

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
COORDENAÇÃO DE TECNOLOGIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
CÂMPUS CAMPO MOURÃO - PARANÁ

GISELY DE MATTOS

**EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS FENÓLICOS E  
FALVONÓIDES DE *EUGENIA PYRIFORMIS* CAMBESS USANDO  
DIFERENTES SOLVENTES**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2013

GISELY DE MATTOS

**EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS FENÓLICOS E  
FLAVONÓIDES DE *EUGENIA PURIFORMIS* CAMBESS USANDO  
DIFERENTES SOLVENTES**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos da Coordenação dos Cursos de Tecnologia e Engenharia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Campo Mourão, como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk.

CAMPO MOURÃO  
2013



Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Câmpus Campo Mourão

Coordenação dos Cursos de Tecnologia e Engenharia de Alimentos  
Engenharia de Alimentos



## TERMO DE APROVAÇÃO

EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS FENÓLICOS E FLAVONÓIDES DE  
*EUGENIA PYRIFORMIS* USANDO DIFERENTES SOLVENTES

por

GISELY DE MATTOS

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 25 de abril de 2013 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk  
Orientador

Prof. Dr. Marcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini  
Membro titular

Prof. Dr. Evandro Bona  
Membro titular

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por me dar força e discernimento para cumprir toda a minha jornada acadêmica.

Também gostaria de agradecer a meus pais, Dejanira Verber de Mattos e Clovis Mauricio de Mattos por tudo aquilo que me ensinaram e pelos muitos momentos de dificuldades que enfrentamos, mas que não impediram que me dessem sempre todo o apoio necessário.

Aos amigos pelo incentivo, apoio e carinho que me foram concedidos em todos os momentos e em especial nos mais difíceis.

Ao meu orientador Professor Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk por todas as oportunidades de aprendizado durante a graduação e principalmente por seu apoio, ensinamentos, paciência e inteligência na orientação desse trabalho.

A todos os professores da Coordenação Engenharia e Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) – Câmpus Campo Mourão, pelo apoio.

Aos Técnicos de laboratório Ângela Kwiatkowski e Marcos Vieira pelo auxílio nas metodologias realizadas no laboratório.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram ou torceram pela concretização desta graduação.

Muito Grata a todos!

## RESUMO

MATTOS, A. **EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS FENÓLICOS E FLAVONÓIDES DE *EUGENIA PYRIFORMIS CAMBESS* USANDO DIFERENTES SOLVENTES**. 2013. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2013.

A recuperação de compostos fenólicos de *Eugenia pyriformis cambess* utilizando diferentes solventes foi investigada neste estudo. Os compostos foram identificados e quantificados por cromatografia líquida de alto desempenho com coluna de fase reversa acoplada com detector de díodos de ultravioleta-visível (RPHPLC-DAD / UV-vis). O metanol absoluto foi o agente de extração mais eficaz dos ácidos fenólicos e os flavonóides ( $588,31 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) da *Eugenia pyriformis cambess*. Os resultados mostram claramente que teores mais elevados de compostos fenólicos foram obtidos com os solventes mais polares utilizados. Vários compostos fenólicos foram identificados nas amostras enquanto o ácido gálico e quercetina foram os principais componentes recuperados.

**Palavras-chave:** Ácidos Fenólicos, Flavonóides, *Eugenia pyriformis cambess*.

## ABSTRACT

MATTOS, G. **EXTRACTION AND QUANTIFICATION OF PHENOLIC ACIDS AND FLAVONOLS FROM *EUGENIA PYRIFORMIS CAMBESS* USING DIFFERENT SOLVENTS**. 2013. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2013.

The recovery of phenolic compounds of *Eugenia pyriformis cambess* using different solvents was investigated in this study. The compounds were identified and quantified by reverse-phase high-performance liquid chromatography coupled with ultraviolet–visible diode-array detector (RPHPLC-DAD/UV–vis). Absolute methanol was the most effective extraction agent of phenolic acids and flavonols ( $588.31 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) *Eugenia pyriformis cambess* . Our results clearly showed that higher contents of phenolic compounds were obtained either with the most polar solvents used. Several phenolic compounds were identified in the samples whereas gallic acid and quercetin were the major compounds recovered.

**Keywords:** Phenolic acids, Flavonols, *Eugenia pyriformis cambess*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do ácido gálico (a); Estrutura da quercetina (b).....	17
Figura 2 - Cromatograma dos padrões de ácidos fenólicos e flavonóides em 280 nm. ....	20
Figura 3 - Perfil cromatográfico da uvaia a 280 nm usando metanol puro como agente extrator. ....	23

## LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Gradiente de eluição das fases móveis para separação dos compostos fenólicos.....	20
Tabela 2 - Efeito dos diferentes solventes orgânicos na extração de compostos fenólicos.....	22



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>10</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	10
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>11</b>
3.1 MATA ATLÂNTICA.....	11
3.2 <i>EUGENIA PYRIFORMIS CAMBESS</i> .....	12
3.3 ÁCIDOS FENÓLICOS E FLAVONÓIDES .....	14
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>18</b>
4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO .....	18
4.2 AMOSTRAS DE <i>EUGENIA PYRIFORMES CAMBESS</i> .....	18
4.3 EXTRAÇÃO DOS ÁCIDOS FENÓLICOS E FLAVONÓIDES .....	18
4.4. ANÁLISE CROMATOGRÁFICA .....	19
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>22</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>26</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>27</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Ácidos fenólicos e flavonóides são compostos bioativos, que pertencem a um grupo diverso de metabólitos secundários e são universalmente presentes em plantas superiores. Estes fitoquímicos têm demonstrado que possuem capacidades antioxidantes importantes que podem proteger o corpo humano de problemas de saúde (ROBARDS *et al.*, 1999). Estes compostos possuem um anel aromático tendo um ou mais grupos hidroxila, e as suas estruturas podem variar desde a de uma molécula de fenólicos simples para um polímero complexo de elevada massa molecular (BALASUNDRAM *et al.* 2006).

