

UFRRJ
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO

**Diversidade Química dos Óleos Essenciais de *Eugenia uniflora* L.
(Myrtaceae) Acessada nas Regiões da Baixada Litorânea, Metropolitana e
da Costa Verde do Estado do Rio de Janeiro**

Eduardo Barros Duarte Junior

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Diversidade Química dos Óleos Essenciais de *Eugenia uniflora* L.
(Myrtaceae) Acessada nas Regiões da Baixada Litorânea, Metropolitana e
da Costa Verde do Estado do Rio de Janeiro**

EDUARDO BARROS DUARTE JUNIOR

Sob a Orientação do Professor
Marco André Alves de Souza

Sob a Coorientação do Professor
Pedro Corrêa Damasceno Junior

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Química**, no Programa de Pós-Graduação em Química, área de Concentração em Química.

Seropédica, RJ
Setembro de 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

D812d Duarte Junior, Eduardo Barros, 1985-
Diversidade Química dos Óleos Essenciais de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) Acessada nas Regiões da Baixada Litorânea, Metropolitana e da Costa Verde do Estado do Rio de Janeiro / Eduardo Barros Duarte Junior. - Seropédica, 2023.
139 f.: il.

Orientador: Marco André Alves de Souza.
Coorientador: Pedro Corrêa Damasceno Junior.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Química, 2023.

1. Pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). 2. Óleos Essenciais. 3. Diversidade Química e Teor (%). I. de Souza, Marco André Alves, 1975-, orient. II. Damasceno Junior, Pedro Corrêa, 1973-, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Eduardo Barros Duarte Junior

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química, no Programa de Pós-graduação em química, Área de concentração em Química.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 29/09/2023

Marco André Alves de Souza Dr. UFRRJ

Davyson de Lima Moreira Dr. IPJBRJ

Marcelo da Costa Souza Dr. UFRRJ



Emitido em 2023

TERMO Nº 1132/2023 - PPGQ (12.28.01.00.00.60)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 10/10/2023 13:14)

MARCELO DA COSTA SOUZA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
JB (12.28.01.00.00.45)
Matrícula: ###551#9

(Assinado digitalmente em 16/10/2023 22:11)

MARCO ANDRE ALVES DE SOUZA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DBQ (11.39.00.24)
Matrícula: ###822#3

(Assinado digitalmente em 16/10/2023 14:19)

DAVYSON DE LIMA MOREIRA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.877-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: **1132**, ano: **2023**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **10/10/2023** e o código de verificação: **5ce6c5a709**

Agradecimentos

A minha mãe, que me educou mesmo antes de ingressar no meio acadêmico, sempre me apoiou e me ensinou valores que levarei comigo para o resto da minha vida.

Ao professor Marco André, que além de orientador, foi meu amigo, estando presente não apenas nos momentos inerentes a realização da pesquisa, mas sobretudo nos momentos mais difíceis, como na perda do meu pai e sem a sua ajuda eu não conseguiria concluir esse trabalho.

A minha esposa, que sempre esteve ao meu lado, me incentivou, sendo o alicerce que me manteve firme e possibilitou que eu seguisse em frente durante toda a jornada.

A minha filhinha, luz da minha vida e maior presente que já ganhei.

Ao meu pai, que perdi durante o mestrado, mas mantive seus valores, sobretudo o da honestidade e do trabalho, que sempre levarei comigo.

Ao meu amigo Rafael, que me apresentou ao professor Marco André, abrindo as portas para meu ingresso no mestrado e ainda me ajudou, mesmo nos finais de semana, na realização das análises, nas extrações, sendo vital na realização do trabalho.

Ao professor Pedro Damasceno, que me ajudou nos ensinamentos de análise estatística multivariada, sendo fundamental para a conclusão do trabalho.

Aos meus amigos da pós-graduação Ygor, Elisabeth e Camila, que ajudaram muito nos trabalhos de campo, de laboratório e no incentivo para seguir em frente nos momentos difíceis.

A todos os companheiros e estagiários do Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais da UFRRJ, que contribuíram bastante na realização desse trabalho, na troca de conhecimento nas reuniões e na leitura dos artigos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química, que me propiciou o acesso a um conhecimento amplo nas disciplinas durante o mestrado e professores excelentes que ajudaram muito na minha formação.

Ao INEA e ICMBio, que possibilitaram a entrada nas UCs estaduais e federais, além de terem dado todo o suporte durante a realização dos trabalhos de campo nessas áreas.

Ao Herbário RBR, professor Marcelo, professora Eliane e toda equipe que auxiliaram no depósito e registro dos exemplares, dando todo suporte necessário.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) – *Código de Financiamento 001*.

RESUMO (GERAL)

JUNIOR, Eduardo Barros Duarte. **Diversidade Química dos Óleos Essenciais de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) Acessada nas Regiões da Baixada Litorânea, Metropolitana e da Costa Verde do Estado do Rio de Janeiro.** 2023. 139p. Dissertação (Mestrado em Química, área de Concentração em Química e Avaliação Biológica de Produtos Naturais e Ecologia.). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Os óleos essenciais (OEs) são produtos naturais (PNs) que tem sido alvo de muitas pesquisas nos últimos anos, sobretudo aqueles obtidos a partir da extração de parte aéreas de plantas aromáticas que integram a Mata Atlântica, a qual abriga uma biodiversidade rica relacionada à flora. A espécie *Eugenia uniflora* L., popularmente conhecida como pitangueira, é uma importante planta que compõe esse bioma. Apesar de existirem trabalhos que mostrem informações acerca do perfil químico dos OEs de pitangueira, poucos associam a diversidade na composição química de espécimens do Estado do Rio de Janeiro. Assim, um estudo que descreva a diversidade química dos OEs extraídos de exemplares nativos de pitangueira, é importante para um bom entendimento do perfil químico, para futuras pesquisas em outras áreas e valorização do patrimônio brasileiro. O presente estudo foi dividido em duas partes, sendo a primeira a busca de artigos publicados com informações acerca do perfil químico de diferentes óleos essenciais de pitangueira e a análise estatística dos dados para uma melhor compreensão e posterior comparação. A segunda parte foi a demonstração dos métodos, etapas e resultados das análises cromatográficas dos OEs, obtidos por hidrodestilação, de exemplares nativos de pitangueira coletados em fragmentos de Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro, além de uma análise estatística desses dados, revelando semelhanças e diferenças com os dados observados nos artigos selecionados.

Palavras-chave: Pitangueira; quimiotipo; voláteis; CG-EM.

ABSTRACT (GERAL)

JUNIOR, Eduardo Barros Duarte. **Chemical Diversity of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) Essential Oils Acessed in the Coastal Lowlands, Metropolitan and Green Coast Regions of the State of Rio de Janeiro.** 2023. 139p. Dissertation (Master in Chemistry, Area of Concentration in Chemistry and Biological Evaluation of Natural Products and Ecology.). Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Essential oils (EOs) are natural products (NPs) that have been the subject of much research in recent years, especially those obtained from the extraction of aerial parts of aromatic plants that make up the Atlantic Forest, which is home to a rich biodiversity of flora. The species *Eugenia uniflora* L., popularly known as Surinam cherry, is an important plant in this biome. Although there are studies that provide information on the chemical profile of pitangueira EOs, few have associated the diversity in the chemical composition of specimens from the state of Rio de Janeiro. Thus, a study describing the chemical diversity of EOs extracted from native pitangueira specimens is important for a good understanding of the chemical profile, for future research in other areas and for valuing Brazilian heritage. This study was divided into two parts, the first being the search for published articles with information on the chemical profile of different pitangueira essential oils and the statistical analysis of the data for a better understanding and subsequent comparison. The second part was a demonstration of the methods, stages and results of the chromatographic analysis of the EOs, obtained by hydrodistillation, from native pitangueira specimens collected in fragments of the Atlantic Forest in the state of Rio de Janeiro, as well as a statistical analysis of these data, revealing similarities and differences with the data observed in the selected articles.

KEYWORDS: Surinam cherry; chemotype; volatiles; CG-MS.

FIGURAS

Figura 1. <i>Eugenia uniflora</i> L.....	14
Figura 2. Distribuição dos gêneros que compõem as tribos da subfamília Myrtoidae em árvore filogenética.....	17
Figura 3. Distribuição fitogeográfica das espécies abrangidas pelo gênero <i>Eugenia</i> e da espécie <i>Eugenia uniflora</i> no Brasil.	21
Figura 4. Principais compostos orgânicos voláteis florais produzidos pela planta, na sua interação com os polinizadores.....	24
Figura 5. Esquema com as rotas metabólicas das principais classes de substâncias voláteis secretadas pelas plantas	25
Figura 6. Secções transversais de micrografia da lâmina foliar de <i>Eugenia uniflora</i> , com detalhamento das epidermes abaxial e adaxial (seta branca), bem como da cavidade secretora (seta preta).....	26
Figura 7. Localização geográfica dos exemplares selecionados de <i>Eugenia uniflora</i> L. e quantidade dos seus respectivos OEs utilizados nos artigos citados por região.....	43
Figura 8. Distribuição dos teores percentuais dos OEs de pitangueira dos artigos selecionados na literatura.	46
Figura 9. Estruturas das cinco substâncias com os maiores teores percentuais nos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L. dos artigos selecionados da literatura.....	52
Figura 10. Mecanismo do rearranjo de Cope construído com o software ChemSketch versão 14.0... ..	52
Figura 11. Estruturas de algumas das substâncias com as maiores frequências percentuais nos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L. dos artigos selecionados da literatura	53
Figura 12. Gráficos de colunas empilhadas com cores, representando as substâncias com os maiores tores nos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L. dos artigos selecionados na literatura	56
Figura 13. Análise de grupos ótimos KGS.....	57
Figura 14. Dendograma dos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L. dos artigos selecionados da literatura	58
Figura 15. Mapa cartográfico com as coordenadas das UCs e marcação com alfinete dos locais visitados durante as atividades de prospecção dos exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> L.....	69
Figura 16. Secagem das amostras coletadas em estufa com circulação de ar	71
Figura 17. Exsicatas depositadas no herbário RBR-UFRRJ	73
Figura 18. Extração dos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L.	74
Figura 19. Secagem dos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L.	75
Figura 20. Distribuição dos teores percentuais dos OEs de pitangueira	79
Figura 21. Cores dos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L.	79
Figura 22. Boxplot com distribuição dos teores percentuais dos OEs de pitangueira	80
Figura 23. Estruturas das substâncias com as maiores concentrações percentuais nos OEs dos diferentes exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> L.	84
Figura 24. Estruturas de algumas das substâncias com as maiores frequências nos OEs dos diferentes exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> L.	85
Figura 25. Boxplot com distribuição dos teores percentuais e frequências de algumas principais substâncias identificadas nos OEs de pitangueira	87
Figura 26. Gráficos de colunas empilhadas com cores, representando as substâncias com os maiores tores nos OEs dos exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> L. coletados no Rio de Janeiro.....	92
Figura 27. Análise de grupos ótimos KGS para os OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L.	93
Figura 28. Dendograma dos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L.	94

TABELAS

Tabela 1. Principais espécies que compõem o gênero <i>Eugenia</i>	19
Tabela 2. Descrição dos autores e localização geográfica dos exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> L. utilizados na construção dos respectivos artigos.....	42
Tabela 3. Rendimentos dos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L, descritos nos artigos selecionados.	46
Tabela 4. Perfil químico dos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L. descritos nos artigos selecionados.	49
Tabela 5. Distribuição percentual das 12 substâncias com maior concentração nos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L. dos artigos selecionados na literatura	51
Tabela 6. Distribuição percentual das 12 substâncias com maior frequência nos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L. dos artigos selecionados na literatura.	53
Tabela 7. Quimiotipos encontrados nos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L. elucidados pelos autores dos trabalhos selecionados.....	54
Tabela 8. Variância acumulada e autovalores relacionados as variáveis representativas nas amostras dos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L., dos artigos selecionados na literatura.....	61
Tabela 9. Variância acumulada e autovalores relacionados as variáveis dos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L., dos artigos selecionados na literatura com descarte por Jolliffe.	61
Tabela 10. Coordenadas Geográficas e registro dos exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> L. coletados nas diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro	70
Tabela 11. Rendimentos e cores dos OEs de <i>Eugenia uniflora</i> L.	78
Tabela 12. Perfil químico dos OEs dos exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> L. coletados nas diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro.	81
Tabela 13. Distribuição percentual das 12 substâncias com maior concentração nos OEs dos exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> L. coletados nas diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro.....	84
Tabela 14. Distribuição percentual das 12 substâncias com maior frequência nos OEs dos exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> L. coletados nas diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro.....	85
Tabela 15. Quimiotipos encontrados nos OEs dos exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> L. coletados nas diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro.....	89
Tabela 16. Variância acumulada e autovalores relacionados as variáveis representativas nos OEs dos exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> L., coletados no Rio de Janeiro.	97
Tabela 17. Variância acumulada e autovalores, após o descarte de variáveis pela metodologia de Jolliffe nos OEs dos exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> L., coletados no Rio de Janeiro.	97

LISTA DE ABREVIACÕES

AAH – Análise de Agrupamento Hierárquico
ACP – Análise de Componentes Principais
AOS – Aleno óxido sintase
CG-EM – Cromatografia em Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
CG-DIC – Cromatografia Gasosa acoplada a Detector com Ionização em Chamas
CS – Cavidade Secretora
COVs – Compostos orgânicos voláteis
COX-2 – Ciclooxygenase tipo 2
DMADP – Difosfato de γ - γ -dimetilalila
DMNT – (*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno
EROs – Espécies reativas de oxigênio
FDP – Difosfato de farnesila
GDP – Difosfato de geranila
GGDP – Difosfato de geranil-geranila
HPL – Hidroperóxido liase
ICMBIO – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IDP – Difosfato de isopentenila
IL-1 – Interleucina - um
INEA – Instituto Estadual do Ambiente
iNOS – Óxido Nítrico Sintase induzível
ISO – Organização Internacional de Normalização
JMT – Jasmonato metil transferase
LabPAM – Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais da UFRRJ
LOX – Lipoxigenase
MEP – Metileritritol-fosfato
MPO – Mieloperoxidase
MVA – Ácido mevalônico
NIST – *National Institute of Standards and Technology*
OE - Óleo essencial
ONG – Organização não governamental
PAL – Fenilalanina liase
PN – Produto natural
PPGQ – Programa de Pós-Graduação em Química
TMTT – (*E,E*)-4-8-12-trimetil-1,3,7,11-tridecatetraeno
TNF- α – Fator de necrose tumoral - alfa
UC – Unidade de conservação
UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. Eugenia uniflora	14
2.2. Classificação e distribuição da <i>Eugenia uniflora</i> L.....	16
2.3. Relações ecológicas.....	22
2.4. Óleo essencial.....	24
2.5. Aspectos econômicos e aplicações dos óleos essenciais.....	27
2.6. Características Agronômicas da <i>Eugenia uniflora</i> L	28
2.7. Etnobotânica da <i>Eugenia uniflora</i> L. e atividade biológica	28
3. OBJETIVOS.....	31
3.1. Objetivo Geral	31
3.2. Objetivos Específicos.....	31
4. REFERÊNCIAS	32
CAPÍTULO I	40
Revisão de literatura e análise estatística com base na diversidade química dos óleos essenciais de pitangueira	40
RESUMO:.....	40
ABSTRACT:.....	40
1. METODOLOGIA	41
1.1. Levantamento bibliográfico acerca da diversidade química dos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i> L	41
1.2. Análise estatística descritiva	43
1.3. Análise estatística multivariada.....	43
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
3. CONCLUSÃO	62
4. REFERÊNCIAS	62
CAPÍTULO II.....	67
Diversidade química e teor (%) do óleo essencial de pitangueira, acessada nas Regiões Metropolitana, das Baixadas Litorâneas e da Costa Verde-RJ	67
RESUMO:.....	67
ABSTRACT:.....	67
1. METODOLOGIA	68
1.1. Regularização da atividade de pesquisa	68
1.2. Prospecção dos exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> L.....	68
1.3. Confecção das exsicatas	71
1.4. Extração, secagem e pesagem dos óleos essenciais	73
1.5. Caracterização e quantificação dos OEs	76
1.6. Análises estatísticas e definição dos quimiotipos.....	77
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
3. CONCLUSÃO	97
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	98
5. REFERÊNCIAS	98
ANEXOS	101

1. INTRODUÇÃO

No mundo contemporâneo, em que grande parte da população vive um momento de incertezas e diante do desafio na recuperação da recente crise mundial ocasionada pela pandemia, os produtos naturais (PNs) se mostram, cada vez mais, como uma alternativa viável para sociedade, sobretudo no âmbito comercial, que abrange as áreas medicinal, farmacológica e cosmética, sendo os PNs de origem natural e baixa toxicidade. Os óleos essenciais (OEs) são exemplos de produtos de origem natural que podem ser obtidos de diferentes partes das plantas aromáticas, como folhas, flores, raízes ou frutos a partir de métodos específicos que serão discutidos adiante (BICHI, 2017).

Nesse sentido, muitos trabalhos foram realizados ao longo dos anos, com o intuito de se conhecer os diferentes perfis químicos e compreender as possíveis aplicações dos OEs. Concomitante a isso, houve um aumento no interesse de se estudar as diferentes espécies que compõe o bioma Mata Atlântica, bem como os PNs de diferentes exemplares analisados, dentre os quais estão incluídos os OEs. Cabe ressaltar que essa flora abriga uma rica diversidade de plantas e uma espécie importante que integra esse bioma é a *Eugenia uniflora*, popularmente conhecida como pitanga ou pitangueira (CORADIN et al, 2018; WEZEL, 2014; SOUZA, 2004; PEIXOTO, 2016; VALLI et al, 2018).

É notório citar que, apesar de diversos artigos publicados abrangerem algum conhecimento fitoquímico acerca dos diferentes OEs de pitangueira, bem como algumas possíveis aplicações, há uma escassez de trabalhos que associem a diversidade desses PNs a características genéticas da planta que possam estar associadas a expressão de determinados metabolitos. Da mesma forma, pouquíssimos são os estudos que sugerem a dominância de determinada substância em um quimiotipo a fatores como a exposição à luz solar, estresse, tipo de solo, umidade, fatores climáticos e outros (GUZMAN et al, 2014; SANTOS et al, 2015).

Essas considerações justificam a realização de um estudo que possa contribuir para um melhor entendimento relacionado a diversidade química dos OEs de pitangueira, cujos exemplares são originários de um ambiente nativo, assim como relacionar, de algum modo, diferenças e semelhanças com o ambiente e outros estudos disponibilizados na bibliografia existente. Ainda, trazer à luz possíveis pesquisas futuras desses OEs, tanto na área medicinal, agrônoma e cosmética.

O presente estudo foi dividido em duas partes distintas, sendo a primeira uma busca de artigos e análise estatística dos OEs de pitangueira presentes nesses trabalhos, para um

entendimento de suas características e estabelecer uma comparação posterior. E uma segunda parte, com os métodos, etapas e resultados das análises cromatográficas dos OEs, obtidos por hidrodestilação, de exemplares nativos de pitangueira coletados em fragmentos de Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro e uma análise estatística desses dados, verificando semelhanças e diferenças com os dados observados no capítulo I.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Eugenia uniflora* L.

A espécie *Eugenia uniflora* (**Figura 1**) também é popularmente conhecida como pitanga, pitangueira ou pitanga vermelha e recebe essas designações, todas oriundas do tupi, devido a coloração característica dos seus frutos. A espécie também foi identificada por outros diversos sinônimos, dentre os quais *Eugenia brasiliana* L. Aubl., *Eugenia arechavaletae* Herter, *Eugenia decídua* Merr., *Eugenia costata* Cambess, *Eugenia indica* Nicheli, *Eugenia lacustris* Barb. Rodr., *Eugenia microphylla* Barb. Rodr., *Eugenia Michellii* Lam., *Eugenia myrtifolia* Salisb., *Eugenia parkeriana* DC., *Eugenia willdenowii* (Spreng.) DC., *Eugenia zeylanica* Willd., *Eugenia fuscopunctata* Kiaersk., *Eugenia gracilipes* Kiaersk., *Eugenia diaphana* Kiaersk., *Eugenia dasyblasta* (O.Berg) Nied., *Eugenia oblongifolia* (O.Berg) Nied., *Eugenia brunnea* (O.Berg) Nied. e *Eugenia strigosa* (O.Berg) Arechav (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023; LIM, 2011 e BEZERRA et al, 2007).



Figura 1. *Eugenia uniflora* L.: A) Planta em seu habitat. B) Detalhe das flores e folhas jovens. C) Frutos e folhas maduras. Fonte: acervo próprio.

Além desses, a espécie também foi citada com sinônimos de outros gêneros, como *Luma arechavaletae* (Herter) Herter, *Luma costata* (Cambess.) Herter, *Luma dasyblasta* (O.Berg) Herter, *Luma strigosa* (O.Berg) Herter, *Myrtus brasiliiana* L., *Myrtus willdenowii* Spreng., *Plinia pedunculata* L.f., *Plinia rubra* L., *Plinia tetrapetala* L., *Stenocalyx affinis* O.Berg, *Stenocalyx brunneus* O.Berg, *Stenocalyx costatus* (Cambess.) O.Berg, *Stenocalyx dasyblastus* O.Berg, *Stenocalyx glaber* O.Berg, *Stenocalyx grandifolius* O.Berg, *Stenocalyx impunctatus* O.Berg, *Stenocalyx lucidus* O.Berg, *Stenocalyx michelii* (Lam.) O.Berg, *Stenocalyx oblongifolius* O.Berg, *Stenocalyx strigosus* O.Berg e *Stenocalyx uniflorus* L (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023; WORLD FLORA, 2023).

É importante citar também que, como se trata de uma espécie versátil e de fácil aclimação, a mesma apesar de ser nativa, não é endêmica do Brasil, sendo difundida em outros países do mundo e, portanto, sua nomenclatura comum tem muitas variações de acordo com a geolocalização. Por exemplo, nos países sulamericanos ela é denominada de forma distinta dependendo do país, sendo *ñangapirí* e *arrayán* na Argentina, *cereza cuadrada* na Colômbia, *pendanga* na Venezuela, *Suriname cherry* no Suriname e Guiana e *Cerezo de Cayena* em outros países de língua espanhola. Além disso, nos países de língua francesa é comumente descrita como *Cerisier de Cayenne*, *Cerisier Carré* e *Cerisier de Pays*, chamada de *Hong Guo Zi* na China e nos países de língua inglesa conhecida como *Brazilian Cherry*, *Florida Cherry*, *Barbados Cherry* e *Cayene Cherry* (LIM, 2011 e DUKE, 2009).

Em relação as suas características botânicas, a *E. uniflora* apresenta hábito arbustivo, podendo variar entre 2 a 5 metros de altura, em especial no ecossistema restinga. Contudo, isso varia muito dependendo da região em que a planta se encontra, podendo apresentar hábito arbóreo com até em média 7,5 metros de altura e foi citado por Legrand e Klein (1969) que alguns exemplares podem alcançar até 12 metros de altura (SILVA, 2007 e LIM, 2011). O tronco em geral é sinuoso, com aspecto liso, cor parda e frequentemente se observa vários galhos com muitas ramificações (**Figura 1A**). A folha é simples, brilhante, flexível, tenaz e exala uma fragrância característica, apresentando uma cor verde mais intensa quando mais madura e uma cor amarronzada quando mais jovem. O comprimento pode variar entre 2,5cm e 7cm de comprimento, seu pecíolo, que liga o limbo ao caule, é pequeno, lâmina foliar oval, longa e com ápice estreito (**Figuras 1B e 1C**). (FIUZA, 2008 e BEZERRA et al, 2007).

A planta possui inflorescência monopodial, com flores brancas, pediceladas, hermafroditas e dispostas ao longo do ramo principal, em posições distintas. Também possui androceu polistêmone, com maior quantidade de estames que suas pétalas curvilíneas e as

sépalas, ambas localizadas sobre o hipanto (**Figura 1B**). Seu fruto é descrito como uma baga globular que possui entre 7 e 10 sulcos longitudinais, com diâmetro entre 1,5cm e 5cm, sabor agri-doce marcante, variando entre o ácido e o doce, além de sua coloração que pode se apresentar alaranjada, vermelha ou mesmo vinho escuro, quando maduros (**Figura 1C**). (SILVA, 2006; SILVA e PINHEIRO, 2007 e BEZERRA et al, 2007).

2.2. Classificação e distribuição da *Eugenia uniflora* L.

Quanto a origem, a família Myrtaceae, a qual compreende a espécie, é taxonomicamente posicionada dentro do filo Magnoliophyta, do grupo das Eudicotiledôneas e pertence a ordem Myrtales. Os fósseis mais antigos relativos ao grupo Myrtales datam de 65 milhões de anos e que seu clado relativo ao seu ancestral mais recente corresponde às Rosídeas, contudo, alguns estudos de Biologia Molecular demonstraram uma baixa correlação taxonômica entre esses clados, tornando a análise acerca de sua origem complexa (CORNWELL et al, 2014; HILU et al, 2003; PARREIRA et al, 2023).

Psiloxylidae e Myrtoideae são as duas subfamílias que compõe a família Myrtaceae. A segunda subfamília (**Figura 2**), que é a de maior interesse para o estudo, é muito diversificada e composta por uma gama maior de tribos, sendo um total de 15, dentre as quais se destacam a Syzygieae, a Eucalyptae e a Myrtae principalmente (WILSON et al. 2005 e FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023).

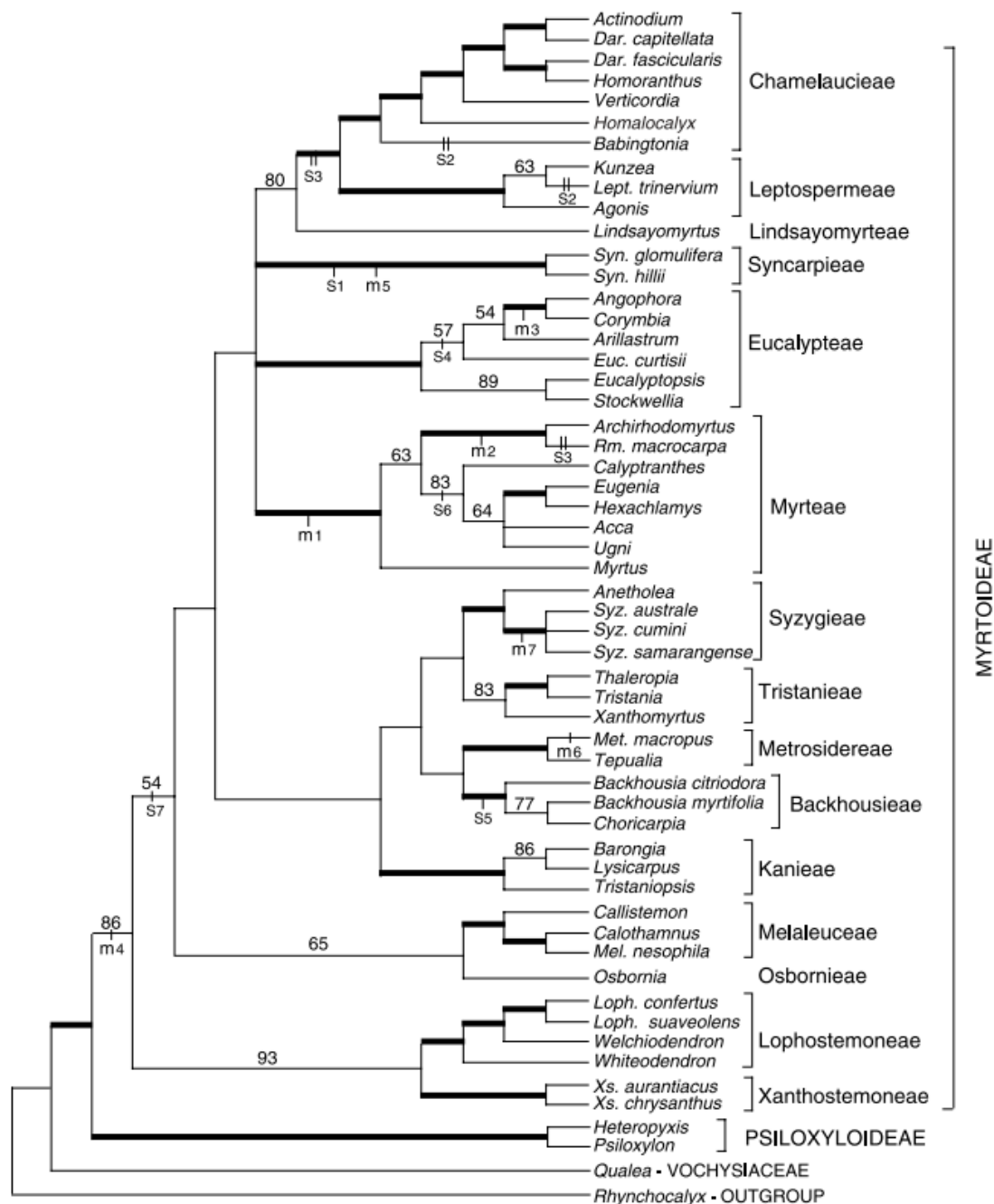


Figura 2. Distribuição dos gêneros que compõem as tribos da subfamília Myrtoideae em árvore filogenética. Fonte: (WILSON et al, 2005).

A tribo Myrtae é distribuída predominantemente em algumas áreas da América Central, desde a parte Sul do México e da Flórida, até a região do Caribe e todo continente Sulamericano. No Brasil ela se concentra no Cerrado, Floresta Amazônica e especialmente, na Mata Atlântica (MORRONE, 2014 e MCVAUGH, 1968). Nela, os dois gêneros que englobam o maior número de espécies são o *Myrcia* DC. ex Guill. e o *Eugenia* L., sendo o segundo taxonomicamente elucidado através de estudos filogenéticos, como o de Manzone em 2014, que

agrupou as espécies em 9 clados, por meio de análises moleculares e, com o advento de outros estudos citados no Re flora, foi possível elucidar um total de 11 clados para o gênero.

Em relação a distribuição, as espécies pertencentes ao gênero *Eugenia* estão inseridas ao longo de toda região Pantropical, sendo que o centro de diversidade é neotropical, com cerca de 1.050 espécies distribuídas nessa última zona citada. No Brasil, as 407 espécies que compõe o gênero, também são distribuídas nos mesmos biomas citados anteriormente para a tribo (Figura 3A) (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023).

Especificamente, a *E. uniflora*, se encontra em uma posição taxonômica em que outras quatro espécies são próximas a ela e estão posicionadas no mesmo clado, sendo estas a *Eugenia brasiliensis*, a *E. neomyrtifolia*, a *E. sulcata* e a *E. pitanga* (MANZINE et al, 2014). As principais espécies que pertencem a esse gênero são demonstradas na **Tabela 1**.

Tabela 1. Principais espécies que compõem o gênero *Eugenia* L.

<i>E. abunan</i>	<i>E. coccifera</i>	<i>E. illepipa</i>	<i>E. multiramosa</i>	<i>E. robustior</i>
<i>E. acensis</i>	<i>E. coccinea</i>	<i>E. impressa</i>	<i>E. myrcianthes</i>	<i>E. rosea</i>
<i>E. acutata</i>	<i>E. coffeifolia</i>	<i>E. indistincta</i>	<i>E. myrciariifolia</i>	<i>E. roseiflora</i>
<i>E. adenantha</i>	<i>E. complicata</i>	<i>E. inundata</i>	<i>E. myrobalana</i>	<i>E. rostrifolia</i>
<i>E. aerea</i>	<i>E. conduplicata</i>	<i>E. inversa</i>	<i>E. neogracilis</i>	<i>E. rotula</i>
<i>E. agathopoda</i>	<i>E. copacabanensis</i>	<i>E. involucreta</i>	<i>E. neograndifolia</i>	<i>E. rotundicosta</i>
<i>E. albicans</i>	<i>E. corcovadenses</i>	<i>E. ischnosceles</i>	<i>E. neolaurifolia</i>	<i>E. rugosissima</i>
<i>E. altissima</i>	<i>E. corrientina</i>	<i>E. itacarenensis</i>	<i>E. neomattogrossensis</i>	<i>E. ruschiana</i>
<i>E. altoalegre</i>	<i>E. costatifructa</i>	<i>E. itaguahiensis</i>	<i>E. neomyrtifolia</i>	<i>E. salicifolia</i>
<i>E. amorimii</i>	<i>E. cristaensis</i>	<i>E. itahypensis</i>	<i>E. neophaea</i>	<i>E. schottiana</i>
<i>E. anastomosans</i>	<i>E. cucullata</i>	<i>E. itajurensis</i>	<i>E. neoriedeliana</i>	<i>E. sclerocalyx</i>
<i>E. andiraana</i>	<i>E. culicina</i>	<i>E. itapemirinsensis</i>	<i>E. neosilvestris</i>	<i>E. seloi</i>
<i>E. angelyana</i>	<i>E. culta</i>	<i>E. itaunensis</i>	<i>E. neotrinitis</i>	<i>E. sellowiana</i>
<i>E. angustissima</i>	<i>E. cupulata</i>	<i>E. janeirensis</i>	<i>E. neoverrucosa</i>	<i>E. serraegrandis</i>
<i>E. anisomischia</i>	<i>E. curuba</i>	<i>E. joenssonii</i>	<i>E. nordestina</i>	<i>E. sessilifolia</i>
<i>E. anomala</i>	<i>E. curvivenia</i>	<i>E. joseramosii</i>	<i>E. nutans</i>	<i>E. sobraliana</i>
<i>E. anthropophaga</i>	<i>E. cuspidifolia</i>	<i>E. jussara</i>	<i>E. ochracea</i>	<i>E. solimoensis</i>
<i>E. arenaria</i>	<i>E. cymatodes</i>	<i>E. kerianthera</i>	<i>E. ochrophloea</i>	<i>E. sonderiana</i>
<i>E. arenosa</i>	<i>E. denigrata</i>	<i>E. kleinii</i>	<i>E. oiedocarpa</i>	<i>E. soteriana</i>
<i>E. armeniaca</i>	<i>E. densiracemosa</i>	<i>E. klotzschiana</i>	<i>E. omissa</i>	<i>E. sparsa</i>
<i>E. arvensis</i>	<i>E. dentata</i>	<i>E. kuekii</i>	<i>E. pachnantha</i>	<i>E. speciosa</i>
<i>E. asema</i>	<i>E. dictyophleba</i>	<i>E. lacistema</i>	<i>E. pachyclada</i>	<i>E. sphenoides</i>
<i>E. astringens</i>	<i>E. dimorpha</i>	<i>E. lagoensis</i>	<i>E. pallidopunctata</i>	<i>E. sphenophylla</i>
<i>E. atlantica</i>	<i>E. dipetala</i>	<i>E. lambertiana</i>	<i>E. palmarina</i>	<i>E. splendens</i>
<i>E. atrocemosa</i>	<i>E. discreta</i>	<i>E. langsdorffii</i>	<i>E. pantagensis</i>	<i>E. sprengelli</i>
<i>E. aubletiana</i>	<i>E. disperma</i>	<i>E. larutoteana</i>	<i>E. pantalanensis</i>	<i>E. spruceana</i>
<i>E. augustana</i>	<i>E. dittocrepis</i>	<i>E. lasiothecia</i>	<i>E. paracatuana</i>	<i>E. squamiflora</i>
<i>E. aurata</i>	<i>E. dodonaeifolia</i>	<i>E. latifolia</i>	<i>E. paranahybensis</i>	<i>E. stenosepala</i>
<i>E. ayacuchae</i>	<i>E. duarteana</i>	<i>E. laxa</i>	<i>E. patens</i>	<i>E. stenosepaloides</i>
<i>E. azeda</i>	<i>E. dysenterica</i>	<i>E. leonora</i>	<i>E. patriisi</i>	<i>E. stictopetala</i>
<i>E. azuruensis</i>	<i>E. egensis</i>	<i>E. leptoclada</i>	<i>E. pauciflora</i>	<i>E. stigmatica</i>
<i>E. bacopari</i>	<i>E. elipsoidea</i>	<i>E. lhotzkyana</i>	<i>E. penduliflora</i>	<i>E. stipitata</i>
<i>E. badia</i>	<i>E. elongata</i>	<i>E. libens</i>	<i>E. percinta</i>	<i>E. studerae</i>
<i>E. bahiana</i>	<i>E. ependytes</i>	<i>E. ligustrina</i>	<i>E. percrenata</i>	<i>E. stylares</i>
<i>E. bahiensis</i>	<i>E. espinhacenses</i>	<i>E. limbosa</i>	<i>E. persicifolia</i>	<i>E. subamplexicaulis</i>
<i>E. barrana</i>	<i>E. eurycheila</i>	<i>E. lisboae</i>	<i>E. peruibensis</i>	<i>E. subavenia</i>
<i>E. batingabranca</i>	<i>E. exaltata</i>	<i>E. livida</i>	<i>E. petaloidea</i>	<i>E. suberosa</i>
<i>E. beaurepairiana</i>	<i>E. excelsa</i>	<i>E. longa</i>	<i>E. pia</i>	<i>E. subglomerata</i>
<i>E. belemnitana</i>	<i>E. excoriata</i>	<i>E. longibracteata</i>	<i>E. piloensis</i>	<i>E. submontana</i>
<i>E. biflora</i>	<i>E. expansa</i>	<i>E. longifolia</i>	<i>E. pipensis</i>	<i>E. subreticulata</i>
<i>E. bimarginata</i>	<i>E. fameyi</i>	<i>E. longipedunculata</i>	<i>E. piresiana</i>	<i>E. subterminalis</i>
<i>E. binata</i>	<i>E. ferreiraeana</i>	<i>E. longipetiolata</i>	<i>E. piresii</i>	<i>E. subundulata</i>
<i>E. blanchetiana</i>	<i>E. fissurata</i>	<i>E. longiracemosa</i>	<i>E. pisiformis</i>	<i>E. sudestis</i>
<i>E. blanda</i>	<i>E. flamingensis</i>	<i>E. longohypanthiata</i>	<i>E. pisonis</i>	<i>E. sulcata</i>

Continuação...

