1			0,1				0,1	tr		tr
1128	1128 ^a	<i>allo</i> -Ocimeno		0,1										
1180	1178 ^a	Naftaleno										0,1		tr
1185	1184 ^a	Butanoato de hex-3 <i>Z</i> -enila	0,1	0,1			tr		tr			tr		0,1
1336	1335 ^a	δ-Elemeno	1,2	1,6	0,7	0,5	0,4	0,9	0,4	0,3	0,1	0,7	0,6	0,6
1374	1374 ^a	Isoledeno	tr	0,1		tr	tr	tr	tr			0,1		tr
1376	1374 ^a	α-Copaeno	tr	tr	tr							0,1		tr
1385	1389^a	β-Elemeno	5,0	4,4	3,8	2,8	3,3	4,2	3,5	3,3	1,8	5,8	2,6	4,4
1411	1409 ^a	α-Gurjuneno	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1			0,2		0,1
1420	1417 ^a	β-Cariofileno	0,3	0,3	0,3	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1		0,3	0,1	0,2

IR_(C): Índice de Retenção calculado; IR_(L): Índice de retenção da literatura; **Out**: Outubro; **Nov**: Novembro; **Dez**: Dezembro; **Jan**: Janeiro; **Fev**: Fevereiro; **Mar**: Março; **Abr**: Abril; **Mai**: Maio; **Jun**: Junho; **Jul**: Julho; **Ago**: Agosto; **Set**: Setembro. tr: traços; ^a: biblioteca Adams; ^b: biblioteca Flavour and Fragrance. Principais constituintes (>5%) em negrito.

Tabela 3. Continuação

IR _(C)	IR _(L)	Constituintes (%)	Out.	Nov.	Dez.	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.
1428	1430 ^a	β-Copaeno			0,1			0,1						0,1
1434	1434 ^a	γ-Elemeno	3,7	2,9	2,6	2,1	1,4	2,7	1,3	1,2	0,8	2,8	1,7	2,3
1440	1439 ^a	Aromadendreno	0,4	0,4	0,3	0,4	0,2	0,4	0,3	0,2		0,6		0,4
1444	1445 ^b	Selina-5,11-dieno	0,1	0,1	0,1	0,1	tr					0,1		0,1
1451	1452 ^b	Cadina-3,5-dieno	tr					0,1						
1452	1448 ^a	cis-Muurolo-3,5-dieno		0,1		tr		tr						
1454	1452 ^a	α-Humuleno	0,1	0,1	tr				tr			0,1		
1460	1458 ^a	allo-Aromadendreno							0,5		0,2		0,3	
1462	1464 ^a	9-epi-β-cariofileno	0,7	0,8	0,5	0,5	0,4	0,7		0,5		1,0		0,8
1476	1476 ^b	Selina-4,11-dieno	0,4	0,5	0,3	0,4	0,2	0,4	0,2			0,5	0,2	0,4
1482	1478 ^a	Germacreno D	2,7	2,8	1,7		0,8	2,5	0,6	0,4	0,5	0,9	1,5	
1481	1478 ^a	γ-Muuroloeno				1,4								1,0
1487	1481 ^a	β-Selineno	0,6	0,7	0,8	0,8	0,5	0,6	0,6	0,6		0,6	0,4	0,5
1492	1492 ^a	δ-Selineno	0,3	0,4	0,2	0,2	0,1	0,3	0,1			0,2	0,1	0,1
1496	1496 ^a	Viridifloreno	1,4	4,1	1,9	2,4	0,8	2,7	1,4	0,8	0,2	2,8	0,8	3,2
1503	1499^a	Curzereno	44,0	36,2	41,4	35,8	48,7	43,6	34,4	45,0	49,1	41,1	53,1	41,0
1502	1500 ^a	α-Muuroloeno	0,2				0,1	0,2	0,1	0,1			0,1	
1504	1508 ^a	Germacreno A								0,1	0,2			
1511	1509 ^a	α-Bulneseno	0,9	0,1			0,2					0,2		0,2
1516	1513 ^a	γ-Cadineno		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1				0,3	
1519	1520 ^a	7-epi-α-Selineno	0,1	0,1	tr									
1525	1522 ^a	δ-Cadineno	0,5	0,5	0,5	0,5	0,2	0,5	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
1536	1532 ^a	γ-Cupreneno	0,1	0,1										
1538	1540 ^b	Selina-4(15),7(11)-dieno	0,3	0,3	0,1									

IR_(C): Índice de Retenção calculado; IR_(L): Índice de retenção da literatura; **Out**: Outubro; **Nov**: Novembro; **Dez**: Dezembro; **Jan**: Janeiro; **Fev**: Fevereiro; **Mar**: Março; **Abr**: Abril; **Mai**: Maio; **Jun**: Junho; **Jul**: Julho; **Ago**: Agosto; **Set**: Setembro. tr: traços; ^a: biblioteca Adams; ^b: biblioteca Flavour and Fragrance. Principais constituintes (>5%) em negrito.

