



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA-UFU

INSTITUTO DE QUÍMICA

GRADUAÇÃO EM QUÍMICA INDUSTRIAL

Maxwillyam dos Santos Sousa

**Desenvolvimento de método de extração de compostos fenólicos em  
frutos de *Eugenia uniflora***

Uberlândia – MG

2025

Maxwillyam dos Santos Sousa

**Desenvolvimento de método de extração de compostos fenólicos em  
frutos de *Eugenia uniflora***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Instituto de Química da Universidade  
Federal de Uberlândia como requisito para a  
obtenção do título de Bacharelado em  
Química Industrial.

Área de concentração: Química Orgânica

Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Raquel Maria Ferreira  
de Sousa

**UBERLÂNDIA**

**2025**

Maxwillyam dos Santos Sousa

**Desenvolvimento de método de extração de compostos fenólicos em  
frutos de *Eugenia uniflora***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Instituto de Química da Universidade  
Federal de Uberlândia como requisito para a  
obtenção do título de Bacharelado em  
Química Industrial.

Área de concentração: Química Orgânica

Uberlândia, Minas Gerais, 19 de setembro de 2025

**BANCA EXAMINADORA:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Raquel Maria Ferreira de Sousa (Orientador- UFU)

---

Prof. Dr. João Flávio da Silveira Petrucci (Examinador – UFU)

---

Ms. Débora Machado de Lima (Examinador – UFU)

---



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**Coordenação do Curso de Graduação em Química Industrial**  
 Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 1A, Sala 1A233 - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
 Telefone: (34) 3239-4103 - coqin@iqufu.ufu.br



### ATA DE DEFESA - GRADUAÇÃO

Curso de Graduação em:	Química Industrial				
Defesa de:	<b>Trabalho de Conclusão de Curso - GQB056</b>				
Data:	19/09/2025	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	15:20
Matrícula do Discente:	11911QID048				
Nome do Discente:	Maxwillyam dos Santos Sousa				
Título do Trabalho:	Desenvolvimento de método de extração de compostos fenólicos em frutos de <i>Eugenia uniflora</i>				
A carga horária curricular foi cumprida integralmente?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				

Reuniu-se na sala de 205 do bloco 3Q no Campus Santa Mônica da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Coordenador do Curso de Graduação em Química Industrial, assim composta: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Raquel Maria Ferreira de Sousa - **Orientadora**; Prof. Dr. João Flávio da Silveira Petrucci - Titular; Doutoranda Débora Machado de Lima - Titular e Prof. Dr. Diego Godina Prado - Suplente.

Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa, Dr.<sup>a</sup> Raquel Maria Ferreira de Sousa, apresentou a Comissão Examinadora e o(a) candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao(à) discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(a) discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do curso.

A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(as) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a) Nota: 90 pontos  
 Reprovado(a)

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Maria Ferreira de Sousa, Professor(a) do Magistério Superior**, em 19/09/2025, às 15:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Flávio da Silveira Petrucci, Professor(a) do Magistério Superior**, em 19/09/2025, às 15:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Débora Machado de Lima, Usuário Externo**, em 19/09/2025, às 15:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.](#)



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **6625991** e o código CRC **0B4DBC7D**.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por cada solução que surgiu diante das dificuldades, sempre no momento oportuno, até esta etapa da graduação.

Ao meu pai, Luiz José de Sousa, que não pode estar presente, mas tenho a certeza de que estaria orgulhoso deste momento, por todas as vezes em que me apresentava como “meu filho que faz faculdade de Química” e por sempre me incentivar a ser estudante, já que ele não teve essa oportunidade.

Agradeço à minha mãe, Inez Francisca dos Santos Sousa, pelo exemplo de integridade, bondade e força. Mesmo enfrentando uma doença neurodegenerativa, ela conseguiu proporcionar uma excelente criação para seus filhos.

Agradeço também a todos os familiares que trouxeram alívio nos momentos difíceis, à minha madrinha, que dedicou seu tempo e passou meses acompanhando meu pai internado, e às tias e tios que acolheram minha mãe, oferecendo força e dignidade.

Agradeço ao grupo docente da Universidade Federal de Uberlândia, que me acompanhou e compartilhou seu conhecimento, e à minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Raquel Sousa, pela orientação, compreensão e por nunca medir esforços para me auxiliar durante toda a pesquisa.

A todos os meus amigos e companheiro de graduação pelo momento de descontração. A todos os pesquisadores e amigos do Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais (NuPPeN), pelas dúvidas esclarecidas que contribuíram significativamente para a elaboração deste trabalho.

Ao CNPq, pelas bolsas de pesquisa que foram de grande ajuda durante o desenvolvimento do trabalho e na permanência na graduação, e à FAPEMIG e CAPES pelo apoio à pesquisa.

Por fim, agradeço à UFU e ao Instituto de Química por fornecerem os meios que me permitiram chegar a este momento.

## RESUMO

Plantas medicinais são importante fonte para o desenvolvimento de fitoterápicos e fármacos, sendo a seleção da espécie e do método de extração etapas cruciais para a eficácia e a segurança desses produtos. O Brasil possui vasta biodiversidade, com espécies que produzem metabólitos secundários com atividade biológica em outros seres vivos, entre elas a *Eugenia uniflora* L., conhecida popularmente como pitangueira, que integra a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RenISUS). Este trabalho teve como objetivo desenvolver um método para extração de compostos fenólicos presentes em extratos do fruto de *E. uniflora*. Para isso, os frutos foram coletados na Universidade Federal de Uberlândia, processados por liofilização e submetidos a extração sólido-líquido com metanol 80% acidificado (0,3% TFA). O extrato bruto obtido foi fracionado por extração líquido-líquido com acetato de etila e, posteriormente, em coluna com resina Amberlite XAD-2. As frações foram analisadas por cromatografia em camada delgada (CCD), espectrofotometria, teor de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-ESI-QTOF-MS/MS). Os resultados mostraram maior teor de compostos fenólicos na fração metanólica (MX11), com 435,48 mg EAG/g de extrato, em comparação à fração em acetato de etila (MX9), com 290,79 mg EAG/g. As análises por LC-ESI-QTOF-MS/MS indicaram a presença da cianidina-3-*O*-hexosídeo, confirmando a eficiência do método para a extração de antocianinas. Conclui-se que a metodologia aplicada foi eficiente na concentração de compostos fenólicos e antocianinas em *E. uniflora*, embora novos estudos sejam necessários para a caracterização detalhada de outras classes de metabólitos presentes.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Eugenia uniflora*. Compostos fenólicos. Antocianinas. Extração.