<i>E. botequimensis</i>	<i>E. flavescens</i>	<i>E. luetzelburgii</i>	<i>E. pistaciifolia</i>	<i>E. sulcatifolia</i>
<i>E. brachysepala</i>	<i>E. flavicarpa</i>	<i>E. luschnathiana</i>	<i>E. pitanga</i>	<i>E. supraaxilaris</i>
<i>E. bragae</i>	<i>E. florida</i>	<i>E. macahensis</i>	<i>E. pithecocephala</i>	<i>E. tenuiflora</i>
<i>E. brasiliensis</i>	<i>E. fortuita</i>	<i>E. macedoi</i>	<i>E. platyphylla</i>	<i>E. tenuipedunculata</i>
<i>E. brejoensis</i>	<i>E. francavilleana</i>	<i>E. macrantha</i>	<i>E. platysema</i>	<i>E. tephrogyna</i>
<i>E. breviacuminata</i>	<i>E. fortuita</i>	<i>E. macrobracteolata</i>	<i>E. plicata</i>	<i>E. tematifolia</i>
<i>E. breviracemosa</i>	<i>E. francavilleana</i>	<i>E. macrosperma</i>	<i>E. plicatocostata</i>	<i>E. tetrâmera</i>
<i>E. brownsbergii</i>	<i>E. froesii</i>	<i>E. magna</i>	<i>E. pluriflora</i>	<i>E. theodora</i>
<i>E. brunneopubescens</i>	<i>E. funchiana</i>	<i>E. magnibracteolata</i>	<i>E. pholiana</i>	<i>E. tingui</i>
<i>E. brunchosiifolia</i>	<i>E. fusca</i>	<i>E. magnisepala</i>	<i>E. polystachya</i>	<i>E. tovomita</i>
<i>E. burkatiana</i>	<i>E. galbaoensis</i>	<i>E. malacantha</i>	<i>E. potiraguensis</i>	<i>E. trichogyna</i>
<i>E. caatingicola</i>	<i>E. gastropogena</i>	<i>E. mammiifera</i>	<i>E. prasina</i>	<i>E. trinervia</i>
<i>E. cachoeirensis</i>	<i>E. gaudichaudiana</i>	<i>E. manausensis</i>	<i>E. producta</i>	<i>E. tumescens</i>
<i>E. caducibracteata</i>	<i>E. gemmiflora</i>	<i>E. mandioccensis</i>	<i>E. proluxa</i>	<i>E. tumulescens</i>
<i>E. caducipetala</i>	<i>E. geraensis</i>	<i>E. mansoi</i>	<i>E. protenta</i>	<i>E. umbellata</i>
<i>E. caipora</i>	<i>E. glabrescens</i>	<i>E. marambaiensis</i>	<i>E. pruinosa</i>	<i>E. umbrosa</i>
<i>E. caloneura</i>	<i>E. glandulosa</i>	<i>E. marieensis</i>	<i>E. pruniformis</i>	<i>E. uniflora</i>
<i>E. calva</i>	<i>E. goiapabana</i>	<i>E. marleneae</i>	<i>E. pseudomalacantha</i>	<i>E. uruguayensis</i>
<i>E. cambemba</i>	<i>E. gomesiana</i>	<i>E. marowynensis</i>	<i>E. pseudopsidium</i>	<i>E. valsuganana</i>
<i>E. campina</i>	<i>E. gongylocarpa</i>	<i>E. martinelli</i>	<i>E. puberula</i>	<i>E. vattimoana</i>
<i>E. candolleana</i>	<i>E. gracilifolia</i>	<i>E. mattogrossensis</i>	<i>E. pubescens</i>	<i>E. veadeirensis</i>
<i>E. capixaba</i>	<i>E. gracilima</i>	<i>E. mattosii</i>	<i>E. pulcherrima</i>	<i>E. velutifolia</i>
<i>E. capparidifolia</i>	<i>E. grandifolia</i>	<i>E. megaflora</i>	<i>E. puniceifolia</i>	<i>E. vemica</i>
<i>E. cataphyllea</i>	<i>E. grandissima</i>	<i>E. melanogyna</i>	<i>E. pusiliflora</i>	<i>E. versicolor</i>
<i>E. catharinae</i>	<i>E. griseiflora</i>	<i>E. membranifolia</i>	<i>E. pyrifera</i>	<i>E. verticillata</i>
<i>E. catharinensis</i>	<i>E. guanabarina</i>	<i>E. mestrealvarensis</i>	<i>E. pyriflora</i>	<i>E. vetula</i>
<i>E. cerasiflora</i>	<i>E. hamiltonii</i>	<i>E. mikanioides</i>	<i>E. pyriformis</i>	<i>E. villaenovae</i>
<i>E. cereja</i>	<i>E. handroana</i>	<i>E. mimetica</i>	<i>E. quadrijuga</i>	<i>E. viridiflora</i>
<i>E. cerradensis</i>	<i>E. handroi</i>	<i>E. mimus</i>	<i>E. quiriri</i>	<i>E. viscacea</i>
<i>E. chartacea</i>	<i>E. hatchsbachii</i>	<i>E. modesta</i>	<i>E. ranboi</i>	<i>E. wentii</i>
<i>E. chiquitensis</i>	<i>E. hermesiana</i>	<i>E. mollicoma</i>	<i>E. ramiflora</i>	<i>E. widgrenii</i>
<i>E. chlorocarpa</i>	<i>E. heterochroma</i>	<i>E. monosperma</i>	<i>E. rara</i>	<i>E. wulfschlaegelianae</i>
<i>E. chlorophylla</i>	<i>E. hiemalis</i>	<i>E. moonioides</i>	<i>E. regia</i>	<i>E. xanthoxyloides</i>
<i>E. choriophylla</i>	<i>E. hilariana</i>	<i>E. moritziana</i>	<i>E. reitziana</i>	<i>E. xiriricana</i>
<i>E. chrysopyllum</i>	<i>E. hiraefolia</i>	<i>E. moschata</i>	<i>E. repanda</i>	<i>E. yatuae</i>
<i>E. cinerascens</i>	<i>E. hirta</i>	<i>E. mosenii</i>	<i>E. rhytidocalyx</i>	
<i>E. citrifolia</i>	<i>E. hispidiflora</i>	<i>E. mucugensis</i>	<i>E. rigida</i>	
<i>E. coaetanea</i>	<i>E. ilhensis</i>	<i>E. multicostata</i>	<i>E. rizzianiana</i>	

As espécies descritas na tabela possuem informações de táxon completas e foram acessadas em março de 2023 no banco de dados do Re flora. O gênero *Eugenia* foi abreviado na nomenclatura das espécies apresentadas na tabela.

Em relação a distribuição geográfica, a espécie *E. uniflora* possui DNA satélite e, como visto anteriormente, pode ser encontrada em muitas regiões do mundo (SARZI, 2017; MEHROTRA & GOYAL, 2014). Na América Latina, além do Brasil, é distribuída em países

como Argentina, Paraguai e Uruguai (DANTAS et al 2021). Além disso, foi introduzida na Florida (FLEPPC, 2005), onde foi incluída em uma lista de espécies invasoras, bem como inserida em diversas outras áreas, sendo algumas destas a China e Taiwan (FOC, 2023), bem como Índia, Israel e África do Sul também são exemplos de países em que a espécie foi inserida (BEZERRA et al, 2007).

No país a espécie ocorre nas Regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul do território, principalmente nos Estados de Alagoas, Sergipe, Bahia, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina (**Figura 3D**).

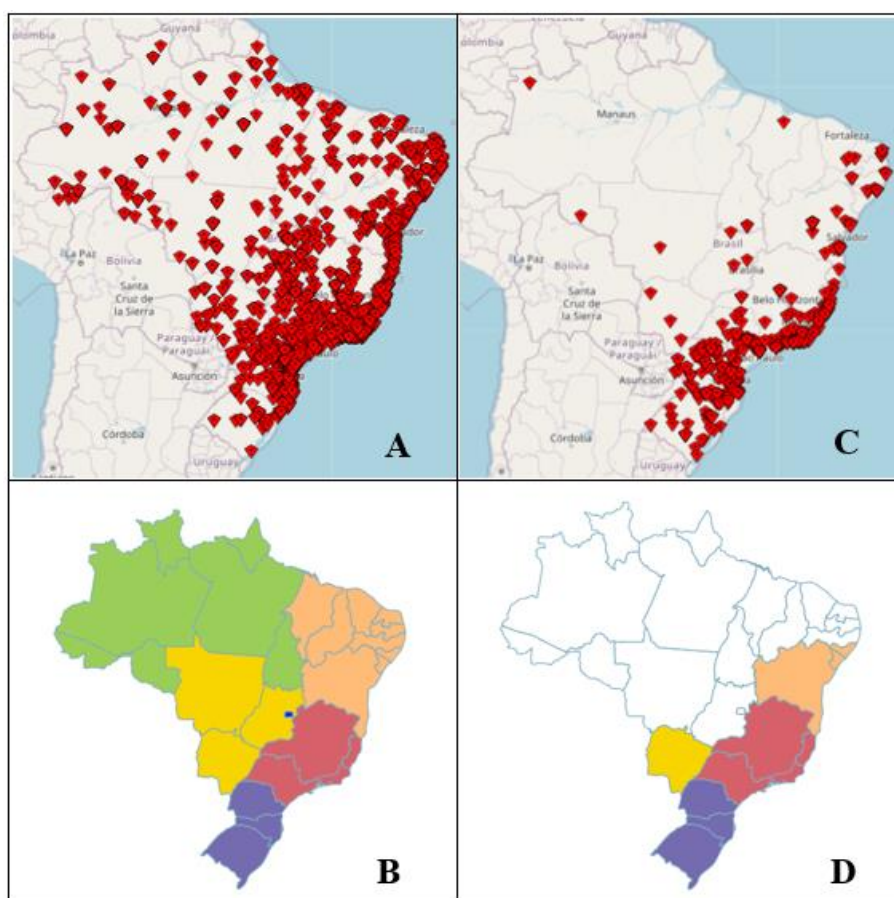


Figura 3. Distribuição fitogeográfica no Brasil: A) Dos exemplares das espécies abrangidas pelo gênero *Eugenia* com exsicatas registradas. B) Das espécies abrangidas pelo gênero *Eugenia*. C) Dos exemplares da espécie *Eugenia uniflora* L. com exsicatas registradas. D) Da espécie *Eugenia uniflora*. Fonte: (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023).

De fato, a distribuição dos espécimes com exsicatas registradas, é mais concentrada nessas áreas (**Figura 3B**). Além disso, a pitangueira faz parte de importantes domínios fitogeográficos, compondo a biodiversidade de importantes biomas como a Caatinga, o Cerrado, a Mata Atlântica e o Pampa. Sua presença é descrita em diferentes ecossistemas, tais

como florestas, árido e semiárido nordestino, mas principalmente em vegetações do tipo restinga em áreas litorâneas próximas à costa, sendo uma importante fonte alimentar para aves e mamíferos presentes nesses locais (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023 e EGUILUZ et al, 2017).

2.3. Relações Ecológicas

A interação entre as plantas e os demais seres vivos constituem uma das principais dinâmicas presentes dentro dos ecossistemas, sendo vital para a o desenvolvimento e manutenção de sua biodiversidade. Portanto, a *E. uniflora* tem a sua importância dentro dos ambientes em que ela está inserida, sobretudo seus habitats nativos, como uma parte integrante e essencial dos mesmos.

O primeiro ponto a ser levado em consideração é que o sucesso de uma espécie na natureza está diretamente associado ao seu êxito reprodutivo. É importante ressaltar que, as próprias características morfológicas da planta se desenvolveram ao longo do tempo para favorecer esse processo. A flor, por exemplo, evoluiu para facilitar a polinização, de forma que ela fosse mais eficaz e precisa, enquanto as sementes evoluíram nas diferentes formas de interação, para facilitar sua dispersão (ROLIM, 2016).

Obviamente que, diversos fatores podem influenciar diretamente na reprodução da planta e, conseqüentemente, na mobilização energética para esta finalidade, como a herbivoria e a capacidade germinativa do indivíduo dentro da espécie. Além de outras circunstâncias, como a disponibilidade de polinizadores e fatores abióticos como o clima, frequência da precipitação e fragmentação de seu habitat (SILVA, 2009).

O período de florescimento da *E. uniflora* pode variar de acordo com a região em que a planta é encontrada. Bezerra et al (2007) destaca que em Pernambuco isso geralmente ocorre duas vezes ao ano, entre os meses de março a maio e os meses de agosto a dezembro. Enquanto o estudo de Fidalgo et al (2019), realizado em São Paulo observou que o período reprodutivo ocorria anualmente, se iniciando entre os meses de julho e dezembro. Por se tratar de uma espécie hermafrodita, suas flores possuem tanto as estruturas que constituem gineceu, como o androceu e esse último estudo também concluiu que a polinização cruzada demonstrou um sucesso maior taxa de viabilidade das sementes, se comparado com autopolinização manual ou mesmo espontânea, sendo a polinização cruzada a de maior sucesso reprodutivo para esta planta.

No caso da pitangueira, é difícil descrever todas as espécies de polinizadores que podem visitar a planta no período reprodutivo, pois o tipo de visitante floral pode variar de acordo com o habitat em que a planta está inserida. Mesmo assim, muitos polinizadores foram descritos na literatura, como no trabalho de Silva & Pinheiro (2007), que identificou 19 espécies distintas de visitantes no período da manhã, sendo estas pertencentes as ordens Diptera, Neoptera, Coleoptera e Hymenoptera, sendo que os visitantes mais frequentes foram abelhas da família Apidae.

Alguns trabalhos mencionam que, além de outras, as abelhas da espécie *Apis mellifera* L., também desempenham o papel da polinização da pitangueira com grande frequência. Porém, por se tratar de uma espécie não nativa (*A. mellifera*) e que foi inserida no Brasil, pode interferir negativamente no sucesso reprodutivo de algumas plantas, além de afugentar espécies nativas de polinizadores, interferindo no forrageio dos mesmos (SILVA & PINHEIRO, 2007; OLIVEIRA & CUNHA, 2005; DINIZ e BUSCHINI, 2015).

Estudos demonstram que as flores das espécies da família Myrtaceae exalam um odor característico, que propiciam um aroma adocicado, funcionando como um atrativo para diversas espécies de insetos. Laurent et al (2017) identificou a presença do pólen da planta no mel de culturas da *A. mellifera* na região fitogeográfica de Chaco na Argentina, além de identificar um aroma refrescante atrativo exalado pelas flores na atração do polinizador. Além disso, muitos dos polinizadores, sobretudo as abelhas utilizam o pólen como fonte de alimento. Nesse sentido, a *E. uniflora* tem um florescimento massivo, com grande disponibilidade de pólen que também é vantajoso para sua propagação (GRESSLER, 2006; SILVA e PINHEIRO 2007; NASCIMENTO, 2019).

Essa fragrância atrativa aos polinizadores e que é liberada pelas flores, na verdade são os compostos orgânicos voláteis florais (COVs). Essas substâncias são oriundas do metabolismo especializado das plantas, em vias metabólicas que, algumas não são totalmente compreendidas, mas que vem sendo alvo de várias pesquisas ao longo dos anos. As principais rotas metabólicas descritas na literatura relacionadas às classes dessas substâncias, são as de biossíntese de terpenoides, benzenoides e fenilpropanoides, além das rotas biosintéticas de derivados de ácidos graxos (**Figura 4**). Na verdade, a atração não se dá pela emissão de apenas um composto isolado, mas de um buquê de substâncias e a regulação de sua emissão pode ser espacial, rítmica e a nível transcripcional (MUHLEMANN, 2014).

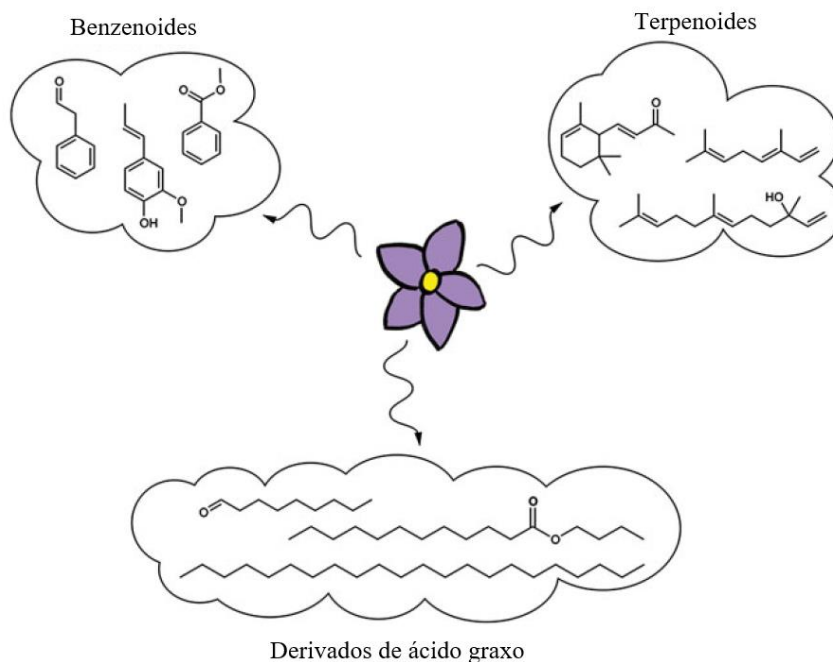


Figura 4. Principais compostos orgânicos voláteis florais produzidos pela planta, na sua interação com os polinizadores. FONTE: Adaptado de Muhlemann (2014).

Também é notório constatar que, os frutos da *E. uniflora* são uma importante fonte nutritiva para os frugívoros, como por exemplo os pássaros, e consequentemente, essa interação desempenha um papel fundamental no equilíbrio ecológico, uma vez que possibilita a dispersão, propagação e formação de um banco de sementes da planta para manutenção das angiospermas (SILVA, 2009).

2.4. Óleo essencial

Os OEs são produtos de origem natural que podem ser obtidos a partir de métodos físicos de extração definidos pela ISO 9235, sendo eles a destilação a seco, hidrodestilação, destilação por arraste a vapor e a extração mecânica do epicarpo de frutos cítricos. Os constituintes químicos, que irão compor os OEs, são oriundos de rotas importantes do metabolismo especializado, que tem como os primeiros blocos de construção dessas vias, alguns dos substratos fundamentais, formados ainda no metabolismo primário (**Figura 5**). As classes de compostos orgânicos voláteis, produtos dessas complexas sequências de reações bioquímicas, são especialmente os terpenos e sesquiterpenos (via MVA e via MEP), benzenoides e fenilpropanoides (via do chiquimato) e jasmonatos derivados da oxidação de ácidos graxos (via do acetato) (BICHI, 2017 e NIINEMETS, 2013).

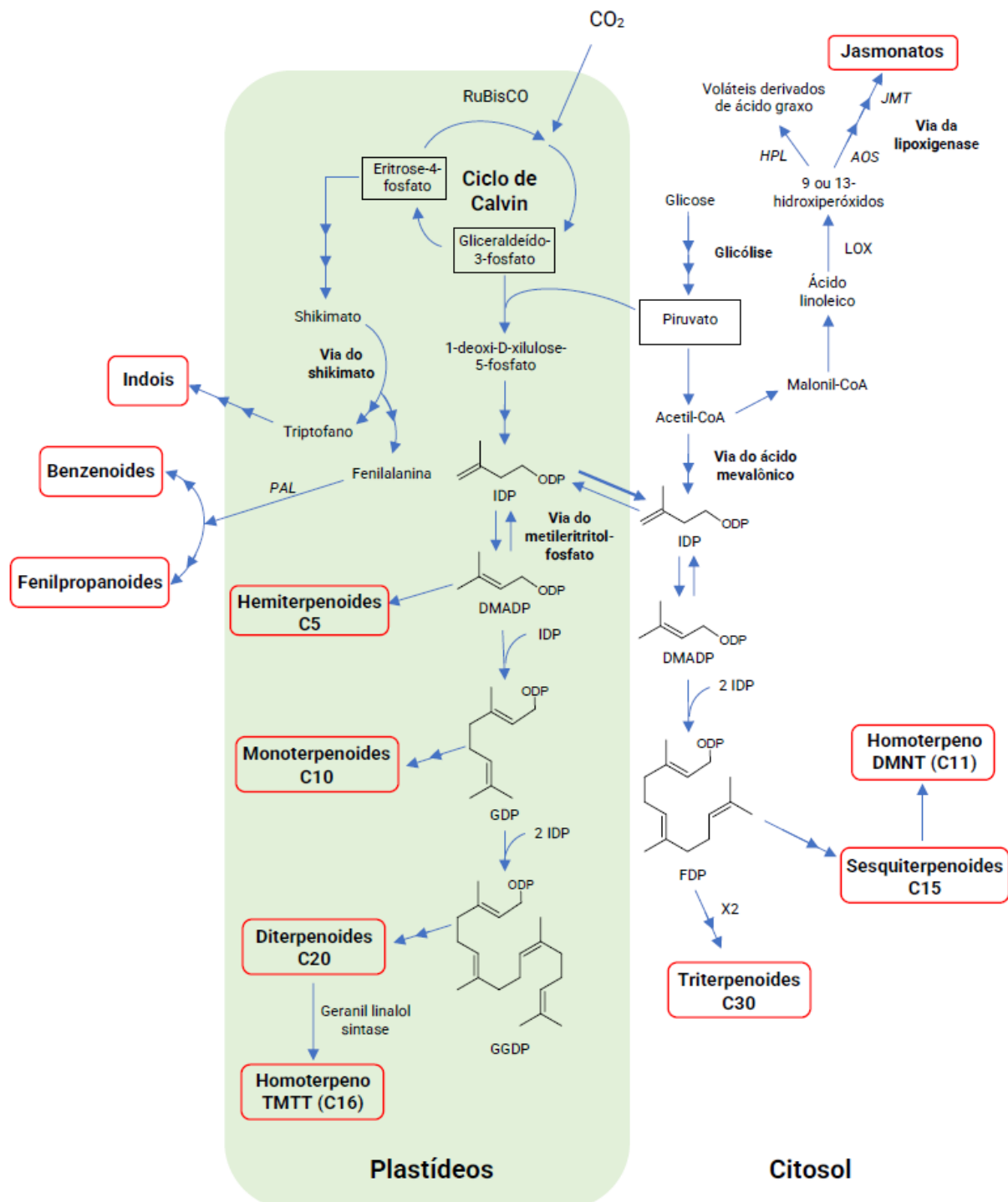


Figura 5. Esquema com as rotas metabólicas das principais classes de substâncias lipofílicas secretadas pelas plantas. FONTE: Adaptado de Niinemets (2013).

O perfil químico dos diferentes OEs, de um modo geral, é variável e depende de muitos fatores determinantes, como a espécie, a linhagem e o tipo de órgão que é utilizado na extração. Contudo, cabe salientar também que a variação na composição não é observável apenas em indivíduos de espécies diferentes, pois estudos apontam que essa característica pode ser

registrada em indivíduos distintos de uma mesma espécie. Isso pode ocorrer devido a diferentes motivos, sendo o principal deles a variabilidade genética que pode existir dentro de uma população de plantas, sobretudo no seu ambiente nativo. Entretanto, fatores bióticos e abióticos, assim como o meio em que a planta for inserida podem influenciar nas concentrações das substâncias que poderão ser encontradas nos OEs após a extração, bem como nos tipos de substâncias aferidos após a análise (TAVARES, 2011 e MORAIS, 2009).

A secreção dessas substâncias nas plantas ocorre por meio de estruturas secretoras e tecidos especializados, que podem ser de diferentes tipos dependendo da família e da espécie, sendo inclusive uma característica marcante que é utilizada nos estudos morfológicos mais detalhados. Dentre as principais estruturas, é interessante citar os tricomas, que geralmente são localizados superficialmente nas partes da planta em que estão dispostas, os coléteres nas faces superiores de estípulas, os idioblastos e as cavidades secretoras (CS) que são encontrados mais internamente (RIBEIRO e SILVA, 2021).

Na família Myrtaceae as estruturas responsáveis pela secreção são as cavidades secretoras. De acordo com Ribeiro e Silva (2021), essas cavidades são envoltas por células secretoras especializadas na síntese de substâncias do metabolismo especial e sua origem evolutiva pode ser esquizógena ou esquizolisígena, dependendo da espécie. Nas folhas da *E. uniflora*, as CS possuem formato esférico e são localizadas na porção interna das epidermes abaxial e adaxial (Figura 6) (FIUZA et al, 2008).

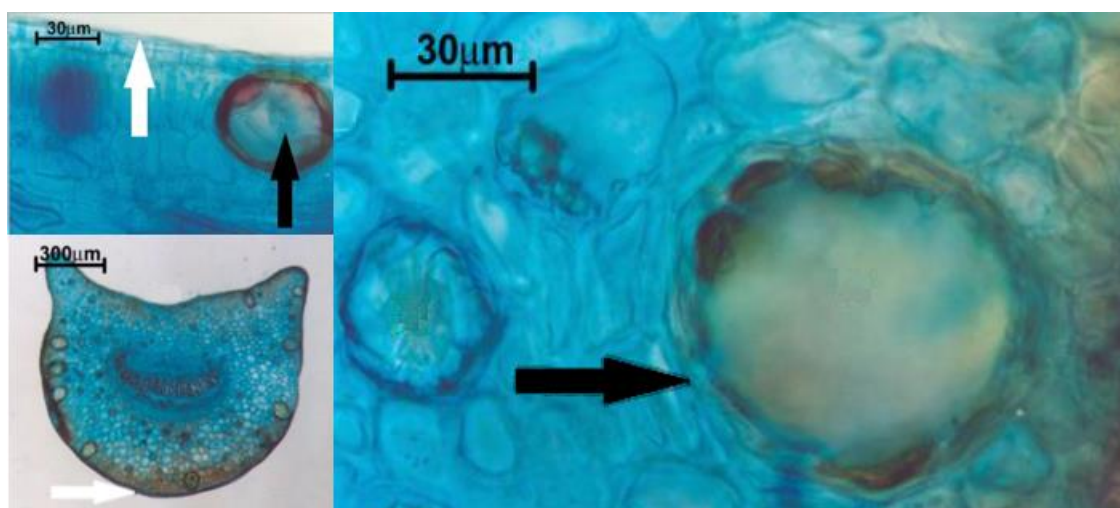


Figura 6. Secções transversais de micrografia da lâmina foliar de *Eugenia uniflora*, com detalhamento das epidermes abaxial e adaxial (seta branca), bem como da cavidade secretora (seta preta). FONTE: Adaptado de Fiuza et al (2008).

2.5. Aspectos econômicos e aplicações dos óleos essenciais

Os OEs podem ser muito vantajosos financeiramente para pequenos produtores e para agricultura familiar, já que eles podem ser comercializados diretamente para inúmeras finalidades, como na fabricação de perfumes, sabonetes e xampus (FUZZO et al, 2022). A pitanga já é uma planta conhecida pelos seus frutos, sobretudo na região nordeste, na qual os mesmos são amplamente comercializados, tanto in natura, como na venda de polpa, geleias, licores, sorvetes e outros derivados (BEZERRA et al, 2007 e FELLER, 2019).

Seus OEs também, por possuírem uma fragrância agradável, são utilizados no ramo cosmético, como na confecção de cremes de cabelo, rosto, loção corporal e perfumes (AMORIM et al, 2009). Um exemplo são os perfumes da linha EKOS da Natura, que utilizam em sua formulação extratos aromáticos na confecção do produto, além da utilização do OE, que denota uma fragrância característica para cada tipo de vegetal. Como é o caso do desodorante de colônia, denominado frescor pitanga, que utiliza como um dos ingredientes da formulação o OE dessa espécie (NATURA, 2023).

Não obstante, os OEs surgem como uma alternativa em potencial ao uso, no setor agrícola, de pesticidas sintéticos, dos quais muitos estudos denotam uma influência negativa desses produtos à insetos polinizadores, como as abelhas, além de animais aquáticos como peixes, anfíbios e até mesmo o homem, em especial os profissionais que manipulam estes produtos no campo (AL NAGAR et al, 2015; DUNIER, 1993; WAGNER et al, 2014 e AL SALEH, 1994). Devido a isso, houve um esforço por parte dos pesquisadores para adoção de boas práticas no campo, visando a diminuição da dependência dos agrotóxicos, e os OEs aparecem como opções a serem exploradas de inseticidas, fungicidas, bactericidas e acaricidas de origem vegetal com baixa toxicidade, menos nocivos à saúde e que causam pouco impacto ambiental (WEZEL, 2014; SOUZA, 2004).

Ademais, parte dos prejuízos no setor agrícola também ocorrem devido a perdas ocasionadas na contaminação dos grãos por patógenos ou pragas, o que interfere negativamente no plantio. Sendo assim, os OEs também se mostram promissores na proteção de sementes (COSTA, 2020 e MOURA et al, 2017).

Quanto a participação de mercado no Brasil, o país é o maior produtor, bem como exportador de OEs de laranja do mundo, tendo produzido cerca de 154,6 mil toneladas de OEs, que equivale a R\$ 1,5 bilhões, no ano de 2018 de acordo com o IBGE. Em um panorama geral, no ano de 2020, foram exportadas aproximadamente 36,6 mil toneladas de OEs no período,

sendo os principais, além dos OEs de laranja, os de limão siciliano, limão Tahiti, petitgrain, eucalipto, vetiver, pau-rosa e outros cítricos (BIZZO & REZENDE, 2022).

2.6. Características Agronômicas da *Eugenia uniflora* L.

Em relação ao cultivo, a pitangueira possui duas principais formas de propagação: por sementes e por estaquia (BEZERRA et al, 2007; LATTUADA, 2011; ALMEIDA, 2012). As duas formas podem ser utilizadas com segurança, mas a primeira apresenta duas desvantagens, que são o aumento da diversidade entre as plantas, que pode influenciar em plantas com frutos de menor qualidade e mesmo na quantidade desses, além do crescimento tardio da planta. Mesmo com estas desvantagens, o manejo com sementes ainda é muito utilizado devido à excelente germinação, como visto no estudo realizado por Wagner Júnior et al (2020) que demonstrou uma taxa de emergência de 92% em sementes da espécie devidamente armazenadas no período de 30 dias (ALMEIDA, 2012).

Os primeiros plantios da *E. uniflora* no país, com a finalidade de suprir uma demanda comercial, ocorreram no município de Bonito em Pernambuco, justamente para a produção de polpas e sucos, que como citado anteriormente, ainda é a principal forma de consumo da fruta no Brasil. Este Estado possui uma área de plantio da pitangueira com cerca de 300 ha, sendo a maior em território brasileiro e o consumo ainda é mais concentrado na região nordeste. Apesar disso, a cultura da espécie ainda possui representatividade muito pequena no cenário agrícola nacional, ainda que tenha um potencial interessante a ser explorado. As informações acerca da produção anual e comercialização dos diferentes produtos, derivados ou mesmo OEs da espécie no país são escassos.

Além disso, os dados de área de cultivo disponíveis, não denotam a realidade em sua totalidade, uma vez que a comercialização dos produtos obtidos a partir da planta não se destinam apenas ao ramo alimentício, mas também tem outras aplicações menos citadas, como na área cosmética, carecendo assim de dados oficiais para um melhor entendimento acerca da área real plantada da *E. uniflora* nesse âmbito (LATTUADA, 2011; IBGE, 2023; BEZERRA et al 2007).

2.7. Etnobotânica da *Eugenia uniflora* L. e atividade biológica

A relação entre as sociedades humanas e as plantas medicinais e aromáticas, correspondem há muitos anos e confundem-se com a própria história humana. Este convívio e

o conhecimento acumulado ao longo do tempo foram fundamentais para o desenvolvimento de inúmeras áreas relacionadas, direta ou indiretamente, a utilização dos recursos naturais e para a própria sobrevivência dessas populações durante os séculos. A Etnobotânica, apesar de ter seu significado mencionado por Hashberger, ainda no ano de 1895, pode ser entendida como o estudo acerca do conhecimento tradicional que o ser humano tem em relação as plantas, dentro das comunidades as quais ele pertence de como estas informações podem ser aplicadas de forma benéfica em outras áreas da ciência, como a farmacológica e medicinal, por exemplo (VÁSQUEZ et al, 2014 e ALBUQUERQUE et al, 2022).

Nesse sentido, a espécie *E. uniflora* faz parte da flora nativa do país e, assim como outras plantas de sua família, evidencia uma parte importante dessa interrelação. Apesar de não existir uma descrição exata de quais foram as primeiras tribos a interagirem com a planta, algumas evidências sugerem que aquelas de língua Tupi tenham sido as primeiras a fazerem uso pitanga no Brasil. Os principais povos indígenas que integram esse grupo são os tupiniquins, os potiguaras, os tupinambás, os temimimós, os caetés e os tupis de São Vicente, sendo estes os que habitavam várias regiões do litoral brasileiro no passado. A planta tem uma característica marcante, que são os seus frutos globosos de cor vermelha e sabor agradável, sendo creditado a isso o principal motivo de seu nome comum, a pitanga, ter origem nessa língua nativa, com “pi’täg” significando vermelho em tupi e representando sua coloração (TUFFANI, 2012; BEZERRA et al, 2007).