Extração e isolamento são as primeiras etapas importantes para a separação, caracterização e quantificação de ácidos fenólicos e flavonóides de material vegetal (KIM E LEE, 2001). Os ácidos fenólicos e flavonóides são muitas vezes mais solúveis em solventes orgânicos menos polares do que a água. A solubilidade é dependente das propriedades polares dos ácidos fenólicos e flavonóides. A seleção adequada do solvente de extração não é tão simples como pode parecer (KIM E LEE, 2001). Extração com solvente, extração com fluido supercrítico e extração assistida por ultrassom são as técnicas mais comuns utilizados para o isolamento de compostos fenólicos (IGNAT *et al.*, 2011). Vários solventes e condições foram utilizados para conseguir a extração ótima. A aplicação de metanol acidificado, etanol, acetona, acetato de etilo e misturas destes solventes com água tem sido amplamente relatado na literatura (ANNEGOWDA *et al.*, 2011; DURLING *et al.*, 2007; HAMINIUK *et al.*, 2011; LUTHRIA, 2008; LUTHRIA E PASTOR-CORRALES, 2006; PRASAD *et al.*, 2011; PUSHPA *et al.*, 2011; RAMFUL *et al.*, 2011; RUSSELL *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2008; WIJEKON *et al.*, 2011, SASIDHARAN E MENON, 2011).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização de diferentes solventes na extração dos ácidos fenólicos e flavonóides de um fruto típico da Mata Atlântica brasileira, *Eugenia pyriformis cambess.*

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de diferentes solvente na extração de ácidos fenólicos e flavonóides em *Eugenia pyriformis cambess* (Uvaia).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a aplicação de solventes orgânicos na recuperação de ácidos fenólicos e flavonóides da Uvaia;
- Avaliar o perfil cromatográfico dos ácidos fenólicos e flavonóides extraídos com os diferentes solventes orgânicos;
- Avaliar se há diferenças estatísticas ( $p \leq 0,05$ ) entre a quantidade de ácidos fenólicos e flavonóides obtidos pelos diferentes solventes utilizados.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 MATA ATLÂNTICA

A Mata Atlântica é um conjunto de formações florestais, como os campos naturais, restingas, manguezais e outros tipos de vegetação, que formam paisagens diferentes, belas e biodiversas, representando cerca de 13% do território brasileiro. O ministério do Meio Ambiente divulgou um mapeamento em 2006, que mostrava a existência até o momento de 27% de área remanescente com diversos estágios de regeneração (IBAMA, 2010).

Uma das florestas mais ricas e ameaçadas do planeta, a Mata Atlântica é de grande preocupação global em termos de conservação, pois abriga uma vegetação imensamente rica com enorme diversidade. Sua flora abriga diversas famílias de árvores frutíferas, sendo uma de maior número a família *Myrteaceae*, na qual pertencem as espécies do gênero *Eugenia*, representadas pela Uvaia (*Eugenia uvalha*) e Pitanga (*Eugenia uniflora*) (DISTASI, 2002).

O S.O.S Mata Atlântica e Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, divulgaram no seu último levantamento que existem somente 97.596 km<sup>2</sup> de remanescentes maiores de 1 km. Mesmo reduzida e muito fragmentada, estima-se que a mesma tenha algo entre 33% e 36% das espécies existentes no Brasil, podendo até ser comparada com a Floresta Amazônica, no entanto a Mata Atlântica apresenta proporcionalmente ao seu tamanho, maior diversidade biológica (INPE, 2011).

O gênero *Eugenia* é um dos gêneros com maior número de espécies na família *Myrtaceae*, contando com mais de 500 espécies sendo que 400 das quais são encontradas no Brasil (FIUZA *et al.*, 2008). Destas 350 espécies são nativas da Mata Atlântica e incluem a uvaia, pitanga, Cambuci, goiaba, jabuticaba, araçá e guabiroba (LANDRUM; KAWASAKI, 1997).

Diversas frutas brasileiras nativas da Mata Atlântica, como no caso da Uvaia tem grande potencial para ser comercializada, despertando grande interesse mundialmente,

principalmente por suas características nutricionais, fitoterápicas e seu sabor exótico. Os sucos tropicais, geleias entre outros alimentos produzidos com frutas da Mata Atlântica, estão atraindo a atenção por estas características. O desenvolvimento de tecnologia que permita sua aplicação em novos produtos também é de grande importância para a economia e o desenvolvimento do país. De acordo com estudos, no ano de 2010, a produção mundial de frutas tropicais deverá chegar a 62 milhões de toneladas, sendo os países em desenvolvimento responsáveis por 98% desse montante (FAO, 2003).

A abundância de frutas exóticas no Brasil atraem consumidores de todo mundo. Por tal motivo, o interesse das indústrias para a produção de polpas e sucos de diversos novos sabores vem crescendo (CORBELINI *et al.*, 2009).

### 3.2 *EUGENIA PYRIFORMIS CAMBESS*

A uvaia (*Eugenia pyriformis cambess*) é considerada uma fruta exótica, de sabor adocicado e ácido, típica da Mata Atlântica, é nativa do Brasil, podendo ser encontrada desde São Paulo até o Rio Grande do Sul. Seus frutos também são chamados de Ubaia, Uvalha, Uvaia-do-mato, Uvalheira (CORBELINI *et al.*, 2009). Esta fruta é produzida de forma extrativista e pode ser consumida *in natura*, na forma de sucos, geleias e doce em pasta (LORENZI, 1998).

A uvaia é uma planta arbórea que chega a média de 7 metros de altura, com tronco castanho e ereto, copa redonda, com a coloração do fruto entre o amarelo e o alaranjado, folhas pequenas e avermelhadas quando novas e de cor branca. Seu florescimento ocorre entre agosto e setembro, com a maturação dos frutos de novembro a dezembro. Possui grande apreciação pela fauna silvestre que é utilizada em reflorestamentos, arborização urbana e ornamentação (LORENZI; MATOS, 2002; SCALON *et al.*, 2004a).

A Uvaia é uma das frutíferas de grande aplicação, seus frutos apresentam potencialidades de uso industrial para confecção de diferentes alimentos, como geleias,

sucos, iogurtes, licores, sorvetes e vinho (ANDERSEN; ANDERSEN, 1998). No entanto a alta perecibilidade dos mesmos limita a sua comercialização *in natura*, mas a conservação pós-colheita dos frutos pode ser aumentada pelo uso de baixas temperaturas e embalagens apropriadas no armazenamento (SCALON *et al.*, 2004b).

Estudos químicos com espécies de *Eugenia* revelaram a presença de flavonóides, taninos, terpenóides e óleos essenciais, e estudos farmacológicos realizados com extratos brutos e compostos, comprovaram as atividades anti-inflamatória, analgésica, antifúngica, antipirética, hipotensiva, antidiabética e antioxidante (OLIVEIRA *et al.*, 2006). A Uvaia é usada na medicina popular no tratamento de gripe, febre e diarreia (OLIVEIRA *et al.*, 2007). Um estudo demonstrou a atividade inibidora do crescimento de algumas espécies de bactérias (STIEVEN; MOREIRA; SILVA, 2009); outro relatou a ação fatal do óleo essencial das folhas de Uvaia em ácaros (SILVESTRE *et al.*, 2008).

Existem inúmeros estudos sobre o desenvolvimento de sistemas de produção para a cultura com a recomendação para cultivo comercial. Há somente registro de pomares comerciais da Uvaia na região centro-oeste ou em instituições que disponibilizem sementes e mudas a potenciais produtores. (SAMPAIO, 1989; ANDRADE; FERREIRA, 2000; SCALON, 2004a; SOUZA *et al.*, 2009).