## ABSTRACT

Medicinal plants are an important source for the development of herbal medicines and pharmaceuticals, with species selection and extraction methods being crucial steps for ensuring the efficacy and safety of these products. Brazil has vast biodiversity, with species that produce secondary metabolites with biological activity in other organisms, including *Eugenia uniflora* L., popularly known as pitangueira, which is listed in the National List of Medicinal Plants of Interest to the Brazilian Unified Health System (RenisUS). This study aimed to develop a method for the extraction of phenolic compounds present in extracts of *E. uniflora* fruits. Fruits were collected at the Federal University of Uberlândia, processed by lyophilization, and subjected to solid-liquid extraction with 80% methanol acidified with 0.3% TFA. The crude extract obtained was fractionated by liquid-liquid extraction with ethyl acetate and subsequently through a column packed with Amberlite XAD-2 resin. The fractions were analyzed by thin-layer chromatography (TLC), spectrophotometry, determination of total phenolics using the Folin-Ciocalteu method, and liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-ESI-QTOF-MS/MS). The results showed a higher content of phenolic compounds in the methanolic fraction (MX11), with 435.48 mg GAE/g of extract, compared to the ethyl acetate fraction (MX9), with 290.79 mg GAE/g of extract. LC-ESI-QTOF-MS/MS analysis indicated the presence of cyanidin-3-O-hexoside, confirming the efficiency of the method for the extraction of anthocyanins. It is concluded that the methodology applied was effective in concentrating phenolic compounds and anthocyanins in *E. uniflora*, although further studies are necessary for the detailed characterization of other classes of metabolites present.

KEYWORDS: *Eugenia uniflora*. Phenolic compounds. Anthocyanins. Extraction

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química geral de um flavonoide (A), de uma antocianina (B), de uma proantocianidina (C) e ácido elágico (D).	14
Figura 2 - Estrutura química do licopeno (carotenoide).	14
Figura 3 - Estrutura química do ácido ascórbico.	15
Figura 4 - Pontos de coleta do fruto de <i>Eugenia uniflora</i> .	18
Figura 5 - Fluxograma da utilizada na extração compostos fenólicos de frutos de <i>E. uniflora</i> .	23
Figura 6 - A) Placa de CCD das frações obtidas no processo de extração de frutos de <i>E. uniflora</i> : fração MX9 (acetato de etila); fração MX10 (eluída do extrato), fração MX11 (eluída com metanol). B) Imagem das frações MX9, MX10 e MX11.	24
Figura 7 -Espectros de massas LC-ESI-QTOF-MS/MS (modo positivo, range 0 a 13,5 min) das frações MX9, MX10 e MX11.	25
Figura 8 - Espectro de massas LC-ESI-QTOF-MS/MS (modo positivo) do composto de mz/mz 449,1101 da fração MX11.	26

## **LISTA DE ABREVIAÇÕES**

CCD	Cromatografia em camada delgada
MS/MS	Espectrometria de massas sequencial
IBTEC-UFU	Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia
IES	Ionização por electrospray
LLE	Extração líquido-líquido
MEOH	Metanol
NuPPeN	Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais
PNPMF	Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
PTFE	Politetrafluoroetileno
ReniSUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde
SiBBr	Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira
SPE	Extração em fase sólida
SUS	Sistema Único de Saúde
TFA	Ácido Trifluoroacético

## **SUMÁRIO**

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3. OBJETIVOS	17
4. PARTE EXPERIMENTAL	17
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	21
6. CONCLUSÃO	26
7. REFERÊNCIAS	27

## 1. INTRODUÇÃO

Plantas medicinais são as matérias-primas para o desenvolvimento de fitoterápicos e de fármacos, sendo esses últimos utilizam compostos de origem natural isolados ou modificados. Uma vez que a biossíntese de composto biologicamente ativo depende das condições em que o indivíduo vegetal é exposto, a presença e a concentração podem variar entre espécies de famílias diferentes, ou até mesmo entre elas quando expostas a condições diversas. Desse modo, pode-se analisar a necessidade de abordar o controle de qualidade de fitoterápicos que traga segurança e eficácia a usuários desses medicamentos. A seleção da espécie vegetal é uma etapa que pode definir a possibilidade de sucesso na obtenção de um fitofármaco ou de um medicamento fitoterápico, e a escolha do processo de extração do material vegetal que envolve solventes e fracionamento dos extratos são importante etapas (Simões et al., 2017).

O Brasil possui uma grande biodiversidade. As interações dos indivíduos com o meio ambiente resultam na produção de substâncias que, embora dispensáveis para o crescimento e o desenvolvimento básicos de uma espécie em isolamento, são fundamentais para a sobrevivência em seu habitat. Esses compostos, conhecidos como metabólitos especializados ou secundários, podem apresentar atividade biológica significativa sobre outros organismos vivos, possibilitando desenvolvimento de fitoterápicos, por exemplo (Simões, 2017). Diante desse potencial, uma das propostas do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) é inserir plantas medicinais, fitoterápicos e serviços relacionados à fitoterapia no SUS (Sistema Único de Saúde), estabelecendo ações pelos diversos parceiros, em torno de objetivos comuns voltados à garantia do acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos em nosso país (Ministério da Saúde, 2019).

A pitanga vermelha, cientificamente conhecida como *Eugenia uniflora*, pertencente à família *Myrtaceae*, é uma fruta amplamente cultivada em diversas regiões tropicais e subtropicais, possui uma vibrante coloração além de seu aroma característico (De Araújo et al., 2019). Além de seu sabor exótico, a pitanga vermelha é apreciada por suas propriedades nutricionais, sendo uma excelente fonte de minerais e compostos

bioativos como vitaminas, compostos fenólicos, açúcares e fibras (Malaman et al., 2010). A *Eugenia uniflora* é uma espécie vegetal que apresenta estudos e pesquisas no âmbito do Sistema único de Saúde, como também faz parte da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (Pereira; Monteiro; Siqueira, 2020, Ministério da Saúde, 2025).