Levando em consideração o seu uso popular nas comunidades tradicionais, é notório que a principal forma é a nutritiva, com a apreciação e consumo dos seus frutos in natura e até mesmo com a sua comercialização em feiras livres, principalmente na região nordeste (SILVA, 2006). Entretanto, a aplicação da planta nessas populações não se restringe apenas a essa utilização, mas também existem dados de seu emprego em medicina popular. O trabalho realizado Castelluci et al (2000) identificou que a planta era reconhecida em comunidades residentes da Estação Ecológica de Jataí, com relatos dessa espécie plantada nos quintais e o uso terapêutico dos chás das folhas no tratamento de tosse. Outro levantamento etnobotânico realizado por Kruel e Peixoto (2004), na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, com a entrevista de pescadores e residentes do entorno de Praia Grande, mostrou a espécie sendo utilizada de maneira versátil, como em construção, tecnologia, além de alimentar e medicinal, com as folhas sendo utilizadas para o tratamento de febre e resfriados.

De fato, alguns dados baseados em pesquisas relacionadas a extratos obtidos de partes da planta, demonstraram ser bastante interessantes. Schmeda-Hirschman et al (1987) averiguou

resultados promissores pelos testes dos chás, por infusão das folhas, nos quais os flavonóides mostraram uma ação inibitória da enzima Xantina Oxidase, que é responsável por gerar espécies reativas de oxigênio (EROs) e demonstraram ser um potencial auxiliar no tratamento da Gota. Posteriormente, Schapoval et al (1994) comprovou que a mesma infusão feita com folhas frescas, também mostraram efeitos anti-inflamatórios relacionados às perturbações gastrointestinais, através de testes em ratos.

Embora muitas pesquisas, além das citadas, tenham sido realizadas após as mesmas na investigação dos possíveis efeitos dos extratos das folhas no organismo, poucos trabalhos associaram essas observações a fitoquímica da planta e interações dessas substâncias nos possíveis alvos metabólicos. O referencial teórico aponta que essas folhas da espécie possuem diversas substâncias que foram identificadas, sendo principalmente triterpenos, taninos, alcalóides, flavonóides e antraquinonas, sem contar as substâncias voláteis, com monoterpenos e sesquiterpenos em sua composição (FALCÃO et al, 2018).

Alguns desses compostos e seus derivados, estão presentes nas infusões, bem como extratos dessa parte da planta e a ação dos mesmos vem sendo analisadas por determinados grupos de trabalho. Shumacher et al (2015), evidenciou que uma fração com maiores teores de flavonóides desse extrato, reduziu consideravelmente as concentrações séricas do fator de necrose tumoral TNF- α e da citocina responsável pela resposta inflamatória IL-1, além da inibição da expressão de outros mediadores correlacionados a inflamação como o iNOS e o COX-2, nos testes em modelo com organismo vivo. Essa observação foi confirmada por Falcão et al (2018), além de observar uma redução na atividade das enzimas MPO, que também é responsável pelo processo inflamatório, pois é uma peroxidase que catalisa as reações para formação das EROs, diminuindo consideravelmente o stress oxidativo nos tecidos.

Por outro lado, os OEs extraídos de folhas da planta foram investigados por Adebajo et al (1989) e os resultados apontaram um efeito antimicrobiano para diferentes linhagens de microorganismos, principalmente fungos. Isso foi muito promissor para a época e motivou a realização de diversas outras pesquisas com esse PN, como a realizada por Ogunwande et al (2005) que além de constatar a ação microbiana, evidenciou uma ação citotóxica em células tumorais humanas e depois Figueireido et al (2019) percebeu que um dos óleos ricos em selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona era fortemente citotóxico contra células tumorais de cólon, mas pouco citotóxica frente a células normais. Outra linha de estudos, dessa vez com testes *in vitro* realizados por Kauffman et al (2017) demonstrou uma

ação antiparasitária eficiente dos OEs de *E. uniflora* contra o protozoário *Leishmania amazonensis*, que é o agente causador da Leshmaniose cutânea ou visceral.

Algumas outras substâncias presentes com frequência ou alto teor nos OEs de acessos em algumas populações de pitangueira e outras espécies, também apresentam um bom potencial tanto na atividade biológica frente a alguns organismos, como farmacêutico e são alvos de estudo. O espatulenol, por exemplo, é reportado como um constituinte com propriedades antibacterianas e moderada ação citotóxica contra células do tipo KB. Além do composto amorfa-4,9-dien-2-ol apresentar atividade contra dois tipos de Herpes (LIMBERGER et al, 2004; AMPARO et al, 2021).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Verificar se diferentes indivíduos da espécie *Eugenia uniflora* crescendo em seu ambiente natural (*in situ*), apresentam variabilidade intraespecífica tanto quanto ao teor ou a composição química dos óleos essenciais obtidos por hidrodestilação das folhas dessas plantas.

Comparar estatisticamente dados de teor e perfil químico dos óleos essenciais de outras populações disponíveis na literatura, com os resultados obtidos nesse trabalho.

3.2. Objetivos Específicos

- I. Obter material vegetal a partir da prospecção e coleta de exemplares nativos de pitangueira em diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro (Metropolitana, das Baixadas Litorâneas e da Costa Verde).
- II. Obter dados acerca do teor e perfil químico dos óleos essenciais de exemplares nativos de pitangueira.
- III. Propor sistematização dos dados de diversidade química da pitangueira através de análises multivariadas.
- IV. Investigar informações na literatura acerca do teor e perfil químico dos óleos de outros exemplares da espécie *Eugenia uniflora*, com o intuito de estabelecer uma comparação com os resultados observados na análise.

- V. Organizar os resultados para a construção de relatórios científicos, resumos, manuscritos e, por fim divulgados em periódicos científicos especializados.

4. REFERÊNCIAS

- ADEBAJO, A.C.; OLOKE, K.J.; ALADESANMI, A.J. Antimicrobial activities and microbial transformation of volatile oils of *Eugenia uniflora*. **Fitoterapia**, v. 60(5), p. 451-455, 1989.
- ALBUQUERQUE, U. P et al. Introdução à Etnobotânica. **Editora Interciência**, 3 ed. Rio de Janeiro, 2022.
- AL NAGGAR, Y et al. Organophosphorus insecticides in honey, pollen and bees (*Apis mellifera* L.) and their potential hazard to bee colonies in Egypt. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 2015, 114, 1.
- AL SALEH, I. A. Pesticides: a review article. **J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.** v.13, n.3, p.61-151, 1994.
- AMPARO, T. R et al. Brazilian essential oils as source for the discovery of new anti-COVID-19 drug: a review guided by in silico study. **Phytochem. Ver.**, v. 20, p. 1013-1032, 2021.
- AMORIM, A. C. L.; LIMA, C. K. F.; HOVELL, A. M. C.; MIRANDA, A. L. P.; REZENDE, C. M. Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga). **Phytomedicine**, v. 16, n. 10, p. 923–928, 2009.
- BEZERRA, J. E et al. Pitangueira. Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária - IPA. 2007, 87p.
- BFG – THE BRASIL FLORA GROUP; Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66(4), p. 1085-1113. 2015.
- BICHI, C.; JOULAIN, D. Techniques for preparing essential oils and aromatics extracts. **Technical editorial**. Willey, 2017.
- BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década. **Química Nova**, v. 45, n. 8, p. 949-958, 2022.
- CABRAL, D. C.; BUSTAMANTE, A. G. Metamorfoses florestais: Culturas, ecologias e as transformações históricas da Mata Atlântica. **Editora Prismas**, 1ªed, 457p., 2016.

CARVALHO, P. E. R. Espécies arbóreas brasileiras: pitangueira (*Eugenia uniflora*). **Embrapa**, v. 2, p. 465-472, 2006.

CASTELLUCI, S et al. Plantas medicinais relatadas pela comunidade residente na Estação Ecológica de Jataí, Município de Luis Antônio/SP: Uma abordagem Etnobotânica. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 3, n. 1, p. 51-60. Botucatu, 2000.

CORADIN, L et al. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste. Brasília, DF: MMA, cap. 5, p.155 - 168, 2018.

CORNWELL, W. K et al. Functional distinctiveness of major plant lineages. **Journal of Ecology**, v. 102, p. 345-356, 2014.

COSTA, M. L. N.; GONÇALVES, D. S. F.; MACHADO, J. C. Controle de Fusarium verticillioides em sementes de milho com o óleo essencial de gengibre. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 46, n. 3, p. 250-254, 2020.

DANTAS, R. L et al. Qualidade de frutos de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) durante a maturação. **Revista de Ciências de Saúde Nova Esperança**, v. 19(3), p. 146-154. João Pessoa, 2021.

DINIZ, M. E. R.; BUSCHINI, M. L. T.; Pollen analysis and interaction networks of floral visitor bees of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), in Atlantic Forest areas in southern Brazil. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 9(6), p. 623-632, 2015. doi:10.1007/s11829-015-9400-1

DUKE, J. A.; Duke's Handbook of Medicinal Plants of Latin America. CRC press, p. 309, 2009.

DUNIER, M.; SIWICKI, A. Effects of pesticides and other organic pollutants in the aquatic environment on immunity of fish: a review. **Fish Shellfish Immunol**, v.3, n.6, p. 423-438, 1993.

EGUILUZ, M. et al. The chloroplast genome sequence from *Eugenia uniflora*, a Myrtaceae from Neotropics. **Plant Systematics and Evolution**, v. 303(9), p. 1199-1212. Austria, 2017. DOI 10.1007/s00606-017-1431-x

FALCÃO, T. R. et al. Crude extract and fractions from *Eugenia uniflora* Linn leaves showed anti-inflammatory , antioxidant and antibacterial activities. **Complementary and Alternative Medicine**, v. 18(84), p. 1-12, 2018.

- FELLER, D.; RIBAS, L. C.; AMARAL, F. M. Produtos derivados de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) em Florianópolis (SC): análise comercial associada à aceitabilidade do suco tropical da fruta. **Brazilian Archives of Food**, v. 4(2), p. 352-383. Recife, 2019.
- FIUZA, T. S et al. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). *Revista eletrônica de Farmácia*, v. 5(2), p. 1-11, 2008.
- FIGUEIREDO, P. L. B et al. Composition, antioxidant capacity and cytotoxicactivity of *Eugenia uniflora* L. chemotype-oils from the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 232, p. 30-32, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.12.011>
- FLORA E FUNGA DO BRASIL. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 31 jan. 2023
- FLEPPC. 2005. List of Florida's Invasive Species. Florida Exotic Pest Plant Council. Acessado em 02 de março de 2023.
- FOC. 2023. *Eugenia uniflora* Linnaeus. *Flora of China*, v. 13, p. 331. Acessado em 02 de março de 2023.
- FUZZO, A. M. S et al. Lamiaceae: óleos essenciais e antioxidantes importantes. **Revista Biodiversidade**, v. 21(1), p. 112-119. Amazonas, 2022.
- GRESSLER, E.; PIZO, M. A; MORELLATO, L. P. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 29(4), p. 509-530. 2006.
- GUZMAN, F et al. De novo assembly of *Eugenia uniflora* L. transcriptome and identification of genes from the terpenoid biosynthesis pathway.
- HILU, K et al. Angiosperm phylogeny based on matK sequence information. **American Journal of Botany**, v. 90, p.1758-1766, 2003.
- IBGE. LSPA - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Disponível em: <https://ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html>. Acesso em 02 de março de 2023.
- JÚNIOR, A. W et al. Conservação de sementes nos frutos de pitangueira: estágio de maturação, embalagem alternativas e períodos de armazenamento. **Acta Iguazu**, v. 9(3), p. 1-8, Cascavel, 2020.

JUSSIEU, A. L.; Genera plantarum secundum ordines naturales disposita, juxta methodum in Horto Regio Parisiensi exaratum, anno M.DCC.LXXIV. **Pariisis**, p.322-323, 1789.

KAUFFMAN, C et al. Chemical Composition and Evaluation Preliminary of Antileishmanial Activity in vitro of Essential Oil from Leaves of *Eugenia pitanga*, A Native Species of Southern of Brazil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v, 20(2), p. 559-569, 2017.

KRUEL, V. S. F.; PEIXOTO, A. L. Etnobotânica na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18(1), p. 177-194, 2004.

LAMARCA, E. V et al. Contribuições do conhecimento local sobre o uso de *Eugenia* spp. em sistemas de policultivos e agroflorestas. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v 8(3), p. 119-130, 2013.

LATTUADA, D. S.; SPIER, M.; SOUZA, P. V. D. Pré-tratamento com água e doses de ácido indolbutírico para estaquia herbácea de pitangueiras. **Ciência Rural**, v. 41(12), p. 2073-2079, 2011.

LAURENTI, C. R. S.; TELLERÍA, M. C.; CORONEL, J. M. Botanical and geographical origin of honey from the dry and humid Chaco ecoregions (Argentina). **Grana**, p. 1-12, 2017. doi:10.1080/00173134.2016.1276619

LEGRAND, C.D. & KLEIN, R.M. Flora Ilustrada Catarinense Santa Catarina, Editor P. Raulino Reitz. I parte: Fascículo: Myrtaceae. p. 45-216, Itajaí, 1969.

LIM, T. K.; Edible Medicinal And Non Medicinal Plants: *Eugenia uniflora*. **Springer**, v. 3, p. 620–630. Dordrecht, 2011. doi:10.1007/978-94-007-2534-8_85

LIMBERGER, R. P et al. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, v. 26, n. 6, p. 916-919, 2004.

MANZINE, F. F et al. A preliminary phylogenetic analysis of *Eugenia* (Myrtaceae: Myrteae), with a focus on Neotropical species. **Kew Bulletin**, v. 69, n. 9497, p. 1-14, 2014.

MCVAUGH, R. 1968. The genera of American Myrtaceae: an interim report. **Taxon**, v. 17(4), p. 354-418, 1968. <https://doi.org/10.2307/1217393>

MEHROTRA, S.; GOYAL, V. Repetitive Sequences in Plant Nuclear DNA: Types, Distribution, Evolution and Function. **Genomics, Proteomics & Bioinformatics**, v. 12, n. 4,

p. 164-171, 2014.

MIGUEL, L. M. Tendências do uso de produtos naturais nas indústrias de cosméticos da França. **Revista Geográfica de América Central**, v. 2, p. 1-15. Costa Rica, 2011.

MOURA, G. S et al. Óleo essencial de pitangueira na germinação e sanidade de sementes de variedades crioulas de feijoeiro. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.7, n.3, p. 48-55, Setembro, 2017.

MUHLEMANN, J. K.; KLEMPIEN, A.; DUDAREVA, N. Floral volatiles: from biosynthesis to function. **Plant, Cell & Environment**, v. 37(8), p. 1936-1949. 2014. doi: 10.1111/pce.12314

NASCIMENTO, A.; PRADE, A. C. K. Aromaterapia: o poder das plantas e dos óleos essenciais. Fiocruz-PE. **Observapics**, n. 2, 33p. Recife, 2020.

NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, C. A. L. Pollen morphology of Myrtaceae visited by social bees. **Plant Science Today**, v. 6(2), p. 98-105. 2019. <https://doi.org/10.14719/pst.2019.6.2.475>

NATURA. Ekos frescor pitanga desodorante colônia feminino. Disponível em: <https://www.natura.com.br/p/ekos-frescor-pitanga-desodorante-colonia-feminino-150-ml>. Acessado em 16 de março de 2023.

NIINEMETS, U.; KANASTE, A.; COPOLOVIC, L. Quantitative patterns between plant volatile emissions induced by biotic stresses and the degree of damage. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1-15, 2013.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura brasileira**, v. 27, n. 2, p. S4050-S4063, 2009.

MORRONE, J. M. Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. *Zootaxa*, v. 3782(1): 25, Cidade do México, 2014.

OGUNWANDE, I. A et al. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 15, p. 147-152, 2005.

OLIVEIRA, M. L.; CUNHA, J. A. Abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae). **Acta Amazonica**, v. 35, n. 5, p. 389-394, 2005.

exploram recursos na floresta amazônica?

PARREIRA, M. C et al. Índices fitossociológicos da comunidade infestante presente em sistema agroflorestal na Amazônia Tocantina, no inverno e verão amazônico. **Revista GeSec**, v. 14, n. 3, p. 4117-4133, 2023.

PEDROSO, R. S.; ANDRADE, G.; PIRES, H. P.; Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 31(2), e310218. Rio de Janeiro, 2021.

PEIXOTO, A. L.; LUZ, J. R. P.; BRITO, M. A. Conhecendo a biodiversidade. Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. Brasília, 2016.

RIBEIRO, J. P. O.; SILVA, C. J. Ontogenia das cavidades secretoras de onze espécies de Myrtaceae. **Revista Fitos**, v. 15(3), p. 346-356, 2021./

ROLIM, S. G.; MENEZES, L. F. T.; ARAUJO, A. C. S. Floresta Atlântica de Tabuleiro: diversidade e endemismos na Reserva Natural Vale. **Rupestre**, p. 141-151. Belo Horizonte, 2016. 496p.

SANTOS, E. L et al. Phytochemical characterization and antibiotic potentiating effects of the essential oil of *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) and beta-caryophyllene. **South African Journal of Botany**, v. 146, p. 1-6, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.07.046>.

SANTOS, F. R. et al. Influência da idade das folhas de *Eugenia uniflora* L. na composição química do óleo essencial. *Revista Química Nova*, v. 38, n. 6, p.762-768, 2015.

SARZI, D. S. Sequenciamento Parcial do Genoma de *Eugenia uniflora* L. e Desenvolvimento de Marcadores Microsatélites. Dissertação de Mestrado, **UNIPAMPA**, 75pg., 2017.

SCHAFFER, W. B.; CAMPALINI, M. Mata Atlântica: patrimônio nacional dos brasileiros. Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas. **Biodiversidade**, v. 34, 408 p. Brasília, 2010.

SCHAPOVAL, E.E.S et al. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 44, p. 137-142, 1994.

SCHMEDA-HIRSCHMAN, G et al. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora* leaves: xanthine oxidase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 21, p. 183- 186,

1987.

SILVA, A. L.; PINHEIRO, M, C.; Biologia floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). **Acta Bot. Bras.**v. 21 (1), 2007. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062007000100022>.

SILVA, L. R et al. *Lamiaceae* Essential Oils, Phytochemical Profile, Antioxidant, and Biological Activities. **Evid Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, 18p. 2021. doi: 10.1155/2021/6748052.

SILVA, A. L. G.; PINHEIRO, M. B. C. Sucesso reprodutivo de quatro espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23(2), p. 526-534, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062009000200024>.

SILVA, A. L. G.; PINHEIRO, M. B. C. Biologia floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 1, p. 235-247, 2007.

SILVA, S. M.; Pitanga. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28(1), 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452006000100001>.

TAVARES, E.S. et al. *Lippia alba*: Estudos químicos, etnofarmacológicos e agrônômicos. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada em Ciências Agrárias**, v.6325, p.204-212. Guarapuava, 2011.

SOUZA, G. C et al. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.90, n.1, p.135-143, 2004.

TUFFANI, E. Uma tese de Tupi antigo I. **Revista Philologus**, ano 18, n. 52, p. 134-162. Rio de Janeiro, 2012.

VALLI, M et al. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Chemical Sciences**, An. Acad. Bras. Ciênc. v. 90, 2018. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170653>

VÁSQUEZ, S. P. F.; MENDONÇA, M. S.; NODA, S. N. Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do Município de Manacapuru, Amazonas, Brasil. **Acta amazônica**, v. 44(4), p. 457-472, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392201400423>

WAGNER, N et al. Pesticides and health: A review of evidence on health effects, valuation of risks, and benefit-cost analysis. *Toulouse School of Economics*, v.24, n.825, p.1-61, 2014.

WEZEL, A.; CASAGRANDE, M.; CELETTE, F.; VIAN, J. F.; FERRER, A.; PEIGNÉ, J. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. **Agron. Sustain. Dev. Springer**, v.34, n.1, 2014.

WILSON, P. G et al. Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a matK phylogeny. **Plant Systematics and Evolution**, v. 251, p. 3-19, 2005.

WORLD FLORA ONLINE. Disponível em: < worldfloraonline.org >. Acesso em: 12 out. 2023.

CAPÍTULO I

Revisão de literatura e análise estatística com base na diversidade química dos óleos essenciais de pitangueira

RESUMO

A pesquisa realizada neste capítulo teve como finalidade examinar e selecionar os óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L. disponíveis em artigos publicados entre os anos de 1995 e 2023. A seleção ocorreu nas bases de dados da Capes, Scielo, Web of Science, Scopus e Google Acadêmico, respeitando alguns critérios, como os OEs serem extraídos de acordo com a ISO 9235 de 1997, considerar apenas artigos publicados e limite de uma amostra para cada trabalho. Foram escolhidos 24 trabalhos ao todo e a matriz de dados foi construída de acordo com a representatividade das substâncias, considerando aquelas com concentração $\geq 5\%$ e frequência $\geq 32\%$, sendo um total de 39 e das quais foram feitas as análises estatísticas. Os teores variaram entre 0,10% e 2,06% e a análise multivariada possibilitou a formação de 5 grupos com base na similaridade entre os constituintes, demonstrando uma riqueza entre os mesmos. Os resultados também mostraram a existência de três quimiotipos, sendo eles o curzereno (85,1% a 36,2%), a selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (48,5% a 25%) / epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona (36,7% a 22,1%) e a germacrona (27%), levando em consideração que algumas substâncias foram reportadas como produto do “rearranjo de Cope”, devido as análises CG-EM e CG-DIC com rampa de aquecimento. As substâncias observadas com as maiores frequências percentuais foram β -elemeno (88%), germacreno B (83%), (*E*)-cariofileno (79%), germacrona (79%), curzereno (63%) e espatulenol (63%). O estudo foi muito satisfatório, sendo constatada uma importante quimiodiversidade intraespecífica entre os óleos essenciais dessa espécie.

ABSTRACT

Literature review and statistical analysis based on the chemical diversity of Surinam cherry essential oils.

The purpose of the research carried out in this chapter was to examine and select the essential oils of *Eugenia uniflora* L. available in articles published between 1995 and 2023. The selection took place in the Capes, Scielo, Web of Science, Scopus and Google Scholar databases, respecting certain criteria, such as the EOs being extracted in accordance with ISO 9235 of 1997, considering only published articles and a limit of one sample for each work. A total of 24 papers were chosen and the data matrix was constructed according to the representativeness

of the substances, considering those with a concentration $\geq 5\%$ and a frequency $\geq 32\%$, making a total of 39, from which the statistical analyses were carried out. The yields ranged from 0.10% to 2.06% and the multivariate analysis made it possible to form 5 groups based on the similarity between the constituents, demonstrating a richness between them. The results also showed the existence of three chemotypes, namely curzerene (85.1% to 36.2%), seline-1,3,7(11)-trien-8-one (48.5% to 25%) / seline-1,3,7(11)-trien-8-one epoxide (36, 7% to 22.1%) and germacrone (27%), taking into account that some substances were reported as the product of the "Cope rearrangement", due to the GC-MS and GC-FID analyses with heating ramp. The substances observed with the highest percentage frequencies were β -elemene (88%), germacrene B (83%), (E)-caryophyllene (79%), germacrone (79%), curzerene (63%) and spatulenol (63%). The study was very satisfactory and showed significant intraspecific chemodiversity among the essential oils of this species.

1. METODOLOGIA

1.1. Levantamento bibliográfico acerca da diversidade química dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora*.

Com o intuito de fundamentar os resultados obtidos na pesquisa, tendo em vista o conhecimento fitoquímico descrito em trabalhos anteriores, sobre a composição dos OEs da espécie, foi realizada uma investigação na literatura em que foram selecionados alguns artigos científicos que apresentavam uma diversificação nos teores e nas substâncias encontradas, em diferentes localizações geográficas.

A procura ocorreu levando em consideração alguns critérios que foram previamente estabelecidos, sendo eles:

- i. Os OEs estudados nos trabalhos foram extraídos a partir das folhas e obedecendo os métodos estabelecidos pela norma ISO 9235 de 1997;
- ii. Nos artigos selecionados, foram buscados OEs da espécie, dando preferência aqueles com uma composição química mais diversificada e distinta possível entre os mesmos, além de verificar a existência de possíveis quimiotipos;
- iii. Foram evitados artigos similares de um mesmo autor e OEs extraídos de um mesmo exemplar;

- iv. Foram evitados trabalhos como dissertações, teses, apresentações em congressos, eventos, manuscritos e anais, sendo escolhidos apenas artigos publicados.

Desse modo, foram examinadas as bases de dados da Capes, Scielo, Web of Science, Scopus e Google Acadêmico durante o final do ano de 2022 e primeiro semestre de 2023 e foram escolhidos artigos publicados entre os anos de 1995 e 2023. Os artigos foram buscados com as palavras-chave “*Eugenia uniflora*” e “essential oil”, dos quais foram selecionados 24 artigos, sendo vinte artigos acerca dos OEs extraídos das folhas de exemplares oriundos de onze diferentes estados do Brasil e os outros quatro artigos de OEs de plantas dos Estados Unidos, Venezuela, Nigéria e Egito (**Tabela 2**). O mapa cartográfico com a distribuição geográfica dos exemplares e quantidade dos respectivos OEs por localidade foi construído com o software QGIS versão 3.30.2 (**Figura 7**).

Tabela 2. Descrição dos autores e localização geográfica dos exemplares de *Eugenia uniflora* L. utilizados na construção dos respectivos artigos.

COD ^a	Referência (n° exemplar)	Localidade
L1	Altoe et al, 2023	Ibiúna - SP
L2	Rojas et al, 2022	Mérida (Venezuela)
L3	Oliveira et al, 2022	Lavras - MG
L4	Cipriano et al, 2021 (20)	Pinhais - PR
L5	Júnior et al, 2021 (3)	São Paulo - SP
L6	Costa et al, 2020 (11)	Belém - PA
L7	Lobo et al, 2019	Recife - PE
L8	Figueiredo et al, 2019 (1)	Santarém - PA
L9	Sviech et al, 2018	Palmeira - PR
L10	Marques et al, 2018	Rio de Janeiro - RJ
L11	Franciscato et al, 2018	Santa Barbara - SP
L12	Santos et al, 2018	Crato - CE
L13	Pinheiro et al, 2017	Alegre - ES
L14	Pereira et al, 2017	Crato - CE
L15	Sobeh et al, 2016	Cairo (Egito)
L16	Rodrigues et al, 2013	São Luís - MA
L17	Victoria et al, 2013	Pelotas - RS
L18	Chang et al, 2011	Uberlândia - MG
L19	Tucker et al, 2011	Arizona (Estados Unidos)
L20	Lago et al, 2011	Osasco - SP
L21	Costa et al, 2010 (1)	Santo Antônio - GO
L22	Melo et al, 2007	Rio de Janeiro - RJ
L23	Oguwande et al, 2005	Ibadan (Nigéria)
L24	Morais et al, 1995	Fortaleza - CE

^aCódigo de identificação utilizado para distinguir cada exemplar, bem como seus respectivos OEs, nas análises realizadas no trabalho e organizados em ordem decrescente de acordo com o ano da publicação. Os artigos foram selecionados com base na diversidade química entre os OEs caracterizados, sendo realizada uma busca na base de dados da Capes, Scielo, Web of Science, Scopus e Google Acadêmico, utilizando as palavras chave “*Eugenia uniflora*” e “essential oil”, dentre os meses de dezembro de 2022 até o mês de abril de 2023.

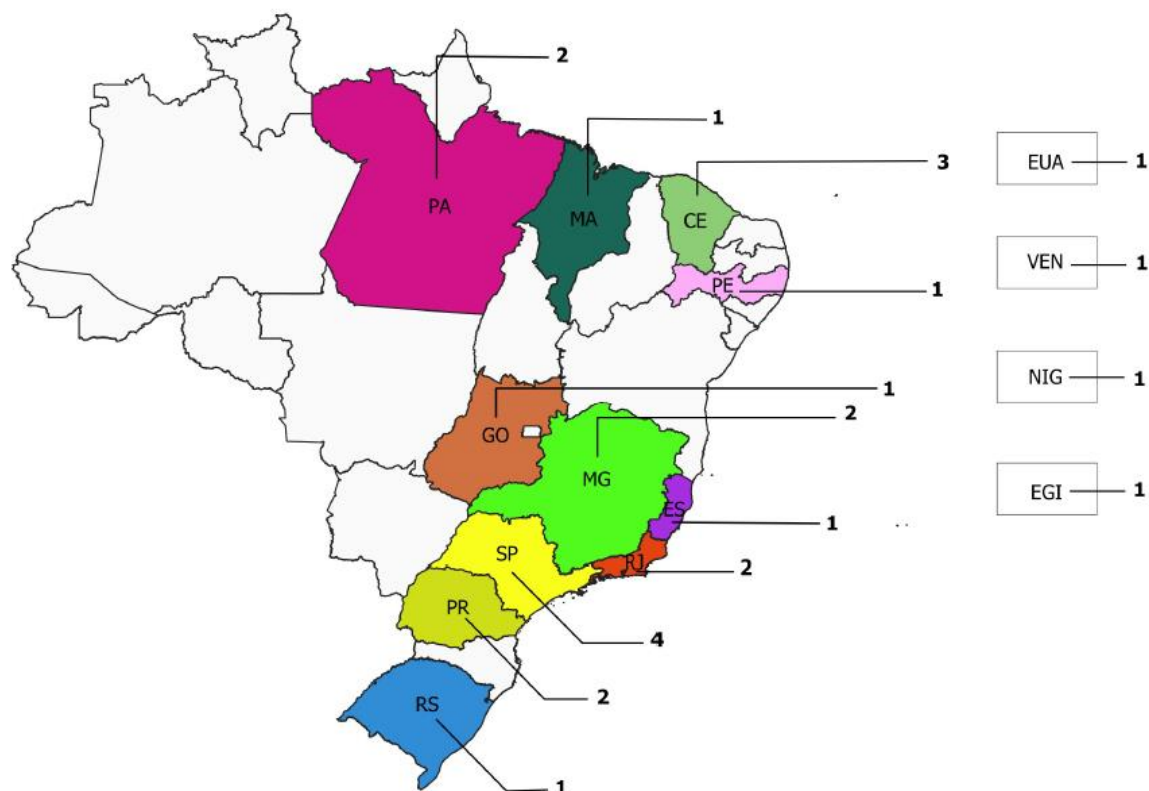


Figura 7. Localização geográfica dos exemplares selecionados de *Eugenia uniflora* L. e quantidade dos seus respectivos OEs utilizados nos artigos citados por região.

1.2. Análise estatística descritiva.

Essa análise foi empregada para avaliar os teores percentuais dos OEs nos artigos escolhidos com essa informação. Ao todo, foram 17 os trabalhos que continham esses dados e o programa utilizado para esse estudo foi o GaphPad Prism 9.

1.3. Análise estatística multivariada.

Devido à natureza da população amostral e pela complexidade de se trabalhar com muitas variáveis, a metodologia escolhida para o trabalho realizado com o perfil químico dos OEs, por ser considerada a mais adequada para esta situação, foi a análise multivariada. O programa utilizado foi o programa R versão 4.0.3 e as etapas necessárias para o estudo foram as seguintes:

i. Critérios para construção da matriz de dados:

Ao todo foram identificadas 171 substâncias distintas dentro dos 24 artigos selecionados. Contudo, pelo fato de muitas dessas substâncias não terem representatividade dentro de seus respectivos OEs e pelas mesmas causarem efeitos indesejados dentro da análise estatística empregada, que serão discutidos posteriormente, foi preciso delinear essas informações. Para isso, as substâncias foram selecionadas com base em duas características principais: a concentração e a frequência com que as mesmas estivessem presentes nesses OEs. Sendo assim, foram consideradas representativas para a análise aquelas com frequência $\geq 32\%$ ou concentração $\geq 5\%$. Então, foi construída uma matriz de dados com todos os 24 óleos e 39 substâncias (24X39).

ii. Normalização e teste de Mardia:

Para um correto delineamento, os dados amostrais dos vetores que compõe a matriz precisaram ser normalizados. O método empregado foi a normalização de variáveis pela função RaizQ (Equação 1).

$$x_{ij(RaizQ)} = \sqrt{x_{ij}} \quad (1)$$

Onde x é o valor da variável a ser normalizada.

A escolha do método será discutida mais adiante. É importante salientar que essa ação, bem como a feita no critério estabelecido para a montagem da matriz de dados considerando as variáveis representativas, tendem a diminuir um efeito nocivo para a distribuição dos dados amostrais, conhecido como “*outlier*”. Essa situação pode influenciar tanto a simetria quanto a curtose da curva, pois uma variável discrepante pode causar um desvio significativo dentro da população amostral, podendo levar a resultados equivocados. Tendo em vista isso, o teste de Mardia foi realizado para testar a normalidade da distribuição dos dados amostrais, com a verificação de possíveis desvios relacionados à simetria da curva através da hipótese de normalidade multivariada (CANTELMO e FERREIRA, 2007).

iii. Análise AAH e teste de correlação cofenética:

Como os dados experimentais dos óleos essenciais foram obtidos sem repetição, optamos pela utilização da distância Euclideana, dada pela equação 2, para estimar a dissimilaridade entre os diferentes indivíduos na construção da matriz fenética, sabendo que nesse caso não foi possível estimar as matrizes de variância e covariância residuais (BENIN et al 2003).

$$d(xy) = \sqrt{\sum_{i=1}^p (xi - yi)^2} \quad (2)$$

Para a análise de agrupamento hierárquico (AAH), foi utilizado o método de agrupamento UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic averages) que utiliza as médias aritméticas das medidas de dissimilaridade (WEIB e GOKER, 2011). A análise da consistência dos agrupamentos foi feita através da correlação cofenética. Uma correlação baixa entre a matriz fenética e a matriz cofenética, pode gerar uma distorção no agrupamento. A correlação é satisfatória se for maior ou igual a 7.

iv. Análise de grupos ótimos:

Foi feita a estimativa de números de grupos ótimos através do R, por meio do método KGS. A utilização do algoritmo de Kelley e Gardner para conhecimento do ponto de corte ótimo no dendrograma foi feita para estimar a formação de grupos com base na dissimilaridade (KELLEY et al, 1996). Cabe ressaltar que, neste capítulo também foi realizada a análise visual prévia de similaridade entre as amostras geradas no dendrograma e o ajuste da altura da linha de corte, devido à grande diversidade dos OEs selecionados.

v. Definição dos quimiotipos:

O critério para definição de quimiotipos ocorre com base no predomínio significativo de uma ou mais substâncias em detrimento das demais. Entretanto, como na literatura ainda não existe um consenso sobre qual é o melhor critério para a definição de quimiotipo e como essa escolha ainda não é clara em artigos existentes, o grupo de pesquisa do Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais da UFRRJ estabeleceu uma metodologia própria para esta definição (NASCIMENTO, 2021). Portanto, o critério adotado neste trabalho foi:

- a) Quimiotipo A se $A \geq 2B$ e $A \geq 25\%$;
- b) Quimiotipo A/B se $B \geq 2C$ e $B \geq 15\%$;
- c) Quimiotipo A/B/C se $C \geq 2D$ e $C \geq 10\%$;
- d) Nos demais casos, indefinido ou misto.

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise descritiva dos OEs de *E. uniflora* da literatura, foram levados em consideração tanto os rendimentos calculados com base no material vegetal seco, como fresco. Nesse caso, foi preferível a opção de se levar em conta ambos os casos no estudo, devido ao baixo número de artigos que aderiram ao cálculo percentual com base na massa seca (% m/m) e para se ter uma noção aproximada do rendimento da planta em um espectro amostral maior,

apesar da orientação em se trabalhar com o material sem umidade para esse fim (BICHI, 2017). Nesse sentido, os teores foram organizados de acordo com os autores, localização, material vegetal utilizado e tempo de extração (**Tabela 3**). Os gráficos referentes a distribuição dos dados amostrais com intervalo de confiança de 95% e frequência são demonstrados na **Figura 8**.