As características para a determinação da qualidade dos frutos da uvaia é atribuída ao seu tamanho, forma e à cor da casca. Essas características, associadas à composição química da polpa, oferecem aos frutos e aos produtos deles obtidos a qualidade organoléptica e nutricional, responsáveis pela aceitação definitiva dos mesmos no mercado (SCALON *et al.*, 2004a).

A nossa dieta habitual fornece, além dos macro e micronutrientes essenciais, alguns compostos químicos, que estão distribuídos entre as frutas, legumes, verduras, cereais, peixes de água fria, leite fermentado, dentre outros, que exercem uma potente atividade biológica, já comprovada por vários pesquisadores. Logo o consumo mundial desses alimentos tem aumentado principalmente em decorrência do apelo em função de seu valor nutritivo e dos seus possíveis efeitos terapêutico (LIMA *et al.*, 2002). As frutas contêm diferentes compostos bioativos, e muitos deles possuem capacidade

antioxidante. Esses compostos bioativos podem desempenhar diversos papéis em benefício da saúde humana (CARRATU; SANZINI, 2005).

### 3.3 ÁCIDOS FENÓLICOS E FLAVONÓIDES

Ácidos fenólicos e flavonóides são constituintes extranutricionais e ocorrem tipicamente em pequenas quantidades nos alimentos. O interesse nesses compostos fenólicos aumenta a cada ano, tanto por pesquisadores quanto comercialmente. Estudos que abordam principalmente uma dieta rica em alimentos de origem vegetal, apresentam resultados interessantes, sugerindo que esses alimentos são capazes de exercer influência na redução do risco do desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, como cardiovasculares, cânceres, distúrbios metabólicos, doenças neurodegenerativas e enfermidades inflamatórias (SKREDE; WROLSTAD, 2002).

Estudos biológicos demonstram que esses compostos exercem várias ações, como atividade antioxidante, modulação de enzimas de destoxificação, estimulação do sistema imune, redução da agregação plaquetária, modulação do metabolismo hormonal, redução da pressão sangüínea, e atividade antibacteriana e antiviral (CARRATU; SANZINI, 2005).

As frutas são ricas fontes de antioxidantes. Logo neste contexto o Brasil é destaque, possuindo uma produção elevada de diferentes variedades de frutíferas, o que é decorrência da extensão do território e sua inserção, em grande parte, nas zonas de clima tropical e temperado (GRANADA, 2004). No entanto a fruticultura nacional tem ainda grande potencial de expansão, pois há inúmeras frutas nativas e exóticas muito pouco exploradas economicamente. Estudos estão em andamento para transformá-las em culturas racionais (LAGO *et al.*, 2006).

Pesquisas têm demonstrado o papel importante de dietas ricas em frutas e vegetais contra doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer, estes efeitos se devem a alguns compostos presentes nesses alimentos, como os ácidos fenólicos, vitamina C, flavonóides e carotenoides, que além de reduzir a oxidação lipídica em

tecidos, vegetal e animal, previne contra o desenvolvimento de patologias. (RODRIGUES *et al.*, 2003; GRANDIS *et al.*, 2005; MELO *et al.*, 2006).

Além de suas ações medicinais, enfatiza-se também que os compostos fenólicos contribuem no sabor, aroma, coloração e estabilidade oxidativa de diversos vegetais, sendo muito usados como flavorizantes e corantes na indústria alimentícia (SEIFRIED *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos pertencem a um grupo de compostos heterogêneos e de alto peso molecular resultante do metabolismo secundário de vegetais, são compostos que inclui diversidade de estruturas simples e complexas com no mínimo um anel aromático, e pelo menos um hidrogênio é substituído por uma hidroxila (STRUBE *et al.*, 2005).

Os compostos fenólicos de fontes vegetais podem ser classificados em dois grupos, o dos flavonóides e dos não flavonóides. O grupo de maior ocorrência dos fenólicos em vegetais são os flavonoides, comumente encontrado em frutas, legumes e cereais. Dentre os compostos fenólicos do grupo dos flavonóides se encontram as antocianinas, mirecetina, quercetina (WILLIAMS *et al.*, 2004). Segundo Shahidi e Marian (2003), estudos recentes demonstram que esses compostos atuam como antioxidantes naturais, promovendo vários benefícios à saúde.

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos é interessante desde o ponto de vista tecnológico, quando do nutricional. Assim, composto fenólico intervém como antioxidantes naturais do alimento, e a obtenção ou preparação de alimentos com um alto conteúdo destes compostos supõem uma redução na utilização de aditivos antioxidantes, resultando em alimentos mais saudáveis, que podem ser inclusos dentro da classe dos alimentos funcionais (MARTINEZ-VALVERDE *et al.*, 2000).

Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células. Logo, antioxidantes que possam neutralizar esses radicais livres podem ter importância central na prevenção de diversas doenças, como o câncer e doenças degenerativas cardíacas, vasculares e neurológicas (SOUSA *et al.*, 2007).

Entre os compostos fenólicos com significativa atividade antioxidante destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos, taninos, calconas e cumarinas, os quais



constituem a fração polifenólica de imensa diversidade de alimentos (MARTINEZ-VALVERDE *et al.*, 2000).

Pesquisadores demonstram em estudos *in vitro* que os flavonóides podem inibir e, muitas vezes, induzir uma grande variedade de enzimas, envolvidas em importantes processos reguladores como a divisão e proliferação celular, agregação plaquetária, detoxificação, e resposta inflamatória e imune ao organismo humano (SEIFRIED *et al.*, 2007; WILLIAMS *et al.*, 2004).

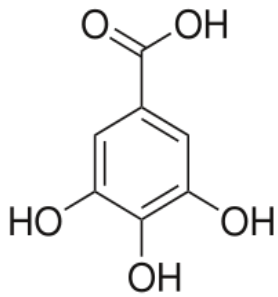
Os ácidos fenólicos são classificados de acordo com o tipo do esqueleto principal ( $C_6$ ), e podem ser divididos em três grupos. O primeiro é formado pelos ácidos benzóicos, que possuem uma estrutura de sete átomos de carbono ( $C_6-C_1$ ). O segundo grupo é composto pelos ácidos cinâmicos, que possuem nove átomos de carbono ( $C_6-C_3$ ). E o terceiro grupo é composto pelas cumarinas que são derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido o-cumarínico (SOARES, 2002).

Os ácidos fenólicos consistem em dois grupos, derivados do ácido hidroxicinâmico e derivados do ácido hidroxibenzóico. Segundo Manach *et al.* (2004) os ácidos fenólicos derivados do ácido hidroxicinâmico são de ocorrência natural, e possuem um anel aromático com uma cadeia carbônica, constituída por 3 carbonos ligada ao anel. Os ácidos p-cumárico, ferúlico, caféico e sináptico são os hidroxicinâmicos mais encontrados na natureza. Estes ácidos existem nas plantas, geralmente na forma de ésteres, a exemplo do ácido clorogênico, éster do ácido quínico, cuja molécula é constituída pelo ácido quínico esterificado ao ácido caféico. Também são encontrados na forma de glicosídeos ou ligados a proteínas e a outros polímeros da parede celular e, raramente, como ácidos livres. Isômeros do ácido clorogênico e do ácido caféico são descritos com antioxidantes.