Nesse trabalho foi realizado o estudo com a *Eugenia uniflora*, que é uma espécie vegetal que se encontra na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RenISUS) desenvolvendo um método de extração de composto fenólico para possível identificação de substâncias com atividade biológica (Ministério da Saúde, 2025).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Composição química da *E. uniflora*

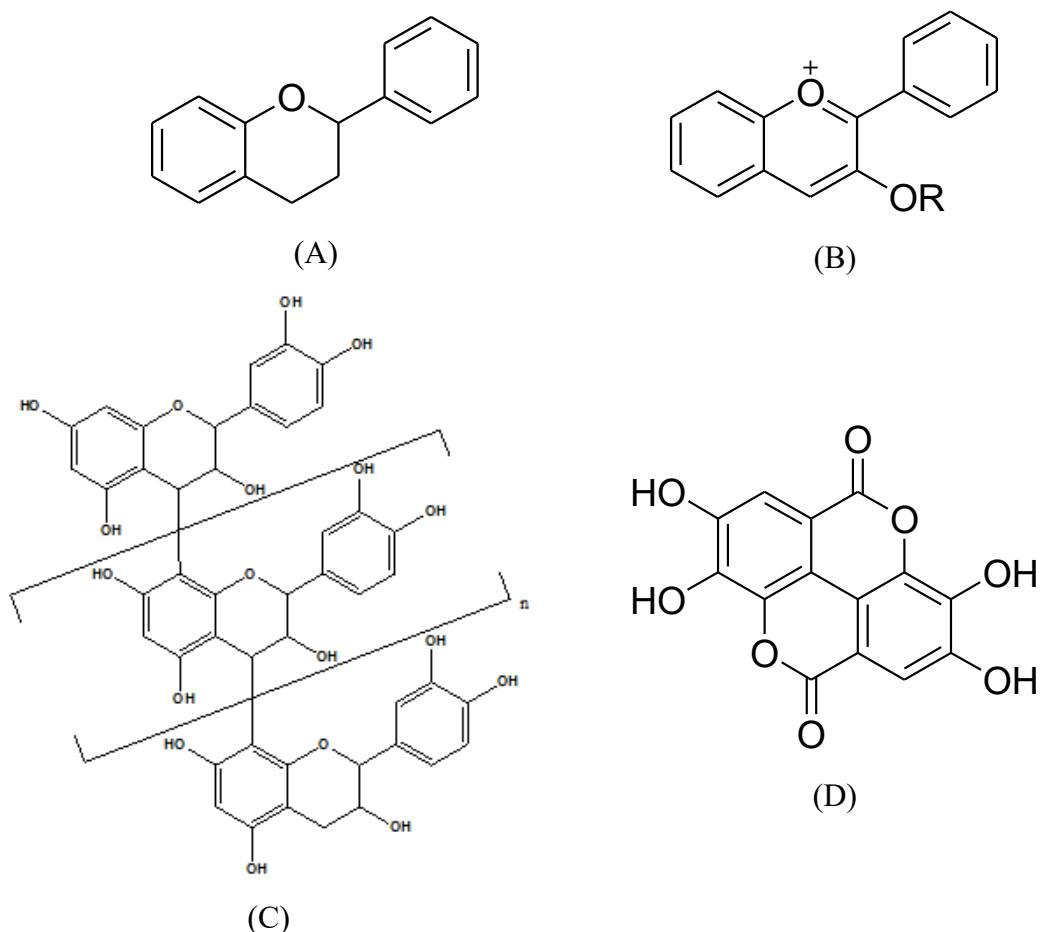
De acordo com as informações sobre a biodiversidade e os ecossistemas brasileiros fornecidos pelo SiBBr (Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira, 2025), a *E. uniflora* é uma espécie nativa Brasileira de Valor Econômico. Os frutos da *E. uniflora* podem atingir cerca de 3 cm de diâmetro e apresentar de 8 a 10 sulcos longitudinais, possui uma coloração vermelha ou roxo escuro quando exige a maturação. O fruto possui cerca de três grandes sementes e a polpa (média de 77% de polpa e 23% de semente), seu sabor, doce e ácido, e odor são únicos e característicos (Dantas et al., 2021).

Entre os compostos encontrados na *Eugenia uniflora* temos os fenólicos (flavonoides, antocianinas, proantocianidinas e ácido elágico (Figura 1), carotenoides (como licopeno e luteína Figura 2) e ácido ascórbico (Figura 3), metabólitos secundários relacionados a diversas funções biológicas (Borges, 2015).

Os compostos químicos encontrados nas frutas da *Eugenia uniflora* podem variar dependendo do indivíduo, das condições climáticas, manejo, condições do solo e nutrição, entretanto podendo apresentar, dependendo do estágio de maturação, altas

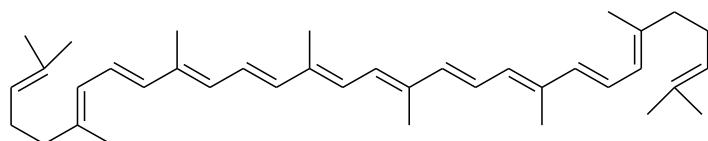
quantidades de flavonoides e proantocianidinas (taninos condensados), compostos conhecidos por sua atividade antioxidante (Ramalho et al., 2019).

Figura 1 - Estrutura química geral de um flavonoide (A), de uma antocianina (B), de uma proantocianidina (C) e ácido elágico (D).



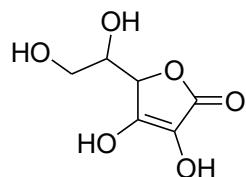
Fonte: Adaptado de Borges (2015).

Figura 2 – Estrutura química do licopeno (carotenoide).



Fonte: Borges (2015).

Figura 3 – Estrutura química do ácido ascórbico.



Fonte: autor.

Segundo Celli, Pereira-Netto e Beta (2011), os frutos verdes da pitangueira apresentam maior teor de compostos fenólicos totais e, consequentemente, maior atividade antioxidante quando comparados a frutos em estágios mais avançados de maturação. Além do interesse voltado aos benefícios para a saúde, a utilização dos extratos desses frutos desperta atenção pelo seu potencial em retardar ou inibir processos oxidativos em alimentos e cosméticos, ampliando suas aplicações industriais.

## 2.2 Etnofarmacologia e atividade biológica da *E. uniflora*

A *Eugenia uniflora L.*, apresenta longa tradição de uso na medicina popular brasileira e em outras regiões da América Latina. Suas folhas, frutos e sementes são empregados em preparações caseiras, como chás e infusões, para o tratamento de distúrbios digestivos, febre, hipertensão, inflamações e dores em geral (Lorenzi; Matos, 2008; Schek et al., 2014). Estudos etnobotânicos demonstram que diferentes comunidades utilizam a planta principalmente como analgésico, antipirético e anti-hipertensivo, confirmando sua importância cultural e terapêutica no contexto popular.