Tabela 3. Rendimentos dos OEs de *Eugenia uniflora* L, descritos nos artigos selecionados.

COD ^a	Referência (n° exemplar)	Rendimento (%)	Material	Tempo	Localidade
L2	Rojas et al, 2022	0,13	Folha fresca	3h	Mérida (Venezuela)
L3	Oliveira et al, 2022	0,56	Folha fresca	Esgotar	Lavras - MG
L4	Cipriano et al, 2021 (20)	0,47	Folha seca	4h	Pinhais - PR
L6	Costa et al, 2020 (11)	1,90	Folha seca	3h	Belém - PA
L7	Lobo et al, 2019	0,50	Folha fresca	4h	Recife - PE
L8	Figueiredo et al, 2019 (1)	1,20	Folha seca	3h	Santarém - PA
L9	Sviech et al, 2018	1,34	Folha seca	3h	Palmeira - PR
L10	Marques et al, 2018	1,80	Folha fresca	2h	Rio de Janeiro - RJ
L13	Pinheiro et al, 2017	2,06	Folha fresca	3h	Alegre - ES
L14	Pereira et al, 2017	1,08	Folha fresca	2h	Crato - CE
L15	Sobeh et al, 2016	1,27	Folha seca	3h	Cairo (Egito)
L16	Rodrigues et al, 2013	0,30	Folha seca	3h	São Luís - MA
L17	Victoria et al, 2013	0,10	Folha fresca	3h	Pelotas - RS
L20	Lago et al, 2011	0,10	Folha fresca	5h	Osasco - SP
L21	Costa et al, 2010 (1)	0,26	Folha seca	2h	Santo Antônio - GO
L22	Melo et al, 2007	0,70	Folha fresca	5h	Rio de Janeiro - RJ
L24	Morais et al, 1995	0,74	Folha fresca	Esgotar	Fortaleza - CE

^aCódigo de identificação utilizado para distinguir cada exemplar, bem como seus respectivos OEs, nas análises realizadas no trabalho e organizados em ordem decrescente de acordo com o ano da publicação.

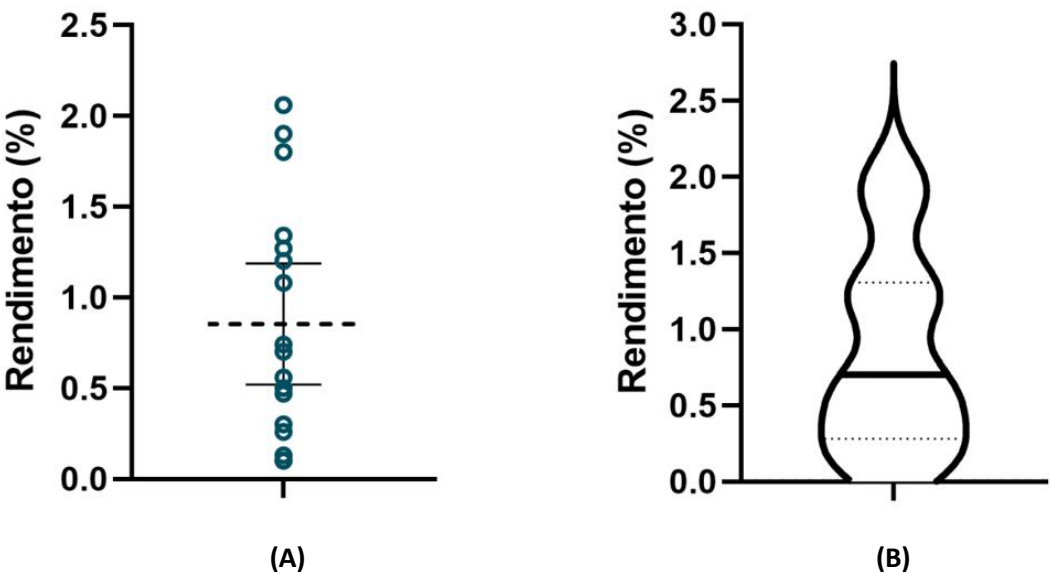


Figura 8. Distribuição dos teores percentuais dos OEs de pitangueira dos artigos selecionados na literatura. (A) Frequência com média e intervalo de confiança de 95%. (B) Frequência com 1º quartil, 3º quartil e mediana.

Os resultados observados apontaram que os teores percentuais dos OEs variaram entre 0,10% e 2,06%, com uma média de 0,85%. Esses valores de rendimento observados para os OEs de pitangueira são significativos, levando em consideração que os OEs de outra planta, a camomila, apresentam rendimento entre 0,25% e 1,35%, de acordo com a literatura, e são OEs amplamente comercializados (BORSATO et al, 2008). O desvio padrão de 0,65 demonstrou que os valores tiveram uma dispersão razoável dentro do conjunto de dados, exibindo assim uma relevante variação, levando em consideração os diferentes exemplares. O intervalo dos valores entre 0,1% e 0,7%, foi o que apresentou a maior frequência de distribuição e as plantas que propiciaram os maiores rendimentos foram as utilizadas por Pinheiro et al 2017 (2,06%), Costa et al 2020 (1,90%) e Marques et al 2018 (1,80%), nos estados de Espírito Santo, Pará e Rio de Janeiro, respectivamente.

O tempo empregado nas extrações foi um parâmetro importante levado em consideração na análise, variando entre 2h e 5h na maioria dos artigos observados na literatura. Apesar da escassez de estudos cinéticos acerca do tempo de extração necessário para o total esgotamento dos voláteis das folhas no processo, razão pela qual não foi possível inferir um tempo nos artigos que trabalharam com essa observação, o estudo realizado por Nascimento et al (2019) mostrou que nos tempos empregados entre 1h e 4h, o rendimento aumentava quanto maior era o tempo utilizado para folhas de um mesmo indivíduo da espécie. Ainda assim, foram observados rendimentos muito baixos mesmo em trabalhos que empregaram tempos de extração muito longos, como foi o caso de Lago et al (2011), no qual o exemplar de Osasco em São Paulo apresentou um dos rendimentos mais baixos (0,10%), mesmo empregando um tempo de 5h, em comparação com os outros artigos selecionados. Essa variação pode estar relacionada, também, a variabilidade genética existente nos diferentes exemplares e acessos de pitangueira utilizados nesses trabalhos (MARTINS et al, 2006; BLANK et al, 2011). Todas essas observações são interessantes pois demonstram a existência de uma diversidade nos teores observáveis nos OEs de diferentes exemplares de *Eugenia uniflora* L.

Na literatura foram observados pouquíssimos trabalhos relacionados a estudos de diversidade química dos OEs extraídos das folhas de plantas da espécie, coletadas em seu ambiente nativo, de maneira abrangente. Apesar disso, alguns artigos mostraram resultados interessantes nesse sentido, como o de Cipriano et al (2021), realizados a partir de 36 genótipos, que eram árvores de 11 anos de idade, oriundas sementes plantadas na Universidade Federal do Paraná, em que destacaram seis grupos químicos diferentes. Os trabalhos de Júnior et al (2021)

e Figueiredo et al (2019), apesar de não serem tão abrangentes, também contribuíram para observação de variabilidade nas composições de OEs de exemplares de diferentes localidades.

As informações inerentes ao perfil químico dos OEs extraídos das folhas dos indivíduos selecionados estão dispostas na **Tabela 4**. As substâncias ilustradas na tabela são aquelas consideradas com representatividade, de acordo com os critérios previamente estabelecidos para construção da matriz de dados. Cabe ressaltar que a comparação foi baseada na proporção individual das substâncias em cada OE, uma vez que não é possível estimar o percentual de picos integrados nos cromatogramas analisados nesses trabalhos. Tendo em vista isso, os percentuais de elucidação informados pelos autores nos artigos estudados nos artigos selecionados tiveram uma média de 84,5% e, de um modo geral, a maioria dos trabalhos apresentaram um percentual maior que 70%, exceto em **L4**, **L5** e **L9**, com 47,2%, 56,2% e 55,1%, respectivamente.

Tabela 4. Perfil químico dos OEs de *Eugenia uniflora* L. descritos nos artigos selecionados da literatura.

A ^a	Substâncias	IA _(T) ^b	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	L11	L12	L13	L14	L15	L16	L17	L18	L19	L20	L21	L22	L23	L24
1	Mirceno	988	-	9,6	1,8	-	-	1,6	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,2	-	0,1	3,9	-	0,1	-	-	0,2
2	Limoneno	1024	-	6,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,2	-	-	0,3	-	-	-	-	-
3	(Z)-β-Ocimeno	1032	-	6,6	5,0	-	-	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	0,1	10,4	0,5	0,1	-	0,1	0,3
4	(E)-β-Ocimeno	1044	1,2	15,7	11,6	-	-	4,3	-	-	-	-	-	-	0,7	-	0,1	-	-	0,3	24,1	1,2	0,3	-	0,2	0,5
5	Linalool	1095	-	0,3	-	-	-	0,1	0,8	0,1	0,3	1,1	0,4	-	-	-	1,1	0,2	-	-	0,4	Tr ^c	0,1	-	-	0,3
6	δ-Elemeno	1335	-	0,4	-	-	-	1,6	1,1	0,6	-	0,3	-	-	-	-	-	1,3	-	-	-	0,2	0,5	0,8	0,4	0,5
7	α-Copaeno	1374	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	11,0	-	-	-	0,1	Tr ^c	-	-	-	-
8	β-Elemeno	1389	2,2	1,5	6,6	-	2,5	4,4	7,8	3,5	3,0	2,2	2,9	3,2	1,4	0,4	0,4	5,5	-	1,9	0,4	-	2,5	5,9	2,7	3,6
9	(E)-Cariofileno	1417	5,2	2,6	3,1	-	-	0,3	3,3	5,4	1,5	1,7	2,8	3,2	0,9	-	2,7	4,3	12,6	-	3,5	-	8,7	0,8	3,9	2,6
10	γ-Elemeno	1434	-	-	1,7	-	-	2,9	0,8	2,0	3,1	1,8	-	-	-	4,0	-	14,3	-	0,3	-	0,2	0,4	3,5	1,0	3,6
11	Aromadendreno	1439	-	0,2	-	-	-	0,4	-	-	-	4,0	-	-	1,7	-	-	0,1	-	-	0,2	-	-	0,2	0,1	-
12	allo-Aromadendreno	1458	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,5	0,1	-	-	-	-	0,3	0,4	0,2	-
13	Germacreno D	1480	-	5,1	3,0	0,5	-	2,8	-	-	1,1	-	-	2,1	-	-	0,4	1,2	11,4	0,9	20,8	-	4,4	0,7	1,2	-
14	β-Selineno	1489	-	0,3	-	-	-	0,7	1,2	-	-	2,1	1,0	-	2,2	-	0,3	0,7	-	-	-	0,2	0,3	0,9	0,5	-
15	Curzereno	1499	5,8	-	24,1	-	10,5	36,2	9,0	-	5,3	-	-	-	-	65,8	-	47,3	3,9	85,1	-	18,0	20,5	50,2	19,3	1,0
16	Biciclogermacreno	1500	-	22,4	1,1	1,8	-	-	-	3,0	-	-	-	4,8	-	-	-	-	-	0,9	10,9	-	-	2,5	2,4	-
17	Germacreno A	1508	-	3,0	-	-	-	-	-	0,2	-	-	2,7	-	-	-	-	-	11,6	-	-	-	3,4	-	-	1,5
18	δ-Amorfenol	1511	5,5	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-
19	δ-Cadineno	1522	-	-	-	0,3	-	0,5	-	0,2	-	0,6	-	-	3,3	-	0,2	0,3	-	-	2,6	0,5	-	0,5	0,4	0,2
20	Calamen-10-eno	1528	20,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	Selina-3,7(11)-dieno	1545	-	-	-	-	-	-	0,6	0,1	-	2,2	-	-	1,2	-	-	0,2	-	-	-	0,2	-	0,3	0,3	-
22	Germacreno B	1559	6,2	7,5	9,6	4,8	-	5,0	2,2	5,0	-	1,8	-	8,0	1,9	2,2	0,5	0,5	21,2	2,0	-	9,3	21,6	3,5	5,8	8,5
23	Espatuleno	1577	-	-	1,4	-	9,3	0,5	-	0,4	7,5	1,8	1,0	-	-	-	15,8	0,2	-	0,3	0,7	1,1	1,0	3,8	1,5	-
24	C15H24O	1584	-	-	-	12,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-
25	Óxido de Cariofileno	1590	-	-	-	-	-	-	6,6	1,2	-	1,0	2,0	-	-	-	8,9	0,1	-	-	0,9	0,7	0,5	-	-	-
26	Viridiflorol	1592	-	1,1	-	-	5,3	1,8	-	0,4	-	0,6	-	-	-	-	0,5	0,1	-	-	0,1	3,1	-	1,7	-	-
27	trans-β-Elementona	1602	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	-	4,47	-	10,4	-	-	-	-	-	0,7	0,9	-

Tabela 4. (Continuação).

28	Silfiperfol-6-en-5-ona	1624	10,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
29	Muurola-4,10(14)-dien-1-β-ol	1630	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
30	Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	1632	-	-	-	-	-	-	25,4	32,6	-	32,6	39,5	36,4	25,0	-	-	-	9,7	-	-	-	-	-	17,8	48,5
31	α-Muurolol	1644	-	-	-	-	-	0,3	-	0,3	-	-	-	-	5,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
32	α-Cadinol	1652	-	-	-	2,4	-	2,2	-	-	4,7	-	-	-	8,2	-	1,0	-	-	0,3	0,8	-	-	4,7	-	-
33	Atractilona	1657	-	7,6	1,3	-	-	0,8	3,6	-	-	-	-	-	-	-	2,4	-	0,8	-	26,8	-	1,8	16,9	-	
34	Furanodieno	1666	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2	-	-	-	-	9,6	1,0	
35	Germacrona	1693	6,6	2,8	-	-	27,0	3,8	11,2	0,8	13,6	1,1	1,1	1,5	0,7	16,2	1,2	1,5	-	0,2	-	-	17,3	1,0	2,6	1,7
36	Epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona	1746	-	-	-	-	-	-	15,5	30,4	-	24,5	36,7	27,3	22,1	-	1,3	-	19,3	-	-	-	-	-	5,9	17,3
37	7,14-anidro-Amorfa-4,9-dieno	1755	-	-	-	22,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
38	Amorfa-4,7(11)-dieno	1775	1,7	-	8,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
39	Nootkatona	1806	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Monoterpenos não oxigenados	1,2	40,1	18,5	-	-	8,6	-	-	-	0,7	-	-	0,7	-	2,1	0,4	-	0,5	41,4	2,3	0,6	-	0,3	1,0	
	Monoterpenos oxigenados	-	0,3	-	-	-	0,2	0,8	0,2	0,3	0,4	-	-	-	-	2,0	0,3	-	-	0,4	0,1	0,1	-	-	0,3	
	Sesquiterpenos não oxigenados	51,5	44,5	25,0	7,4	4,1	25,8	20,2	23,5	11,8	20,9	9,5	22,5	14,7	6,6	26,5	29,4	56,8	6,5	40,0	16,1	42,9	20,8	20,2	23,2	
	Sesquiterpenos oxigenados	24,1	11,5	34,9	39,8	52,1	49,6	74,4	67,4	42,5	63,5	83,3	65,2	65,5	86,5	55,3	62,6	32,9	89,8	3,7	58,5	39,4	76,8	76,9	70,6	
	Outros	-	0,5	-	-	-	0,3	-	0,2	0,5	-	-	-	-	-	2,2	0,1	-	0,3	-	0,1	-	-	2,1	-	
	Não identificados	1,4	-	10,2	-	-	-	-	-	-	-	7,2	-	14,7	6,1	-	-	-	2,3	-	-	-	0,9	-	-	
	^d Percentual de elucidação	77,0	96,9	78,4	47,2	56,2	84,5	95,4	91,3	55,1	85,5	92,8	87,7	80,9	93,1	88,1	92,8	89,7	97,1	85,5	77,1	83,0	97,6	99,5	95,1	

Foram selecionadas para a matriz de dados as substâncias com concentração $\geq 5\%$ e/ou frequência $\geq a 32\%$, consideradas com representatividade dentro dos respectivos OEs.

^aNumeração das substâncias em ordem crescente com base em seu índice de retenção. ^bÍndice de retenção aritmética teórico. ^cTraço de concentração. ^dPercentual de substâncias elucidadas informadas pelos autores nos artigos selecionados.

Ao todo foram identificadas 171 substâncias, das quais 39 foram representativas. Com relação as classes de substâncias elucidadas, em média, as predominantes foram os sesquiterpenos oxigenados (55,3%), sesquiterpenos não oxigenados (23,8%), monoterpenos não oxigenados (4,9%) e monoterpenos oxigenados (0,2%). Embora a maioria dos OEs tenha apresentado uma predominância de sesquiterpenos, os descritos nos trabalhos de Rojas et al (2022) e Tucker et al (2011), curiosamente de Mérida na Venezuela e Arizona nos Estados unidos, mostraram uma composição significativa de monoterpenos não oxigenados, sendo respectivamente 40,1% e 41,4%. Como foi observado por Tavares et al (2011), as características genéticas e os fatores inerentes ao tipo de ambiente em que a planta está inserida, podem influenciar na produção de metabólitos especializados.

Os constituintes majoritários, presentes nos OEs caracterizados dentro dos 24 artigos selecionados, estão ilustrados na **Tabela 5** e as estruturas na **Figura 9**. As substâncias que apresentaram os maiores teores nos OEs analisados foram curzereno (85,1%), selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (48,5%), epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona (36,7%), germacrona (27,0%) e atractilona (26,8%). É importante ressaltar que, além dessas substâncias terem sido elucidadas em alto teor em alguns OEs, elas também apareceram com frequência superior a 33%, tendo uma boa representatividade quanto a diversidade química.

Tabela 5. Distribuição percentual das 12 substâncias com maior concentração nos OEs de *Eugenia uniflora* L. dos artigos selecionados na literatura.

B ^a	Substância	Menor	Maior	Média	Mediana	F _{abs} ^b	F _{rel%} ^c
1	Curzereno	1,0	85,1	26,8	19,3	15	63
2	Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	9,7	48,5	29,7	32,6	9	38
3	Epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona	1,3	36,7	20,0	20,7	10	42
4	Germacrona	0,2	27,0	5,9	1,7	19	79
5	Atractilona	0,8	26,8	6,9	2,4	9	38
6	(E)- β -Ocimeno	0,1	24,1	5,0	1,0	12	50
7	Biciclogermacreno	0,9	22,4	5,5	2,5	9	38
8	7,14-anidro-Amorfa-4,9-dieno	22,2	22,2	22,2	22,2	1	4
9	Germacreno B	0,5	21,6	6,4	5,0	20	83
10	Germacreno D	0,4	20,8	4,0	1,7	14	58
11	Calamen-10-eno	20,2	20,2	20,2	20,2	1	4
12	Espatulanol	0,2	15,8	3,1	1,1	15	63

^aNumeração das substâncias com as maiores concentrações, em ordem decrescente. ^bFrequência absoluta.

^cFrequência relativa percentual.

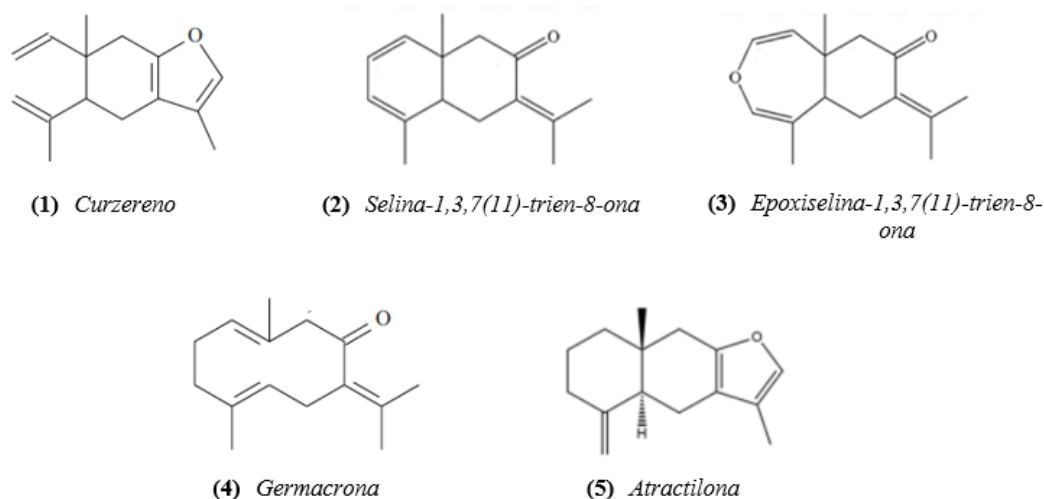


Figura 9. Estruturas das cinco substâncias com os maiores teores percentuais nos OEs de *Eugenia uniflora* L. dos artigos selecionados da literatura.

Também é interessante observar que essas substâncias são majoritariamente sesquiterpenos oxigenados (C15), formadas por três unidades de isopreno, cíclicas e com grupos cetona ou epóxi. Contudo, é importante mencionar também um ponto sensível na análise, pois algumas das estruturas ilustradas, como a germacrona e o curzereno, podem ser equivocadamente quantificadas, quando se utiliza o método de separação e detecção CG-MS e CG-DIC, com rampa de aquecimento, como ocorreu nos artigos selecionados. Santos et al (2015) fez uma brilhante observação em seu estudo, no qual provou que muitos sesquiterpenos cíclicos do tipo 1,5 dieno, podem sofrer “rearranjo de Cope” (**Figura 10**), quando submetidos a temperaturas acima de 200°C (SANTOS et al 2015; CUSTÓDIO et al, 2019).

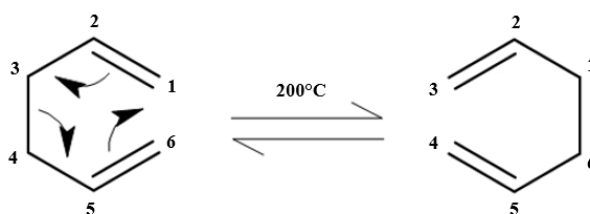


Figura 10. Mecanismo do rearranjo de Cope construído com o software ChemSketch versão 14.0, baseado no esquema de Castro, 2004.

Portanto, substâncias descritas nos OEs de *E. uniflora*, como germacrona, furanodieno e germacreno B, nessas condições sofrem rearranjo nas condições de aquecimento da CG-EM e CG-DIC, formando β -elemenona, curzereno e γ -elemeno, respectivamente. Entretanto, esse problema não ocorre no caso da selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, pois possui ligação C-C entre os

carbonos 3 e 4, formando uma estrutura cíclica de seis carbonos e, portanto, não sofrendo esse mesmo rearranjo nessas condições.

Os constituintes com maior frequência, presentes nos OEs de *E. uniflora* dentro dos artigos selecionados, estão descritos na **Tabela 6** e as estruturas na **Figura 11**.

Tabela 6. Distribuição percentual das 12 substâncias com maior frequência nos OEs de *Eugenia uniflora* L. dos artigos selecionados na literatura.

C ^a	Substância	Menor	Maior	Média	Mediana	F _{abs} ^b	F _{rel%} ^c
1	β-Elemeno	0,4	7,8	3,1	2,7	21	88
2	Germacreno B	0,5	21,6	6,4	5,0	20	83
3	(E)-Cariofileno	0,3	12,6	3,6	3,1	19	79
4	Germacrona	0,2	27,0	5,9	1,7	19	79
5	Curzereno	1,0	85,1	26,8	19,3	15	63
6	Espatuleno	0,2	15,8	3,1	1,1	15	63
7	γ-Elemeno	0,2	14,3	2,8	1,9	14	58
8	Germacreno D	0,4	20,8	4,0	1,7	14	58
9	(E)-β-Ocimeno	0,1	24,1	5,0	1,0	12	50
10	Linalool	Tr ^d	1,1	0,3	0,3	12	50
11	β-Selineno	0,2	2,2	0,9	0,7	12	50
12	δ-Cadineno	0,2	3,3	0,8	0,5	12	50

^aNumeração das substâncias com base nas maiores frequências, em ordem decrescente. ^bFrequência absoluta.

^cFrequência relativa percentual. ^dTraço de substância.

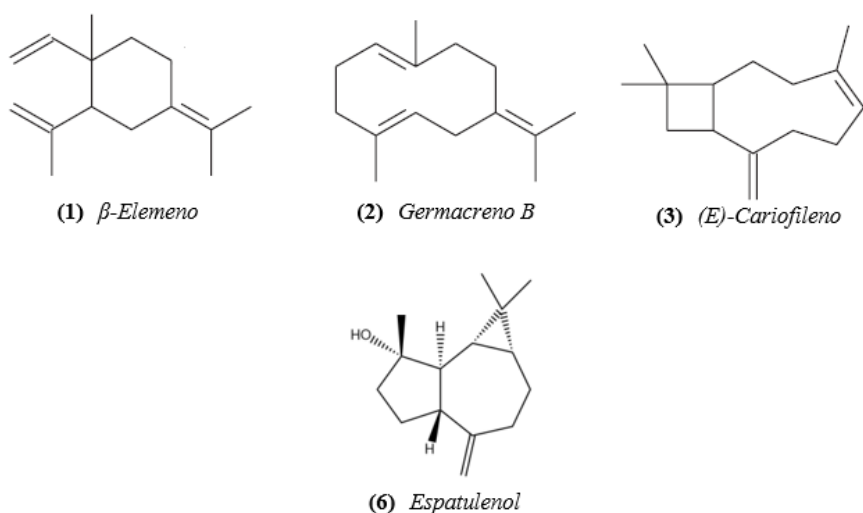


Figura 11. Estruturas de algumas das substâncias com as maiores frequências percentuais nos OEs de *Eugenia uniflora* L. dos artigos selecionados da literatura.

Na distribuição da matriz de dados amostrais, as substâncias com as maiores frequências relativas percentuais e que apareceram mais vezes nos OEs analisados foram β-

elemeno (88%), germacreno B (83%), (E)-cariofileno (79%), germacrona (79%), curzereno (63%) e espatulenol (63%). É importante ressaltar que, além dos dois sesquiterpenos oxigenados cíclicos de 15 carbonos citados anteriormente, no caso o curzereno e a germacrona (com as ressalvas discutidas anteriormente), além do espatulenol que também pertence a essa classe, as três primeiras substâncias que apareceram com mais frequência são sesquiterpenos não oxigenados cíclicos. Além disso, se deve levar em consideração que o β -elemeno e o germacreno B são substâncias que, como dito anteriormente, também são afetadas pelo “rearranjo de Cope” no aquecimento. Essas substâncias foram reportadas na literatura como marcadores químicos para distintas populações da espécie (ASCARI et al, 2021).

Aplicando os critérios previamente estabelecidos para definição dos quimiotipos para os OEs da espécie, com base na dominância de uma ou mais espécies em cada amostra, a **Tabela 7** foi construída.

Tabela 7. Quimiotipos encontrados nos OEs de *Eugenia uniflora* L. elucidados pelos autores dos trabalhos selecionados.

Autores	Quimiotipo ^a	Área ^b (%)
L18 (Chang et al, 2011 - UBERLÂNDIA/MG); L14 (Pereira et al, 2017 - CRATO/CE); L22 (Melo et al, 2007 - RIO DE JANEIRO/RJ) (manhã); L16 (Rodrigues et al, 2013 - SÃO LUÍS/MA) e L6 (Costa et al, 2020 - BELÉM/PA) (11).	Curzereno ^c	(85,1%; 65,8%; 50,2%; 47,3% e 36,2%).
L24 (Moraes et al, 1995 - UFCE - FORTALEZA/CE); L11 (Franciscato et al, 2018 - SANTA BARBARA/SP); L12 (Santos et al, 2018 - CRATO/CE); L8 (Figueiredo et al, 2019 - SANTARÉM/PA) (1); L10 (Marques et al, 2018 - RIO DE JANEIRO/RJ); L13 (Pinheiro et al, 2017 - ALEGRE/ES).	Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/ Epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona	(48,5%/17,3%); (39,5%/36,7%); (36,4%/27,3%); (32,6%/30,4%); (32,6%/24,5%) e (25%/22,1%).
L5 (Júnior et al, 2021 - SÃO PAULO/SP) (3)	Germacrona	(27%)
L1; L2; L3; L4; L7; L9; L15; L17; L19; L20; L21 e L23.	Indefinido ou misto	Variável

^aA definição de quimiotipo não é clara na literatura e foram escolhidos baseados na metodologia de Nascimento (2021), sendo: quimiotipo A se $A \geq 2B$ e $A \geq 25\%$; quimiotipo A/B se $B \geq 2C$ e $B \geq 15\%$; quimiotipo A/B/C se $C \geq 2D$ e $C \geq 10\%$ e nos demais casos, indefinido ou misto. ^bÁrea percentual correspondente aos picos observados nos

cromatogramas para cada substância. ^cA substância curzereno é produto de rearranjo térmico do furanodieno na análise cromatográfica com rampa de aquecimento.

Foram encontrados 3 quimiotipos na literatura, após a aplicação dos critérios de dominância química e de acordo com o critério de inclusão dos artigos: curzereno, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona e germacrona. Cabe ressaltar que, com exceção de segundo quimiotipo, que é do tipo A/B, os outros dois são estruturas relacionadas ao “rearranjo de Cope”. Mesmo com essa ressalva, é interessante observar uma grande dominância do quimiotipo curzereno, sobretudo nos trabalhos de Chang et al (2011) em Uberlândia-MG, Pereira et al (2017) em Crato-CE e Melo et al no Rio de Janeiro-RJ, com 85,1%, 65,8% e 50,2%, respectivamente. Ou seja, são óleos em que a substância tem dominância maior que 50%, levando em consideração que a provável substância dominante nesses OEs é o furanodieno ou uma proporção entre ele e o curzereno. Esse quimiotipo apresentou a segunda maior frequência, sendo encontrado 5 dos OEs nos artigos selecionados.

A mesma consideração vale para o quimiotipo germacrona, que foi descrito no trabalho de Júnior et al (2021) em São Paulo-SP, com 27% em termos de teor. Já o quimiotipo selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona apresentou uma dominância significativa da forma não oxigenada no OE de Moraes et al (1995) em Fortaleza-CE, com 48,5%/17,3%. Os demais desses quimiotipos apresentaram teores mais equilibrados dessas duas substâncias, porém com maior dominância sobre as demais substâncias dentro desses OEs, se destacando o de Franciscato et al (2018) em Santa Barbara-SP, com 39,5%/36,7%, tendo um total de 76,2% somadas essas substâncias.

Para a representação visual dos teores das substâncias na análise de correlação entre os OEs descritos nos artigos selecionados, foram construídos gráficos de colunas empilhadas, em cores, com o auxílio do software Microsoft Excel (**Figura 12**). Foram consideradas as substâncias com área > 21% e frequência > 60%. Isso possibilitou a observação da existência de uma diversidade entre as diferentes amostras, com base nas substâncias com as maiores concentrações dentro de cada OE, em conjunto com a análise AAH.

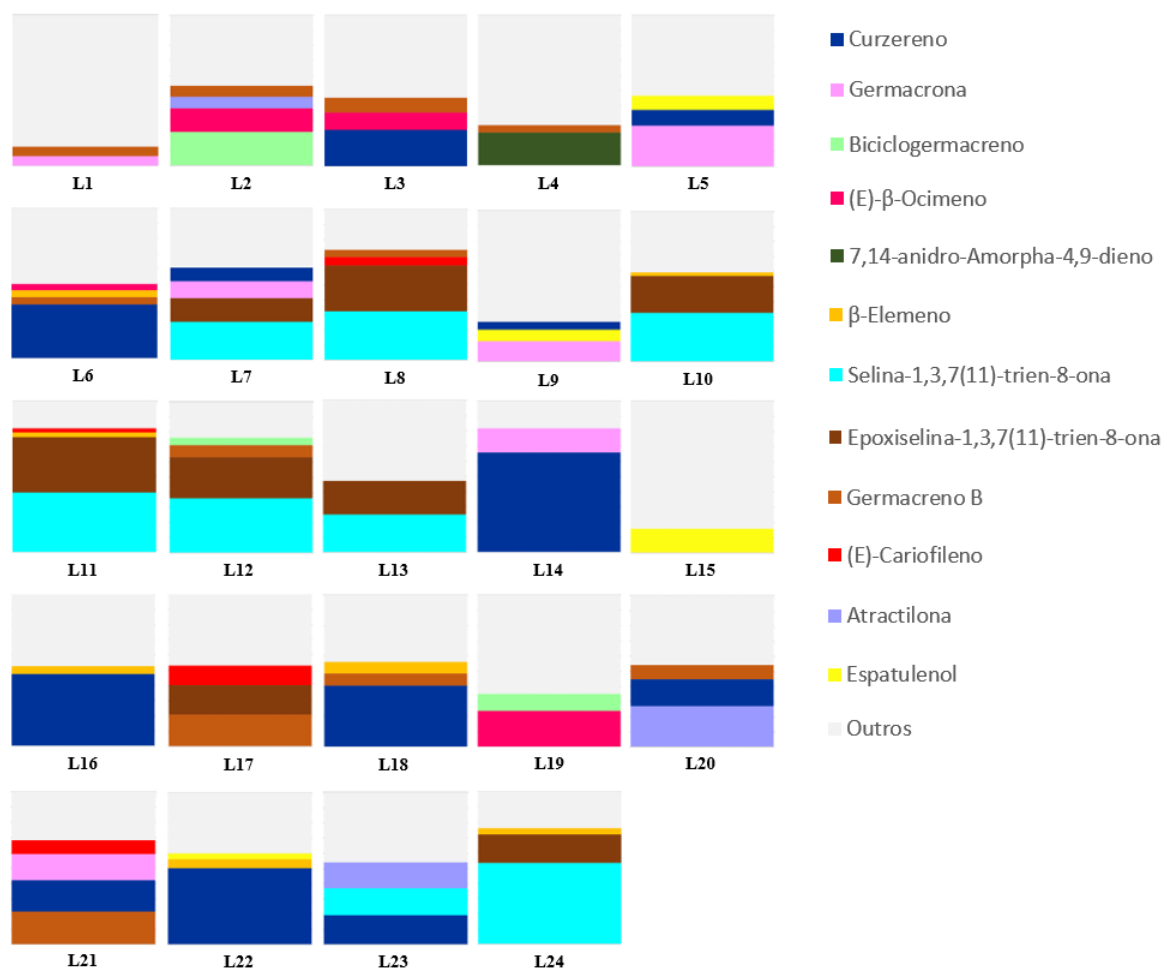


Figura 12. Gráficos de colunas empilhadas com cores, representando as substâncias com os maiores tores nos OEs de *Eugenia uniflora* L. dos artigos selecionados na literatura.

A matriz de dados amostrais, mesmo com os critérios estabelecidos de representatividade das substâncias nos respectivos OEs estudados na literatura, apresentaram uma complexidade muito grande, com muitos zeros e valores que só apareciam em uma amostra dentre várias, tornando bastante desafiador o trabalho com os dados. Por conta disso, para análise multivariada, os dados precisaram ser normalizados para correção de possíveis distorções relacionadas à distribuição normal simétrica dos dados amostrais. Alguns estudos apontam que se os dados não apresentam uma distribuição normal, as análises podem apresentar resultados discrepantes dos verdadeiros, o que de certa forma pode atrapalhar a interpretação correta dos mesmos (MONTGOMERY, 2004). Para tratar o problema, utilizamos algumas metodologias de normalização dos dados, com o objetivo de aplicar aquela capaz de tornar a distribuição dos dados amostrais mais simétricas (PINO, 2014).