Tabela 3. Continuação

IR _(C)	IR _(L)	Constituintes (%)	Out.	Nov.	Dez.	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.
1542	1546 ^b	Selina-3,7(11)-dieno	0,2										0,1	0,2
1559	1559^a	Germacreno B	7,5	5,0	6,0	4,8	3,9	6,6	3,5	3,5	2,8		0,1	5,9
1566	1566 ^a	Maaliol								0,7				
1578	1577^a	Espatulenol	1,7	0,5	3,4	1,7	4,2	0,8	5,4	7,0	6,9	1,2	3,3	1,6
1583	1590^a	Globulol					2,7		4,1	3,6	1,5	7,4	2,1	5,1
1592	1592^a	Viridiflorol	1,3	1,8	1,9	2,7	1,5	1,9	2,4	2,0	1,0	4,7	0,8	6,2
1594	1595 ^a	Cubeban-11-ol	0,5	0,7	0,6	1,1	0,5		0,7	0,6				
1603	1600 ^a	Rosifoliol	0,5	0,6	0,6	1,1	0,5	0,6	0,5	0,6	0,2			
1604	1602 ^a	<i>trans</i> - β -Elemenona	0,8	0,9	1,1	1,9	0,8	0,9	1,3	1,0	1,7		0,4	
1618	1618 ^a	Junenol	0,1	0,2										
1632	1630 ^a	γ -Eudesmol	0,1	0,2	0,2									
1638	1632 ^a	8-isobutirioxil isoborneol		0,4										
1641	1640 ^a	<i>epi</i> - α -Murrolol	0,6	0,8	0,9									
1646	1644 ^a	α -Muurolol	0,1	0,3	0,3									
1655	1652 ^a	α -Cadinol	1,1	2,2	0,2				3,1	1,8				
1657	1657 ^a	Atractilona	0,7	0,8	0,8	1,1	1,4	0,9	1,3	1,2		1,3	0,1	0,5
1666	1665 ^a	Intermedeol	tr	0,2										
1698	1693^a	Germacrona	4,2	3,8	5,4	7,5	4,2	4,8	5,6	5,2	10,5		0,2	
		Monoterpenos hidrocarbonetos	2,9	8,7	1,1	0,5	2,4	1,8	0,8	0,8	3,2	0,5	2,0	0,8
		Monoterpenos oxigenados	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
		Sesquiterpenos hidrocarbonetos	26,9	25,2	20,1	17,3	12,7	23,1	13,1	11,3	6,6	16,9	8,7	20,6
		Sesquiterpenos oxigenados	55,7	49,0	56,9	52,8	64,4	53,5	58,7	68,5	70,8	55,7	56,7	54,3
		Outros	0,3	0,8	0,0	0,1	0,4	0,1	0,2	0,4	0,6	0,3	0,1	0,2
		Total	85,8	83,7	78,1	70,7	80,0	78,5	72,8	80,9	81,3	73,3	67,5	75,9

IR_(C): Índice de Retenção calculado; IR_(L): Índice de retenção da literatura; **Out**: Outubro; **Nov**: Novembro; **Dez**: Dezembro; **Jan**: Janeiro; **Fev**: Fevereiro; **Mar**: Março; **Abr**: Abril; **Mai**: Maio; **Jun**: Junho; **Jul**: Julho; **Ago**: Agosto; **Set**: Setembro. tr: traços; ^a: biblioteca Adams; ^b: biblioteca Flavour and Fragrance. Principais constituintes (>5%) em negrito.

Fonte: O autor.

O sesquiterpeno oxigenado curzereno foi o composto majoritário dos óleos essenciais durante todo o estudo sazonal. A concentração de curzereno variou de 36,2 (abril) a 53,1% (agosto). O teor médio de curzereno durante o período seco ($42,7\% \pm 6,1$) e chuvoso ($40,8 \pm 5,9\%$) não apresentou diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Além disso, as variáveis climáticas temperatura ($R = -0,10$), umidade relativa ($R = -0,07$), radiação solar ($R = -0,19$) e precipitação ($R = -0,03$) não tiveram correlação significativa com o teor de curzereno ($p > 0,05$), como pode ser visto pelos dados de correlação na Tabela 4 (p. 46) **Tabela 4. Correlação entre os principais constituintes dos óleos com os parâmetros climáticos.**

Outros compostos também foram identificados em quantidades significativas, tais como os sesquiterpenos hidrocarbonetos β -elemeno (1,8-5,0%) e germacreno B (0,1-7,5%); e os sesquiterpenos oxigenados espatulenol (0,5-7,0%), globulol (1,5-7,4%), viridiflorol (0,8-6,2%) e germacrona (0,2-10,5%). Óleos essenciais de *Eugenia uniflora* coletados na Amazônia exibiram diferenças em suas composições químicas com ocorrência de quatro quimiotipos: selin-1,3,7(11)-trien-8-ona (32,56-43,08%) e epóxido de selin-1,3,7(11)-trien-8-ona (21,66%-30,38%); selin-1,3,7(11)-trien-8-ona (18,12%), epóxido de selin-1,3,7(11)-trien-8-ona (16,04%) e óxido de cariofileno (18,12%); curzereno (50,48%); germacreno B (18,42%), curzereno (13,40%), e β -cariofileno (9,12%) (FIGUEIREDO et al. 2019). A variabilidade na composição química do óleo essencial de *E. uniflora* descrita na literatura é mostrada na seção 3.5 (Tabela 1, p. 28).

A partir da análise do coeficiente de correlação de Pearson (R) verificou-se que não houve correlação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os principais constituintes dos OEs e os parâmetros climáticos. Os coeficientes de correlação entre os compostos majoritários com a temperatura, umidade relativa, radiação solar e precipitação podem ser observados na Tabela 4 (p. 46). Os resultados acima sugeriram que a variação na composição química durante o estudo não se correlacionou aos fatores climáticos. A alteração pode ser atribuída a outros aspectos como mostrados na seção 3.2 (p. 14).

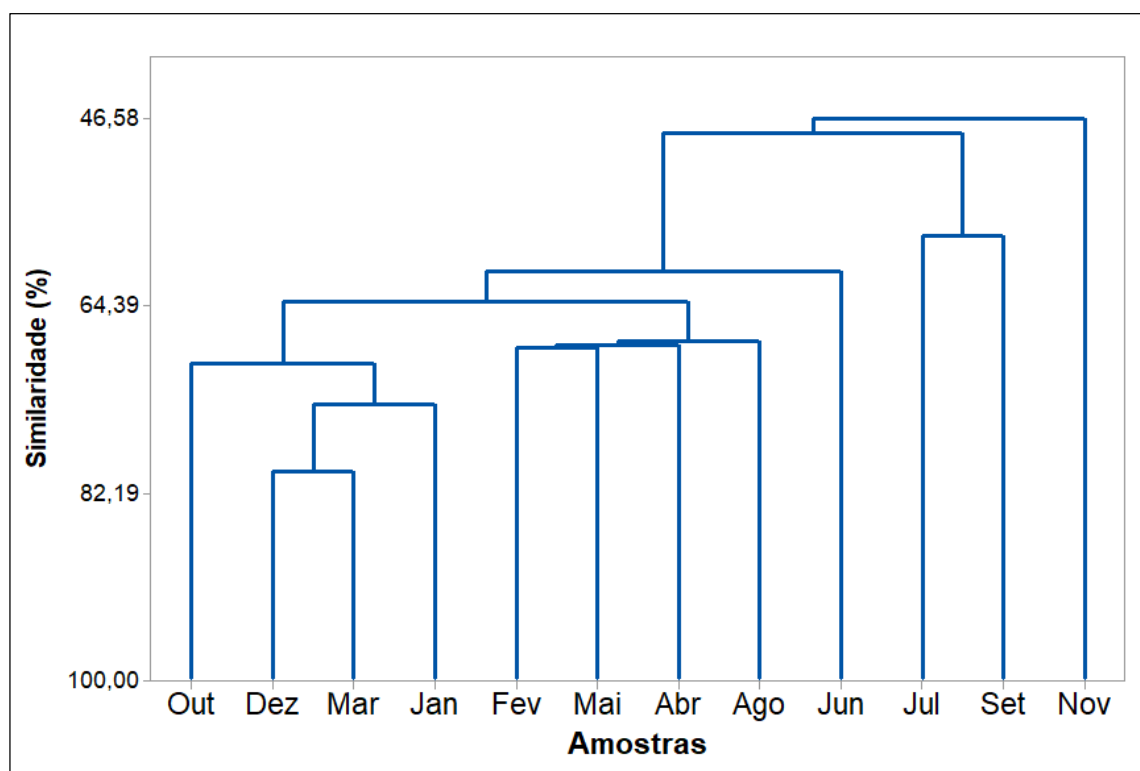
Tabela 4. Correlação entre os principais constituintes dos óleos com os parâmetros climáticos