Do ponto de vista científico, pesquisas farmacológicas têm validado parte desses usos tradicionais. Consolini, Baldini e Amat (1999) demonstraram que os extratos de folhas de *E. uniflora* exercem efeito anti-hipertensivo em ratos, possivelmente relacionado à presença de compostos fenólicos e terpenos. Além disso, diversos estudos *in vitro* relatam atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antidiabéticas e hipolipemiantes, atribuídas à diversidade de metabólitos especializados, como flavonoides, taninos, proantocianidinas e óleos essenciais. Esses constituintes são

reconhecidos pela atividade antioxidante, capaz de sequestrar radicais livres e modular vias de sinalização celular, além de apresentarem efeitos antimicrobianos e antienzimáticos sobre  $\alpha$ -amilase,  $\alpha$ -glicosidase e lipase, sugerindo aplicações no controle de doenças metabólicas. Ensaios *in vivo* demonstraram ainda a capacidade dos extratos de pitanga em prolongar a longevidade e atenuar processos de neurodegeneração associados ao Alzheimer e ao Parkinson, reforçando seu potencial como fonte de compostos bioativos de interesse farmacêutico, alimentício e cosmético (Borges, 2015).

### **2.3 Métodos de extração de extratos vegetais (ou extração seletiva)**

A extração de compostos bioativos de matrizes vegetais requer métodos capazes de separar e concentrar seletivamente as substâncias de interesse, reduzindo interferentes e otimizando a análise posterior. Entre os principais métodos aplicados destacam-se a extração em fase sólida (SPE) e a extração líquido-líquido (LLE), cujos princípios estão relacionados diretamente à solubilidade diferencial dos compostos e às interações intermoleculares, conceitos fundamentais da química orgânica (Solomons; Fryhle, 2012, Skoog et al., 2008).

A extração em fase sólida (*Solid-phase extraction*, SPE) consiste na retenção seletiva de moléculas em uma fase estacionária sólida, seguida de eluição com solventes adequados. Esse processo explora interações como forças de van der Waals, ligações de hidrogênio e interações dipolo-dipolo para concentrar compostos de interesse, como flavonoides e ácidos fenólicos. Dessa forma, a SPE é uma técnica eficiente e seletiva, amplamente utilizada para o preparo de extratos vegetais (Awang et al., 2022).

A extração líquido-líquido (LLE), por sua vez, baseia-se no princípio de que uma substância se distribui de forma diferente entre duas fases líquidas imiscíveis, geralmente aquosa e orgânica, em função de sua polaridade relativa. Compostos mais polares tendem a permanecer na fase aquosa, enquanto moléculas apolares migram preferencialmente para a fase orgânica. Esse método permite fracionar metabólitos secundários, como alcaloides, terpenos e taninos, conforme suas propriedades químicas, sendo empregado na purificação inicial de extratos vegetais orgânica (Solomons; Fryhle, 2012, Skoog et al., 2008).

### **3. OBJETIVOS**

Este trabalho teve como objetivo desenvolver um método para extração de compostos fenólicos em extrato do fruto de *Eugenia uniflora*.

### **4. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **4.1 Instrumentação**

- Balança analítica SHIMAFZU modelo ATX224.
- Balança de luz infravermelha para determinação da umidade Quimis modelo Kett FD-600.
- Evaporador rotatório IKA modelo RV10.
- Liofilizador TERRONI modelo LS3000.
- Espectrofotômetro Thermo Scientific modelo Genesys 10S UV-Vis
- Lavadora Ultrassônica UNIQUE modelo USC 750.
- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Agilent modelo Infinity 1260, acoplado a um espectrômetro de Massas de alta resolução tipo *Quadropole (Time of Flight) Q\_TOF* da marca Agilent® modelo 6520 B com fonte de ionização por electrospray (ESI).

#### **4.2 Materiais e Reagentes**

- Os ácidos: sulfúrico, fórmico e tricloroacético (TFA) também foram de marcas diversas: Synth, Merck, Vetec.
- Placa de alumínio com sílica gel 60, para cromatografia em camada delgada (CCD) contendo indicador de fluorescência da marca Macherey-Nagel.
- Reveladores utilizados na prospecção fitoquímica: vanilina sulfúrica, sulfato célico.
- Solventes utilizados para extração e cromatografia: hexano, etanol, acetato de etila e metanol foram de marcas diversas: Synth, Vetec, Merck, Neon. O hexano, etanol e acetato de etila foram destilados para maior grau de pureza.

#### 4.3 Coleta e Preparo do Material Vegetal

Coletou-se os frutos que a *Eugenia uniflora* produz uma vez ao ano no mês de novembro de espécimes presente na Universidade Federal de Uberlândia ( $18^{\circ}55'11"S$   $48^{\circ}15'29"W$  /  $18^{\circ}55'12"S$   $48^{\circ}15'35"W$ ) campus Santa Mônica a distância entre os pontos é de 198,86 m, na Figura 4 tem-se a posição do pontos de coleta realizada no dia 10 de novembro de 2022 as 11 hora e 20 minutos a temperatura no momento era de 30 °C, a porcentagem de umidade do ar era de 56 %, no dia 16 de novembro de 2022 as 12 hora e 30 minutos a temperatura no momento era de 31 °C, a porcentagem de umidade do ar era de 58 %, no dia 18 de novembro de 2022 as 10 hora e 15 minutos a temperatura no momento era de 29,8 °C, a porcentagem de umidade do ar era de 60 %, e no dia 21 de novembro de 2022 as 10 hora a temperatura no momento era de 27,5 °C, a porcentagem de umidade do ar era de 62 %.

Figura 4 - Pontos de coleta do fruto de *Eugenia uniflora*.



Fonte: Google Earth

Congelou-se as frutas para realizar a secagem por liofilização, atingindo-se a umidade inferior a 10%, o material vegetal foi triturado através de moinho de facas e armazenados em freezer.

#### **4.4 Avaliação do Teor de Umidade**

O teor de umidade do fruto foi determinado em uma balança de luz infravermelha (Quimis modelo Kett FD-600), onde 1,0 g do material vegetal foi aquecido até cerca de 105 °C por 15 minutos.

#### **4.5 Preparo de Extratos**

Utilizou-se o método de Cuevas-Rodriguez et al. (2010) adaptado para isolamento de proantocianidinas. Triturou-se 100 g dos frutos e deixou-os em suspensão em 175mL de metanol 80 % (0,3% TFA) por 24h, filtrou-se e removeu-se o solvente do filtrado por evaporação no evaporador rotatório à pressão reduzido a 40 °C, obtendo-se um extrato bruto (34,1g).

#### **4.6 Extração do extrato**

O fracionamento iniciou-se a partir do extrato obtido, cuja massa seca correspondia a 39,1g. Do material, 30,0806 foi previamente solubilizado em 120 mL água (volume remanescente após a remoção do solvente inicial). Em seguida, procedeu-se à extração líquido-líquido com acetato de etila, realizando-se quatro partições consecutivas, cada uma com 120 mL de solvente. A fase orgânica resultante foi separada e denominada fração MX9 cuja massa seca correspondia 3,6 g.