O teste de Mardia foi aplicado para verificação da distribuição simétrica e da curtose, apresentando resultados com $p < 0.001$ e confirmando a hipótese não normalidade, com os dados

previamente tratados na maioria das metodologias de normalização e escalonamento empregadas. Isto ocorreu, principalmente, devido ao grande número de “outliers” observados nos dados amostrais, apontados na literatura como um dos responsáveis para o desvio da normalidade. Entretanto, também é apontado que por vezes é causado por variáveis que, apesar de discrepantes, podem ser importantes para análise (ROSADO, 2006). O método de normalização escolhido foi por raiz quadrada dos dados amostrais, pois foi o que apresentou uma melhor distribuição.

A análise da consistência, realizada com base na relação entre a matriz fenética e cofenética foi de 0.8804 (88%), sendo este resultado muito bom, uma vez que a correlação é considerada satisfatória se for maior ou igual a 0,7. Essa análise foi necessária, pois uma correlação baixa pode gerar distorção no agrupamento, o que pode originar um dendograma inconsistente para análise estatística (KRUSKAL, 1964).

A estimativa do número de grupos presentes no dendograma gerado pelo método UPGMA dos OEs de *E. uniflora*. (**Figura 14**), foi primeiramente tentada através do modelo proposto por Kelley et al (1996) (**Figura 13**). Contudo, devido à grande diversidade observada entre os OEs de pitangueira selecionados, também foi feita uma análise visual concomitante das cores de acordo com a similaridade entre os OEs no dendrograma e da altura da linha de corte. Assim, o ponto de corte foi ajustado um pouco abaixo do inicial para esse caso.

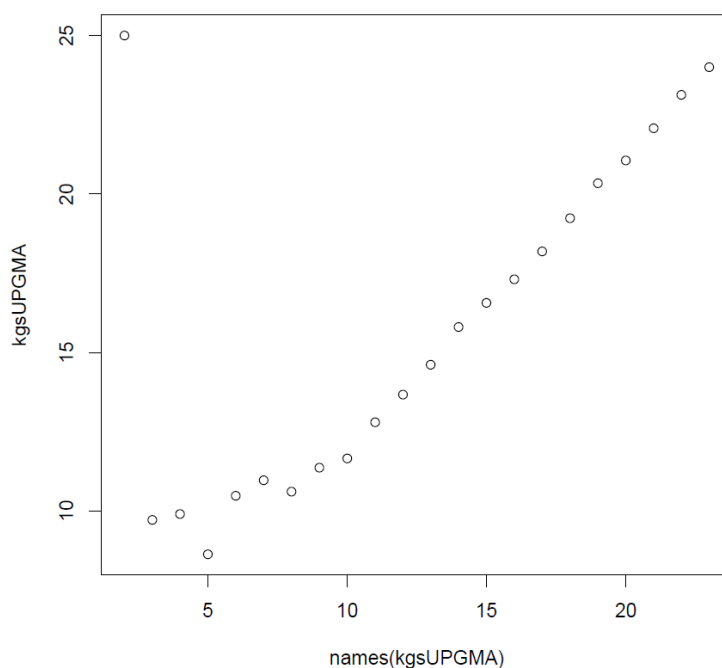


Figura 13. Análise de grupos ótimos KGS.

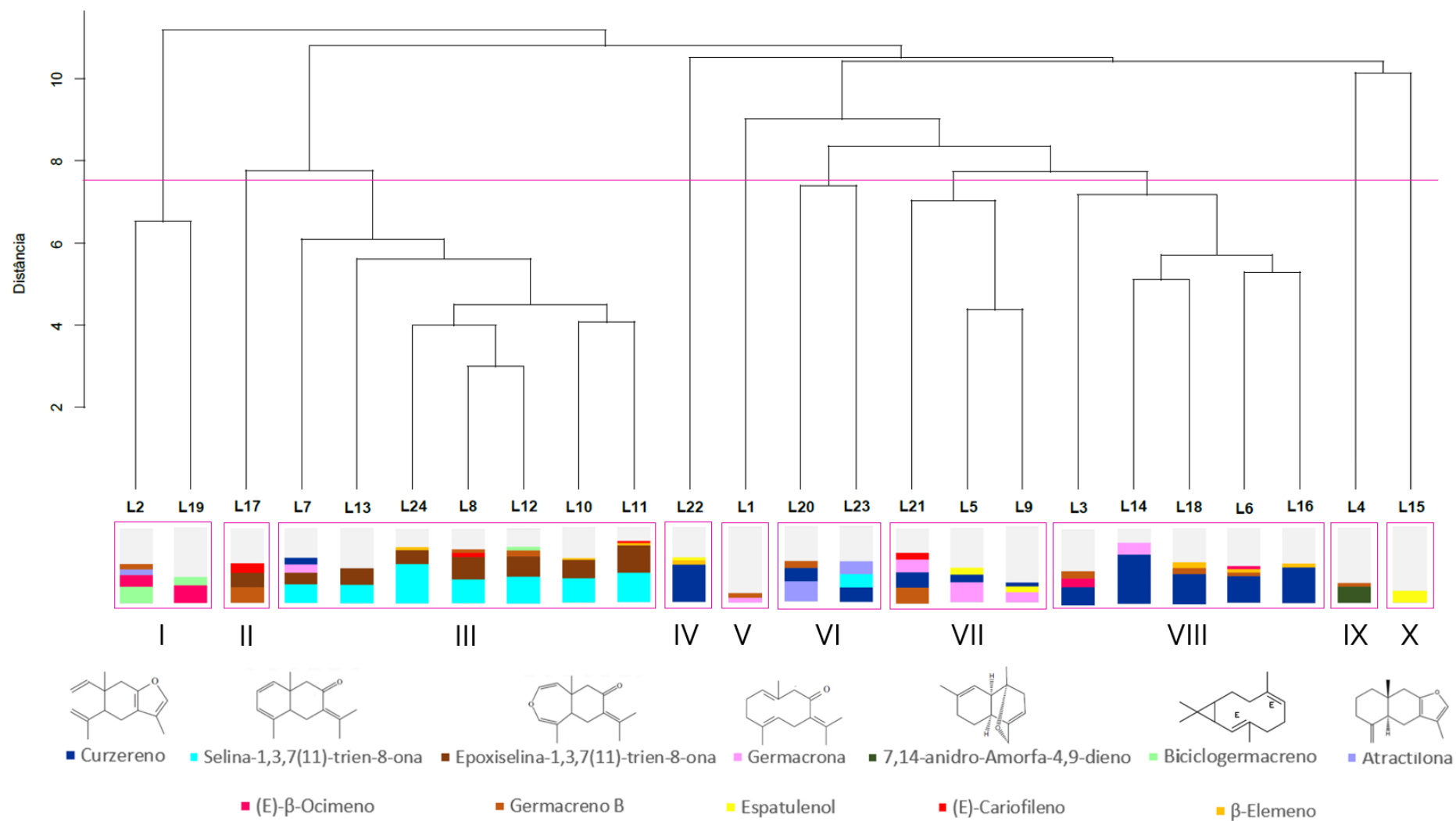


Figura 14. Dendrograma dos OEs de *Eugenia uniflora* L. dos artigos selecionados da literatura.

O ponto de corte ótimo no dendrograma, com base nos critérios estabelecidos, proporcionou a formação de 10 grupos distintos de acordo com a similaridade entre as substâncias dos OEs selecionados. O grupo I foi o que mais se distanciou dos demais devido as presenças significativas de biciclogermacreno e (*E*)- β -ocimeno, encontradas nas amostras L2 e L19. Os grupos IX e X foram os que mais se distanciaram depois de I, com a primeiro sendo representado por L4, que apresentou altos percentuais de 7,14-anidro-amorfa-4,9-dieno e o segundo representado por L15 com relativa significância de espatulenol. Nesses três grupos, as substâncias citadas não demonstraram teores suficientes para formarem quimiotipos. O grupo IV foi outro que se afastou dos demais e formado pela amostra L22, que é um quimiotipo curzereno, embora tenha se separado do grupo VIII devido a um equilíbrio nos teores de outros constituintes e percentual significativo de β -elemeno.

É importante salientar que os outros quatro quimiotipos L14, L18, L6 e L16, com predominância de curzereno, e os três últimos foram agrupados próximos dentro do grupo VIII também devido níveis similares de germacreno B e β -elemeno, assim como L3 se distanciou devido a um menor teor de curzereno dentro do grupo e o (*E*)- β -ocimeno. Contudo, também é necessário considerar as ressalvas na discussão do curzereno e germacrona, como dito anteriormente, em relação ao problema do “rearranjo de Cope” na análise. E tendo em vista isso, o grupo foi o que teve o segundo maior números de amostras agrupadas, sendo 5 ao todo. O grupo VII foi formado pelo quimiotipo germacrona L5, teve um perfil similar a L9, também pela presença de curzereno e espatulenol. A amostra L21, apesar de também apresentar um nível similar de germacrona em relação as outras duas dentro do grupo, se afastou por também apresentar níveis relevantes de curzereno e germacreno B. O grupo VI foi formado pelas amostras L20 e L23, que apresentaram percentuais parecidos de curzereno e atractilona. As demais amostras presentes nesse grupo são de OEs que não são quimiotipos definidos, sendo L20 e L23 semelhantes pelas concentrações parecidas de atractilona e curzereno. O grupo V foi formado apenas pela amostra L1, que foi o único OE com altos teores de calamen-10-eno e silfiperfol-6-en-5-ona.

Finalmente o grupo III foi formado com base na proximidade das amostras que demonstraram um predomínio nos teores de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona, sendo o grupo mais numeroso com 8 representantes, dentre as quais 6 amostras são quimiotipos de ambas as substâncias. Os OEs L8 e L12, foram os menos se distanciaram, pois além desses dois compostos dominantes, apresentaram proporção análoga de germacreno B. A amostra L24, também não se distanciou muito de L8 e L12, mas se

posicionou distintamente no grupo por apresentar uma concentração mais expressiva de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona frente a sua forma oxidada, em comparação com esses OEs. De maneira semelhante, L10 e L11 se aproximaram por possuírem também níveis equivalentes de β -elemeno. Por outro lado, L13 e L7 se afastaram pela presença significativa de α -cadinol, α -muurolol, germacrona e curzereno, respectivamente. Além disso, o grupo II foi representado pela amostra L17, devido a mesma possuir quantidades elevadas de germacreno B, epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona e (*E*)-cariofileno, mas níveis inexpressivos de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona.

A análise multivariada de componentes principais (ACP) foi tentada, entretanto para que uma análise desta natureza seja minimamente confiável, é necessário que a variância acumulada seja igual ou superior 70% nas componentes CP2 ou CP3, ou seja, que esse percentual de variáveis esteja inserido nessas componentes. Na análise ACP, a variância de cada componente é calculada com base nos autovalores, que são dados a partir das raízes das equações, geradas de acordo com o grau de cada componente, o que é diretamente relacionado a quantidade de variáveis analisadas. Contudo, o critério de variância acumulada mínima aceitável é necessário devido a efeitos nocivos para a análise, dos quais o principal é multicolinearidade, que podem ser causados por correlações fortes ou moderadas entre as variáveis amostrais. O “*outlier*”, que foi citado anteriormente, também pode gerar o mesmo efeito, se uma variável independente tiver um valor discrepante dentro do conjunto de dados (MOREIRA et al, 2013). No entanto, existem alguns métodos que podem ser utilizados para tentar sanar este problema, dentre os quais se destaca o descarte de variáveis menos importantes para a análise. A metodologia proposta por Jolliffe (1973) consiste em que as variáveis a serem excluídas são aquelas com o maior valor do autovetor associado dentro da componente menos relevante.

Geralmente, trabalhos relacionados a quimiodiversidade de muitas amostras distintas de OEs, são muito desafiadores pois envolvem uma gama extensa de substâncias. Levando em consideração que cada substância é uma variável, foi necessário fazer um descarte inicial com base na representatividade de cada substância, como dito no início do capítulo, em que de um total de 171 substâncias, foram descartadas 132, sendo consideradas 39 as representativas. Ainda assim, a **Tabela 8** ilustra que houve um forte efeito de multicolinearidade, uma vez que a variância acumulada na CP3 foi de apenas 42%. Embora o conjunto de dados tivesse sido tratado com base na representatividade das substâncias, ainda assim, foi tentado o descarte de variáveis pelo método de Jolliffe (1973), com a exclusão de mais 16 variáveis, restando 17,

levando em consideração as variáveis de vital importância. Mesmo assim, não foi observada uma melhora significativa na variância acumulada, que aumentou para apenas 44% na CP3, justificando a impossibilidade de seguir com a análise ACP (**Tabela 9**).

Tabela 8. Variância acumulada e autovalores relacionados as variáveis representativas nas amostras dos OEs de *Eugenia uniflora* L., dos artigos selecionados na literatura.

Componente principal (CP)	Autovalores(λ_i)	Variância por CP (%)	Variância acumulada (%)
CP1	2,376	17,11%	17,11%
CP2	2,215	14,87%	31,98%
CP3	1,857	10,45%	42,43%
CP4	1,806	9,88%	52,32%
CP5	1,633	8,09%	60,40%
CP6	1,505	6,86%	67,27%
CP7	1,419	6,10%	73,37%

Tabela 9. Variância acumulada e autovalores relacionados as variáveis dos OEs de *Eugenia uniflora* L., dos artigos selecionados na literatura com descarte por Jolliffe.

Componente principal (CP)	Autovalores(λ_i)	Variância por CP (%)	Variância acumulada (%)
CP1	1,985	17,14%	17,14%
CP2	1,837	14,67%	31,81%
CP3	1,699	12,55%	44,36%
CP4	1,451	9,16%	53,52%
CP5	1,402	8,54%	62,06%
CP6	1,251	6,81%	68,87%
CP7	1,202	6,28%	75,15%

3. CONCLUSÃO

Neste capítulo foi possível estabelecer as seguintes conclusões:

- i. Os teores percentuais das amostras de OEs dos artigos selecionados da literatura variaram entre 0,10% e 2,06%.
- ii. As substâncias de maior frequência nos OEs dos acessos pesquisados foram: β -elemeno, germacreno B, (E)-cariofileno, germacrona, curzereno e espatulenol.
- iii. As substâncias de maior concentração nos OE dos acessos pesquisados foram: curzereno, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona, germacrona e atractilona.
- iv. Foram identificados três quimiotipos entre os 24 acessos de pitangueira incluídos no presente estudo, com a ressalva que o curzereno é um produto do rearranjo de Cope.
- v. A análise estatística multivariada de agrupamento hierárquico, em conjunto com os gráficos de colunas empilhadas com cores, possibilitou a formação de dez grandes grupos e apontou a existência de uma grande diversidade química entre os OEs dos acessos analisados.

4. REFERÊNCIAS

- ALTOE, M. D et al. Insecticidal and repellent effects of essential oil *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) on *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 43, 237-243, 2023.
- ASCARI, J. Selina-1,3,7(11)-trien-8-one and Oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-one from *Eugenia uniflora* Leaf Essential Oil and Their Cytotoxic Effects on Human Cell Lines. **Molecules**, v. 26, n.740, p. 1-11, 2021.
- BENIN, G et al. Comparações entre medidas de dissimilaridade e estatísticas multivariadas como critérios no direcionamento de hibridações em aveia. **Ciência Rural**, v. 33, p.657-662, 2003.
- BICHI, C.; JOULAIN, D. Techniques for preparing essential oils and aromatics extracts. **Technical editorial**. Willey, 2017.
- BLANK, M. F. A et al. Micropropagação, aclimatização, teor e composição química do óleo essencial de genótipos de hortelã japonesa. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 1, p. 175-

184, 2011.

BORSATO, A. V et al. Rendimento e composição química do óleo essencial da camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] extraído por arraste de vapor d'água, em escala comercial. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 1, p. 129-136, 2008.

CANTELMO, N. F.; FERREIRA, D. F. Desempenho de testes de normalidade multivariados avaliado por simulação Monte Carlo. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 1630-1636. Lavras, 2007.

CASTRO, A. M. Claisen Rearrangement over the Past Nine Decades. **Chem. Ver.**, v. 104, p. 2939-3002, 2004.

CHANG, R et al. A new approach for quantifying furanodiene and curzerene. A case study on the essential oils of *Eugenia uniflora* (pitangueira) leaves. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, n. 3, p. 392-396, 2011.

CIPRIANO, R. R.; MAIA, B. H. L.; DESCHAMPS, C. Chemical variability of essential oils of *Eugenia uniflora* L. genotypes and their antioxidant activity. *Crop Science*, v. 93, n. 1, p. 1-12, 2021.

COSTA, J. S. C et al. Seasonal and Antioxidant Evaluation of Essential Oil from *Eugenia uniflora* L., Curzerene-Rich, Thermally Produced in Situ. **Biomolecules**, v. 10, ed. 2, n. 328, p. 1-13, 2020.

COSTA, D. P et al. 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.

CUSTÓDIO, A. C. et al. Avanços Recentes do Rearranjo de Cope em Síntese Orgânica. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 3, p. 1-31, 2019.

FIGUEIREDO, P. L. B et al. Composition, antioxidant capacity and cytotoxic activity of *Eugenia uniflora* L. chemotype-oils from the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 232, p. 30-38, 2019.

FRANCISCATO, L. M. S et al. Chemical Characterization and Antimicrobial Activity of Essential Oils of Mint (*Mentha spicata* L.) and Surinam Cherry (*Eugenia uniflora* L.). **The Electronic Journal of Chemistry**, v. 19, n. 6, p. 475-481, 2018.

JOLLIFFE, I. T. Discarding variables in a principal component analysis. **Applied Statistics**, v. 22, p. 21–31, 1973.

JÚNIOR, G. A et al. Study of seasonality and location effects on the chemical composition of essential oils from *Eugenia uniflora* leaves. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 15, n. 7, p. 321-329, 2021.

KELLEY, L. A et al. An automated approach for clustering an ensemble of NMR-derived protein structures into conformationally related subfamilies. **Protein Engineering**, v. 9, n. 11, p. 1063-1065, 1996.

KRUSKAL, J. B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. **Psychometrika**, v. 29, p. 1-27, 1964.

LAGO, J. H. G et al. Chemical and Biological Evaluation of Essential Oils from Two Species of Myrtaceae — *Eugenia uniflora* L. and *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel. **Molecules**, v. 16, p. 9827-9837, 2011. doi:10.3390/molecules16129827

LOBO, A. P et al. Chemical composition and repellent activity of essential oils from the leaves of *Cinnamomum zeylanicum* and *Eugenia uniflora* against *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 126, p. 79-87, 2019.

MARQUES, A. M et al., Isolation of two major sesquiterpenes from the leaf essential oil of *Eugenia uniflora* by preparative-scale high-speed countercurrent chromatography. **Separation Science Plus**, v. 1, n. 12, p. 1-8, 2018.

MARTINS, F. T et al. Variação química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., sob condições de cultivo. **Química Nova**, v. 29, n. 16, p. 1203-1209, 2006.

MELO, R. M et al. 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.

MORAIS, S. M et al. Volatile Constituents of *Eugenia uniflora* Leaf Oil from Northeastern Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 8, n. 4, p. 449-451, 1995.

- MOREIRA, S. O et al. Correlações e análise de trilha sob multicolinearidade em linhas recombinadas de pimenta (*Capsicum annuum* L.). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 1, p.15-20, 2013.
- MONTGOMERY, D. C. Introdução ao controle estatístico da qualidade. **LTC**, v. 4, 563 p., 2004.
- NASCIMENTO, L. D et al. Rendimento e Composição Química do Óleo Essencial das Folhas de *Eugenia uniflora* L. em Diferentes Tempos de Extração. Pesquisa na cadeia de suprimentos de plantas aromáticas. **Atena editora**, p.48-58, 2019.
- NASCIMENTO, R. V. Estudo da Espécie *Varronia curassavica* (Boraginaceae) em Fragmentos da Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro, com Base no Perfil Químico dos Óleos Essenciais. Dissertação, PPGQ-UFRRJ, 111 p., 2021.
- OLIVEIRA, J. A. C et al. *Eugenia uniflora*, *Melaleuca armillaris*, and *Schinus molle* essential oils to manage larvae of the filarial vector *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, p. 34749-34758, 2022.
- PEREIRA, N. L. F et al. *In vitro* evaluation of the antibacterial potential and modification of antibiotic activity of the *Eugenia uniflora* L. essential oil in association with led lights. **Microbial Pathogenesis**, v. 110, p. 512-518, 2017.
- PINHEIRO, P. F et al. Chemical Characterization and Molluscicidal Activity of Essential Oil from Leaves of *Eugenia uniflora* L. on *Lymnaea columella* (Say, 1817) and *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1835). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 20, n. 6, p. 1482-1491, 2017.
- PINO, F. A. A questão da não normalidade: uma revisão. **Revista de economia agrícola**, v. 61, n. 2, p. 17-33, 2014.
- RODRIGUES, K. A. F et al. *Eugenia uniflora* L. Essential Oil as a Potential Anti-Leishmania Agent: Effects on *Leishmania amazonenses* and Possible Mechanisms of Action. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-10, 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/279726>

ROJAS, Y. E. C et al. Composición química y actividad antifúngica del aceite esencial de hojas de *Eugenia uniflora* L (Myrtaceae). **Revista Cubana de Farmacia**, v. 55, n. 3, ed. 796, p. 1-17, 2022.

ROSADO, F. Outliers em dados estatísticos. **Sociedade Portuguesa de Estatística**, p. 1-257, 2006.

SANTOS, F. R. et al. Influência da idade das folhas de *Eugenia uniflora* L. na composição química do óleo essencial. **Revista Química Nova**, v. 38, n. 6, p.762-768, 2015.

SOBEH, M et al. Chemical Profiling of the Essential Oils of *Syzygium aqueum*, *Syzygium samarangense* and *Eugenia uniflora* and Their Discrimination Using Chemometric Analysis. **Chemistry & Biodiversity**, v. 13, n. 11, p. 1537-1550, 2016.

SVIECH, F et al. Biological Activity of Essential Oil of Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) Leaves. **B. CEPPA**, v. 36, n. 1, p. 28-38, Curitiba, 2018.

TAVARES, E.S et al. Lippia alba: Estudos químicos, etnofarmacológicos e agronômicos. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada em Ciências Agrárias**, v.6325, p.204-212. Guarapuava, 2011.

TUCKER, A. O et al. Essential Oils from the Leaves of *Eugenia pitanga* (O. Berg) Kiaersk. (Myrtaceae) of Paraguay Cultivated in Arizona. **Journal of Essential Oil Research**, v. 23, p. 42-45, 2011.

VICTORIA, F. N et al. Essential oils of *E. uniflora* leaves protect liver injury induced by acetaminophen. **Food Bioscience**, v. 4, p. 50-57, 2013.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2013.09.001>

WEIB, M.; GOKER, M. Molecular Phylogenetic Reconstruction. **The yeasts**, p. 159-174. 2011

CAPÍTULO II

Diversidade química e teor (%) do óleo essencial de pitangueira, acessada nas Regiões Metropolitana, das Baixadas Litorâneas e da Costa Verde-RJ.

RESUMO:

A *Eugenia uniflora* L. é uma espécie que compõe a biodiversidade da Mata Atlântica, sendo amplamente utilizada na indústria alimentícia e cosmética. A literatura aponta que existe variabilidade intraespecífica, com base no perfil químico dos óleos essenciais (OEs) para essa espécie. Com a finalidade de conhecer a diversidade química dos OEs de pitangueira, propôs-se a coleta das folhas, extração dos OEs e a análise por CG-DIC e CG-EM, de exemplares coletados nas Regiões Metropolitana, das Baixadas Litorâneas e da Costa Verde do Estado do Rio de Janeiro. Os teores dos OEs foram calculados com base na matéria seca de folhas e variaram entre 0,26 e 2,81%. O percentual médio de substâncias identificadas foi de 82%, dentre os quais 86,6% foram de sesquiterpenos e 3,6% de monoterpenos. Os compostos que apresentaram as maiores concentrações foram curzereno (78,8%), selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (56,4%), espatulenol (36,7%) e amorfa-4,9-dien-2-ol (35%). (*E*)-cariofileno, espatulenol e β -elemeno apresentaram frequência superior a 80% nas amostras analisadas. A análise AAH, possibilitou a formação de 6 grupos químicos de OEs, baseado na similaridade entre as substâncias presentes e também foram identificados 6 quimiotipos, dos quais 3 foram inéditos até a data de realização deste trabalho. Os resultados demonstraram que houve uma grande diversidade entre os OEs analisados, apontando para uma boa perspectiva em um futuro estudo de melhoramento e seleção de fenótipos de alto valor para produção de óleos essenciais.

ABSTRACT:

Chemical diversity and essential oil yield (%) of Surinam Cherry, accessed in the Metropolitan, Coastal Plains and Green Coast Regions of Rio de Janeiro.

Eugenia uniflora L. is a species that makes up the biodiversity of the Atlantic Forest and is widely used in the food and cosmetics industries. The literature indicates that there is intraspecific variability, based on the chemical profile of the essential oils (EOs) for this species. In order to learn about the chemical diversity of Surinam cherry EOs, it was proposed to collect the leaves, extract the EOs and analyze them by GC-DIC and GC-MS, from specimens collected in the Metropolitan, Coastal Plains and Green Coast Regions of the state of Rio de Janeiro. The

yields of the EOs were calculated based on the dry matter of the leaves and ranged from 0.26 to 2.81%. The average percentage of substances identified was 82%, of which 86.6% were sesquiterpenes and 3.6% monoterpenes. The compounds with the highest concentrations were curzerene (78.8%), seline-1,3,7(11)-trien-8-one (56.4%), spatulenol (36.7%) and amorph-4,9-dien-2-ol (35%). (*E*)-caryophyllene, spatulenol and β -elemene showed a frequency of over 80% in the samples analyzed. The AAH analysis made it possible to form 6 chemical groups of EOs, based on the similarity between the substances present. 6 chemotypes were also identified, 3 of which were unpublished at the time of writing. The results showed that there was great diversity among the EOs analyzed, pointing to good prospects for a future breeding study and the selection of high-value phenotypes for the production of essential oils.

1. METODOLOGIA

1.1. Prospecção dos exemplares de *Eugenia uniflora* L.

O segundo estágio da pesquisa, foi o mapeamento de locais estratégicos e execução das tarefas de campo relativas à coleta dos diferentes exemplares de pitangueira situados, ou não, nas UCs escolhidas. As atividades foram desenvolvidas em três datas, referentes a cada região dentro do Estado do Rio de Janeiro escolhida, com os trabalhos se iniciando entre às 8 h da manhã e 16 h da tarde, nos dias 03 de setembro de 2021 na Região Metropolitana (5 coletas), 14 de outubro de 2021 na Região da Baixada Litorânea (9 coletas) e 07 de novembro de 2021 (8 coletas) na Região da Costa Verde. Foram realizadas 22 coletas ao todo e os locais visitados estão disponíveis na **Figura 15**, com a descrição, registro e as coordenadas na **Tabela 10**. Cabe ressaltar que todas as coletas foram realizadas no período reprodutivo da planta.

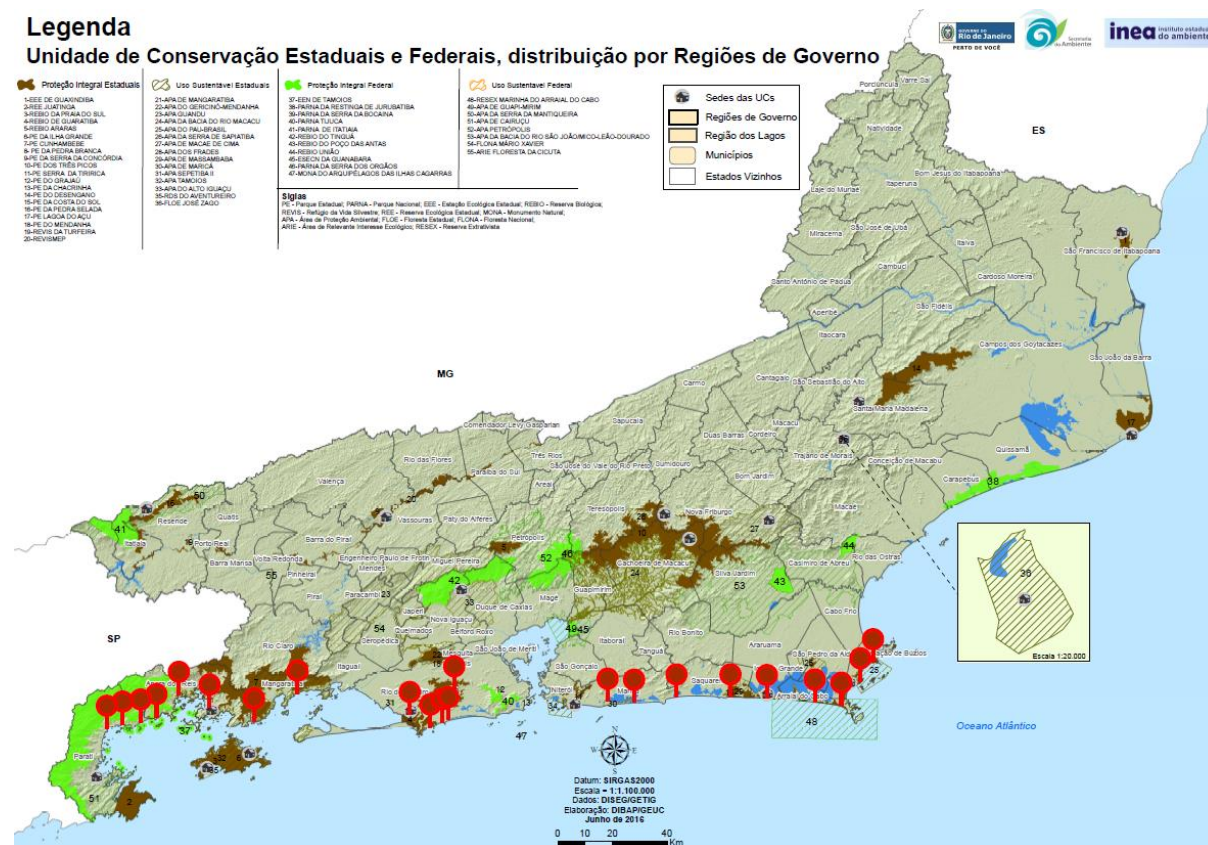


Figura 15. Mapa cartográfico com as coordenadas das UCs e marcação com alfinete dos locais visitados durante as atividades de prospecção dos exemplares de *Eugenia uniflora* L. (Adaptado do INEA, 2023).

Tabela 10. Coordenadas Geográficas e registro dos exemplares de *Eugenia uniflora* L. coletados nas diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro.

Exemplar	Localidade	Registro	Coordenada Geográfica
EU01	Antiga Embratel, Guaratiba	RBR 56110	22°59'50" S, 43°36'14" W
EU02	Estrada do Grumari, Grumari	RBR 56109	23°02'57" S, 43°32'18" W
EU03	Av. Estado da Guanabara, Grumari	RBR 56108	23°02'52" S, 43°31'16" W
EU04	Praia do Secreto, Grumari	RBR 56107	23°02'2" S, 43°29'35" W
EU05	Pedra Branca, Jacarepaguá	RBR 56106	22°55'58" S, 43°26'40" W
EU06	Av. Maysa, Maricá	RBR 56105	22°57'17" S, 42°53'6" W
EU07	Av. Reginaldo Zeidan, Maricá	RBR 56104	22°57'33" S, 42°48'2" W
EU08	Praia de Jaconé, Saquarema	RBR 56103	22°56'11" S, 42°38'46" W
EU09	Praia de Massambaba, Saquarema	RBR 56102	22°56'2" S, 42°27'31" W
EU10	Praia Seca, Araruama	RBR 56101	22°56'11" S, 42°18'49" W
EU11	Praia da Figueira, Arraial do Cabo	RBR 56100	22°56'40" S, 42°08'58" W
EU12	Praia Grande, Arraial do Cabo	RBR 56099	22°57'25" S, 42°03'2" W
EU13	Praia das Conchas, Cabo Frio	RBR 56098	22°52'20" S, 41°59'5" W
EU14	Praia das Caravelas, Búzios	RBR 56097	22°48'50" S, 41°57'16" W
EU15	Pier do Sahy, Sahy	RBR 56096	22°56'16" S, 43°59'25" W
EU16	P. Real Resort, Conceição de Jacareí	RBR 56095	23°02'6" S, 44°09'5" W
EU17	Alameda dos Sabiás, Pontal	RBR 56094	22°56'52" S, 44°19'43" W
EU18	Praia dos Recifes, Angra dos Reis	RBR 56093	22°56'52" S, 44°25'10" W
EU19	Praia Vermelha, Angra dos Reis	RBR 56092	22°01'30" S, 44°30'2" W
EU20	Praia dos Coqueiros, Paraty	RBR 56091	23°02'12" S, 44°33'24" W
EU21	Praia de São Gonçalo, Paraty	RBR 56090	23°02'36" S, 44°37'15" W
EU22	Praia Areal do Taquari, Paraty	RBR 5689	23°03'47" S, 44°40'41" W

As ferramentas utilizadas no trabalho de campo foram tesouras de poda, jornais, barbante, sacos de papel, papelão, placas de madeira, fita adesiva, bloco de nota e GPS. As plantas escolhidas eram examinadas e as informações pertinentes como altura, hábito, vegetação, localização e outros dados geográficos foram anotados. Posteriormente, foram realizadas coletas das partes aéreas, principalmente ramos com folhas, flores e frutos, separando alguns para a confecção das exsiccatas e não excedendo 200g de material.

O material vegetal foi armazenado em sacolas de papel, que foram perfuradas para permitir a circulação de ar, além de alguns ramos que foram numerados sobre uma base montada com madeira, papelão e recobertos em jornal, separados para confecção das exsicatas. Tudo foi levado ao Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais da UFRRJ (LabPAM), onde os materiais coletados foram colocados em uma estufa com circulação de ar (Eletrolab HW500), em uma temperatura ajustada de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 48h (**Figura 16**). Após a secagem, a parte separada montada no suporte com madeira foi levada ao herbário, alguns frutos foram designados para o cultivo e as folhas foram utilizadas na extração dos OEs.



Figura 16. Secagem das amostras coletadas em estufa com circulação de ar.

1.2. Confecção das exsicatas.

As plantas possuem uma origem e cada indivíduo da espécie deve ser devidamente identificado. O primeiro passo para isso é a confecção da exsicata, que consiste na montagem de uma amostra vegetal desidratada em um papel cartolina, contendo informações pertinentes como a instituição do depósito, número do registro do espécime, etiqueta com informações relativas ao local e características do exemplar, envelope para deposição de frutos e sementes, além de uma capa de proteção para recobrir e proteger todo material. É importante citar que a desidratação da planta tem o intuito de inativar enzimas que propiciam sua deterioração e evitar a contaminação por microrganismos, como fungos, resultando assim em uma conservação do exemplar depositado. O local em que os espécimes são armazenados é o herbário, onde estão

disponíveis para a consulta como referência ou mesmo para serem utilizados em outros estudos (ALMEIDA, 2011).

As amostras foram depositadas no herbário RBR-UFRRJ nos dias 06 de setembro de 2021, 18 de outubro de 2021 e 11 de novembro de 2021, conforme os exemplares montados eram secos em estufa. Para fazer o registro, foi necessário preencher uma planilha no formato “xls”, disponibilizada no site do herbário (http://rbr.jbrj.gov.br/v2/validarplanilha_externo.php), com todas as informações reportadas na planilha referentes as observações em campo. Após a identificação, as etiquetas foram geradas e os registros inerentes a cada planta depositada, conforme mostrado na **Tabela 10**.