Constituintes	Coeficiente de correlação (R)			
	Fatores climáticos			
	Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)	Radiação solar (KJ/m ²)	Precipitação (mm)
Curzereno	-0,10	-0,07	-0,19	-0,03
β-Elemeno	-0,11	-0,24	0,18	-0,19
γ-Elemeno	-0,23	-0,38	0,34	-0,34
Germacreno D	-0,20	-0,30	0,36	-0,19
Viridifloreno	0,42	-0,34	0,36	-0,29
Germacreno B	-0,36	0,07	0,16	0,25
Espatuleno	-0,05	0,32	-0,20	0,29
Globulol	0,23	0,02	-0,29	-0,05
Viridiflorol	0,33	-0,15	-0,03	-0,17
Germacrona	-0,14	0,25	0,00	0,20
Monoterpenos hidrocarbonetos	0,21	-0,52	0,35	-0,33
Monoterpenos oxigenados	0,10	-0,24	0,04	-0,02
Sesquiterpenos hidrocarbonetos	-0,19	-0,25	0,32	-0,13
Sesquiterpenos oxigenados	-0,09	0,25	-0,26	0,26
Outros	0,20	-0,43	0,10	-0,27

Fonte: O autor.

A aplicação de Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA), gerou o dendrograma (Figura 17), o qual mostra que a composição química dos óleos essenciais tem 46,58% de similaridade em si.

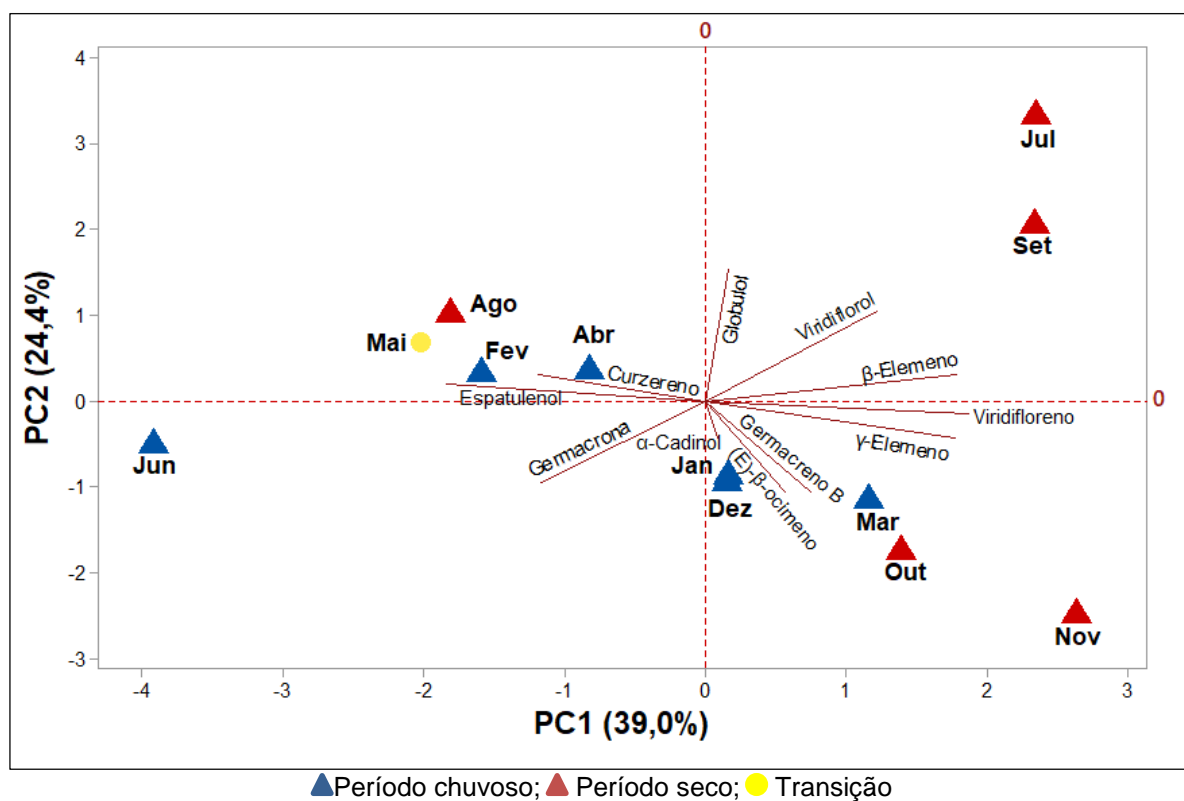
Figura 17. Análise Hierárquica de Agrupamento da composição química (>3%) dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora*



Fonte: O autor.

Na Análise dos Componentes Principais (PCA), mostrada na Figura 18, as principais componentes (PC1 e PC2) explicaram 39,0% e 24,4% da variabilidade dos dados, respectivamente, o que representa 63,4% da variabilidade total. O PCA mostra que não houve separação entre as amostras provenientes do período seco e chuvoso.