A fração aquosa (20,0621 g diluída em água) obtida foi carregada em uma coluna de vidro (30x2 cm) com fase estacionária Amberlite XAD-2 (74,4g) com volume morto de 42 mL de água 0,3 TFA, após a eluição da fração aquosa na resina e separação do eluato (MX10), a resina foi eluída com 300 mL de água destilada contendo 0,3% TFA e separou-se essa fração (MX13) cuja massa seca correspondia 5,3g. Em seguida, a resina foi eluída com 400 mL de metanol contendo 0,3% TFA e separou-se essa fração (MX11) cuja massa seca correspondia 0,17g. As frações foram rotavaporadas para remoção do solvente, seguido de liofilização.

#### **4.7 Cromatografia em Camada Delgada**

Para a determinação preliminar das possíveis classes de compostos fenólicos presentes no extrato, realizou-se a técnica de cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando reagentes colorimétricos para derivatização dos compostos. O extrato foi solubilizado em metanol na concentração de 5 mg/mL, e as alíquotas da solução foram aplicadas em uma placa de sílica gel. A fase móvel utilizada como eluente foi constituída por acetato de etila, água purificada, ácido fórmico e ácido acético (10:2,6:1,1:1,1), de acordo com Wagner e Bladt (1996). Após o eluição cromatográfica, as placas foram secas em temperatura ambiente e submetidas à revelação com solução de vanilina sulfúrica, seguida de aquecimento.

#### **4.8 Teor de fenóis totais**

Utilizando-se a metodologia proposta por Morais e outros (2008), o teor de fenóis totais foi determinado para os extratos dos frutos. Inicialmente, em um tubo de ensaio foi adicionado 0,5 mL de solução metanólica do extrato ( $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 2,5 mL de solução aquosa do reagente de Folin-Ciocalteu 10% ( $\text{v v}^{-1}$ ) e 2,0 mL de uma solução recém preparada de carbonato de sódio 7,5% ( $\text{m v}^{-1}$ ). A mistura foi mantida por 5 min em banho a 50 °C. Em um espectrofotômetro, a absorbância da mistura foi medida em 760 nm. Para obtenção do branco, o mesmo procedimento foi realizado utilizando 0,5 mL de metanol. O resultado foi expresso em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de extrato. Para isto, o ácido gálico, em variadas concentrações (10 a 80  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), foi reagido com o Folin-Ciocalteu, sendo construída uma curva analítica da absorbância obtida versus concentração de ácido gálico utilizada.

#### **4.9 Análise da Composição Química dos Extratos por Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas**

Realizou-se a cromatografia líquida de alta eficiência hifenoado ao espectrômetro de massas com fonte de ionização por electrospray LC-ESI-QTOF-MS/MS, no Laboratório de Nanobiotecnologia-Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho do Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia (IBTEC-UFU) em um cromatógrafo líquido (marca Agilent® modelo Infinity 1260) acoplado a um

espectrômetro de massas de alta resolução tipo Q-TOF da marca Agilent® modelo 6520 B com fonte de ionização por electrospray (ESI), utilizando coluna Agilent® modelo Zorbax C18 3,0 mm de diâmetro interno, 100,0 mm de comprimento, partículas de 2,7 µm. Os parâmetros cromatográficos para análise dos extratos e partições foram: fase móvel (A) composta por água acidificada com ácido fórmico (0,1% v.v<sup>-1</sup>) e fase móvel (B) metanol, com gradiente: 10% de B (0 min), 98% de B (0 – 15 min), 100% de B (15 – 17 min), volume de injeção foi 0,4 mL min<sup>-1</sup>. Os parâmetros de ionização foram: pressão do nebulizador de 58 psi, gás secante a 8 L min<sup>-1</sup> a uma temperatura de 220 °C e no capilar foi aplicado uma energia de 4,5 KVA.

Preparou-se as amostras para serem injetadas solubilizando-as em metanol grau HPLC, usando a concentração de 5 mg mL<sup>-1</sup>, e filtradas em filtros de seringa com membrana de politetrafluoroetileno (PTFE) 45 µm.

Realizou-se as análises de espectrometria de massas sequencial (EM/EM) em diferentes energias de colisões para os modos positivo e negativo para cada íon molecular. A fórmula molecular proposta de cada composto foi selecionada de acordo com uma lista sugerida pelo Software Agilent MassHunter® seguindo a mais baixa diferença entre a massa experimental e a massa exata, erro em ppm (Equação 1), equivalência de insaturações e regra do nitrogênio. As possíveis estruturas foram propostas utilizando de dados em artigos acadêmicos, analisando, principalmente, sistemas de solventes, tempos de retenção e espetro de massas.

$$E_{ppm} = \frac{\text{massa experimental} - \text{massa exata}}{\text{massa exata}} \times 10^6 \quad \text{Equação 1}$$

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

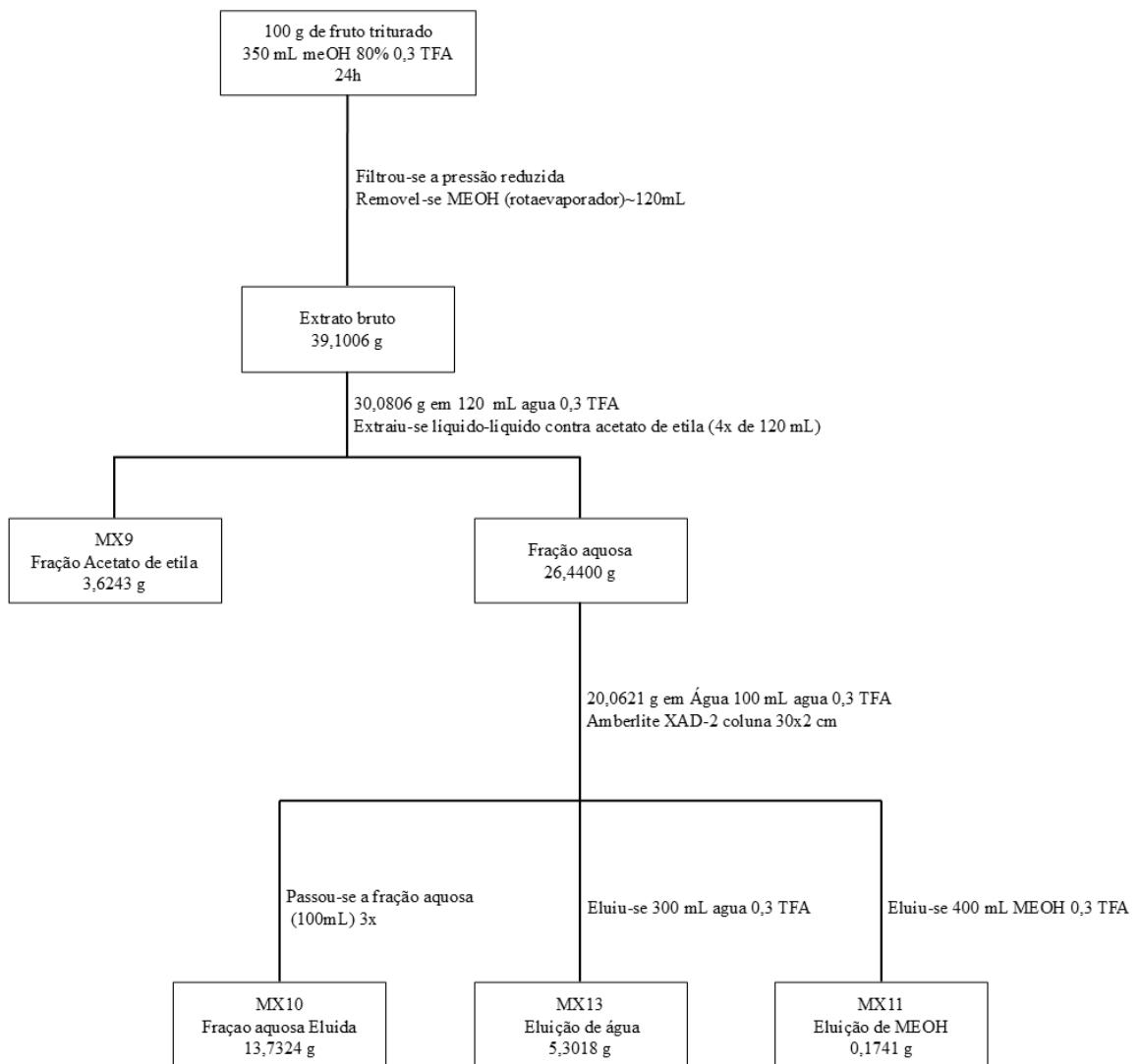
### 5.1 Extração de metabólitos de frutos da *E. uniflora*