Além das etiquetas, para confecção das exsiccatas dos exemplares de *E. uniflora* foram utilizados também alguns materiais como papel cartolina, fita adesiva, cola, lápis, tesoura e papel protetor para recobrir a exsicata. Os ramos foram fixados no papel cartolina com o auxílio das fitas adesivas, em duplicata ou triplicata, dependendo da amostra. Por sua vez, as etiquetas foram coladas na parte inferior esquerda da cartolina e ao final as informações inerentes ao nome científico da espécie da planta, sua família e o número de tombamento foram inseridos no papel protetor para o posterior registro de imagens e armazenamento das exsiccatas no herbário (**Figura 17**).



Figura 17. Exsicatas depositadas no herbário RBR-UFRRJ.

1.3. Regularização da atividade de pesquisa.

A primeira etapa para realização deste trabalho foi a regularização da atividade de pesquisa com as autoridades ambientais competentes, responsáveis pelas áreas de proteção (APAs), preservação e reserva ambiental visitadas durante os períodos de prospecção dos exemplares nativos de *Eugenia uniflora* L. no Estado do Rio de Janeiro. A autorização referente as unidades de conservação (UCs) estaduais foi conseguida junto ao Instituto Estadual do Meio Ambiente (INEA), através do procedimento administrativo SEI-070002/003729/2021, ofício SEI/ERJ – 18876019 - NI e autorização nº023/2021, concedida no dia 29 de junho de 2021. Já a autorização para as UCs federais foi concedida pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), com a autorização nº78469-1, emitida no dia 13 de agosto de 2021. Os documentos estão disponíveis nos **Anexos B e C**.

1.4. Extração, secagem e pesagem dos óleos essenciais.

As extrações dos OEs foram realizadas no LabPAM, utilizando destiladores do tipo Clevenger modificado em conjunto com mantas aquecedoras modelo Fisatom 102E para balões de fundo redondo com diâmetro de 131 mm e capacidade de 1000 mL (**Figura 18A**). As folhas secas de pitangueira foram trituradas, uma vez que as cavidades secretoras estão localizadas na porção interna da epiderme do tecido foliar, utilizando um liquidificador Philco PLQ1400 (**Figura 18B**), sendo transferidas com o auxílio de uma espátula para um recipiente de plástico, no qual foi pesado aproximadamente 40g do material vegetal triturado em uma balança centesimal modelo BEL Engineering M1702 (**Figura 18C**). Em seguida, todo conteúdo foi transferido para um balão de fundo redondo de 1000 mL com um funil grande, que foi preenchido com 400 mL de água destilada, previamente separada em um béquer graduado, homogeneizando todo material com movimentos circulares e por fim acrescentando mais 100 mL de água destilada com o auxílio de um pisquete para retirar os resíduos da parede do balão e completar 500 mL em volume.



Figura 18. Extração dos OEs de *Eugenia uniflora* L. (A) Equipamento Clevenger modificado. (B) Liquidificador. (C) Balança centesimal.

Por sua vez, o balão foi encaixado na manta de aquecimento e acoplado ao destilador. A potência da manta foi previamente ajustada para que os destiladores operassem com a vazão de 2,5 mL/min de destilado. O tempo de destilação empregado no estudo foi de 2 h, contado a partir do momento em que se observou a primeira gota de destilado em todas as extrações. Após este período, a destilação foi encerrada, o hidrolato dispensado e os OEs recolhidos em tubos Falcon graduados de 50 mL, após lavagem da vidraria com cerca de 2,5 mL de diclorometano, para garantir que não houvesse perdas durante essa etapa.

Para a secagem dos OEs, foi utilizada uma pequena quantidade de Na_2SO_4 anidro em papel de filtro, com o intuito de garantir a retirada de qualquer traço de umidade residual e, com o auxílio de uma pipeta Pasteur, os OEs foram pipetados e percolados gota a gota no sal, sendo recolhidos em frasquinhos de vidro âmbar previamente pesados e identificados com o código de cada exemplar (**Figura 19A**). Outro sistema precisou ser montado, para a total retirada do diclorometano, garantindo assim a pureza e estabilidade dos OEs. Nesse caso, os frasquinhos foram colocados em um suporte fixado, com fluxo constante de gás N_2 inerte, permitindo assim um deslocamento no equilíbrio e a saída do diclorometano, que era bem mais volátil (**Figura 19B**). Após a secagem, os OEs foram pesados em uma balança analítica Shimadzu AUY220, fechados com tampa, batoque, vedados com fita parafilm e armazenados no congelador a temperatura de -14°C (**Figura 19C**).

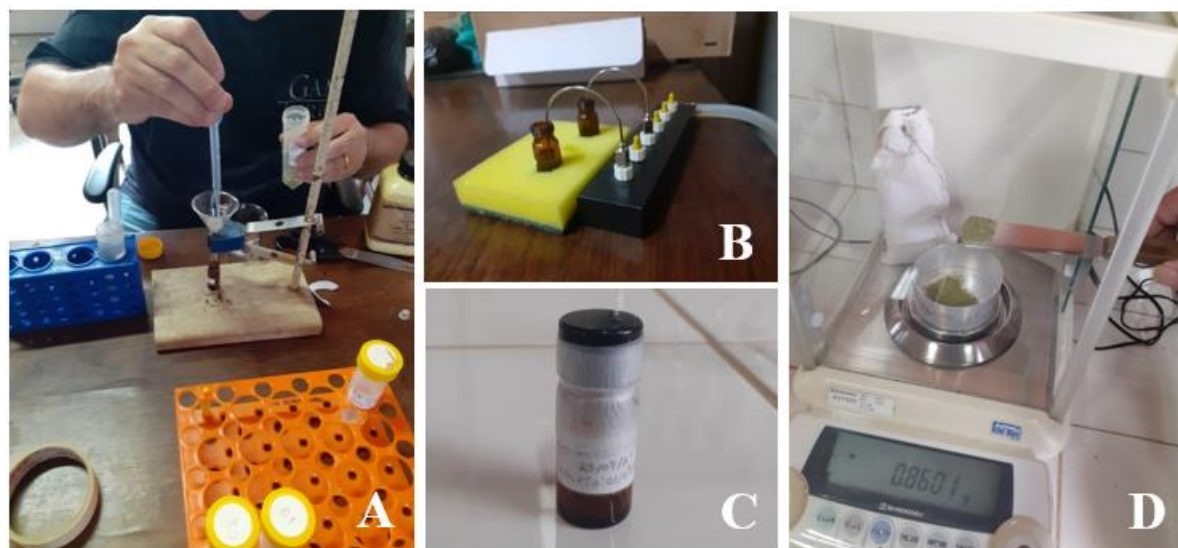


Figura 19. Secagem dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L. (A) Secagem com Na_2SO_4 anidro. (B) Sistema com fluxo de gás N_2 . (C) Frascos de vidros âmbar vedados. (D) Balança analítica.

Uma parte do material vegetal triturado foi separado e pesado em cerca de 2g, na mesma balança analítica utilizada na pesagem dos OEs, em cadinhos de metal previamente

identificados (**Figura 20D**). Os cadinhos foram deixados em uma estufa (modelo Labtec LB 80-64), com uma temperatura ajustada em $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24h, até a massa se manter constante. Após isso, a massa de amostra vegetal seca foi pesada, possibilitando assim calcular o teor de umidade (equação 1). Assim, a massa vegetal seca pesada para extração dos OEs pôde ser calculada (equação 2) e conseqüentemente o teor percentual dos OEs com base na matéria vegetal seca (equação 3).

$$\text{TU\%} = [1-(\text{mAS}/\text{mAU})]*100 \quad (1)$$

$$\text{mES} = \text{mEU}-(\text{mEU}*\text{TU\%}) \quad (2)$$

$$\text{Teor \% (m/m)} = (\text{mOE}/\text{mES})*100 \quad (3)$$

Onde: TU% é o teor de umidade; mAS e mAU são as massas de amostra vegetal seca e úmida pesadas no cadinho de metal, respectivamente; mES e mEU são as massas de amostra vegetal seca calculada e úmida pesada para extração, respectivamente; mOE é a massa de OE pesada.

1.5. Caracterização e quantificação dos OEs.

Essa etapa do trabalho consistiu na análise cromatográfica dos OEs. Para isso, as amostras foram preparadas no LabPAM, conforme os parâmetros estabelecidos no **Anexo D**, antes de serem enviadas. Uma vez preparadas, as amostras foram encaminhadas à Central Analítica Multiusuário do PPGQ – UFRRJ, onde foram realizadas as análises cromatográficas, para a separação dos constituintes voláteis presentes nos OEs. Para isso, foi utilizado um cromatógrafo com fase gasosa (CG) acoplado a um espectrômetro de massas (EM) de modelo Shimadzu, QP-2010 Plus, com sistema de injeção automática, em modo divisão de fluxo (*split*) e a temperatura do injetor foi de 250°C . Além disso, foi utilizada uma coluna capilar inerte composta por 5% de fenil e 95% metilpolisiloxano da marca Agilent J&W VF-5ms 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm . O gás carreador utilizado foi hélio, com fluxo de 1mL min^{-1} . A temperatura do forno foi programada em 50°C por 5 min com aumento em uma razão de $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até alcançar 120°C , depois com aumento em uma razão de $5^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até alcançar 250°C e, por último, com aumento em uma razão de $15^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até alcançar 290°C , sendo mantida desse modo durante 20 minutos. Em relação a espectrometria de massas, que foi utilizada para caracterização química, a temperatura ajustada para a interface foi de 310°C e para a fonte de íons foi 250°C . O detector utilizado foi do tipo quadrupolo e operou a 70 eV, com intervalo de razão massa/carga entre 40 e 400 m/z e a taxa de 0,5 scan s^{-1} , em modo positivo. O volume de amostra preparada injetado foi de 1 μL .

A CG acoplada ao detector com ionização em chamas (CG-DIC) foi utilizada, com o intuito de separar e quantificar as substâncias nos OEs. Nesse caso, os parâmetros cromatográficos foram os mesmos estabelecidos na CG-EM. Para isso, foi utilizado um cromatógrafo modelo HP 5890 Séries II, com um DIC e também um injetor em modo split. A temperaturas programadas foram de 250°C para o injetor de 290 °C para o detector. O volume de amostra preparada injetado foi de 1 µL.

Após as análises, os cromatogramas e espectros de massa foram obtidos, permitindo a elucidação dos constituintes químicos presentes nos OEs e essa tarefa foi realizada de duas formas. A primeira foi através da comparação entre os espectros de fragmentação gerados pela análise CG-EM e os presentes no banco de dados NIST, que são disponibilizados pelo próprio programa do equipamento GCMSsolution versão 4.42. A segunda maneira e utilizada preferencialmente, foi a comparação entre os espectros de massas e os índices de retenção aritméticos (IA) calculados para cada substância, frente aos disponibilizados na literatura, por meio do livro publicado por Adams (2017), que disponibiliza de forma revisada os espectros das substâncias reportadas em trabalhos anteriores, além dos métodos estabelecidos por Van den Dool e Kratz (1963) para cálculo do IA.

1.6. Análises estatísticas e definição dos quimiotipos.

As análises estatísticas empregadas neste capítulo foram as mesmas descritas no capítulo anterior, assim como o critério de seleção dos quimiotipos. Do mesmo modo, foram consideradas representativas para a análise aquelas com concentração $\geq 32\%$ ou frequência $\geq 5\%$ e foi obtida uma matriz de dados com 22 OEs e 32 substâncias (22X32). Para averiguar e comparar as substâncias dominantes nos OEs da espécie com a literatura, as mesmas foram consultadas nas bases de dados descritas no capítulo anterior e também no artigo de revisão de Silveira et al (2021).

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise descritiva, os teores foram calculados com base na massa seca percentual (m/m) e são mostrados na **Tabela 11**. Os gráficos referentes a distribuição dos dados amostrais com intervalo de confiança de 95% e frequência são demonstrados na **Figura 20**.

Tabela 11. Rendimentos e cores dos OEs de *Eugenia uniflora* L.

COD ^a	Localidade	Cor	Rendimento (%)
EU01	Antiga Embratel, Guaratiba	Amarelo claro	1,80
EU02	Estrada do Grumari, Grumari	Amarelo claro	1,12
EU03	Av. Estado da Guanabara, Grumari	Branco	1,65
EU04	Praia do Secreto, Grumari	Castanho escuro	0,51
EU05	Pedra Branca, Jacarepaguá	Amarelo claro	0,34
EU06	Av. Maysa, Maricá	Incolor	1,01
EU07	Av. Reginaldo Zeidan, Maricá	Incolor	0,95
EU08	Praia de Jaconé, Saquarema	Castanho escuro	0,26
EU09	Praia de Massambaba, Saquarema	Castanho escuro	0,37
EU10	Praia Seca, Araruama	Castanho escuro	0,32
EU11	Praia da Figueira, Arraial do Cabo	Branco	2,81
EU12	Praia Grande, Arraial do Cabo	Branco	2,66
EU13	Praia das Conchas, Cabo Frio	Castanho escuro	0,71
EU14	Praia das Caravelas, Búzios	Castanho escuro	0,57
EU15	Pier do Sahy, Sahy	Branco	1,79
EU16	P. Real Resort, Conceição de Jacareí	Branco	0,71
EU17	Alameda dos Sabiás, Pontal	Verde opaco	0,66
EU18	Praia dos Recifes, Angra dos Reis	Branco	1,05
EU19	Praia Vermelha, Angra dos Reis	Incolor	0,75
EU20	Praia dos Coqueiros, Paraty	Branco	1,75
EU21	Praia de São Gonçalo, Paraty	Branco	1,37
EU22	Praia Areal do Taquari, Paraty	Incolor	0,73

^aCódigo de identificação utilizado para distinguir cada exemplar, bem como seus respectivos OEs, nas análises realizadas no trabalho

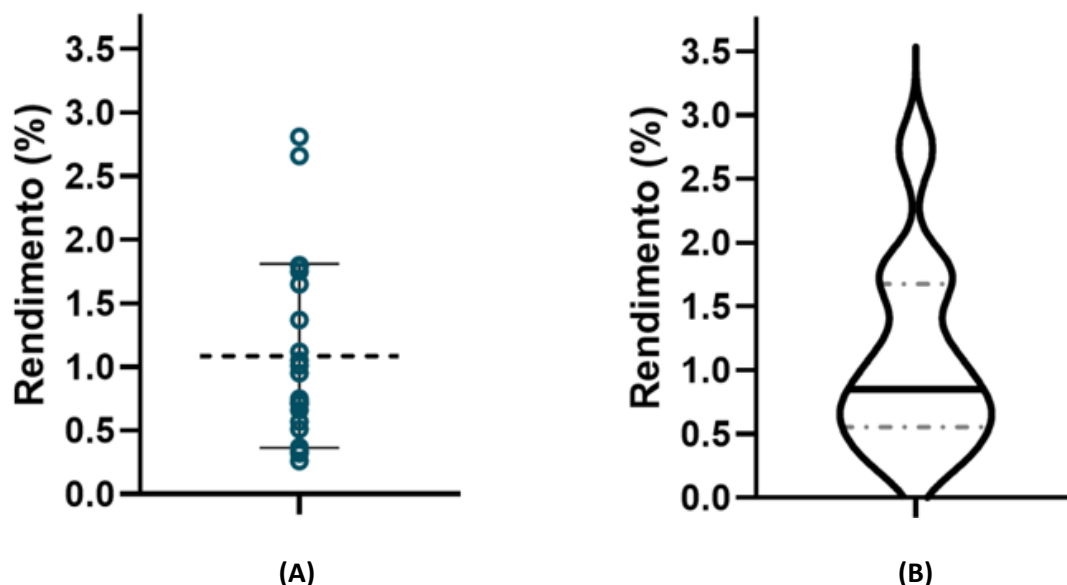


Figura 20. Distribuição dos teores percentuais dos OEs de pitangueira. (A) Frequência com média e intervalo de confiança de 95%. (B) Frequência com 1ºquartil, 3ºquartil e mediana.

Os teores percentuais registrados para os OEs de pitangueira variaram entre 0,26% e 2,81% e, levando em consideração que o tempo de extração empregado foi de 2 horas para todos os exemplares coletados, foi bastante satisfatório. O desvio padrão foi de 0,72 demonstrou que os valores tiveram uma dispersão ótima dentro do conjunto de dados. Também foi aferida uma diversidade entre os rendimentos, sendo que o intervalo dos valores entre 0,3% e 1,2%, foi o que apresentou a maior frequência de distribuição e as plantas que propiciaram os maiores rendimentos foram EU11 e EU12, as duas coletadas em Arraial do Cabo, com 2,81% e 2,66%, respectivamente e ambos com cor branca. As diferentes cores dos OEs estão ilustradas na **Figura 21**.

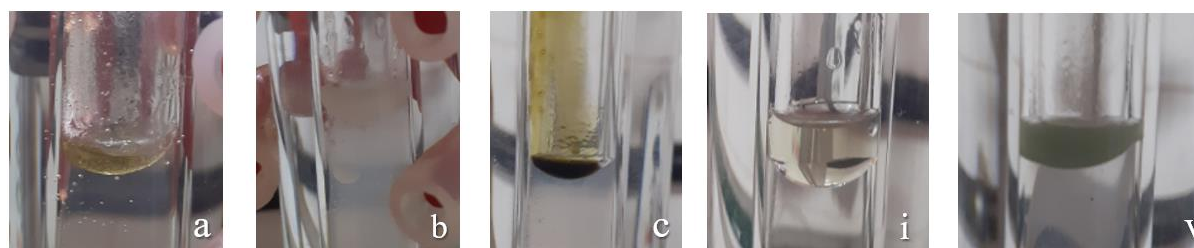


Figura 21. Cores dos OEs de *Eugenia uniflora* L. sendo: (a) amarelo claro, (b) branco, (c) castanho escuro, (i) incolor e (v) verde opaco.

Os OEs de coloração castanha foram os que tiveram os menores rendimentos, variando entre 0,26% e 0,71% e foram mais frequentes nos exemplares da região da Baixada Litorânea.

Os que apresentaram cor amarelo claro tiveram maior frequência nos indivíduos da Região Metropolitana, com teores entre 0,34% e 1,8%. Já os OEs relativos as plantas da Região da Costa Verde, tiveram predominância entre as cores branca, incolor e uma amostra com cor verde opaco, com os teores variando entre 0,71% e 2,81%.

Além disso, cabe salientar que teores percentuais observados nos OEs do presente estudo, foram muito semelhantes aos da literatura, conforme ilustrado na **Figura 22**.

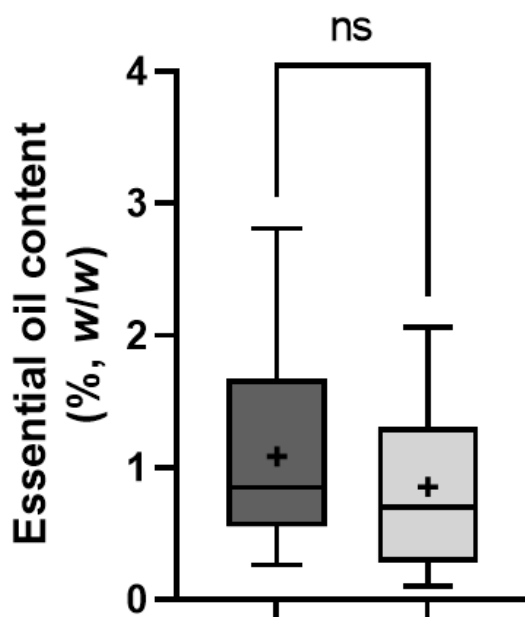


Figura 22. Gráfico do tipo *boxplot* com distribuição dos teores percentuais dos OEs de pitangueira:

Dados “*in situ*” (cinza escuro), dados da literatura (cinza claro). Média (+)

De fato, enquanto na literatura a distribuição entre o primeiro quartil, mediana e terceiro quartil foi de 0,28%, 0,7% e 1,3%, respectivamente, nos dados observados no estudo “*in situ*” essa distribuição foi de 0,56%, 0,85% e 1,68%, respectivamente, não tendo uma diferença significativa ($p >$ entre os percentuais. A variação entre os valores mínimo e máximo de 0,1% e 2,06%, respectivamente, além da média de 0,85% na literatura, bem como o mínimo e máximo de 0,26% e 2,81%, respectivamente, além da média de 1,09%, também não demonstraram diferença significativa.

As informações acerca do perfil químico dos OEs extraídos das folhas dos exemplares de *E. uniflora* coletados nas diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro estão disponíveis na **Tabela 12**. Do mesmo modo que no capítulo anterior, foram consideradas para o trabalho apenas as substâncias identificadas e representativas, ou seja, concentração $\geq 5\%$ ou frequência $\geq 32\%$.

Tabela 12. Perfil químico dos OEs dos exemplares de *Eugenia uniflora* L. coletados nas diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro.

A ^a	Substâncias	IA _(T) ^b	EU01	EU02	EU03	EU04	EU05	EU06	EU07	EU08	EU09	EU10	EU11	EU12	EU13	EU14	EU15	EU16	EU17	EU18	EU19	EU20	EU21	EU22
1	Mirceno	988	0,5	0,9	1,8	-	-	1,7	-	-	1,2	-	-	-	0,5	0,5	0,6	4,5	-	-	0,4	-	-	0,8
2	(Z)-β-Ocimeno	1032	0,6	2,5	-	-	-	5,5	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	4,0	0,3	-	0,8	0,3	-	1,4
3	(E)-β-Ocimeno	1044	1,5	5,4	0,3	-	-	12,3	1,1	1,1	1,5	-	0,3	0,4	-	-	0,5	9,2	0,7	0,5	2,0	0,7	0,7	2,9
4	δ-Elemeno	1335	0,6	0,4	0,9	-	-	-	1,2	-	-	-	0,4	0,2	-	-	0,6	-	-	0,4	0,3	0,6	-	-
5	β-Elemeno	1389	7,6	8,3	6,6	0,5	7,0	4,9	7,3	0,8	-	-	2,9	2,8	-	-	4,9	3,9	7,8	4,5	4,4	4,7	4,4	4,5
6	(E)-Cariofileno	1417	4,3	4,2	9,2	2,0	11,8	8,5	0,4	4,6	3,8	0,6	0,9	1,1	1,2	1,2	0,7	1,5	4,1	-	1,8	2,6	2,5	4,9
7	γ-Elemeno	1434	3,4	2,0	2,3	-	-	1,4	3,5	-	-	-	2,3	1,6	-	-	1,8	0,7	4,9	3,1	2,4	1,6	1,8	2,1
8	allo-Aromadendreno	1458	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13,4	-	-	-	10,1	0,2	-	-	-	-	-	-	-
9	9-epi-(E)-Cariofileno	1464	0,4	0,4	0,1	7,1	1,3	0,6	-	12,1	8,0	-	0,2	0,1	-	-	3,0	-	-	0,2	0,2	0,2	-	0,6
10	Germacreno D	1480	3,4	4,3	4,5	1,9	-	3,6	1,0	-	-	-	1,8	1,3	-	-	-	2,0	3,0	2,0	1,9	2,3	1,8	1,4
11	Widdra-2,4(14)-dieno	1481	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,0	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-
12	Viridifloreno	1496	-	-	-	-	-	-	5,3	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	β-Selineno/ Viridifloreno	1490 496	-	-	-	-	-	26,3	-	-	-	-	0,5	0,6	-	-	0,1	-	-	0,2	-	-	-	-
14	Curzereno	1499	34,8	34,7	30,7	-	-	8,5	18,3	-	-	-	-	-	-	-	70,2	48,4	-	60,2	72,7	78,8	76,9	56,6
15	Biciclogermacreno	1500	-	-	-	1,4	6,8	-	15,8	1,7	-	-	1,7	1,9	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Germacreno A	1508	0,5	4,2	8,6	-	-	0,5	0,8	-	-	-	0,2	0,2	-	-	0,6	0,2	2,0	0,3	0,6	0,6	0,5	0,2
17	α-Bulneseno	1509	-	-	-	-	6,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	δ-Amorfeno	1511	0,3	0,4	0,1	1,5	-	0,6	-	-	-	-	-	0,1	-	1,1	0,3	-	-	0,2	-	-	-	-
19	δ-Cadineno	1522	-	-	-	5,8	-	-	-	2,6	2,1	1,5	0,2	-	4,0	4,1	-	-	-	0,3	0,1	0,2	-	-
20	Germacreno B	1559	9,4	7,2	8,8	-	-	5,9	10,2	-	-	-	5,9	3,5	0,5	-	4,8	3,6	10,5	6,4	5,0	3,4	4,1	5,8
21	Espatulol	1577	1,6	2,0	1,7	10,7	16,7	0,6	0,5	26,9	30,5	36,7	-	0,3	21,2	29,4	0,3	1,2	1,0	0,2	0,8	0,2	1,1	6,0
22	Óxido de Cariofileno	1582	0,2	0,3	0,8	1,0	4,8	-	-	10,0	8,2	5,9	-	-	6,2	8,3	-	0,1	0,3	-	0,1	-	0,3	1,7
23	Globulol	1590	-	-	-	-	-	1,3	2,6	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	0,6	0,6	0,3	0,7	1,4
24	Viridiflorol	1592	-	0,6	0,8	-	0,5	1,2	2,9	-	-	1,1	-	0,4	-	-	0,7	0,5	0,5	0,3	0,6	0,3	0,6	1,2
25	Muurola-4,10(14)- dien-1-β-ol	1630	-	-	-	5,4	-	-	-	3,7	4,7	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	Selina-1,3,7(11)-trien- 8-ona	1632	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	56,4	55,7	13,9	6,2	-	-	41,1	-	-	-	-	-

Tabela 12. (Continuação).

27	<i>epi</i> - α -Muurolol	1640	0,9	-	-	3,2	2,2	-	-	2,2	-	-	-	-	4,2	3,1	-	-	-	-	-	-	-	1,4
28	α -Cadinol	1652	-	0,9	0,1	5,5	1,1	0,8	0,7	2,9	2,9	1,5	0,2	0,2	4,7	4,5	-	-	0,6	-	-	-	-	-
29	Furanodieno	1666	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,9	0,4	-	-	2,4	2,1	2,8	2,3
30	Germacrona	1693	0,9	-	0,1	-	0,4	-	2,1	-	-	-	1,6	0,4	-	1,0	5,2	10,2	1,0	11,4	-	-	-	-
31	Amorfa-4,9-dien-2-ol	1700	-	-	-	35,0	-	-	-	0,8	-	2,0	-	-	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	Epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona	1746	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21,5	25,8	14,7	9,8	-	-	14,5	-	-	-	-	-
	Substâncias não citadas		29,0	21,2	24,3	19,1	41,2	14,3	25,7	29,0	36,1	35,3	2,9	3,1	19,2	20,6	3,7	9,9	7,2	9,3	2,8	1,2	1,3	4,8
	Monoterpenos não oxigenados		2,6	8,8	0,3	-	-	19,6	1,1	1,1	3,6	-	0,3	0,4	0,5	0,5	1,2	18,6	1,4	0,5	3,9	1,0	0,7	6,0
	Monoterpenos oxigenados		-	-	0,1	-	-	1,1	1,1	2,6	1,5	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sesquiterpenos não oxigenados		33,4	31,5	41,3	23,6	41,0	52,5	46,7	23,2	14,4	15,5	17,0	13,6	17,0	18,5	16,8	11,7	34,5	18,0	16,8	16,4	15,5	19,5
	Sesquiterpenos oxigenados		44,8	44,3	38,0	68,5	36,0	15,9	30,3	51,5	61,6	60,7	81,2	84,1	70,5	69,8	81,2	67,9	62,8	80,7	78,8	82,3	83,5	72,6
	Não identificados		19,2	15,4	20,3	8,0	23,1	10,9	20,9	21,6	18,9	23,7	1,2	1,9	12,0	11,3	0,8	1,8	1,3	0,8	0,5	0,3	0,3	1,9
	Total de elucidação		85,7	77,8	84,6	71,4	82,8	84,6	84,6	62,1	70,0	57,1	80,0	82,1	69,0	78,6	90,9	90,5	92,6	95,7	91,3	95,0	93,8	83,3

Foram selecionadas para a matriz de dados as substâncias com concentração $\geq 5\%$ e/ou frequência $\geq 32\%$, consideradas com representatividade dentro dos respectivos OEs.

^aNumeração das substâncias em ordem crescente com base em seu índice de retenção. ^bÍndice de retenção aritmética teórico.

Ao todo foram identificadas 132 substâncias, dentre as quais 32 foram consideradas representativas de acordo com os critérios estabelecidos. Em média, as classes de substâncias predominantes foram os sesquiterpenos oxigenados (62,1%), sesquiterpenos não oxigenados (24,5%), monoterpenos não oxigenados (3,3%) e monoterpenos oxigenados (0,3%). Esses percentuais foram muito próximos e condizentes com os OEs da espécie reportados na literatura, confirmando assim um domínio dos sesquiterpenos frente as demais classes de substâncias.

Apesar dos monoterpenos terem uma menor representatividade na maioria dos OEs observados, é interessante citar que as amostras referentes a EU06, proveniente de Maricá e EU16, proveniente de Conceição de Jacareí, tiveram uma presença relevante dessa classe, com 19,6% e 18,6%, respectivamente. Do mesmo modo, a amostra EU06 foi a que teve o maior predomínio de sesquiterpenos não oxigenados, com 52,5%, assim como EU07, também com exemplar de Maricá, com 46,7%, seguido por EU03 e EU05, com 41,3% e 41,0%, respectivamente, ambos da Região Metropolitana. Nos artigos analisados, também foram averiguadas algumas amostras com maior percentual de sesquiterpenos não oxigenados, como em L17 de Victoria et al (2013) com 56,8%. Em todos os OEs dos demais exemplares oriundos das três regiões, foi constatada uma abundância de sesquiterpenos oxigenados, em comparação com as demais classes. Os maiores percentuais foram observados em EU12, EU21 e EU20, com 84,1%, 83,5% e 82,3%, respectivamente.

As substâncias majoritárias, presentes nos OEs caracterizados dos diferentes exemplares de pitangueira coletados, estão ilustrados na **Tabela 13** e as estruturas são mostradas na **Figura 23**.

Tabela 13. Distribuição percentual das 12 substâncias com maior teor percentual nos OEs dos exemplares de *Eugenia uniflora* L. coletados nas diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro.

B ^a	Substância	Menor	Maior	Média	Mediana	F _{abs} ^b	F _{rel%} ^c
1	Curzereno	8,5	78,8	49,2	52,5	12	55
2	Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	6,2	56,4	34,7	41,1	5	23
3	Espatulenol	0,2	36,7	9,0	1,6	21	95
4	Amorfa-4,9-dien-2-ol	0,8	35,0	9,8	1,6	4	18
5	β -Selineno/viridifloreno	0,1	26,3	5,5	0,5	5	23
6	Epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona	9,8	25,8	17,3	14,7	5	23
7	Biciclogermacreno	0,4	15,8	4,2	1,7	7	32
8	Allo-Aromadendreno	0,2	13,4	7,9	10,1	3	14
9	(E)- β -Ocimeno	0,3	12,3	2,4	1,1	17	77
10	9-epi-(E)-Cariofileno	0,1	12,1	2,3	0,4	15	68
11	(E)-Cariofileno	0,4	11,8	3,4	2,5	21	95
12	Germacrona	0,1	11,4	3,1	1,0	11	50

^aNumeração das substâncias com os maiores teores percentuais, em ordem decrescente. ^bFrequência absoluta.

^cFrequência relativa percentual.

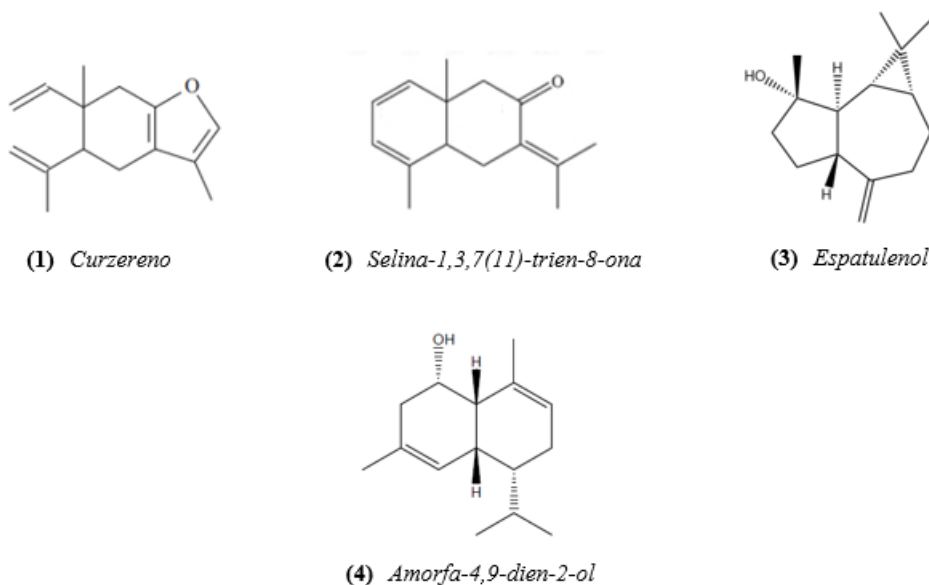


Figura 23. Estruturas das substâncias com os maiores teores percentuais nos OEs dos diferentes exemplares de *Eugenia uniflora* L.

Os constituintes químicos que apresentaram os maiores teores nos OEs analisados foram curzereno (78,8%), selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (56,4%), espatulenol (36,7%) e amorfa-4,9-dien-2-ol (35,0%). É pertinente ressaltar que, com exceção das duas primeiras substâncias, as outras duas posicionadas dentre as quatro com os maiores teores, não foram reportadas na literatura com os teores observados neste trabalho.

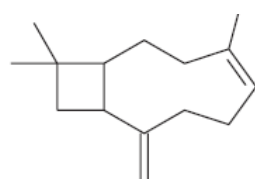
Assim como descrito na bibliografia, as duas primeiras substâncias em teor são majoritariamente sesquiterpenos oxigenados, formadas por três unidades de isopreno, cíclicas e com grupos cetona e epóxi, repectivamente, bem como a terceira e a quarta possuem grupamento hidroxila. Ademais, o espatulenol foi uma substância que, além dos teores relevantes demonstrados nas análises, teve uma frequência de 95%, sendo uma das substâncias com as maiores frequências nos OEs extraídos, como exemplificado na **Tabela 14** e as estruturas na **Figura 24**.

Tabela 14. Distribuição percentual das 12 substâncias com maior frequência nos OEs dos exemplares de *Eugenia uniflora* L. coletados nas diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro.

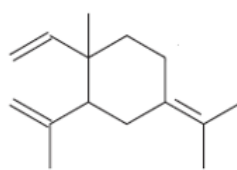
B ^a	Substância	Menor	Maior	Média	Mediana	F _{abs} ^b	F _{rel%} ^c
1	Espatulenol	0,2	36,7	9,0	1,6	21	95
2	(E)-Cariofileno	0,4	11,8	3,4	2,5	21	95
3	β -Elemeno	0,5	8,3	4,9	4,6	18	82
4	(E)- β -Ocimeno	0,3	12,3	2,4	1,1	17	77
5	Germacreno B	0,5	10,5	5,9	5,8	16	73
6	9-epi-(E)-Cariofileno	0,1	12,1	2,3	0,4	15	68
7	Óxido de Cariofileno	0,1	10,0	3,2	1,0	15	68
8	Germacreno A	0,2	8,6	1,3	0,5	15	68
9	γ -Elemeno	0,7	4,9	2,3	2,1	15	68
10	Germacreno D	1,0	4,5	2,4	2,0	15	68
11	Viridiflorol	0,3	2,9	0,8	0,6	15	68
12	α -Cadinol	0,1	5,5	1,9	1,0	14	64

^aNumeração das substâncias com as maiores concentrações, em ordem decrescente. ^bFrequência absoluta.