Figura 18. Análise dos componentes principais feito a partir da composição química (>3%) dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora*



Fonte: O autor.

O estudo sazonal do óleo essencial de folhas de *E. uniflora* coletada no Cerrado brasileiro (estado de Goiás), indicou a existência de dois grupos: o grupo I, o qual conteve amostras coletadas na estação seca, caracterizado por espatulenol (10%) e óxido de cariofileno (4,1%) e o grupo II, amostras coletadas na estação úmida, ricas em epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (29%) (COSTA et al., 2009). Neste sentido, os resultados observados no presente estudo são divergentes, uma vez que não foi constatada influência da sazonalidade para o quimiotipo curzereno de *E. uniflora*.

Outro estudo avaliou o efeito da sazonalidade na composição dos OEs de duas espécies de *Eugenia* coletadas em Brasília. Os OEs das folhas de *E. langsdorffii* exibiram biciclogermacreno (14 e 15,0%, estação seca e chuvosa, respectivamente), β-cariofileno (9,5 e 9,1%) e espatulenol (11 e 8,2%), o que representou pouca variação. Nos OEs de *E. lutescens* os principais constituintes foram α-pineno (12,9 e 12,5%, estação seca e chuvosa, respectivamente), β-pineno (24,3 e 24,0%) e β-cariofileno (8,6 e 7,2%). Apesar de nas duas estações a porcentagem dos majoritários terem sido semelhantes, apenas 32,4% dos compostos foram identificados em comum

em ambos óleos, assim verificou-se que ocorreu diferença química no período chuvoso que seco (RIBEIRO et al., 2016).

As espécies *E. neonitida* e *E. rotundifolia*, tiveram suas folhas coletadas trimestralmente na cidade do Rio de Janeiro (RJ). Os compostos majoritários dos OEs foram biciclogermacreno (15,2-21,0%), germacreno D (5,7-18,7%) e β -cariofileno (6,7-11,0%) para em *E. neonitida*. Para *E. rotundifolia*, os principais foram α -pineno (19,7-34,4%), β -pineno (20,6-34,1%) e β -cariofileno (3,6-11,7%). Apesar das variações quantitativas e qualitativas nos OEs de ambas as espécies, a sazonalidade não interferiu de forma significativa (DEFAVERI et al., 2011).

5.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL

As amostras mostraram capacidade de sequestro do radical DPPH de $55,0 \pm 6,6\%$. Os valores da atividade antioxidante encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5. Atividade antioxidante dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora*

Mês de coleta	Capacidade antioxidante equivalente Trolox (mg ET/g)	Inibição (%)
Out.	322,3 \pm 3,4	47,4 \pm 0,5 ^a
Nov.	326,5 \pm 10,3	48,1 \pm 1,5 ^a
Dez.	435,0 \pm 0,6	64,0 \pm 0,1 ^b
Jan.	436,3 \pm 2,3	64,2 \pm 0,3 ^b
Fev.	378,2 \pm 6,2	55,7 \pm 0,9 ^c
Mar.	393,2 \pm 4,8	57,9 \pm 0,7 ^c
Abr.	371,1 \pm 7,1	57,3 \pm 0,4 ^{c,d}
Mai.	373,6 \pm 13,1	55,0 \pm 1,9 ^{c,d,e}
Jun.	339,4 \pm 1,6	51,1 \pm 3,1 ^a
Jul.	400,3 \pm 3,4	59,6 \pm 1,2 ^{c,d,f}
Ago.	186,9 \pm 7,7	42,6 \pm 0,3 ^h
Set.	286,6 \pm 4,0	57,9 \pm 0,4 ^{c,d,e,f,g}

valores com mesma letra na coluna não diferem estatisticamente no teste de Tukey ($p < 0,05$)

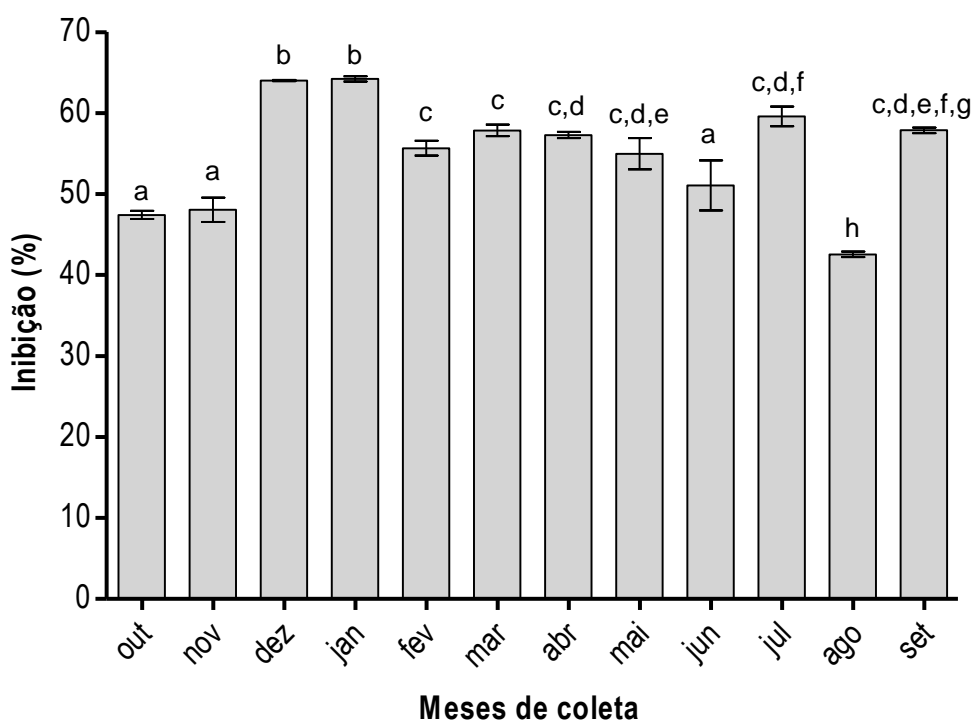
Fonte: O autor.