A extração das antocianinas do fruto de *E. uniflora* foi realizada através de extração sólido-líquido. Neste tipo de extração, a transferência dos metabólitos secundários do sólido (tecido vegetal) para o solvente é regida por processos de solubilidade, difusão e equilíbrio químico (Solomons; Fryhle, 2012, Skoog et al., 2008). Solventes polares (água, metanol, etanol) solubilizam preferencialmente compostos hidrofilicos, como fenólicos e flavonoides. Já solventes menos polares (acetato de etila, clorofórmio, hexano) solubilizam substâncias lipofílicas, como carotenoides, terpenos e óleos essenciais. Neste trabalho, a extração de 100 g de fruto foi realizada de acordo com Cuevas-Rodríguez et al. (2010), utilizando metanol 80 % (0,3% TFA) como solvente extrator. De acordo com o artigo, para o isolamento de antocianinas e proantocianidinas em *Rubus* spp. (amoras-pretas mexicanas), combinou-se extração com solventes, resinas de adsorção e técnicas cromatográficas. Além disso, destaca que a utilização do metanol 80% acidificado com ácido trifluoroacético (TFA 0,3%) é importante para a extração dos compostos fenólicos e o pH baixo preveniu a degradação da molécula como a antocianinas.

Como resultado da extração, foi obtido 39,1 g (39,1% de rendimento) de extrato. É importante ressaltar que para cálculo do rendimento das etapas subsequentes considerou como base 100 g de frutos liofilizados (umidade inferior de 10%). Além disso, todo o extrato obtido foi utilizado nas demais etapas do processo.

Sequencialmente, o extrato foi fracionado através de partição líquido-líquido (Figura 5) utilizando acetato de etila (4,7%). A fração aquosa foi, portanto, submetida a uma partição sólido-líquida utilizando a resina polimérica Amberlite XAD-2. O eluatato (MX10) foi separado da resina por filtração (utilizando coluna cromatográfica de vidro como suporte) e a resina foi eluída com água (0,3% de TFA) obtendo MX13 seguido de eluição com metanol (0,3% de TFA) obtendo-se a fração MX11 (0,23% de rendimento).

Figura 5 - Fluxograma da metodologia utilizada na extração compostos fenólicos de frutos de *E. uniflora*.



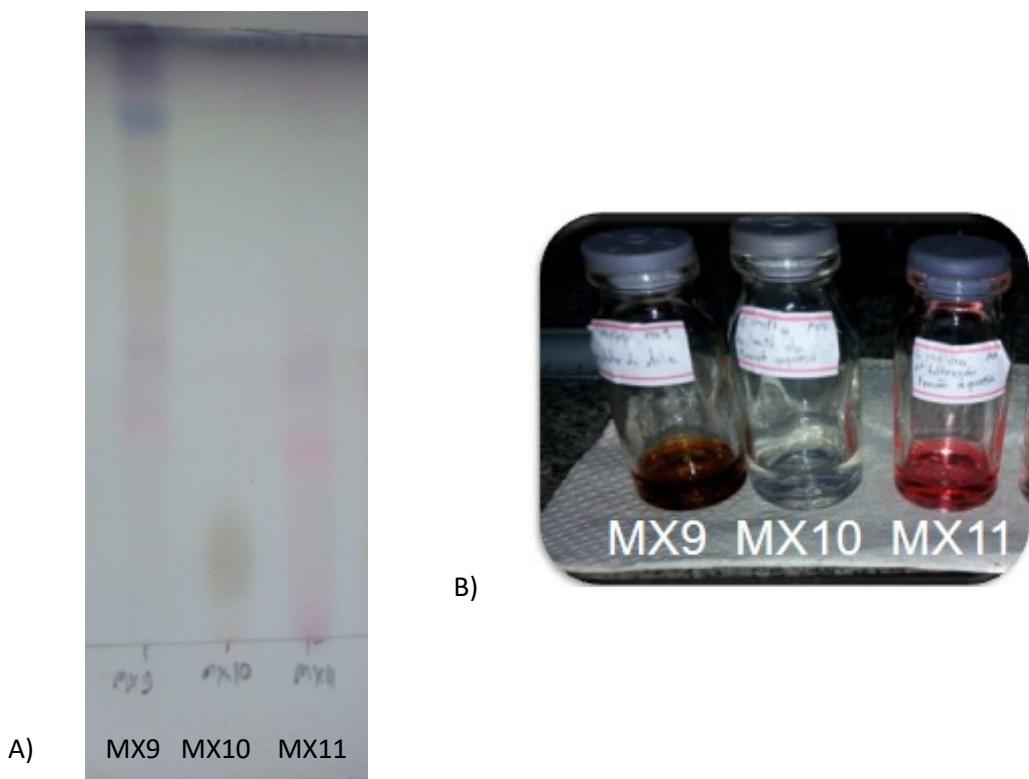
Fonte: autor.