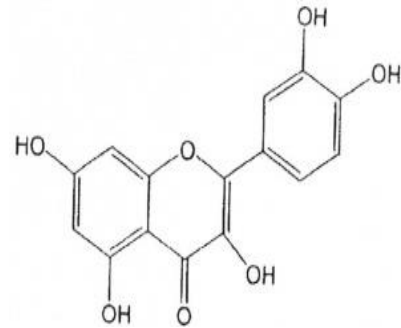
Os ácidos hidroxibenzóicos são compostos que possuem grupo carboxílico ligado ao anel aromático, nesse grupo destacam-se os ácidos protocatecuíco, vanílico, siríngico, gentísico, salicílico, elágico e gálico (HARBORNE, 1973).

Os dois grupos de ácidos fenólicos listados acima têm apresentado reconhecidas propriedades antioxidantes. Embora outras características contribuam para a atividade antioxidante dos ácidos fenólicos, esta é, geralmente, determinada principalmente pelo número de hidroxilas presentes na molécula (RAJALAKSMI & NARASIMHAN, 1995).

Exemplo de ácido fenólico e de flavonóides, sendo respectivamente ácido gálico e quercetina, podem ser observados na figura 1.



Ácido Gálico (a)



Quercetina (b)

**Figura 1 - Estrutura do ácido gálico (a); Estrutura da quercetina (b).  
Fonte: Hollman; Katan (1997).**

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO

O presente estudo foi desenvolvido com o apoio do laboratório da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus* Campo Mourão.

### 4.2 AMOSTRAS DE *EUGENIA PYRIFORMES* CAMBESS

A polpa de uvaia congelada (*Eugenia pyriformis cambess*), embalada em sacos plásticos contendo 100 g de frutas, produzida e fornecida pelo Sítio Bello, localizado na cidade de Paraibuna, São Paulo, foi armazenada em freezer (-18°C) até o momento das análises.

### 4.3 EXTRAÇÃO DOS ÁCIDOS FENÓLICOS E FLAVONÓIDES

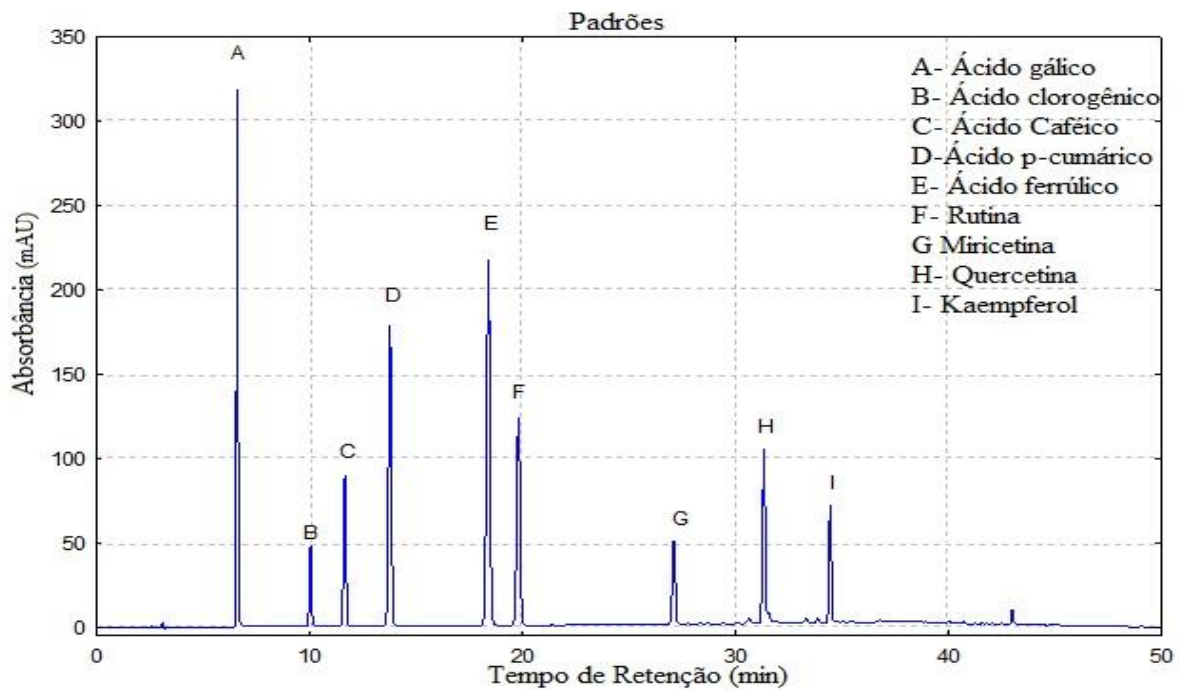
Para extração dos ácidos fenólicos e flavonóides da Uvaia foram utilizados os seguintes solventes orgânicos: Água de osmose reversa, Metanol puro, Etanol puro, Metanol/água (50/50%, v/v), Etanol/água (50/50%, v/v). Em tubo de ensaio foram colocados 5 g da polpa de Uvaia e adicionados os solventes (20 mL). Os tubos foram colocados em agitador rotatório, onde permaneceram agitando por uma hora. Após isso, foram retiradas as suspensões dos tubos e colocados nos tubos de centrifuga tipo falcon e centrifugados a 6000 rpm por 15 minutos. Os sobrenadantes foram colocados em tubos de ensaio, mantidos sob refrigeração, protegidos da luz e identificados para posterior análise em CLAE.

#### 4.4. ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

A análise de cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizada para quantificar a presença de compostos fenólicos individuais. Foi utilizado um sistema Dionex Ultimate 3000 HPLC (Dionex, Idstein, Alemanha) equipado com uma bomba Ultimate 3000, coluna do compartimento de amostra Ultimate 3000, detector de fotodiodo Ultimate 3000 e software Chromeleon para qualificação e quantificação dos compostos fenólicos. Foi utilizada uma coluna de fase reversa Acclaim® 120, C18 5 mm 120 A (4,6 mm x 250 mm) para a separação dos compostos fenólicos. A coluna foi mantida a 40°C durante toda a análise e a detecção realizada em três comprimentos de onda (280, 300 e 320 nm). O volume de injeção das amostras foi de 10 µL. A fase móvel (A) foi composta de água acidificada com ácido fosfórico 1% e metanol fase (B). A eluição dos compostos fenólicos foi realizada através de gradiente entre as duas fases móveis (tabela 1). Foi utilizada uma vazão de 1,0 mL/min e um tempo de corrida de 60 minutos. Os padrões de ácido gálico, ácido clorogênico, ácido cafêico, ácido p-cumárico, ácido ferrúlico, rutina, miricetina, quercetina, kaempferol foram utilizados para a obtenção da curva padrão de compostos fenólicos. As soluções de reserva de todos os padrões foram preparadas em metanol e as curvas de calibração foram obtidas a partir de injeções em duplicata de pelo menos cinco concentrações. Para a análise por HPLC, os compostos fenólicos foram identificados por comparação dos seus tempos de retenção com os dos padrões puros (Granato et al. 2011). A Figura 2 apresenta o cromatograma dos padrões de ácidos fenólicos e flavonóis utilizados neste trabalho a 280 nm.