O maior percentual de inibição do DPPH foi observado nas amostras de óleo coletadas em dezembro (64,0%) e janeiro (64,2%). A capacidade antioxidante total foi expressa em valores de capacidade antioxidante equivalente Trolox e as amostras de dezembro (435,0 \pm 0,6 mg ET/g) e janeiro (436,3 \pm 2,3 mg ET/g) apresentaram atividade antioxidante significativa, apenas 2,3 vezes menores do que o padrão Trolox.

O teste de Tukey com nível de significância de 5% (Figura 19) mostrou que as inibições dos óleos essenciais extraídos nos meses de outubro/novembro/junho inibiram de forma estatisticamente semelhante ($p < 0,05$) e tiveram composição química 46,58% similar. Dezembro e janeiro também foram estatisticamente similares, isso podendo ser justificado pela composição química semelhante mostrado no HCA que indicou similaridade de 73,81% entre os óleos dos dois meses, e o PCA onde os pontos dezembro e janeiro se sobrepuseram (Figura 17 e Figura 18, p. 48 e p.48, respectivamente).

Os OEs extraídos em fevereiro/março também apresentaram inibições similares entre si, nos quais exibiram 64,05% de similaridade entre suas composições químicas, verificada por HCA. Abril/maio, abril/julho e abril/setembro, inibiram de forma semelhante e apresentaram 68,19%, 47,96% e 47,96% de similaridade entre si, respectivamente, de acordo com o HCA. Já o óleo essencial do mês de agosto não inibiu de forma similar aos demais e foi o que apresentou menor inibição (42,6%, 186,9 mg ET/g).

Figura 19. Teste Tukey das inibições dos radicais DPPH pelos óleos essenciais de *Eugenia uniflora*



Fonte: O autor.

Existem diferentes métodos para determinar o potencial antioxidante, cada um dos quais depende de um particular gerador de radicais livres, agindo por diferentes mecanismos. Através do método do sequestro dos radicais livres DPPH· o OE do quimiotipo germacreno B (21,2%) e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (19,3%) de *E. uniflora* (Tabela 1, p. 28) exibiu IC_{50} $833,3 \pm 20,7 \mu\text{g/mL}$ (VICTORIA et al., 2012). Figueiredo et al. (2019) relataram atividade antioxidante de $153,5 \pm 16,5 \text{ mg ET/mL}$ e $178,8 \pm 6,2 \text{ mg ET/mL}$, para dois espécimes da espécie em estudo de quimiotipo selin-1,3,7(11)-trien-8-ona (32,6-43,1%) e epóxido selin-1,3,7(11)-trien-8-ona (21,7-30,4%). Esses mesmos autores reportaram potencial antioxidante de $228,3 \pm 19,2 \text{ mg ET/mL}$ para outro quimiotipo cujo compostos em maior teor são selin-1,3,7(11)-trien-8-ona (18,1%), epóxido de selin-1,3,7(11)-trien-8-ona (16,0%) e óxido cariofileno (18,1%). Outra amostra reportada por Figueiredo et al. (2019), com compostos germacreno B (18,4%), curzereno (13,4%) e β -cariofileno (9,1%) em maior teor apresentaram a atividade antioxidante $205,6 \pm 9,6 \text{ mg ET/mL}$. A capacidade antioxidante de óleos essenciais de diferentes espécies de *Eugenia* tem sido reportada na literatura: *E. flavescens* ($122,6 \pm 6,8 \text{ mg ET/mL}$), *E. patrisii* ($111,2 \pm 12,4 \text{ mg ET/mL}$) e *E. egensis* ($216,5 \pm 11,6 \text{ mg ET/ml}$) (DA SILVA et al., 2017).

A atividade antioxidante do curzereno frente aos radicais DPPH foi reportada pelo método de bioautografia, onde foram observadas várias zonas de inibição em placa de cromatografia em camada delgada (ZHAO et al., 2010). Apesar disso, o teor de curzereno presente nos óleos e a atividade antioxidante apresentaram correlação moderada negativa ($R = -0,52$), ou seja, grandezas inversamente proporcionais. Entretanto, o efeito antioxidante dos óleos essenciais não pode ser atribuído somente aos seus constituintes principais, mas também a seus minoritários (VICTORIA et al., 2012). Esse sesquiterpeno também apresenta propriedades citotóxicas contra melanoma (SKMEL-19, IC_{50} : $5,17 \mu\text{M}$) e induz a apoptose, podendo ser indicado para a produção de fármacos fitoterápicos com atividade anticancerígena (FIGUEIREDO et al., 2019).

6 CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que as variáveis climáticas não afetaram o rendimento médio e teor de curzereno do óleo essencial de *E. uniflora* e também tiveram pouca influência em sua composição química e potencial antioxidante.

O alto conteúdo de curzereno neste espécime de *E. uniflora* indica seu uso como fonte renovável desse composto, devido suas propriedades biológicas como antioxidante e antitumoral.

Assim, este estudo contribui para o conhecimento dessa espécie com significativo potencial medicinal, fornecendo dados científicos que podem ser de grande interesse para a indústria de fitoterápicos no futuro.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007.
- AKULA, R.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling and Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720–1731, 2011.
- ANDRADE, B. F. M. T.; BARBOSA, L. N.; PROBST, I. DA S.; FERNANDES JÚNIOR, A. Antimicrobial activity of essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v. 26, n. 1, p. 34–40, 2014.
- BAGETTI, M.; FACCO, E. M. P.; PICCOLO, J.; HIRSCH, G. E.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.; KOBORI, C. N.; VIZZOTTO, M. EMANUELLI, T. Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 1, p. 147–154, 2011.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.
- BECKER, N. A.; VOLCÃO, L. M.; CAMARGO, T. M.; FREITAG, R. A.; RIBEIRO, G. A. Biological properties of *Eugenia uniflora* L. essential oil: phytochemistry composition and antimicrobial activity against gram negative bacteria. **Vittale – Revista de Ciências da Saúde**, v. 29, n. 1, p. 22–30, 2017.
- BENDER, D. A. **Benders' dictionary of nutrition and food technology**. 8. ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2006.
- BHARDWAJ, P.; ALOK, U.; KHANNA, A. In vitro cytotoxicity of essential oils: a review. **International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry**, v. 3, n. 3, p. 675–681, 2013.
- BOUREAU, L.; PRIBAT, A.; MORTAIN-BERTRAND, A.; BERT, L. S.; ROLIN, D.; TEYSSIER, E.; GALLUSCI, P. Metabolic engineering of isoprenoid biosynthesis. In: RAMAWAT, K. G.; MÉRILLON, J.-M. (Eds.). **Natural products: phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes**. 1. ed. Berlim: Springer, 2013. p.2813–2851.
- BREITMAIER, E. Terpenes: importance, general structure, and biosynthesis. In: BREITMAIER, E. **Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones**. Weinheim: Wiley, 2006. p.1–9.
- BUCKLE, J. Basic plant taxonomy, chemistry, extraction, biosynthesis, and analysis. In: BUCKLE, J. **Clinical aromatherapy: essential oils in practice**. 2. ed. Londres: Churchill Livingstone, 2003. p.39–75.
- CARDOSO, C. M. V.; SAJO, M. D. G. Vascularização foliar e a identificação de

espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae) da bacia hidrográfica do Rio Tibagi, PR. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 1, p. 47–54, 2004.

CHAMORRO, E. R.; ZAMBÓN, S. N.; MORALES, W. G.; SEQUEIRA, A. F.; VELASCO, G. A. Study of the chemical composition of essential oils by gas chromatography. *In*: SALIH, B.; ÇELIKBIÇAK, Ö. (Eds.). **Gas chromatography in plant science, wine technology, toxicology and some specific applications**. Rijeka: InTech, 2012. p.307–324.

CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas pra o futuro**. 2011.

COSTA, A. G. V.; GARCIA-DIAZ, D. F.; JIMENEZ, P.; SILVA, P. I. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 2, p. 539–549, 2013.

COSTA, D. P.; ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; SANTOS, S. C.; PASSOS, X. S.; SILVA, M. R. R.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Influence of fruit biotypes on the chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 5, p. 851–858, 2010.

COSTA, D. P.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Seasonal variability of essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 7, p. 1287–1293, 2009.

DA SILVA, J.; ANDRADE, E.; BARRETO, L.; DA SILVA, N. C. F.; RIBEIRO, A. F.; MONTENEGRO, R. C.; MAIA, J. G. S. Chemical composition of four essential oils of *Eugenia* from the Brazilian Amazon and their cytotoxic and antioxidant activity. **Medicines**, v. 4, n. 3, p. 51, 2017.

DAVIS, E. M.; CROTEAU, R. Cyclization enzymes in the biosynthesis of monoterpenes, sesquiterpenes, and diterpenes. *In*: LEEPER, F. J.; VEDERAS, J. C. (Eds.). **Biosynthesis: aromatic polyketides, isoprenoids, alkaloids**. Berlin: Springer, 2000. v. 209, p.53–95.

DEFAVERI, A. C. A.; SATO, A.; BORRÉ, L. B.; AGUIAR, D. L. M.; SAN GIL, R. A. S.; ARRUDA, R. C. O.; RIEHL, C. A. S. *Eugenia neonitida* Sobral and *Eugenia rotundifolia* Casar. (Myrtaceae) essential oils: composition, seasonality influence, antioxidant activity and leaf histochemistry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1531–1538, 2011.

DEGENHARDT, J.; KÖLLNER, T. G.; GERSHENZON, J. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. **Phytochemistry**, v. 70, n. 15–16, p. 1621–1637, 2009.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2009.

Discover Life. Disponível em: <https://www.discoverlife.org/>. Acesso em: 14 set. 2018.

DUARTE, M. C. T.; DUARTE, R. M. T.; RODRIGUES, R. A. F.; RODRIGUES, M. V. N. Essential Oils and Their Characteristics. *In*: HASHEMI, S. M. B.; KHANEGHAH, A. M.; SANT'ANA, A. S. (Eds.); **Essential oils in food processing: chemistry, safety and applications**. 1. ed. Hoboken: Wiley, 2018. p.1–19.

FAMUYIWA, F. G.; ADEBAJO, A. C. Larvicidal properties of *Eugenia uniflora* leaves. **Agriculture and Biology Journal of North America**, v. 3, n. 10, p. 400–405, 2012.

FEITOSA, C. M.; BARBOSA, A. DOS R.; DE MELO, C. H. S.; FREITAS, R. M.; FONTES, J. E. N.; COSTA, E. V.; RASHED, K. N. Z.; DA COSTA JÚNIOR, J. S. Antioxidant and anticholinesterase activities of the essential oil of *Eugenia dysenterica* DC. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 11, n. 19, p. 241–249, 2017.

FERNANDES, F. V.; SEGHE TO, L.; SANTOS, B. C. S.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; YAMAMOTO, C. H.; ARAÚJO, A. L. S. M.; RODARTE, M. P.; DE SOUSA, O. V. Bioactivities of extracts from *Eugenia uniflora* L. branches. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 8, p. 1054–1062, 2016.

FIGUEIREDO, C.; BARROSO, J.; PEDRO, L.; SCHEEFEEER, J. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, p. 213–226, 2008.

FIGUEIREDO, P. L. B.; SILVA, R. C.; DA SILVA, J. K. R.; SUEMITSU, C.; MOURÃO, R. H. V.; MAIA, J. G. S. Chemical variability in the essential oil of leaves of Araçá (*Psidium guineense* Sw.), with occurrence in the Amazon. **Chemistry Central Journal**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 2018.

FIGUEIREDO, P. L. B.; PINTO, L. C.; DA COSTA, J. S.; DA SILVA, A. R. C.; MOURÃO, R. H. V.; MONTENEGRO, R. C.; DA SILVA, J. K. R.; MAIA, J. G. S. Composition, antioxidant capacity and cytotoxic activity of *Eugenia uniflora* L. chemotype-oils from the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 232, p. 30–38, 2019.

FIÚZA, T. S.; SABÓIA-MORAIS, S. M. T.; PAULA, J. R.; TRESVENZOL, L. M. F.; PIMENTA, F. C. Evaluation of antimicrobial activity of the crude ethanol extract of *Eugenia uniflora* L. leaves. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 3, p. 245–250, 2008.