Realizou-se a análise do teor de fenóis totais das frações MX9 e MX11 pelo método de Folin-ciocalteau. A fração MX11 (metanólica) apresentou maior teor de compostos fenólicos com o valor de 435,48 mg de EAG/g de extrato, seguido da fração MX9 (acetato de etila) com 290,79 mg de EAG/g de extrato. O teor de compostos fenólicos determinado para a fração metanólica (435,48 mg EAG/g de extrato) foi considerado elevado, quando comparado aos valores relatados na literatura para frutos com alta atividade antioxidante. Portanto, a partição líquido-líquido inicial com acetato de etila seguido da extração com amberlite-XAD-2 mostrou-se eficiente. Essa resina foi responsável por reter compostos

fenólicos (antocianinas e proantocianidinas) pela adsorção, o que favoreceu a separação de açúcares, sais e pectinas da fração aquosa. A aplicação da técnica utilizada a resina polimérica Amberlite XAD-2 aumentou significativamente a pureza dos extratos.

Na cromatografia de camada delgada realizada das frações, utilizando vanilina sulfúrica como reagente colorimétrico (Figura 6), observou-se a presença de compostos fenólicos nas frações acetato de etila e metanólica, nas regiões onde é observado a coloração rosa após a utilização do revelador.

Figura 6 - A) Placa de CCD das frações obtidas no processo de extração de frutos de *E. uniflora*: fração MX9 (acetato de etila); fração MX10 (eluída do extrato), fração MX11 (eluída com metanol). B) Imagem das frações MX9, MX10 e MX11.



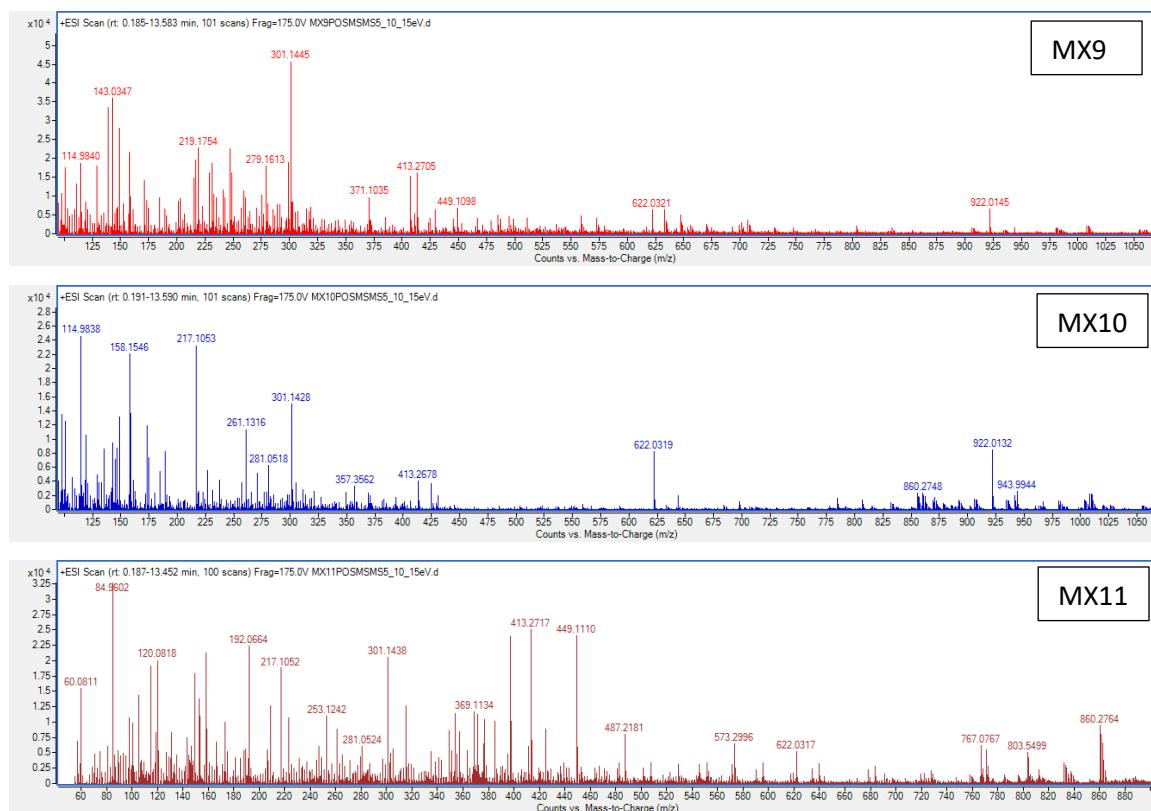
Fonte: autor.

#### **4.2 Análise da composição química de frações do extrato dos frutos de *E. uniflora***

A técnica de LC-ESI-QTOF-MS/MS foi empregada para a caracterização dos compostos presentes nos extratos. A identificação foi realizada com auxílio do software MassHunter®, por meio da observação dos picos cromatográficos e das respectivas

massas. As massas obtidas foram comparadas a uma biblioteca customizada. As análises foram conduzidas no modo positivo. Na Figura 7 estão apresentados os espectros de massas da análise de 0 a 13,5 min, para as frações MX9, MX10 e MX11.

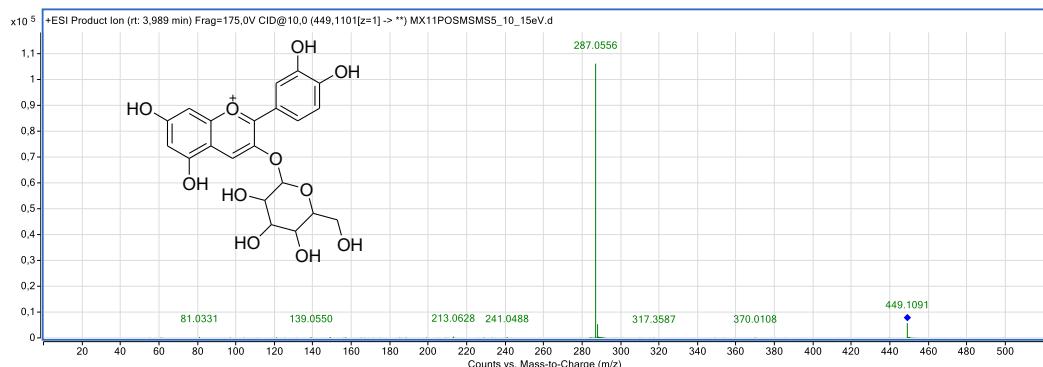
Figura 7 -Espectros de massas LC-ESI-QTOF-MS/MS (modo positivo, range 0 a 13,5 min) das frações MX9, MX10 e MX11.