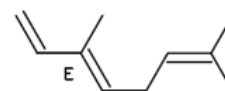
^cFrequência relativa percentual.



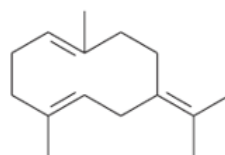
(2) (E)-Cariofileno



(3) β -Elemeno



(4) (E)- β -Ocimeno



(5) Germacreno B

Figura 24. Estruturas de algumas das substâncias com as maiores frequências nos OEs dos diferentes exemplares de *Eugenia uniflora* L.

As substâncias com as maiores frequências relativas percentuais, presentes nos OEs de pitangueira analisados foram espatulenol (95%), (E)-cariofileno (95%), β -elemeno (82%), (E)- β -ocimeno (77%) e germacreno B (73%). Esses constituintes químicos também foram reportados com frequência alta na literatura, sendo as principais majoritariamente sesquiterpenos não oxigenados cíclicos, com exceção do (E)- β -ocimeno, que é um monoterpreno não oxigenado, de cadeia aberta e formado por duas unidades de isopreno. O espatulenol e o (E)-cariofileno, tiveram uma frequência um pouco maior nas amostras analisadas, em comparação com os artigos selecionados, mas muito significativa em ambos os casos, embora não seja possível afirmar que são marcadores químicos da espécie.

A **Figura 25** mostra a relação entre a distribuição dos teores percentuais e das frequências de algumas das substâncias mais relevantes que foram observadas na literatura e no presente estudo.

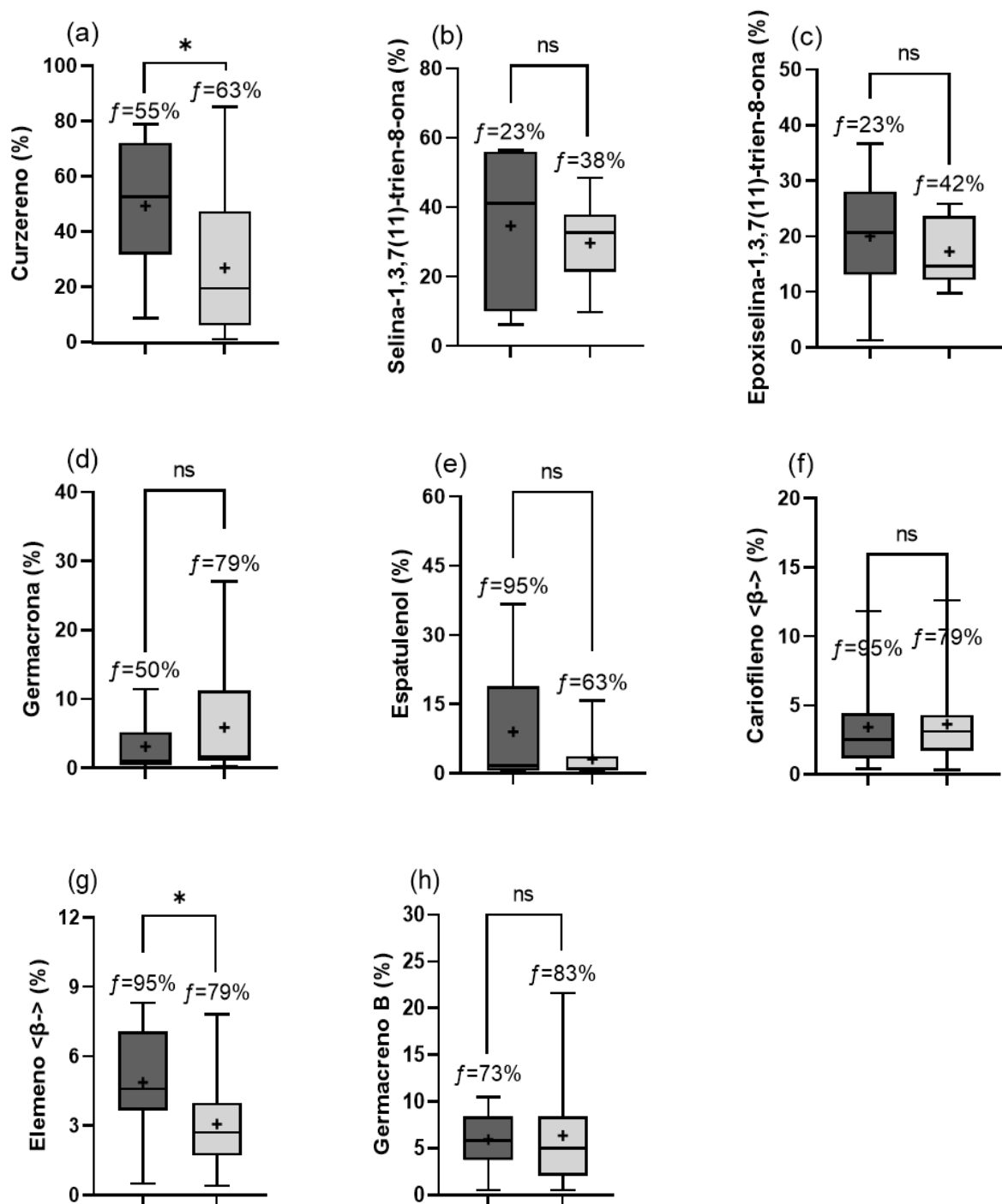


Figura 25. Gráfico *boxplot* com distribuição dos teores percentuais e frequências de algumas principais substâncias identificadas nos OEs de pitangueira: Dados “*in situ*” (cinza escuro), dados da literatura (cinza claro). Média (+)

É importante mencionar que as substâncias mostradas na figura 25 apresentaram teores ou frequências importantes em ambas as situações. O curzereno, que é produto do rearranjo térmico do furanodieno na análise CG-MS, apresentou frequência de 55% na literatura e 63% no estudo “*in situ*”, que foi relativamente semelhante. Contudo, também demonstrou diferença

significativa na distribuição percentual dos teores com primeiro quartil, mediana e segundo quartil de 5,8%, 19,3% e 47,3%, respectivamente, bem como média 26,8% nos dados da literatura, bem como primeiro quartil, mediana e segundo quartil de 31,7%, 52,5% e 72,08%. Respectivamente, bem como média de 49,23% nos dados “*in situ*”. Em ambos os casos algumas amostras apresentaram um predomínio dessa substância frente as demais, mas a literatura teve mais amostras com menor percentual desse composto químico.

Outras duas substâncias que apresentaram perfis de distribuição semelhantes foram a selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona que, na maioria dos casos, foram identificadas nas mesmas amostras. As frequências percentuais dessas substâncias foram de 38% para a primeira e 42% para a segunda 23% na literatura e de 23% para ambas as substâncias no presente estudo, apresentando relativa diferença. As distribuições percentuais quanto aos teores não apresentaram diferença significativa entre os dados da literatura e “*in situ*” para ambas as substâncias, com médias de 29,7% e 34,7% (selina-1,3,7(11)-trien-8-ona), bem como 20% e 17,3% (epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona), no primeiro e segundo conjuntos de dados, respectivamente. Entretanto, foi possível observar que no caso das amostras com presença de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona deste estudo, ainda que com frequência um pouco menor que na literatura, foram de amostras com predomínio desta substância em relação as demais.

Já no caso da germacrona, houve uma relativa diferença entre as frequências percentuais, sendo identificada em um maior número de amostras (79%), nos artigos selecionados, em comparação com os dados deste estudo (50%). Não foi demonstrada uma diferença significativa entre a distribuição percentual dos teores dessa substância em ambos os casos, embora foram identificadas mais amostras na literatura com níveis significativos da mesma.

O espatulenol apresentou uma frequência relativamente superior nos OEs analisados nesse trabalho (95%) em comparação com a literatura (63%), possuindo valores altos em ambos os casos. Contudo, a substância foi identificada em um maior número de amostras com maiores teores nesse estudo, em comparação ao observado na literatura, que tinham um grande número de amostras com teores menos expressivos desse constituinte.

O (E)-cariofileno e o germacreno B, foram duas substâncias que não demonstraram diferença significativa na distribuição entre os teores encontrados nas amostras, tanto da literatura, como no estudo “*in situ*”, não demonstrando níveis tão expressivos em nenhum dos dois casos, se comparado com outras substâncias identificadas com maiores teores. Contudo,

apresentaram frequências expressivas em ambos os conjuntos de dados, sendo que o (E)-cariofileno teve uma frequência maior nos OEs desse estudo (95%) e o germacreno B teve maior frequência nos OEs dos artigos selecionados da literatura (83%).

Por fim, o β -elemeno foi um constituinte que também apresentou uma frequência elevado tanto nos OEs desse trabalho (95%) como na literatura (79%). Contudo, foi observada uma diferença significativa na distribuição percentual dos teores, tendo um maior número de amostras com níveis relevantes desse constituinte nos OEs apresentados nesse capítulo, em comparação com os OEs da literatura.

Aplicando os critérios previamente estabelecidos no capítulo anterior, para definição dos quimiotipos para os OEs da espécie, com base na dominância de uma ou mais espécies em cada amostra, a **Tabela 15** foi construída.

Tabela 15. Quimiotipos encontrados nos OEs dos exemplares de *Eugenia uniflora* L. coletados nas diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro.

Amostras	Quimiotipo ^a	^b Área (%)
EU20 (PARATY - RJ); EU21 (PARATY - RJ); EU19 (ANGRA DOS REIS - RJ); EU15 (SAHY - RJ); EU18 (ANGRA DOS REIS - RJ); EU22 (PARATY -RJ); EU16 (CONCEIÇÃO DE JACAREÍ- RJ); EU01 (GUARATIBA - RJ); EU02 (GRUMARI - RJ); EU03 (GRUMARI - RJ)	Curzereno ^c	(78,8%; 76,9%; 72,7%; 70,2%; 60,2%; 56,6%; 48,4%; 34,8%; 34,7% e 30,7%)
EU11 (ARRAIAL DO CABO - RJ); EU12 (ARRAIAL DO CABO - RJ)	Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/ Epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona	(56,4%/21,5%; 55,7%/25,8%)
EU17 (PONTAL - RJ)	Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	(41,1%)
EU10 (ARARUAMA - RJ); EU09 (SAQUAREMA - RJ); EU14 (BÚZIOS - RJ); EU08 (SAQUAREMA - RJ)	Espatuleno	(36,7%; 30,6%; 29,4%; 26,9%)
EU04 (GRUMARI - RJ)	Amorfa-4,9-dien-2-ol	(35%)
EU05; EU06; EU07 e EU13	Indefinido ou misto	Variável

^aA definição de quimiotipo não é clara na literatura e foram escolhidos baseados na metodologia de Nascimento (2021), sendo: quimiotipo A se $A \geq 2B$ e $A \geq 25\%$; quimiotipo A/B se $B \geq 2C$ e $B \geq 15\%$; quimiotipo A/B/C se $C \geq 2D$ e $C \geq 10\%$ e nos demais casos, indefinido ou misto. ^bÁrea percentual correspondente aos picos observados nos cromatogramas para cada substância. ^cA substância curzereno é produto de rearranjo térmico do furanodieno na análise cromatográfica com rampa de aquecimento.

O estudo mostrou resultados surpreendentes nessa fase, pois dos 22 OEs analisados, 18 eram abrangidos por algum grupo quimiotipo definido e apenas 4 indefinidos. Ao todo, foram identificados 5 quimiotipos, sendo 2 deles inéditos e as substâncias desses últimos não foram encontradas com a dominância observada em nenhum trabalho publicado até a data da realização dessa pesquisa. Cabe enfatizar também que o quimiotipo curzereno, que é produto do rearranjo térmico do furanodieno na análise cromatográfica com rampa de aquecimento, assim como foi observado nos artigos selecionados, foi o que apresentou o maior predomínio desse constituinte frente as demais substâncias, tendo a amostra EU20, cujo exemplar é proveniente de Paraty, com maior teor de 78,8%, bem próximo ao teor visto em L18 de Chang et al (2011), com 85,1%. Além disso, esse quimiotipo foi o que teve o maior número de representantes, sendo 10 ao todo, a maioria de exemplares localizados na Região da Costa Verde e três da Região Metropolitana.

Já os OEs EU11 e EU12, ambos de exemplares coletados em Arraial do Cabo, apresentaram níveis elevados de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona, com 56,4%/21,5% e 55,7%/25,8%, respectivamente e ambas as amostras foram as que apresentaram os maiores rendimentos em comparação com os demais OEs extraídos nesse estudo. O que também foi muito relevante é que o quimiotipo dessas substâncias com os maiores níveis foi reportado no estudo de Morais et al (1995) com 48,5%/17,3%, ou seja, níveis menores que os observados na análise. No caso de EU17, ele foi configurado como um quimiotipo com predominância apenas da substância selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (41,1%), uma vez que a forma oxidada dessa substância foi detectada em níveis menos expressivos nessa amostra (14,5%).

Um destaque nessa investigação foi o quimiotipo espatulenol, que além de ser inédito, teve o segundo maior número de representantes, sendo 4 ao total. Todos os OEs com a prevalência significativa dessa substância frente as demais foram EU10, EU09, EU14 e EU08, com teores percentuais de 36,7%, 30,6%, 29,4% e 26,9%, respectivamente e todos foram referentes aos exemplares coletados na Região da Baixada Litorânea. O maior teor de espatulenol encontrado em um OE do espécime foi relatado no artigo de Sobeh et al (2016), em L15 no Egito, com 15,8%, significativamente inferior aos níveis observados nos quimiotipos desse estudo. É interessante citar que todas as plantas, referentes a esses quimiotipos, foram coletadas em local com vegetação do tipo restinga, solo arenoso, clima quente e tempo ensolarado, sendo estes os fatores edafoclimáticos, que podem influenciar na expressão de determinadas substâncias, podendo estas estarem presentes nos OEs (JOSÉ et al, 2015). Outro

quimiotipo inédito foi o amorfa-4,9-dien-2-ol, cuja substância não foi descrita em níveis superiores a 5% em nenhum trabalho anterior e foi encontrado com o teor de 35% no OE EU04. Esse quimiotipo é referente a um exemplar de pitangueira localizado em uma formação rochosa, localizado em Grumari, clima quente e exposta à luz solar no momento da coleta, sendo fatores que também podem influenciar na expressão de determinadas substâncias pela planta, como citado anteriormente.

Também é interessante mencionar o quimiotipo indefinido, referente a coeluição entre as substâncias β -selineno e viridifloreno, encontrado no OE EU06, com concentração de 26,3%. Ambos os constituintes foram identificados com uma boa frequência na bibliografia publicada, mas em teores percentuais baixos na grande maioria dos casos. Embora a substância β -selineno tenha sido relatada no levantamento de Silveira et al (2021) com 25,9%, ele na verdade referiu-se ao artigo de Peixoto et al (2009) em que a extração foi realizada por fluido supercrítico e, portanto, a amostra em questão não pode ser considerada como OE, de acordo com a norma estabelecida pela ISO 9235 de 1997, seguida por esse trabalho.

Assim como no capítulo anterior, para a representação visual dos teores das substâncias na análise de correlação entre os OEs dos exemplares de *E. uniflora* coletados nas três regiões mapeadas do Estado do Rio de Janeiro, foram construídos gráficos de colunas empilhadas, em cores, com o auxílio do programa Microsoft Excel (**Figura 26**). Foram consideradas as substâncias com área > 21% e frequência > 60%, além da germacrona e do biciclogermacreno que foram selecionadas no capítulo anterior. Isso foi feito com o intuito de facilitar a visualização da diversidade entre as diferentes amostras, em conjunto com a análise AAH.

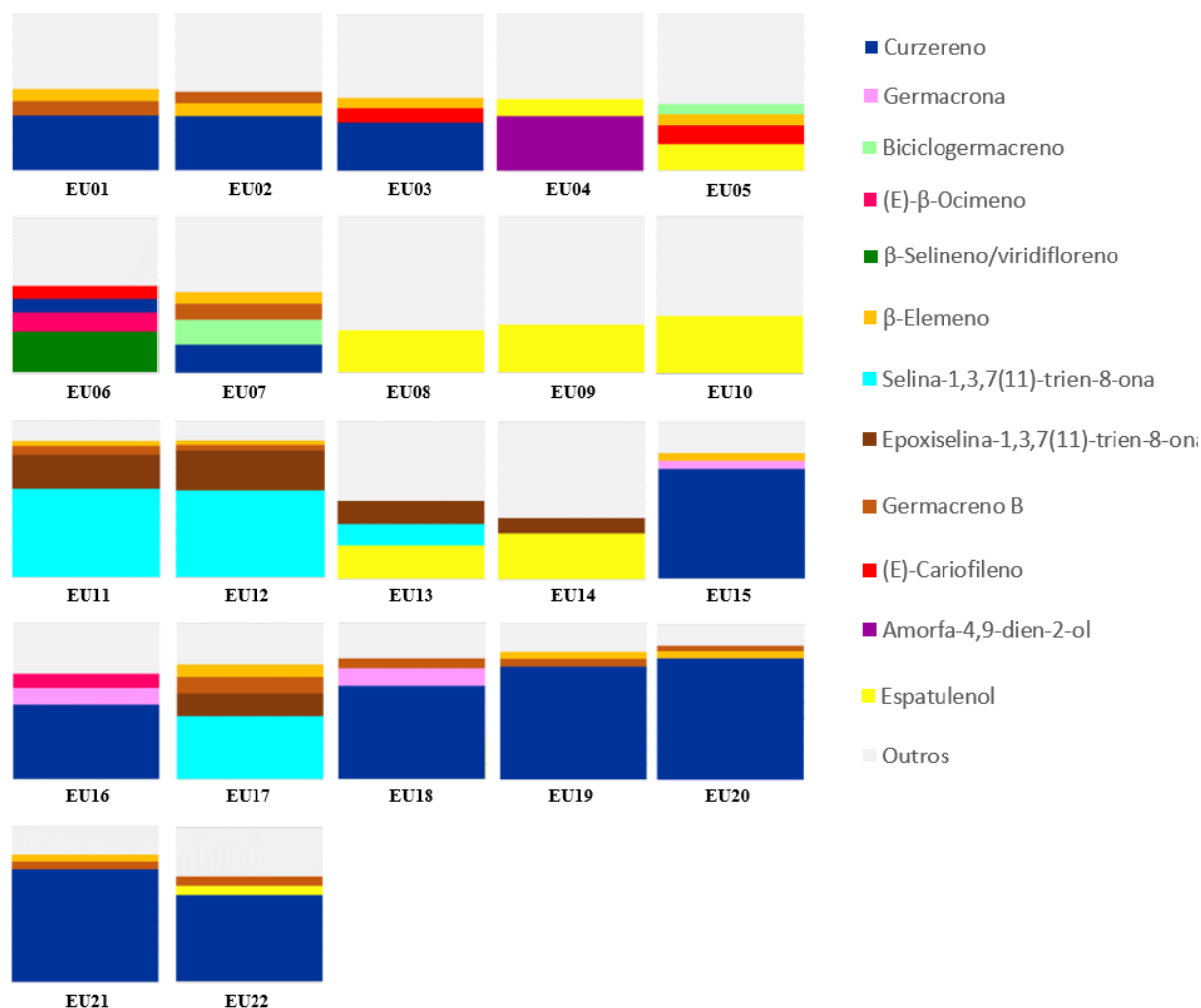


Figura 26. Gráficos de colunas empilhadas com cores, representando as substâncias com os maiores teores nos OEs dos exemplares de *Eugenia uniflora* L. coletados no Rio de Janeiro.

A matriz de dados amostrais foi construída com os mesmos critérios estabelecidos de representatividade das substâncias nos respectivos OEs, abordados no capítulo anterior. Assim, foi obtida uma matriz (22X32), considerando os constituintes químicos com concentração $\geq 5\%$ e/ou frequência $\geq 32\%$.

Assim como no capítulo I, O teste de Mardia foi aplicado para verificação da distribuição simétrica e da curtose, apresentando resultados com $p < 0.001$ e confirmando a hipótese não normalidade. Os dados também precisaram ser normalizados e o método empregado que apresentou o melhor delineamento também foi a normalização por raiz quadrada dos dados amostrais.

A análise da consistência, realizada com base na relação entre a matriz fenética e cofenética foi de 0.9601 (96%), ou seja, uma correlação excelente entre as matrizes, uma vez que a correlação é considerada satisfatória se for maior ou igual a 0,7 e a observada nas análises

foi próxima a 1. Por fim, O número de grupos ótimos presentes no dendrograma (**Figura 28**) gerado pelo método UPGMA dos OEs de *Eugenia uniflora* L. também foi dado pelo método de Kelley et al (1996), sendo que o ponto de corte adequado possibilitou a formação de 6 grupos (**Figura 27**).

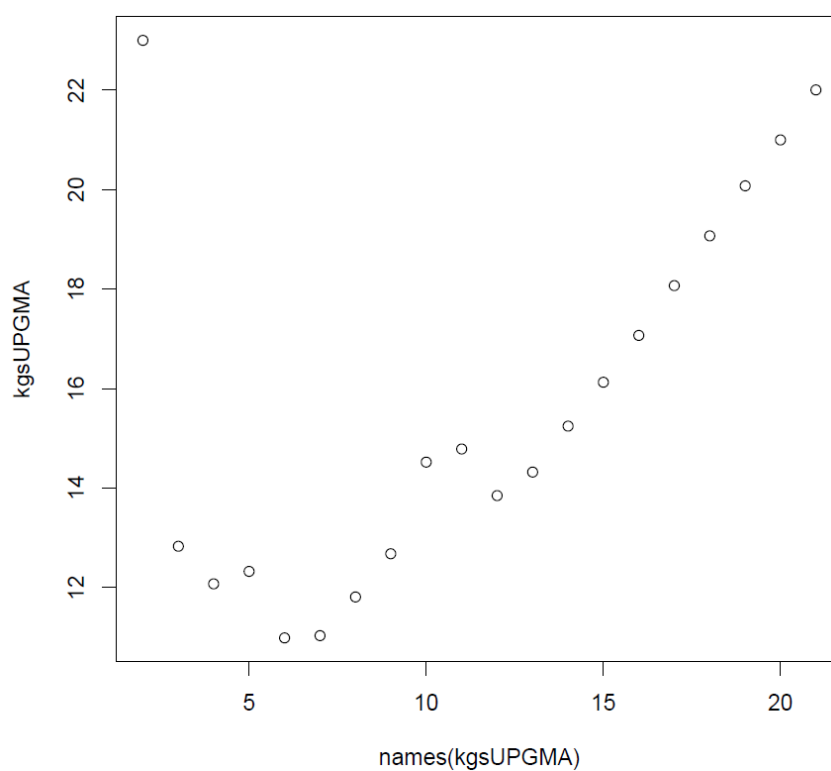


Figura 27. Análise de grupos ótimos KGS para os OEs de *Eugenia uniflora* L.

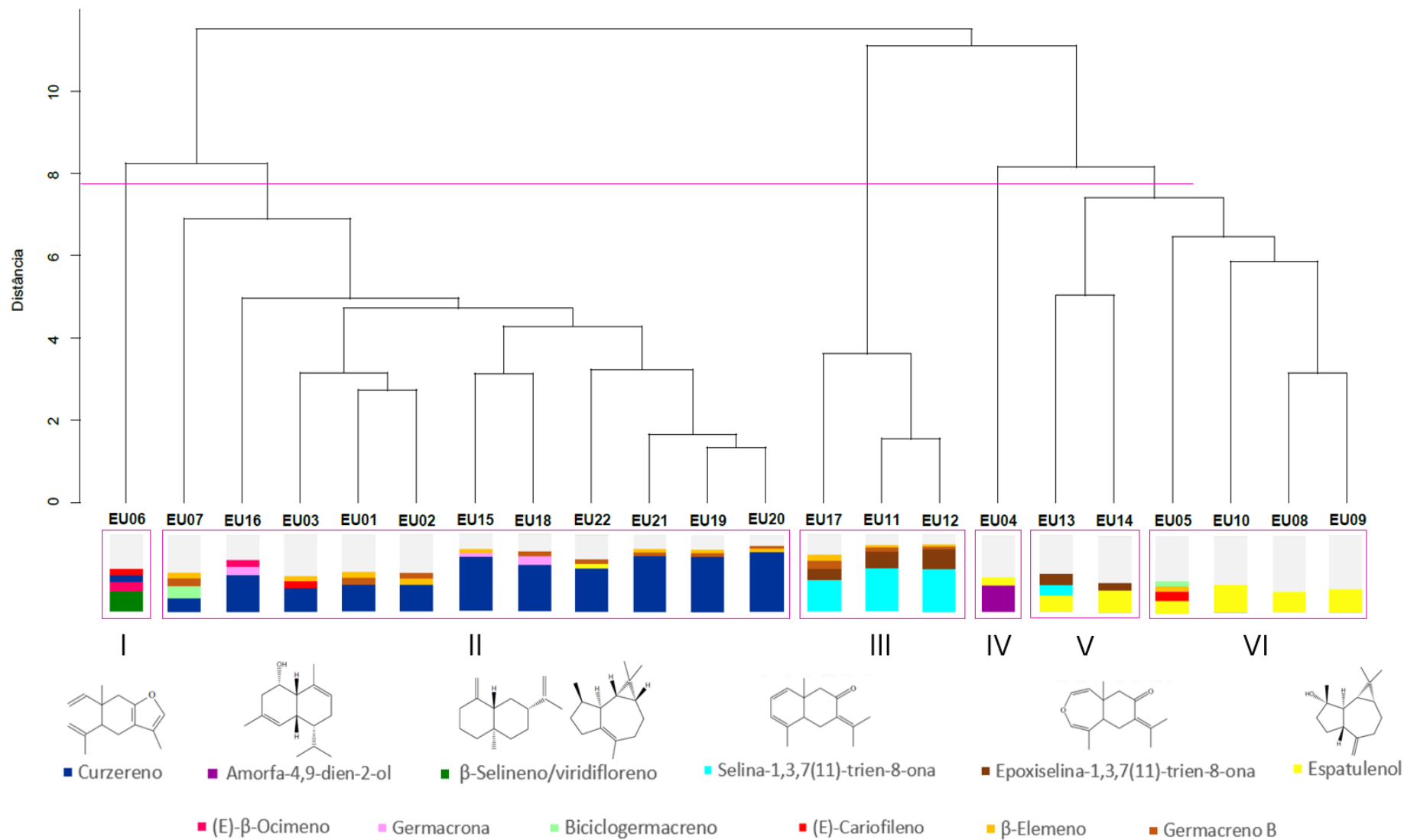


Figura 28. Dendrograma dos OEs de *Eugenia uniflora* L.

No dendrograma, os diferentes OEs de pitangueira foram agrupados e os grupos formados com base na similaridade entre os teores das substâncias presentes nas amostras analisadas. Os grupos I e IV, com EU06 e EU04, respectivamente, foram os que mais se distanciaram dos demais, sendo o primeiro representado pela amostra com dominância de β -selineno e viridifloreno, além de níveis relevantes de (E)- β -ocimeno e curzereno, e o segundo pelo quimiotipo que não foi reportado em literatura com dominância de amorfa-4,9-dien-2-ol, além de níveis significativos de allo-aromadendreno, germacreno A e espatulenol.

O grupo II, com as ressalvas do “rearranjo de Cope” na análise cromatográfica, foi formado majoritariamente pelas amostras que apresentaram os maiores teores percentuais de curzereno, tendo 11 representantes ao total, ou seja, metade das amostras analisadas, das quais 10 foram quimiotipos da substância. Os OEs EU19 e EU20, além de EU21, foram agrupados próximos também por possuírem teores semelhantes de β -elemeno e germacreno B, enquanto EU22 se distanciou dessas três por também possuir um nível pertinente de espatulenol. Por outro lado, EU01 e EU02 também se aproximaram devido aos níveis próximos de β -elemeno e germacreno B, mas com teores um pouco menos expressivos de curzereno no grupo. Isso foi verificado também nos artigos selecionados, em que as amostras L14, L18, L6 e L16, foram agrupadas próximas com níveis parecidos desses dois últimos constituintes, além do predomínio de curzereno. EU03 também se aproximou de EU01 e EU02, pelos teores análogos de curzereno e β -elemeno, mas se distinguiu um pouco de ambas por apresentar quantidades importantes de (E)-cariofileno e germacreno A.

Ainda no grupo II, as amostras EU15 e EU18 se posicionaram adjacentes devido a frações similares de germacrona. Ainda que o OE EU16, tenha apresentado uma certa proporção dessa última substância citada, ele se distanciou por possuir também um nível relevante de (E)- β -ocimeno. Cabe ressaltar que os OEs elucidados por Júnior et al (2021), Sviech et al (2018) e Pereira et al, 2017, também demonstraram um alto percentual de germacrona, embora, como relatado anteriormente, essa substância também seja um produto do “rearranjo de Cope”. A amostra EU07 foi a que mais se distanciou dentro do grupo, sendo a única que não foi quimiotipo curzereno, com níveis menos expressivos desse composto, além de também possuir um bom teor de biciclogermacreno.

Outra observação interessante foi relacionada ao grupo III, que foi formado pelos OEs EU11 e EU12, em que ambos são quimiotipos com predomínio de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona e se aproximaram também pela similaridade, além dessas substâncias, de germacreno B e β -elemeno. Da mesma forma, EU17 também foi um

representante desse grupo, mas se distinguiu por uma maior proporção de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, frente aos demais constituintes, sendo quimiotipo da mesma. Na bibliografia, foram reportados muitos OEs de pitangueira com teores expressivos dos compostos majoritários desse grupo, como foi com L7, L13, L24, L8, L12, L10 e L11, que foram representantes no mesmo grupo por essa razão.

Finalmente, os grupos V e VI foram gerados com base nos teores percentuais expressivos e similares de espatulenol. O grupo VI teve 4 representantes, incluindo os quimiotipos EU08 e EU09, que se aproximaram devido a níveis semelhantes também de 9-*epi*-(*E*)-cariofileno e óxido de cariofileno. Outro quimiotipo espatulenol presente nesse grupo foi o EU10, que se distanciou devido a quantidade considerável de *allo*-aromadendreno detectada nessa amostra. O OE que mais se afastou dos demais nesse grupo, foi o EU05, pois não apresentou teor de espatulenol a nível de quimiotipo e ainda quantidades relevantes de (*E*)-cariofileno, β -elemeno e biciclogermacreno. O grupo V possui 2 representantes, EU13 e EU14, sendo o segundo quimiotipo da substância. Ambos também demonstraram teores semelhantes de epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona. Como mencionado, a maioria dos trabalhos publicados não demonstraram OEs com teores expressivos de espatulenol, com exceção de L15, que teve o maior teor mencionado, ainda que bem menor em comparação com os quimiotipos inéditos presentes nesses dois grupos.

Assim como no capítulo anterior, a realização da análise ACP foi tentada. Semelhante ao que foi observado com os dados trabalhados nos artigos selecionados, os OEs dos exemplares de pitangueira coletados para esse estudo também apresentaram uma diversidade química muito grande. Como um volume grande de variáveis tende a ser prejudicial na análise multivariada como um todo, inicialmente foram consideradas apenas as substâncias representativas. Portanto, de um total de 132 substâncias, 100 foram descartadas, sendo consideradas 32 para análise, de acordo com os critérios previamente estabelecidos. Contudo, também foi averiguado um forte efeito relacionado a multicolinearidade, conforme mostrado na **Tabela 16**, pois a variância acumulada foi de apenas 53% na CP3, devido aos mesmos fatores mencionados no capítulo I. Do mesmo modo, o descarte com base na metodologia de Jolliffe (1973) foi realizado, de forma adicional, com a exclusão de mais 15 variáveis, que contribuíram para variância nas componentes mais distantes, restando 17. Nesse caso, houve uma melhora significativa, mas não suficiente para seguir com a análise ACP, pois a variância acumulada nessa situação foi de 64% na CP3, menor que o mínimo de 70% para uma representação gráfica confiável (**Tabela 17**).

Tabela 16. Variância acumulada e autovalores relacionados as variáveis representativas nos OEs dos exemplares de *Eugenia uniflora* L., coletados no Rio de Janeiro.

Componente principal (CP)	Autovalores(λ_i)	Variância por CP (%)	Variância acumulada (%)
CP1	3,0694	29,44%	29,44%
CP2	2,0170	12,71%	42,15%
CP3	1,8446	10,63%	52,79%
CP4	1,5915	7,92%	60,70%
CP5	1,5656	7,66%	68,36%
CP6	1,5179	7,2%	75,56%

Tabela 17. Variância acumulada e autovalores, após o descarte de variáveis pela metodologia de Jolliffe nos OEs dos exemplares de *Eugenia uniflora* L., coletados no Rio de Janeiro.

Componente principal (CP)	Autovalores(λ_i)	Variância por CP (%)	Variância acumulada (%)
CP1	2,4958	36,64%	36,64%
CP2	1,5905	14,88%	51,52%
CP3	1,4525	12,41%	63,93%
CP4	1,3721	11,08%	75,01%

3. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados nesse trabalho possibilitaram estabelecer as seguintes conclusões:

- i. Os teores percentuais das amostras de OEs analisados variaram entre 0,26% e 2,81%.
- ii. Foi verificada uma grande diversidade química entre os teores e os OEs.
- iii. Os OEs dos acessos de pitangueira de Arraial do Cabo, foram os que apresentaram os maiores rendimentos percentuais, sendo 2,81 e 2,66%.
- iv. Foram identificados 2 quimiotipos que não foram relatados na literatura, os com predomínio de espatulenol foram de quatro exemplares coletados na Região da Baixada Litorânea e a amostra com predomínio de amorfa-4,9-dien-2-ol foi de um exemplar de Grumari.

- v. Os OEs de pitangueira acessada nas três regiões do Estado do Rio de Janeiro apresentaram uma grande diversidade química, sendo identificados seis grupos com base na similaridade química, verificando-se o predomínio das substâncias β -selineno, viridifloreno, curzereno, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona e espatulenol.
- vi. O espatulenol possuiu uma frequência de 95% nos OEs analisados e teores expressivos não reportados em literatura, sobretudo nas amostras de pitangueira acessada nas Baixadas Litorâneas.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De um modo geral, os resultados demonstraram um bom potencial, no que tange a futuras pesquisas com os OEs analisados nesse trabalho. Sobretudo devido identificação de alguns quimiotipos que não foram relatados anteriormente na literatura, abrindo uma perspectiva para estudos de melhoramento genético dos exemplares de pitangueira na produção de óleos essenciais.

Além disso, esses dados também trazem uma possibilidade interessante na realização de outros trabalhos, tais como testes de atividade inseticida, fungicida e carrapaticida, em espécies alvo relacionadas às percas no campo e em grãos armazenados na agricultura, além da realização de testes para verificação de proteção de sementes. Bem como um estudo metabólico para identificar e compreender possíveis interações de uma ou mais substâncias, em determinados alvos bioquímicos nesses organismos.

5. REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. **Allured**, ed. 4.1, 804p. 2017.

ALMEIDA, M. Z. Plantas Medicinais. **EDUFBA**, 3ed. 221 p. Salvador, 2011.

CHANG, R et al. A new approach for quantifying furanodiene and curzerene. A case study on the essential oils of *Eugenia uniflora* (pitangueira) leaves. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, n. 3, p. 392-396, 2011.

DOOL, H. V. D.; KRATZ, D. P. 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.

INEA. Mapas em PDF: Unidades de Conservação Municipal/Estadual/Federal. Disponível em: <https://geoportal.inea.rj.gov.br/portal/apps/experiencebuilder/experience/?id=5543921bb27144c7a8f2a64bf309ad2a>. Acesso em: 23/06/2023.