GALLUCCI, S.; PLACERES NETO, A.; PORTO, C.; BARBIZAN, D.; COSTA, I.; MARQUES, K.; BENEVIDES, P.; FIGUEIREDO, R. Essential oil of *Eugenia uniflora* L.: an industrial perfumery approach. **Journal of Essential Oil Research**, v. 22, n. 2, p. 176–179, 2010.

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

KUTCHAN, T. M.; GERSHENZON, J.; MØLLER, B. L.; GANG, D. R. Natural Products. *In*: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Eds.). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. 2. ed. Missouri City: Wiley, 2015. p.1132–1221.

LAGO, J. H. G.; SOUZA, E. D.; MARIANE, B.; PASCON, R.; VALLIM, M. A.; MARTINS, R. C. C.; BAROLI, A. A.; CARVALHO, B. A.; SOARES, M. G.; DOS SANTOS, R. T.; SARTORELLI, P. Chemical and biological evaluation of essential oils from two species of Myrtaceae - *Eugenia uniflora* L. and *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel. **Molecules**, v. 16, n. 12, p. 9827–9837, 2011.

LAMARCA, E. V.; BAPTISTA, W.; RODRIGUES, D. S.; OLIVEIRA JÚNIOR, C. J. F. DE. Contribuições do conhecimento local sobre o uso de *Eugenia* spp. em sistemas de policultivos e agroflorestas. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 8, n. 3, p. 119–130, 2013.

LAWAL, O. A.; OGUNWANDE, I. A.; OWOLABI, M. S.; OPOKU, A. R.; OYEDEJI, A. O. Chemical composition, antibacterial activity, and brine shrimp lethality test of essential oil from the leaves of *Eugenia natalitia*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 52, n. 4, p. 731–733, 2016.

LI, Y.; FABIANO-TIXIER, A.-S.; CHEMAT, F. History, localization and chemical compositions. In: SHARMA, S. K. (Eds.). **Essential Oils as Reagents in Green Chemistry**. 1. ed. Heidelberg: Springer, 2014. p.1–8.

LIMA, V. L. A. G. DE; MÉLO, E. DE A.; SILVA, D. E. DA; LIMA. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 3, p. 447–450, 2002.

LUDWICZUK, A.; SKALICKA-WOZNIAK, K.; GEORGIEV, M. I. Terpenoids. In: BADAL, S.; DELGODA, R. (Eds.); **Pharmacognosy: fundamentals, applications and strategy**. Amsterdã: Elsevier, 2016. p.233–266.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, M. H. L. DA; ZOGHBI, M. G. B. A new chemotype of *Eugenia uniflora* L. from North Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 6, p. 727–729, 1999.

MAIA, J. G. S. M.; ANDRADE, E. H. A. Database of the Amazon aromatic plants and their essential oils. **Quimica Nova**, v. 32, p. 595-622, 2009.

MARENGO, J. A.; NOBRE, C. A. Clima da região Amazônica. In: CAVALCANTI; I. F. A.; FERREIRA, N. J.; DA SILVA, M. G. A. J.; DIAS, M. A. F. S. (Eds.). **Tempo e clima no Brasil**. 1. ed. São Paulo: Oficina de textos, 2009.

MELO, R. M.; CORRÊA, V. F. S.; AMORIM, A. C. L.; MIRANDA, A. L. P.; REZENDE, C. M. Identification of impact aroma compounds in *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga) leaf essential oil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 1, p. 179–183, 2007.

MESQUITA, P. R. R.; NUNES, E. C.; SANTOS, F. N. DOS; BASTOS, L. P.; COSTA, M. A. P. C.; RODRIGUES, F. M.; DE ANDRADE, J. B. Discrimination of *Eugenia uniflora* L. biotypes based on volatile compounds in leaves using HS-SPME/GC–MS and chemometric analysis. **Microchemical Journal**, v. 130, p. 79–87, 2017.

MITRA, S. K.; IRENAEUS, T. K. S.; GURUNG, M. R.; PATHAK, P. K. Taxonomy and

importance of Myrtaceae. **Acta Horticulturae**, v. 959, p. 23–34, 2012.

NIST (National Institute of Standards and Technology). Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH, v. 2.0d); The NIST Mass Spectrometry Data Center: Gaithersburg, MD, USA, 2005.

OGUNWANDE, I. A.; OLAWORE, N. O.; EKUNDAYO, O.; WALKER, T. M. SCHMIDT, J. M.; SETZER, W. N. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 15, n. 3, p. 147–152, 2005.

OLIVEIRA, P. S.; CHAVES, V. C.; BONA, N. P.; SORAES, M. S. P.; CARDOSO, J. S.; VASCONCELLOS, F. A.; TAVARES, R. G.; VIZZOTTO, M.; SILVA, L. M. C. DA; GRECCO, F. B.; GAMARO, G. D.; SPANEVELLO, R. M.; LENCINA, C. L.; REGINATTO, F. H.; STEFANELLO, F. M. *Eugenia uniflora* fruit (red type) standardized extract: a potential pharmacological tool to diet-induced metabolic syndrome damage management. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 92, p. 935–941, 2017.

QUEIROZ, J. M. G.; SUZUKI, M. C. M.; MOTTA, A. P. R.; NOGUEIRA, J. M. R.; CARVALHO, E. M. DE. Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. **Revista Fitos**, v. 9, n. 2, p. 87–100, 2015.

RAHIMIFARD, N.; SABZEVARI, O.; SHOEIBI, S.; PAKZAD, S. R.; AJDARY, S.; HAJIMEHDIPOOR, H.; BAGHERI, F.; SAFAEE, M. Antifungal activity of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* on *Candida albicans*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. **Biomedical & Pharmacology Journal**, v. 1, n. 1, p. 43–46, 2008.

RIBEIRO, P. H. S.; SANTOS, M. L. DOS; CAMARA, C. A. G. DA; BORN, F. S.; FAGG, C. W. Seasonal chemical compositions of the essential oils of two *Eugenia* species and their acaricidal properties. **Química Nova**, v. 39, n. 1, p. 38–43, 2016.

RIBEIRO, S. M.; BONILLA, O. H.; LUCENA, E. M. P. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Caatinga. **Iheringia, Série Botânica**, v. 73, n. 1, p. 31–38, 2018.