Fonte: autor.

Através dos espectros de massas observou o  $m/z$  449,1101 que foi anotado como sendo a Cyanidine 3-O-hexoside ( $C_{21}H_{21}O_{11}^+$ , erro: 5,1 ppm) que é uma antocianina (Oancea et al., 2013). A presença desse composto foi observada na fração MX9, porém em menor intensidade, e na fração MX11, nessa em maior intensidade.

Figura 8 - Espectro de massas LC-ESI-QTOF-MS/MS (modo positivo) do composto de  $m/z$  449,1101 da fração MX11.



Fonte: autor.

## 6. CONCLUSÃO

A metodologia de extração de compostos fenólicos em extrato de frutos de *E. uniflora* apresentou resultado eficiente, como observado no teor de fenóis totais. Com relação à extração de antocianinas, um pigmento responsável pela cor do fruto, foi verificado também a separação eficiente ao utilizar a resina amberlite XAD-2. Estudos ainda são necessários sobre a anotação dos demais compostos presentes nas frações, a fim de investigar quais classes de compostos fenólicos (além da antocianina) foram extraídos com a metodologia desenvolvida.

## REFERÊNCIAS

AWANG, M.A.; CHUA, L.S.; ABDULLAH, L.C. Solid-Phase Extraction and Characterization of Quercetin-Rich Fraction from *Melastoma malabathricum* Leaves. *Separations*, v. 9, p.373, 2022. <https://doi.org/10.3390/separations9110373>

BORGES, Kátia Cristina. *Pitanga (*Eugenia uniflora*) desidratada por atomização e liofilização: características físico-químicas, compostos bioativos e efeito sobre a longevidade, estresse oxidativo e neurotoxicidade induzida em modelos in vivo *Caenorhabditis elegans*.* 2015. 214 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

CELLI, Giovana Bonat; PEREIRA-NETTO, Adaucto Bellarmino; BETA, Trust. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages. *Food Research International*, v. 44, n. 9, p. 2442–2451, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.036>.

CONSOLINI, A. E.; BALDINI, O. A.; AMAT, A. G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 66, n. 1, p. 33-39, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00194-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00194-9)

CUEVAS-RODRÍGUEZ, E. O.; YOUSEF, G. G.; GARCÍA-SAUCEO, P. A.; LÓPEZ-MEDINA, J.; PAREDES-LÓPEZ, O.; LILA, M. A. Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Wild and Domesticated Mexican Blackberries (*Rubus* spp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, n. 12, p. 7458–7464, 2010. <https://doi.org/10.1021/jf101485r>

DANTAS, Renato Lima; BEZERRA, Eduardo Magno do Nascimento; SANTOS, Lindemberg Timóteo dos; ALVES, Pedro de Oliveira; LIMA, Lindojonio Pereira de;

OLIVEIRA, Josiane Silva de. Qualidade de frutos de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) durante a maturação. *Revista Ciência e Saúde Nova Esperança*, v. 19, n. 3, p. 146-154, 2021. <https://revista.facene.com.br/index.php/revistane/article/view/733>

DE ARAÚJO, F. F.; NERI-NUMA, I. A.; FARIA, D. P.; DA CUNHA, G. R. M. C.; PASTORE, G. M. Wild Brazilian species of *Eugenia genera* (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. *Food Research International*, v. 121, p. 57–72, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.018>

LORENZI, H. E.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

MALAMAN, F. S.; MORAES, L. A. B.; WEST, C.; FERREIRA, N. J.; OLIVEIRA, A. L. Supercritical fluid extracts from the Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.): Relationship between the extracted compounds and the characteristic flavour intensity of the fruit. *Food Chemistry*, v. 124, n. 1, p. 85-92, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.109>

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília, 2019. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/seccions/plantas-medicinais-e-fitoterapicos/ppnppmf>>. Acesso em: 10 set. 2025.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (Renisus). Brasília, Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/seccions/plantas-medicinais-e-fitoterapicos/ppnppmf/renisus>>. Acesso em: 10 set. 2025.

MORAIS, S. A. L.; AQUINO, F. J. T.; NASCIMENTO, E. A.; OLIVEIRA, G. S.; CHANG, R.; SANTOS, N. C.; ROSA, G. M. Análise de compostos bioativos, grupos ácidos e da atividade antioxidante do café arábica (*Coffea arabica*) do cerrado e de seus grãos defeituosos (PVA) submetidos a diferentes torras. *Ciência e Tecnologia de*

Alimentos, v. 28, p. 198-207, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000500031>

OANCEA, SIMONA; MOISEENCO, FLORIANA; TRALDI, PIETRO Total phenolics and anthocyanin profiles of Romanian wild and cultivated blueberries by direct infusion ESI-IT-MS/MS. *Romanian Biotechnological Letters*, v. 18, n. 3, p. 8350-8360, 2013.

PEREIRA , I. R. S.; MONTEIRO , I. G.; SIQUEIRA, L. P. Extrato da *Eugenia uniflora* L. (pitangueira) e sua ação anti-inflamatória em afecções dermatológicas – Uma revisão da literatura. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n.6, p. 33630-33645, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n6-062>

RAMALHO, Ruver Rodrigues Feitosa et al. Variability of polyphenols and volatiles during fruit development of three pitanga (*Eugenia uniflora* L.) biotypes. *Food Research International*, v. 119, p. 850–858, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.068>

SCHEK, G.; ROCHA, G. B. D.; PALMA, J. S.; HECK, R. M.; BARBIERI, R. L. Medicinal plants used for analgesia in families descendants of pomeranians in Southern Brazil. *Journal of Research Fundamental Care Online*, v. 6, n. 3, p. 929-937, 2014. <https://doi.org/10.9789/2175-5361.2014.v6i3.929-937>

SIMÕES, Cláudia M O.; SCHENKEL, Eloir P.; MELLO, João C P.; et al. Farmacognosia.: Grupo A, 2017. E-book. ISBN 9788582713655. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582713655/>. Acesso em: 20 dez. 2023.

Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira. SIBBR. Lista de espécies. Species List – SIBBR, Disponível em: <<https://specieslist.sibbr.gov.br/speciesListItem/list/drt1599070868468>>. Acesso em: 10 set. 2025.

SKOOG, D.A. WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. 8a. ed. **Fundamentos de Química Analítica.** São Paulo: Cengage Learning, 2008.

SOLOMONS, T. W. Graham; FRYHLE, Craig B. *Química Orgânica.* 10. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

WAGNER, H.; BLADT, S. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. 2. ed. Berlin: Springer, 1996. 384 p.