**Tabela 1 - Gradiente de eluição das fases móveis para separação dos compostos fenólicos.**

Tempo (min)	Fase móvel A (%)	Fase móvel B (%)
0	95	5
2	85	15
3	80	20
5	75	25
10	70	30
15	65	35
20	60	40
25	50	50
30	40	60
35	20	80
45	0	100
55	95	5
60	95	5

**Figura 2 - Cromatograma dos padrões de ácidos fenólicos e flavonóides em 280 nm.**

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os ensaios foram realizados em triplicata para cada amostra. Os resultados foram expressos como valores médios  $\pm$  desvio padrão (DP). ANOVA em conjunto com o teste de Tukey foi utilizados para comparação de mais de duas médias. A diferença foi considerada estatisticamente significativa quando  $p \leq 0,05$ . A análise estatística foi realizada utilizando o Software Statistic 7.1 (StatSoft, Tulsa, OK, EUA).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta o efeito de diferentes solventes na extração de compostos fenólicos de *Eugenia pyriformis*.

**Tabela 2 - Efeito dos diferentes solventes orgânicos na extração de compostos fenólicos.**

Compostos	$\lambda$ (nm)	TR (min)	MA <sup>a</sup>	EA <sup>a</sup>	AD <sup>a</sup>	M/A <sup>a</sup>	E/A <sup>a</sup>
Ácido gálico	320	6,60	346,1±7,43 <sup>e</sup>	75,1±4,63 <sup>a</sup>	255,8±6,91 <sup>c</sup>	299,2±7,73 <sup>d</sup>	215,1±3,56 <sup>b</sup>
Ácido clorogênico	280	10,14	38,4±1,51 <sup>c</sup>	27,2±2,04 <sup>a</sup>	33,4±1,54 <sup>b</sup>	42,3±2,04 <sup>d</sup>	31,6±1,34 <sup>b</sup>
Ácido cafêico	280	11,73	5,2±0,64	Nd	Nd	Nd	Nd
Ácido p-cumárico	280	13,75	1,5±0,12 <sup>b</sup>	0,92±0,02 <sup>a</sup>	2,9±0,12 <sup>d</sup>	1,8±0,09 <sup>c</sup>	1,2±0,15 <sup>a</sup>
Ácido ferrúlico	320	18,45	3,4±0,19 <sup>c</sup>	2,3±0,09 <sup>a</sup>	2,7±0,16 <sup>b</sup>	3,3±0,12 <sup>c</sup>	2,3±0,17 <sup>a</sup>
Rutina	320	19,92	1,1±0,07 <sup>c</sup>	0,85±0,03 <sup>a</sup>	0,83±0,01 <sup>a,b</sup>	1,1±0,14 <sup>c</sup>	0,85±0,07 <sup>b</sup>
Miricetina	280	27,28	29,5±1,67 <sup>c</sup>	22,9±1,31 <sup>a</sup>	23,0±1,25 <sup>a</sup>	Nd	25,4±1,26 <sup>b</sup>
Quercetina	280	31,37	149,7±5,35 <sup>d</sup>	124,0±4,81 <sup>b</sup>	1142±3,52 <sup>a</sup>	180,9±4,22 <sup>e</sup>	133,9±2,38 <sup>c</sup>
Kaempfenol	300	34,48	13,4±1,16 <sup>c</sup>	2,7±0,13 <sup>b</sup>	Nd	2,8±0,11 <sup>b</sup>	2,6±0,18 <sup>a</sup>
Total			588,3±13,18 <sup>e</sup>	413,1±11,42 <sup>b</sup>	432,7±12,16 <sup>c</sup>	531,4±12,71 <sup>d</sup>	255,9±9,14 <sup>a</sup>

\*Em mg.kg<sup>-1</sup> de massa fresca, médias seguidas pelas mesmas letras não são estatisticamente diferentes na mesma linha ( $p \leq 0,05$ ). Nd não determinado.  $\lambda$  Comprimento de onda, TR Tempo de retenção. MA metanol absoluto, EA etanol absoluto, AD Água destilada, M/A metanol / água (1:1, v / v), E/A etanol / água (1:1, v / v). Os dados apresentados são os valores médios  $\pm$  DP; n=03.

É evidente que a recuperação de compostos fenólicos foi dependente do solvente utilizado e da sua polaridade (ALOTHMAN *et al.*, 2009). Os compostos fenólicos são muitas vezes mais solúveis em solventes orgânicos menos polares do que a água. Uma extração eficaz do material vegetal depende de uma escolha apropriada do solvente, temperaturas elevadas, e da agitação mecânica para maximizar a recuperação de compostos fenólicos (KIM; LEE, 2001).

O perfil cromatográfico de *Eugenia pyriformis* a 280 nm, utilizando metanol absoluto como agente de extração é mostrado na Figura 3.