RODRIGUES, K. A. DA F.; AMORIM, L. V.; OLIVEIRA, J. M. G. DE; DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S.; CARNEIRO, S. M. P.; CARVALHO, F. A. A. *Eugenia uniflora* L. essential oil as a potential anti-leishmania agent: effects on leishmania amazonensis and possible mechanisms of action. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1–10, 2013.

SAMY, M. N.; SUGIMOTO, S.; MATSUNAMI, K.; OTSUKA, H.; KAMEL, M. S. Bioactive compounds from the leaves of *Eugenia uniflora*. **Journal of Natural Products Volume**, v. 7, p. 37–47, 2014.

SANGWAN, N. S.; FAROOQI, A. H. A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, n. 1, p. 3–21, 2001.

SANTOS, F. R.; BRAZ-FILHO, R.; CASTRO, R. N. Influência da idade das folhas de *Eugenia uniflora* L. na composição química do óleo essencial. **Química Nova**, v. 38,

n. 6, p. 762–768, 2015.

SCHMIDT, A.; WACHTLER, B.; TEMP, U.; KREKLING, T.; SEGUIN, A.; GERSHENZON, J.. A bifunctional geranyl and geranylgeranyl diphosphate synthase is involved in terpene oleoresin formation in *Picea abies*. **Plant Physiology**, v. 152, n. 2, p. 639–655, 2010.

SIANI, A. .; SAMPAIO, A. L. F.; SOUZA, M. C.; HENRIQUES, M. G. M. O.; RAMOS, M. F. Óleos essenciais: potencial antiinflamatório. **Biociência: Ciência e desenvolvimento**, v. 16, p. 38–46, 2000.

SILVEIRA, J. C.; BUSATO, N. V.; COSTA, A. O. S. DA; COSTA JÚNIOR, E. F. DA. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 2038–2052, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. DE; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2007. p.467–495.

SOBEH, M.; BRAUN, M. S.; KRSTIN, S.; YOUSSEF, F. S.; ASHOUR, M. L.; WINK, M. Chemical profiling of the essential oils of *Syzygium aqueum*, *Syzygium samarangense* and *Eugenia uniflora* and their discrimination using chemometric analysis. **Chemistry and Biodiversity**, v. 13, n. 11, p. 1537–1550, 2016.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. (2015). Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB171>. Acesso em: 14 set. 2018.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. (2015). *Eugenia* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB10338>. Acesso em: 14 set. 2018.

SOUSA, R. A. DE; BORGES NETO, W.; POPPI, R. J.; BACCAN, N.; CADORE, S. Classificação de água de coco processada e natural por meio de HCA, PCA e teores de íons metálicos determinados por ICP OES. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 654–656, 2006.

SOUZA, C. E. S. DE; SILVA, A. R. P. DA; ROCHA, J. E.; GOMEZ, M. C. V.; ROLOM, M.; CORONE, C.; COSTA, J. G. M. DA; NETTO, M. L. C.; ROLIM, L. A.; COUTINHO, H. D. M. LC–MS characterization, anti-kinetoplastide and cytotoxic activities of natural products from *Eugenia jambolana* Lam. and *Eugenia uniflora*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 9, p. 836–841, 2017.

STEFANELLO, M. É. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential oils from neotropical Myrtaceae: Chemical diversity and biological properties. **Chemistry and Biodiversity**, v. 8, n. 1, p. 73–94, 2011.

The plant list (2013). Disponível em: <https://www.discoverlife.org/>. Acesso em: 14 set. 2018.

THOLL, D. Biosynthesis and Biological Functions of Terpenoids in Plants. *In*: SCHRADER, J.; BOHLMANN, J. (Eds.). **Biotechnology of Isoprenoids**. 1. ed. Heidelberg: Springer, 2015. v. 148, p.63–106.

TISSERAND, R.; YOUNG, R. Essential oil composition. *In*: TISSERAND, R.; YOUNG, R. (Eds.). **Essential oil safety: a guide for health care professionals**. 2. ed Edimburgo: Elsevier, 2014. p.4–22.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas–liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, p. 463–471, 1963.

VAN DER MERWE, M. M.; VAN WYK, A. E.; BOTHA, A. M. Molecular phylogenetic analysis of *Eugenia* L.(Myrtaceae), with emphasis on southern African taxa. **Plant Systematics and Evolution**, v. 251, n. 1, p. 21–34, 2005.

VENDRUSCOLO, G. S.; RATES, S. M. K.; MENTZ, L. A. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 361–372, 2005.

VICTORIA, F. N.; ANVERSA, R. G.; SAVEGNAGO, L.; LENARDÃO, E. J. Essential oils of *E. uniflora* leaves protect liver injury induced by acetaminophen. **Food Bioscience**, v. 4, p. 50–57, 2013.

VICTORIA, F. N.; LENARDÃO, E. J.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; JACOB, R. GUIMARÃES; ALVES, D.; SILVA, W. P. DA; MOTTA, A. S. DA; NASCENTE, P. S. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 8, p. 2668–2674, 2012.

VIEIRA, G. H. DA C.; DIAS, B. B.; LEONEL, D. C. O. Essential oils: properties, applications, extraction methods, and perspectives. *In*: PETERS, M. (Ed.); **Essential oils: historical significance, chemical composition, and medicinal uses and benefits**. Nova Iorque: Nova Science Publishers, 2016. p.1–18.

WILSON, P. G. Conspectus of the genus *Eugenia* (Myrtaceae) in the Philippines. **Gardens' Bulletin Singapore**, v. 60, n. 2, p. 399–410, 2009.

WILSON, P. G. Myrtaceae. *In*: KUBITZKI, K. (Ed.). **The families and genera of vascular plants: Flowering plants: Eudicots - Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae**. Heidelberg: Springer, 2011. v. 10. p. 212–271.

ZHAO, J.; ZHANG, J. S.; YANG, B.; LV, G. P.; LI, S. P. Free radical scavenging activity and characterization of sesquiterpenoids in four species of *Curcuma* using a TLC bioautography assay and GC-MS analysis. **Molecules**, v. 15, n. 11, p. 7547–7557, 2010.

APÉNDICE

APÊNDICE A – CROMATOGRAMAS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DO ESTUDO SAZONAL DE *Eugenia uniflora*