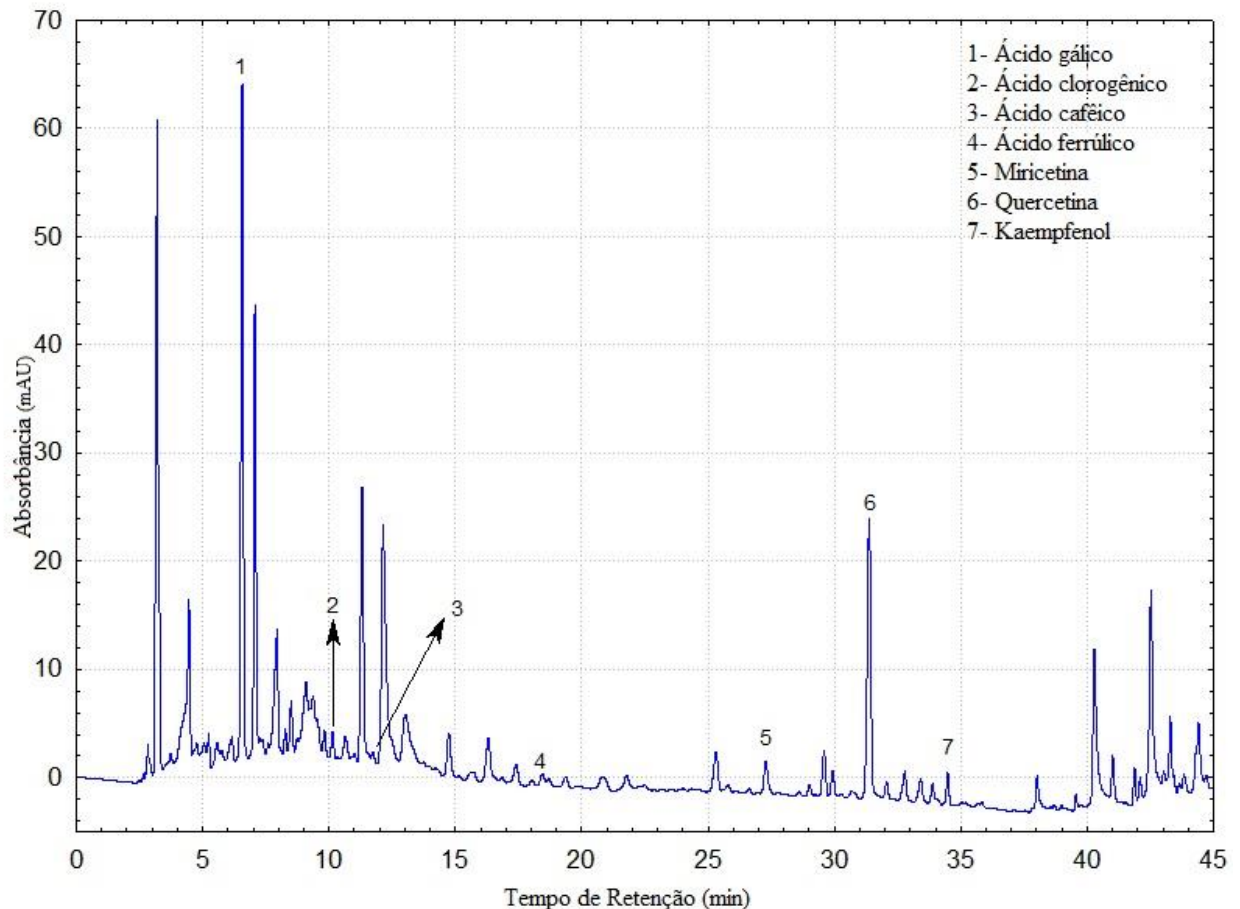


Figura 3 - Perfil cromatográfico da uvaia a 280 nm usando metanol puro como agente extrator.

A recuperação do conteúdo de compostos fenólicos variaram 255,91-588,31  $\text{mg.kg}^{-1}$  massa fresca. Metanol absoluto (MA) foi o agente de extração mais eficaz para a recuperação de ácidos fenólicos e dos flavonóides de *Eugenia pyriformis cambess*. No entanto, para recuperação de alguns dos compostos metanol / água (M/A) (proporção 1:1) foi o agente de melhor extração. A quantidade mais baixa dos compostos bioativos foi obtida para etanol / água (E/A) (proporção 1:1). Em termos de polaridade, os solventes utilizados neste trabalho podem ser classificados de acordo



com a sua constante dielétrica como se segue: etanol < metanol < água. Os resultados mostram claramente que os conteúdos mais elevados de ácidos fenólicos e os flavonóides foram obtidos com os solventes mais polares utilizados.

Os resultados obtidos nesta pesquisa estão de acordo com Liazid *et al.* (2007), Navarro *et al.* (2006), Espinosa-Alonso *et al.* (2006) e Wijngaard *et al.* (2009) onde é utilizado metanol absoluto para se obter os compostos fenólicos de matriz vegetal. A extração dos compostos fenólicos tem sido amplamente estudada (KOSANIĆ *et al.*, 2011) e vários métodos têm sido desenvolvidos para recuperação destas substâncias. Alothman *et al.* (2009) estudaram a capacidade antioxidante e o teor de fenólicos de selecionados frutas tropicais da Malásia. De acordo com os resultados, a recuperação de compostos fenólicos foi dependente do tipo de fruta e do sistema de solventes, acetona e etanol e os solventes foram mais eficientes para a extração de fenóis. Nesse estudo, todos os nove padrões foram identificados em *Eugenia pyriformis*.

Os ácidos fenólicos e os flavonóides mostraram uma grande gama de variação de acordo com a Tabela 2: ácido gálico (75,08-346,12 mg.kg<sup>-1</sup>), o ácido clorogénico (27,16-42,31 mg.kg<sup>-1</sup>), ácido caféico (0,00-5,20 mg.kg<sup>-1</sup>), p -cumárico (0,92-2,89 mg.kg<sup>-1</sup>), ácido ferúlico (2,31-3,42 mg.kg<sup>-1</sup>), rutina (0,77-1,14 mg.kg<sup>-1</sup>), miricetina (0,00-29,52 mg.kg<sup>-1</sup>), a quercetina (114,16-180,88 mg.kg<sup>-1</sup>) e kaempferol (0,00-13,36 mg.kg<sup>-1</sup>). Ácido gálico e quercetina foram os principais compostos recuperados entre todos os outros compostos fenólicos. Ácido gálico (3,4,5-trihidroxibenzóico ácido), uma planta endógeno fenol, existe em abundância no chá, uvas, bagas diferentes, frutos, bem como no vinho (PRINCE *et al.*, 2011) e tem recebido muita atenção devido sua potente capacidade para sequestrar radical livre e ação antioxidante. Por outro lado, a quercetina (3,3', 4', 5,7-pentahydroxyflavone), é um flavonóide típico unicamente presentes em vegetais e frutas (MUROTA; TERAQ, 2003). Os efeitos benéficos da quercetina estão relacionados com as suas propriedades antioxidantes que possam resultar da sua capacidade de limpeza de radicais livres e dos íons metálicos quelantes. Estas propriedades permitem inibir a peroxidação lipídica. Ambas as substâncias foram largamente encontrados em materiais de plantas (HOLLMAN; KATAN, 1997). Fu *et al.* (2011) estudou a capacidade antioxidante e o conteúdo fenólico total de 62 frutos. E

entre outros compostos fenólicos, o ácido gálico e quercetina foram encontrados na maior parte dos frutos avaliados.

Na literatura, não foi encontrado um sentido comum dos quais solventes ou mistura de solventes são mais adequados para a recuperação dos compostos bioativos, entre os diferentes materiais de plantas. No entanto, é evidente que a extração alcoólica ainda permanece como uma boa alternativa para a obtenção de compostos fenólicos de plantas.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram a importância de selecionar o solvente mais adequado para a extração de compostos fenólicos de plantas. De entre os solventes testados, o metanol absoluto foi o agente de extração mais eficaz para a recuperação de compostos fenólicos. O teor de ácidos fenólicos e os flavonóides identificados por análise de HPLC em *Eugenia pyriformis cambess* variou 255,91-588,31 mg.kg<sup>-1</sup>. Os compostos com maiores concentrações foram ácido gálico e quercetina.

## REFERÊNCIAS

ALOTHMAN M., BHAT R., KARIM A. A. (2009). **Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents.** *Food Chem* 115:785–788.

ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V.U. **As frutas silvestres brasileiras: uvaia.** Rio de Janeiro: Globo, p. 198-200, 1988.

ANDRADE, R. N. B. de; FERREIRA, A. G. Germinação e armazenamento de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Camb.) – *Myrtaceae*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 2, p. 118-125, 2000.

ANNEGOWDA H., BHAT R., MIN-TZE L., KARIM A., MANSOR S. (2011). Influence of sonication treatments and extraction solvents on the phenolics and antioxidants in star fruits. **Journal of Food Science Technology**. doi: 10.1007/s13197-011-0435-8.

BALASUNDRAM N., SUNDRAM K., SAMMAN S. (2006) Phenolic compounds in plants and agri industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry** 99: 191-203

CARRATU, E.; SANZINI, E. “**Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetable**”. *Ann. Ist. Super Sanità*, 41 (1), p.7-16, 2005.

CORBELINI, D.; VIZZOTTO, M.; FETTER, M. R.; GONZALEZ, T. N. **Compostos bioativos e atividade antioxidante da uvaia (*Eugenia pyriformis* cambess) em diferentes estádios de maturação.** XVIII Congresso de Iniciação Científica. XI Encontro de Pós-Graduação. I Mostra Científica. Universidade Federal de Pelotas, 2009. Disponível em: [http://www.ufpel.tche.br/cic/2009/cd/pdf/CA/CA\\_00876.pdf](http://www.ufpel.tche.br/cic/2009/cd/pdf/CA/CA_00876.pdf). Acesso em: 20 mai. 2012.

DISTASI, L. C.; HIRUMA-LIMA. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata, Clélia Akiko.** - 2. ed. rev. e ampl. - São Paulo: Editora UNESP, 2002.

DURLING N. E., CATCHPOLE O. J., GREY J. B., WEBBY R. F., MITCHELL K. A., FOO L. Y., PERRY N. B. (2007) Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures. **Food Chemistry** 101: 1417-1424

ESPINOSA-ALONSO L. G, LYGIN A. , WIDHOLM J. M. , VALVERDE M. E., PAREDES-LOPEZ O (2006). **Polyphenols in wild and weedy Mexican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.)**. J Agric Food Chem 54:4436–4444.

FAO-FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Groupe Intergouvernemental sur la Banane et sur les Fruits Tropicaux. Projections à Moyen Terme de l'Offre et de la Demande de Fruits Tropicaux à l'Horizon 2010**. Terceira sessão. Espanha, Puerto de la Cruz, 11/15 dez. 2003.

FIUZA, T. S. *et al.* Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* L.(Myrtaceae). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 2, p. 21-31, 2008.

FU L., XU B.T, XU X.R, GAN R.Y, ZHANG Y, XIA E.Q, LI H.B (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry** 129:345–350.

GRANADA, G. G.; ZAMBIAZI, R. C.; MENDONÇA, C. R. B. **Abacaxi: produção, mercado e subprodutos**. B. CEPPA, v. 22, n. 2, p. 405-422, 2004.

GRANATO D, KATAYAMA F.C.U, CASTRO I.A (2011) Phenolic composition of South American red wines classified according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality. **Food Chemistry** 129:366–373

GRANDIS, A.; CONDIEV, S.; NEPOMUCENO, M. F. D.; ALEIXO, A. M.; RUGGIERO, A. C. **Estudo da capacidade antioxidante do extrato hidroalcoólico de oliva contra a peroxidação lipídica**. In: 6º SLACA - SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS, 2005, Campinas. Anais...Campinas, 2005. CD-ROM.

HAMINIUK C. W.I., PLATA-OVIEDO M. S. V., GUEDES A. R., STAFUSSA A. P., BONA E., CARPES S. T. (2011). Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. **Journal of Food Science and Technology** 46: 1529-1537

HARBORNE, J.B. **Phytochemical Methods**. London: Chapman and Hall, p. 33-88, 1973.

HOLLMAN P.C.H, KATAN M.B (1997). Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. **Biomed Pharmacother** 51:305–310.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Mata Atlântica: manual de adequação ambiental / Maura Campanili e Wigold Bertoldo Schaffer.** – Brasília: MMA/SBF, 2010. 96 p. (Série Biodiversidade, 35).

IGNAT I., VOLF I., POPA V. I. (2011) A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry** 126: 1821-1835.

INPE. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. **Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica 2000 a 2005.** Disponível em <http://www.inpe.br/noticias/arquivos/pdf/remanescentesMT2010.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2012.

KIM D. O., LEE C. Y. (2001). Extraction and isolation of polyphenolics. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry: John Wiley & Sons, Inc.**

KOSANIĆ M., RANKOVIĆ B., VUKOJEVIĆ J. (2011). Antioxidant properties of some lichen species. **Journal of Food Science and Technology** 48:584–590.

LAGO, E. S.; GOMES, E.; SILVA, R. Produção de geléia de jabolão (*Syzygium cumini* Lamarck): processamento, parâmetros físico – químicos e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.**, v. 26, n. 4, p. 847-852, 2006.

LANDRUM, L. R.; KAWASAKI, M. L. **The genera of Myrtaceae in Brazil: na illustrated synoptic treatment and identification keys.** Brittonia, v.49, n. 4, p.508-536, 1997.

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

LIAZID A. , PALMA M. , BRIGUI J. , BARROSO C. G. (2007). Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction. **Journal of Chromatogr A** 1140:29–34.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 352 p. 1998.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2002.

LUTHRIA D. L. (2008). Influence of experimental conditions on the extraction of phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum*) flakes using a pressurized liquid extractor. **Food Chemistry** 107: 745-752

LUTHRIA D. L., PASTOR-CORRALES M. A. (2006). Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. **Journal of Food Compost Anal** 19: 205-211

MANACH, C.; SCALBERT, E.; MORAND, C.; RÉMESY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **Am. Journal of Clin. Nutritional**. V.79, p.727-747, 2004.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A.C. S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 639-644,2006.

MUROTA K, TERAOKA J (2003). Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. **Arch Biochem. Biophys**. 417:12–17.

NACZK M., SHAHIDI F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharm. Biomed**. 41:1523–1542.

NAVARRO J. M., FLORES P., GARRIDO C., MARTINEZ V. (2006). Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. **Food Chemistry** 96:66–73.

OLIVEIRA, J. C. S.; NEVES, I. A.; SOUSA, E. V.; SILVA, L. L. D.; SCHWARTZ, M. O. E.; CAMARA, C. A. G. **Composição química do óleo essencial de *Eugenia uvalha* Cambess (Myrtaceae)**. 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia, 2007. Disponível em: <<http://sec.sbq.org.br/cdrom/30ra/resumos/T0238-1.pdf>>. Acesso em: 16 jun. 2012.

OLIVEIRA, A. M.; HUMBERTO, M. M. S.; SILVA, J. M.; ROCHA, R. F. A.; SANT'ANA, A. E. G. Estudo fitoquímico e avaliação das atividades moluscicida e larvicida dos extratos da casca do caule e folha de *Eugenia malaccensis* L. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Farmacogn.** vol.16 suppl.0, Dec, 2006.

PRASAD K. N., HASSAN F. A., YANG B., KONG K.W., RAMANAN R.N., AZLAN A., ISMAIL A. (2011). Response surface optimisation for the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities of underutilised *Mangifera pajang* Kosterm. peels. **Food Chemistry** 128: 1121-1127

PRINCE P.S.M., KUMAR M.R., SELVAKUMARI C.J. (2011). Effects of gallic acid on brain lipid peroxide and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. **Journal of Biochem Mol Toxicol** 25:101–107.

PUSHP P., SHARMA N., JOSEPH G., SINGH R. (2011). Antioxidant activity and detection of (-) epicatechin in the methanolic extract of stem of in the methanolic extract of stem of *Tinospora cordifolia*. **Journal of Food Science Technology**. doi: 10.1007/s13197-011-0354-8

RAMFUL D., AUMJAUD B., NEERGHEEN V. S., SOOBRAATTEE M. A., GOOGOLYE K., ARUOMA O. I., BAHORUN T. (2011). Polyphenolic content and antioxidant activity of *Eugenia pollicina* leaf extract in vitro and in model emulsion systems. **Food Res. Int** 44: 1190-1196

RAJALAKSMI, D.; NARASIMHAN, S. **Food antioxidants: sources and methods of evaluation**. In: MADHAVI, D.L.; DESHPANDE, S.S.; SALUNKHE, D.K. Food Antioxidants – technological, toxicological and health perspectives. New York: Marcel Dekker, p. 65-157, 1995.

ROBARDS K., PRENZLER P. D., TUCKER G., SWATSITANG P., GLOVER W. (1999) Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry** 66: 401-436

RODRÍGUEZ-CARPENA J. G., MORCUENDE D., ANDRADE M. J., KYLLI P., ESTÉVEZ M. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. **Journal Agricultural of Food Chemistry** 59:5625–5635.



RODRIGUES, H. G.; DINIZ, Y. S. A. FAINE, L. A.; ALMEIDA, J. A.FERNANDES, A. A.H.; NOVELLI, E. L. B. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rutina na concentração de colesterol-HDL. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 315-320, 2003.

RUSSELL W. R., LABAT A., SCOBIE L., DUNCAN G. J., DUTHIE G.G. (2009) Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland. **Food Chem** 115: 100- 104.

SAMPAIO, V. R.. **Poda em uvaieira (Eugenia uvalha CAMB.)**. An. Esc. Super. Agric. Luiz de Queiroz, Piracicaba, v. 46, n. 1, 1989. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S007112761989000100006&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S007112761989000100006&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 16 jun. 2011. doi: 10.1590/S0071-12761989000100006.

SASIDHARAN I., MENON A. (2011). Effects of temperature and solvent on antioxidant properties of curry leaf (*Murraya koenigii* L.). **J Food Sci Technol**, 48, 366-370.

SCALON, S de P.Q.; SCALON FILHO, H; RIGONI, M.R. **Armazenamento e germinação de sementes de uvaia Eugenia uvalha Cambess**. Lavras: Ciênc. Agrotec., v.28, n.6, p.1228-1234, 2004a.

SCALON, S de P.Q.; DELL'OLIO, P; FORNASIERI, J.L. **Temperatura e embalagens na conservação pós-colheita de uvaia Eugenia uvalha Cambess.- Mirtaceae**. Santa Maria: Ciência Rural, v.34, n.6, p.1965-1968, 2004b.

SEIFRIED, H. E.; ANDERSON, D.E.; FISHER, E. I.; MILNER, J.A. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 18, p.567-579, 2007.

SHAHIDI, F.; MARIAN, N. Phenolics in food and nutraceuticals. In: RABAH, T. M.; KHALIL, I. E.; HOWARD, L. Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins, and color in fruits. **Journal of agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 53, n. 11, p. 4444-4447, 2003.

SILVESTRE, R. G.; NEVES, I. A.; MORAES, M. M.; GOMES, C. A.;NASCIMENTO, R. M.; JÚNIOR, C. P. A.; CÂMARA, C. A. G. **Atividade fumigante do óleo essencial de Eugenia uvalha Cambess. E Melaleuca leucadendron L. (Myrtaceae) contra o ácaro rajado**. 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de

SKREDE, G.; WROLSTEAD, R. E. **Flavonoids from berries and grapes**. In: Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects. v.2, CRC Press., 2002,p.71-133.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n.1, p.71-81, 2002.

SOUSA, C. M. de M.; SILVA, H R.; VIEIRA JUNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. da.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. de M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. E. S. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, H., GURGEL, R., TEIXEIRA, G., CAVALLARI, L., RODRIGUES, H., MENDONÇA, V.. Adubação nitrogenada e fosfatada no desenvolvimento de mudas de uvaia (*Eugenia uvalha*). **Bioscience Journal**, América do Norte, 25, fev. 2009. Disponível em: <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/6827/4517>. Acesso em: 21 jun. 2012.

STIEVEN, A. C.; MOREIRA, J. J. S.; SILVA, C. F. **Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess): avaliação das atividades microbiana e antioxidante**. Ecl. Quím., São Paulo, 34 (3): 7 – 13, 2009.

STRUBE, M.; DRAGTDT, L. O.; LARSEN, P.; LARSTEN, J. C. Naturally occurring antitumorogens. In: RABAH, T. M.; KHALIL, I. E.; HOWARD, L. Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins, and color in fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 53, n. 11, p. 4444-4447, 2005.

WANG J., SUN B. G., CAO Y. P., TIAN Y. A., LI X. H. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. **Food Chemistry** 106: 804-810.

WIJEKOON M., BHAT R., KARIM A. A. (2011). Effect of extraction solvents on the phenolic compounds and antioxidant activities of bunga kantan (*Etlingera elatior* Jack.) **Food Chemistry** 117:252–277.

WIJNGAARD H.H., ROSSLE C., BRUNTON N. (2009). A survey of Irish fruit and vegetable waste and by-products as a source of polyphenolic antioxidants. **Food Chemistry** 116:202–207.

WILLIAMS, R.J.; SPENCER, J.P.E.; RICE-EVANS, C. **Flavonoids antioxidants or signaling molecules?** Free Radical Biology & Medicine, v. 36 (7), p. 838-849, 2004.