JOLLIFFE, I. T. Discarding variables in a principal component analysis. **Applied Statistics**, v. 22, p. 21–31, 1973.

JOSÉ, J. V et al. Análise de horário de colheitas e partes da planta para extração de óleo essencial de manjeriço. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 8, p. 55-70, 2015.

JÚNIOR, G. A et al. Study of seasonality and location effects on the chemical composition of essential oils from *Eugenia uniflora* leaves. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 15, n. 7, p. 321-329, 2021.

KELLEY, L. A et al. An automated approach for clustering an ensemble of NMR-derived protein structures into conformationally related subfamilies. **Protein Engineering**, v. 9, n. 11, p. 1063-1065, 1996.

MORAIS, S. M et al. Volatile Constituents of *Eugenia uniflora* Leaf Oil from Northeastern Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 8, n. 4, p. 449-451, 1995.

NASCIMENTO, R. V. Estudo da Espécie *Varronia curassavica* (Boraginaceae) em Fragmentos da Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro, com Base no Perfil Químico dos Óleos Essenciais. Dissertação, PPGQ-UFRRJ, 111 p., 2021.

PEREIRA, N. L. F et al. *In vitro* evaluation of the antibacterial potential and modification of antibiotic activity of the *Eugenia uniflora* L. essential oil in association with led lights. **Microbial Pathogenesis**, v. 110, p. 512-518, 2017.

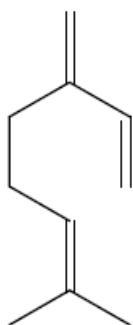
SILVEIRA, R. M et al. Diversidade da Composição Química dos Óleos Essenciais de *Eugenia* – Myrtaceae: uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 33276-33303, Curitiba, 2021.

SVIECH, F et al. Biological Activity of Essential Oil of Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) Leaves. **B. CEPPA**, v. 36, n. 1, p. 28-38, Curitiba, 2018.

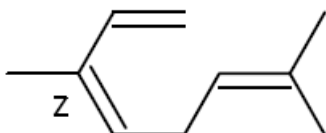
VICTORIA, F. N et al. Essential oils of *E. uniflora* leaves protect liver injury induced by acetaminophen. **Food Bioscience**, v. 4, p. 50-57, 2013.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2013.09.001>

ANEXOS

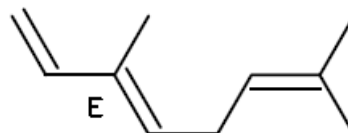
Anexo A. Estruturas das substâncias químicas representativas presentes nos OEs de *Eugenia uniflora* L. dos exemplares coletados no Estado do Rio de Janeiro.



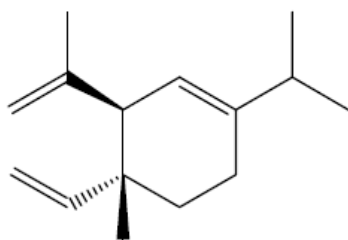
Mirceno



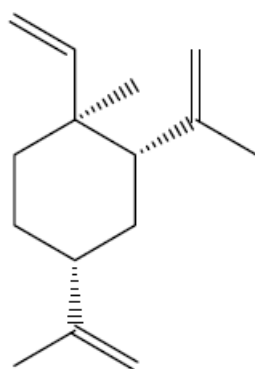
(Z)-β-Ocimeno



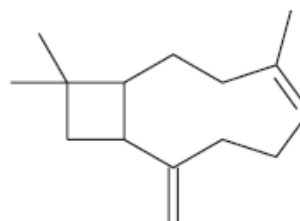
(E)-β-Ocimeno



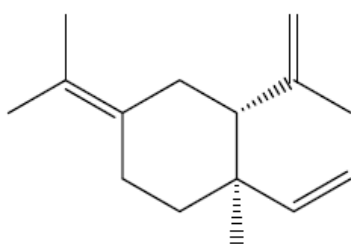
δ-Elemeno



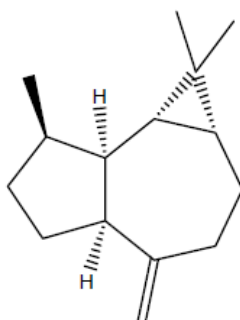
β-Elemeno



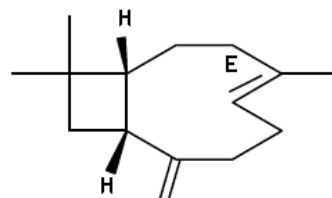
(E)-Cariofileno



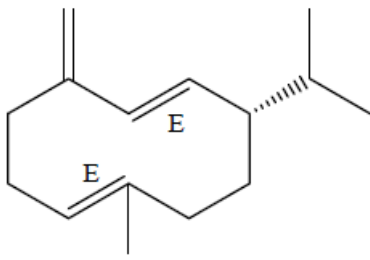
γ-Elemeno



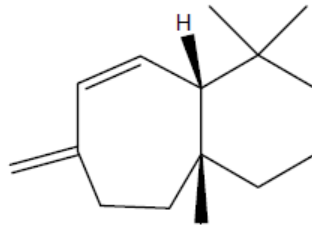
allo-Aromadendreno



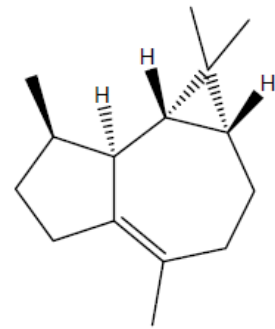
9-epi-(E)-Cariofileno



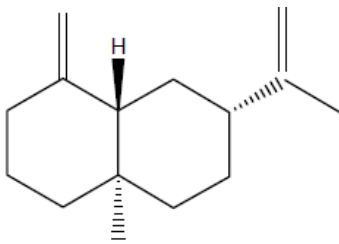
Germacrene D



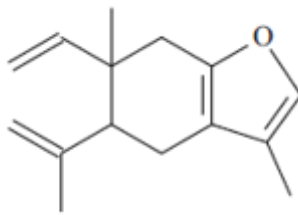
Widdra-2,4(14)-diene



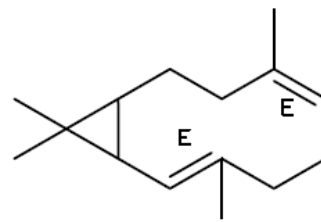
Viridiflorene



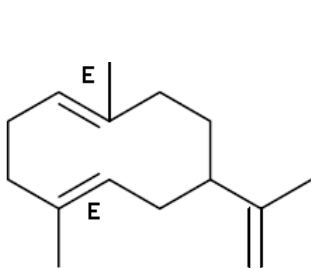
β-Selinene



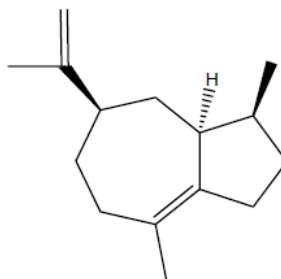
Curzerene



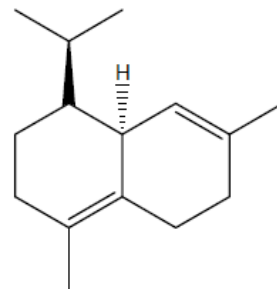
Bicyclgermacrene



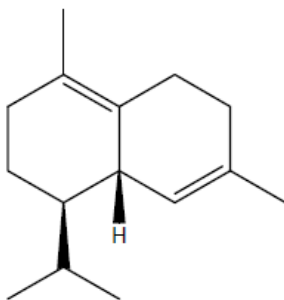
Germacrene A



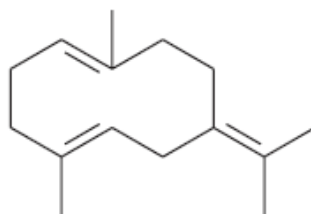
α-Bulnesene



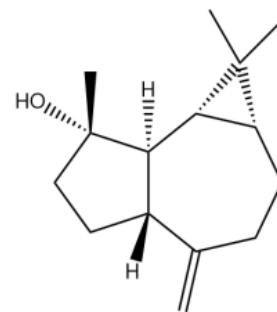
δ-Amorfenol



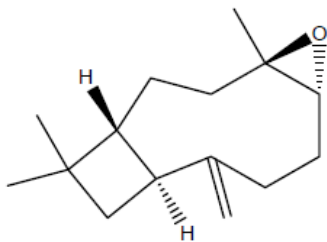
δ-Cadinene



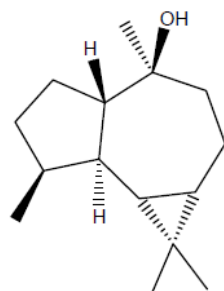
Germacrene B



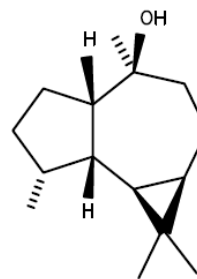
Espatulenol



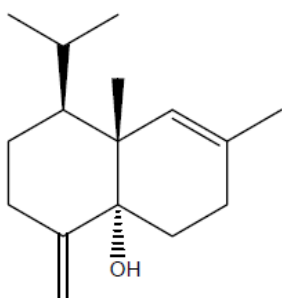
Óxido de Cariofileno



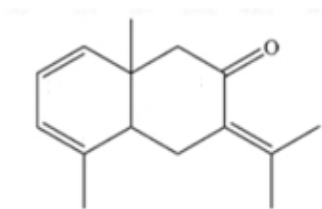
Globulol



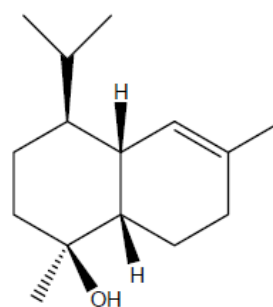
Viridiflorol



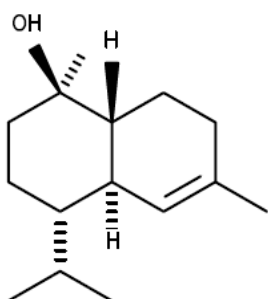
Muurola-4,10(14)-dien-1- β-ol



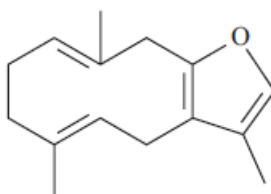
Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona



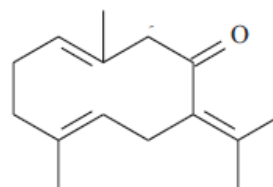
epi-α-Muurolol



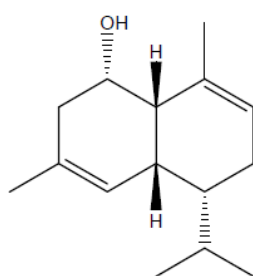
α-Cadinol



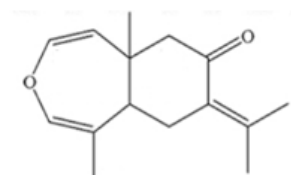
Furodieno



Germacrona



Amorfa-4,9-dien-2-ol



Epoxiselina-1,3,7(11)-trien-8-ona

Anexo B. Autorização de pesquisa científica nas UCs estaduais protegidas pelo INEA.

29/06/2021

SEI/ERJ - 18876019 - Ofício - NI



Governo do Estado do Rio de Janeiro
Instituto Estadual do Ambiente
Diretoria de Biodiversidade Áreas Protegidas e Ecossistemas

AUTORIZAÇÃO DE PESQUISA CIENTÍFICA EM UNIDADE DE CONSERVAÇÃO INEA Nº 023/2021

O Diretor de Biodiversidade, Áreas Protegidas e Ecossistemas do Instituto Estadual do Ambiente – INEA, no uso de suas atribuições legais, considerando a Portaria IEF/RJ/PR nº 227 de 18/12/2007 e considerando, ainda, o que consta no procedimento administrativo SEI-070002/003729/2021, **AUTORIZA** o pesquisador **EDUARDO BARROS DUARTE JUNIOR**, vinculado à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e sua equipe Elisabeth Alves Duarte Pereira, Lucas Medeiros Fagundes, Paulo Ricardo de Souza Faria, Rayssa Vicente Nascimento, Sandra Gomes do Nascimento, Thayná Ferreira Guedes, Ygor Nunes Moreira, Marco Andre Alves de Souza, Rafael Torre, Lucas Oliveira de Souza, a obter dados no Parque Estadual da Costa do Sol (PECS), Parque Estadual Cunhambebe (PEC), Parque Estadual da Ilha Grande (PEIG), Parque Estadual da Lagoa do Açú (PELAG), Parque Estadual da Pedra Branca (PEPB), Parque Estadual da Pedra Selada (PEPS), Parque Estadual da Serra da Concórdia (PESC), Parque Estadual da Serra da Tiririca (PESET), Parque Estadual do Desengano (PED), Parque Estadual Mendanha (PEM), Parque Estadual dos Três Picos (PETP), Refúgio de Vida Silvestre Estadual da Serra da Estrela (REVISSEST), Refúgio de Vida Silvestre Estadual do Médio Paraíba (REVISMEP), Refúgio de Vida Silvestre Estadual Lagoa da Turfeira (REVISTUR), Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba (EEEG), Reserva Biológica Estadual da Praia do Sul (RBPS), Reserva Biológica Estadual de Araras (RBA), Reserva Ecológica Estadual da Juatinga (REEJ), Reserva Biológica Estadual de Guaratiba (RBG), APA de Mangaratiba (APAMAN), APA de Gericinó-Mendanha (APAGM), APA da Bacia do Rio Macacu (APABM), APA da Serra de Sapeatiba (APASES), APA de Maricá (APAMAR), APA de Massambaba (APAMAS), APA de Tamoios (APATAM), APA do Alto Iguaçu (APAIGU), APA do Pau-Brasil (APAPBR), APA do Rio Guandu (APAGDU), APA de Sepetiba II (APASEP), Floresta Estadual José Zago (FLOEJZ), Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Aventureiro (RDSAVENT), Reserva Extrativista Marinha de Itaipu (RESEXMAR), com vistas à execução do projeto de pesquisa “Abordagem Multidisciplinar para o Estudo da Pitangueira em Fragmentos da Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro: Prospecção, Conservação, Exploração e Aplicações Biotecnológicas”, devendo ser observadas as condições discriminadas neste documento e ainda aquelas previstas na Portaria supracitada.

A presente autorização tem validade de 02 (dois) anos a partir da data de sua assinatura.

Condicionantes desta autorização:

1. O pesquisador fica autorizado a:

a) Coletar até 05 (cinco) ramos férteis e inférteis por indivíduo de *Eugenia uniflora*, utilizando tesoura de poda,

b) Coletar até 10 (dez) frutos/sementes por indivíduo de *Eugenia uniflora*.

2. O pesquisador deverá remover todas as marcações e equipamentos das áreas de estudo ao final da pesquisa, sendo sugerida a identificação de todo material deixado na unidade, enquanto o trabalho durar, com o nome da instituição responsável pelo trabalho e o número da Autorização de Pesquisa do INEA.

Anexo C. Autorização de pesquisa científica nas UCs federais protegidas pelo ICMBio.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 78469-1	Data da Emissão: 13/08/2021 21:40:14	Data da Revalidação*: 13/08/2022
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: EDUARDO BARROS DUARTE JUNIOR	CPF: 118.652.047-73
Título do Projeto: Pedido de autorização para realização de estudos com prospeção da pitangueira em unidades de conservação, tanto de uso sustentável, como áreas de proteção no Estado do Rio de Janeiro.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Reconhecimento de área, mapeamento dos territórios e realização dos trabalhos de prospeção	08/2021	12/2022

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Marco André Alves de Souza	Coordenador do projeto	069.677.697-90	Brasileira
2	Ygor Nunes Moreira	Colaborador	142.472.797-93	Brasileira
3	Thayna Ferreira Guedes	Colaboradora	167.972.237-92	Brasileira
4	Sandra Gomes do Nascimento	Colaboradora	057.975.487-12	Brasileira
5	RAYSSA VICENTE NASCIMENTO	Colaboradora	132.550.167-03	Brasileira
6	Paulo Ricardo De Souza Faria	Colaborador	093.259.229-59	Brasileira
7	Lucas Medeiros Fagundes	Colaborador	157.108.577-77	Brasileira
8	Elisabeth Alves Duarte Pereira	Colaboradora	164.134.067-39	Brasileira
9	Rafael Torre	Colaborador	442.333.398-88	Brasileira
10	Lucas Oliveira de Souza	Colaborador	158.672.567-07	Brasileira

Observações e ressalvas

1	O pesquisador somente poderá realizar atividade de campo após o término do estado de emergência devido à COVID-19, assim declarado por ato da autoridade competente.
2	Esta autorização NÃO libera o uso de substância com potencial agrotóxico ou inseticida e NÃO exonera o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
3	Esta autorização NÃO libera o uso de substância com potencial agrotóxico ou inseticida e NÃO exonera o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
5	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0784690120210813

Página 1/13

Anexo D. Requisição para análise cromatográfica dos OEs na CAM-UFRRJ.

 <p>UFRRJ</p>	<p>Instituto de Química – IQ/UFRRJ</p> <p>Central Analítica Multiusuário (CAM) Laboratório de Espectrometria de Massas</p> <p>Técnico Responsável: Cristiane Cardoso dos Santos Prof. Responsável: Rosane N. Castro (nora@ufrj.br)</p> <p>Requisição de Análises para Cromatografia Gasosa</p>				
1) Identificação do solicitante					
Requerente: Eduardo Barros Duarte Junior (Matricula:20211003017) Instituição: PPGQ/UFRRJ Orientador/Colaborador: MARCO ANDRE A. SOUZA	e-mail: decoerej@yahoo.com.br Tel.: 21 98166 2669				
2) Análise solicitada					
(X) CG-MS	(X) CG-FID				
3) Identificação de amostra(s)					
Natureza	Código	Armazenamento	Concentração (mg/mL)	Solvente*	
Óleo Essencial de Eugenia uniflora	EU01 até EU22	() Tamb () geladeira (x) freezer	10 mg/mL	Etanol 95%	
*As amostras não devem conter traços de água, DMSO e DMF					
4) Descrição da metodologia de análise					
Nome do método: IOFI_MARCO ANDRÉ.qgm		() SPLITLESS (X) SPLIT (%) 1/50 ou 1/20			
Faixa de análise de massas: 40 a 400 m/z		Coluna: similar DB5 e HP5			
Programação de temperaturas:					
Injetor: 250 °C	Interface: 310 °C	Fonte: 250 °C	Detector: 250 °C		
<p>O presente pedido diz respeito a análise de óleo essencial da espécie <i>Eugenia uniflora</i>, coletada em diferentes regiões do estado do RJ. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação, submetido a partição química com cloreto de metileno, filtrado e seco com sal anidro e armazenado livre de umidade em freezer -20°C. As amostras foram preparadas diluindo 10 mg de OE + 100 microlitros de solução octanoato de metila (ISTD, 10 mg/mL) em 890 microlitros de etanol absoluto. Concentração do OE na amostra é de 1% (m/v) e a concentração do ISTD é de 0,1% (m/v).</p> <p>Solicito a corrida nas mesmas condições CG-DIC e CG-EM. Serie homóloga de alcanos C7-C30 ou outra disponível. Solicito os relatórios com extensão em pdf e qgd. Solicito a inclusão no relatório do CG-DIC de outras informações relativos a aquisição dos dados como a área absoluta, além do percentual (%) baseado em área relativa.</p>		PROGRAMAÇÃO DE TEMPERATURA			
		Temperatura (°C)	Tempo (min)	Taquec (°C/min)	Tempo (min)
		50° C	5 min	3° C/min	23,3
		120° C		5° C/min	26,0
		250° C		15° C/min	2,7
		290° C	20 min		
Resultados devem ser processados: (x) PDF (x) qgd (extensão GC solution) (x) TIC () Biblioteca Nist () SIM. Ions para Monitoramento: _____					
Observação do Técnico:					
As amostras deverão ser entregues em frascos etiquetados e identificados à lápis, com requisição preenchida e colocados em copos descartáveis com nome do requerente.					
Comprometo-me a cumprir as normas estabelecidas e agradecer à Central Analítica do IQ em todas as publicações científicas.					
Recebida em ____/____/201 às: ____ hs	_____ Assinatura do(a) Orientador (a) Solicitante		_____ Assinatura do(a) Requerente		
Saída em ____/____/201 às: ____ hs	_____ Assinatura da Técnica (criscardoso@ufrj.br)				

Anexo E. Etiquetas com os registros dos exemplares tombados de pitangueira depositados no Herbário RBR-UFRRJ.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56110

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Reserva Biológica Estadual de Guaratiba. Guaratiba. Antiga Embratel. A planta foi localizada próxima a uma rua dentro da antiga Embratel. 22°59'50" S, 43°36'14" W.

Região litorânea. Altura: 4 m. Habitat: Mata Atlântica. Hábito/Forma de vida: Arbóreo. Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 1, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

03-IX-2021



RBR00056110



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56101

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Araruama. Área de Proteção Ambiental Estadual de Massambaba. Praia Seca. A planta foi localizada em uma vegetação na Praia Seca, perto da Avenida Atlântica em Araruama. 22°56'11" S, 42°18'49" W.

Região litorânea. Altura: 0.5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.
Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 11, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

14-X-2021



RBR00056101



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
RBR 56100

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Arraial do Cabo. Área de Proteção Ambiental Estadual de Massambaba. Praia da Figueira. A planta foi localizada em região próxima a praia da Figueira, na beira da Avenida Pedro Francisco Sanhes em Arraial do Cabo. 22°56'40" S, 42°08'58" W.

Região litorânea. Altura: 2.1 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.
Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 11, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

14-X-2021



RBR00056100



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
RBR 56099

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Arraial do Cabo. Área de Proteção Ambiental Estadual de Massambaba. Praia Grande. A planta foi localizada em área de vegetação na Praia Grande, nas proximidades de uma rua sem identificação em Arraial do Cabo. 22°57'25" S, 42°03'2" W.

Região litorânea. Altura: 2.3 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.

Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 12, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

14-X-2021



RBR00056099



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56098

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Cabo Frio. Área de Proteção Ambiental do Rio São João/Mico-Leão-Dourado. Praia das Conchas. A planta foi localizada na beira de uma estrada de terra que leva a praia das conchas no bairro Cajueiro. 22°52'20" S, 41°59'5" W.

Região litorânea. Altura: 3.5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.

Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 13, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

14-X-2021



RBR00056098



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56097

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Búzios. Área de Proteção Ambiental Pau Brasil. Praia das Caravelas. A planta foi localizada na parte baixa da descida da estrada das Caravelas, nas proximidades da praia das Caravelas em uma passagem de água. 22°48'50" S, 41°57'16" W.

Região litorânea. Altura: 1.5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.

Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 14, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.

Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

14-X-2021



RBR00056097



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56096

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Mangaratiba. Reserva Ecológica do Sahy. Píer do Sahy. A planta foi localizada em uma praia no píer do Sahy, próximo à rua Juriti. 22°56'16" S, 43°59'25" W.

Região litorânea. Altura: 2.5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.

Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 15, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.

Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

07-XI-2021



RBR00056096



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56095

MYRTACEAE
Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Mangaratiba. Área de Proteção Ambiental de Mangaratiba. Conceição de Jacaré. Porto Real Resort. A planta foi localizada próximo ao porto Real Resort nas margens da Rodovia Rio Santos em Conceição de Jacaré. 23°02'6" S, 44°09'5" W.

Região litorânea. Altura: 2 m. Habitat: Mata Atlântica. Hábito/Forma de vida: Arbóreo. Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 16, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

07-XI-2021



RBR00056095



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56094

MYRTACEAE
Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Angra dos Reis. Área de Proteção Ambiental de Mangaratiba. Pontal. Alameda dos Sabiás. A planta foi localizada próximo a alameda dos sabiás, as margens da Rodovia Rio Santos no bairro Pontal em Angra dos Reis. 22°56'52" S, 44°19'43" W.

Região litorânea. Altura: 3.2 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo. Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 17, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

07-XI-2021



RBR00056094



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
RBR 56093

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Angra dos Reis. Parque Nacional da Serra da Bocaina. Praia dos Recifes. A planta foi localizada na Praia dos Recifes próximo a Estrada dos Recifes em Angra dos Reis. 22°56'52" S, 44°25'10" W.

Região litorânea. Altura: 4 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo. Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 18, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

07-XI-2021



RBR00056093



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
RBR 56109

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Parque Natural Municipal de Grumari. Grumari. Estrada do Grumari. A planta foi localizada na beira da estrada do Grumari, próximo a sede administrativa de parque. 23°02'57" S, 43°32'18" W.

Região litorânea. Altura: 2 m. Habitat: Mata Atlântica. Hábito/Forma de vida: Arbóreo. Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 2, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

03-IX-2021



Proj.: Prospecção da pitangueira.

RBR00056109



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56092

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Angra dos Reis. Parque Nacional da Serra da Bocaina. Praia Vermelha. A planta foi localizada na Praia Vermelha, próximo a Rua das Canoas em Angra dos Reis. 22°01'30" S, 44°30'2" W.

Região litorânea. Altura: 5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.

Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 19, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.

Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

07-XI-2021



RBR00056092



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56091

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Paraty. Parque Nacional da Serra da Bocaina. Praia do Coqueiro. A planta foi localizada na Praia do Coqueiro, próximo a Rodovia Governador Mario Covas em Paraty. 23°02'12" S, 44°33'24" W.

Região litorânea. Altura: 4 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.

Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 20, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

07-XI-2021



RBR00056091



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56090

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Paraty. Parque Nacional da Serra da Bocaina. Praia de São Gonçalo. A planta foi localizada nas proximidades da praia de São Gonçalo, perto da Rodovia Rio Santos em Paraty. 23°02'36" S, 44°37'15" W.

Região litorânea. Altura: 2.5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.
Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 21, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

07-XI-2021



RBR00056090



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56089

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Paraty. Parque Nacional da Serra da Bocaina. Praia Areal do Taquari. A planta foi localizada na praia Areal do Taquari, próximo a uma rua de terra sem identificação em Paraty. 23°03'47" S, 44°40'41" W.

Região litorânea. Altura: 2 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.

Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 22, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

07-XI-2021



RBR00056089



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
RBR 56108

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Parque Natural Municipal de Grumari.
Grumari. Praia de Grumari. A planta foi localizada na beira da av. Estado da
Guanabara, próximo a praia. 23°02'52" S, 43°31'16" W.

Região litorânea. Altura: 1 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.

Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 3, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

03-IX-2021



RBR00056108



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
RBR 56107

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Parque Natural Municipal de Grumari. Grumari. Praia do Secreto. A planta foi localizada em uma formação rochosa entre a estrada do pontal e av. Estado da Guanabara, próximo a praia do secreto. 23°02'2" S, 43°29'35" W.

Região litorânea. Altura: 1.5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo. Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 4, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R. Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

03-IX-2021



RBR00056107



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56106

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Parque Estadual Maciço da Pedra Branca. Jacarepaguá. Pedra Branca. A planta foi localizada em uma área de vegetação fechada dentro da sede administrativa do INEA na Estrada do Pau da Fome, no parque Estadual da Pedra Branca. 22°55'58" S, 43°26'40" W.

Região litorânea. Altura: 8 m. Habitat: Mata Atlântica. Hábito/Forma de vida: Arbóreo. Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 5, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R. Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

03-IX-2021



RBR00056106



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56105

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Maricá. Área de Proteção Ambiental Estadual de Maricá. Avenida Maysa. A planta foi localizada à beira da Avenida Maysa, próximo a um grande Lago e orla no Bairro Inoã em Maricá. 22°57'17" S, 42°53'6" W.

Região litorânea. Altura: 2.2 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.
Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 6, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

14-X-2021



RBR00056105



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 56104

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Maricá. Área de Proteção Ambiental Estadual de Maricá. Avenida Reginaldo Zeidan. A planta foi localizada próxima a uma praça entre a Avenida Reginaldo Zeidan e a Avenida Maysa, em região perto de um Lago e orla no bairro Zacarias em Maricá. 22°57'33" S, 42°48'2" W.

Região litorânea. Altura: 3 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.
Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 7, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

14-X-2021





Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
RBR 56103

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Saquarema. Parque Estadual da Costa do Sol. Ponta Negra. Praia de Jaconé. A planta foi localizada a beira da praia e próximo a um grande lago na Avenida A, no Bairro Jaconé em Ponta Negra. 22°56'11" S, 42°38'46" W.

Região litorânea. Altura: 1.5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.
Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira

E.B. Duarte-Junior, 8, M.A. Souza, E.A.D. Pereira, R.
Torre, L.O. Souza

Proj.: Prospecção da pitangueira.

14-X-2021



RBR00056103



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
RBR 56102

MYRTACEAE

Eugenia uniflora L.

Brasil, Rio de Janeiro, Saquarema. Área de Proteção Ambiental Estadual de Massambaba. Praia de Massambaba. A planta foi localizada próximo a rua Mar Novo na Vilatur, na área da praia de Massambaba em Saquarema. 22°56'2" S, 42°27'31" W.

Região litorânea. Altura: 1 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbóreo.
Usos: Fitoterápico e alimentício.

Nome popular: Pitangueira



Anexo F. Cronograma com as atividades realizadas durante a realização do mestrado.

Atividades	Atividade trimestral									
	0-15					16-30				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Cadastro do projeto e solicitação de autorização aos órgãos e institutos de proteção ambiental para coleta.	x	x	x							
Prospecção da pitangueira no estado do Rio de Janeiro.			x	x						
Preparação e confecção de exsicatas e registro no Herbário da UFRRJ.				x						
Extração dos óleos essenciais de pitangueira coletados "in situ".			x	x						
Análise do perfil químico dos óleos essenciais.							x	x	x	
Análise estatística e comparação dos resultados.							x	x	x	
Organização dos dados e preparação da dissertação.						x	x	x	x	x
Disciplinas do curso, seminários e defesa de dissertação.	x	x	x	x	x	x			x	x
Revisão de literatura, reuniões de grupos de pesquisa, atividades de organização do laboratório.	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Participação em eventos científicos e anais.			x			x				x

Anexo G. Índice de retenção aritmética calculado e área percentual das amostras analisadas por CG-MS e CG-FID, considerando os picos úteis.

Amostra 1				Amostra 2			
Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)	Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	16,107	986	0,54	1	16,291	990	0,87
2	18,690	1034	0,56	2	18,870	1037	2,53
3	19,276	1044	1,52	3	19,461	1048	5,45
4	33,625	1337	0,63	4	33,762	1341	0,45
5	35,656	1392	7,67	5	35,789	1395	8,30
6	36,791	1426	4,29	6	36,921	1430	4,25
7	36,994	1433	3,41	7	37,117	1437	1,96
8	38,461	1479	0,37	8	38,593	1483	0,39
9	38,751	1488	3,43	9	38,879	1492	4,30
10	39,148	1501	34,93	10	39,267	1505	34,80
11	39,225	1504	3,48	11	39,348	1508	4,21

12	39,378	1509	0,47	12	39,902	1528	0,45
13	39,779	1524	0,33	13	41,256	1576	7,26
14	41,143	1572	9,48	14	41,743	1594	1,97
15	41,618	1589	1,62	15	41,926	1600	0,34
16	41,799	1596	0,22	16	42,009	1603	0,58
17	42,940	1640	1,78	17	42,258	1613	0,34
18	43,642	1667	0,94	18	43,064	1645	1,77
19	43,870	1676	2,58	19	43,768	1672	0,87
20	44,768	1712	0,91	20	43,992	1681	2,38
21	44,880	1717	0,26	21	45,842	1757	0,57
22	45,092	1726	0,36	22	46,145	1770	0,37
23	45,725	1752	1,48	23	48,344	1866	0,36
24	46,027	1765	0,78	24	48,781	1886	1,31
25	48,229	1861	0,92	25	49,377	1913	7,69
26	48,665	1881	0,54	26	51,315	2005	5,86
27	49,275	1908	10,88	27	51,461	2012	0,38
28	51,205	1999	5,60				

Amostra 3

Amostra 4

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)	Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	19,261	1044	0,34	1	33,457	1332	0,62
2	33,609	1336	0,94	2	34,296	1355	0,39
3	35,371	1384	0,09	3	35,569	1389	0,49
4	35,635	1391	6,64	4	36,718	1424	2,02
5	36,779	1426	9,21	5	38,057	1466	7,05
6	36,973	1432	2,28	6	38,681	1486	1,86
7	37,943	1463	0,17	7	39,012	1497	1,43
8	38,092	1467	0,09	8	39,145	1501	2,49
9	38,73	1488	4,48	9	39,611	1518	1,49
10	39,111	1500	30,68	10	39,728	1522	5,80
11	39,203	1503	8,58	11	40,018	1532	0,80
12	39,761	1523	0,11	12	41,245	1576	1,27
13	41,112	1571	8,80	13	41,581	1588	10,71
14	41,598	1588	1,72	14	41,748	1594	0,96
15	41,779	1595	0,82	15	42,688	1630	1,69
16	41,866	1598	0,80	16	42,742	1632	5,39
17	42,115	1608	0,66	17	43,042	1644	1,73
18	42,915	1639	1,03	18	43,248	1652	1,54
19	43,082	1645	0,22	19	43,305	1654	3,18
20	43,636	1667	0,08	20	43,445	1660	0,82

21	43,844	1675	0,74	21	43,626	1667	5,49
22	44,736	1711	0,12	22	45,178	1729	35,04
23	48,647	1880	1,30	23	46,412	1781	3,54
24	49,25	1907	13,31	24	46,644	1791	0,91
25	51,179	1998	6,46	25	46,999	1806	0,80
26	51,329	2006	0,33	26	49,119	1901	1,50
				27	49,314	1910	0,76
				28	52,872	2082	0,24

Amostra 5

Amostra 6

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)	Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	35,776	1395	7,03	1	16,115	987	1,75
2	36,928	1431	11,78	2	18,696	1034	5,55
3	37,107	1436	1,76	3	19,302	1045	12,32
4	38,082	1467	0,51	4	22,259	1098	1,06
5	38,232	1472	1,26	5	35,641	1391	4,91
6	38,583	1483	2,13	6	36,791	1426	8,51
7	38,864	1492	0,45	7	36,974	1432	1,38
8	39,199	1503	6,16	8	37,945	1463	0,43
9	39,336	1508	6,80	9	38,096	1468	0,56
10	39,888	1527	0,41	10	38,453	1479	0,39
11	41,236	1576	4,42	11	38,741	1488	3,60
12	41,769	1595	16,75	12	39,148	1501	26,33
13	41,934	1601	4,77	13	39,232	1504	8,51
14	42,016	1604	1,02	14	39,767	1523	0,47
15	42,259	1613	0,50	15	41,129	1572	5,93
16	43,064	1645	3,30	16	41,434	1583	0,33
17	43,212	1650	2,23	17	41,606	1589	0,62
18	43,780	1673	1,12	18	41,872	1598	1,27
19	43,949	1679	1,62	19	42,130	1608	1,20
20	44,140	1687	0,59	20	42,905	1638	0,83
21	44,860	1716	0,41	21	43,638	1667	0,77
22	45,206	1731	0,95	22	43,858	1676	1,98
23	45,841	1757	1,98	23	48,662	1881	0,69
24	46,139	1770	0,80	24	49,267	1908	6,72
25	46,810	1798	0,95	25	51,194	1999	3,52
26	48,338	1866	0,47	26	51,342	2006	0,37
27	48,779	1886	1,78				
28	49,382	1914	10,63				
29	51,317	2005	9,18				

Amostra 7

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	19,464	1048	1,07
2	22,455	1102	1,05
3	33,750	1340	1,25
4	35,769	1395	7,33
5	36,895	1430	0,43
6	37,100	1436	3,54
7	38,221	1472	0,98
8	38,572	1483	0,53
9	38,861	1492	5,32
10	39,223	1504	18,31
11	39,344	1508	15,78
12	39,476	1513	0,56
13	39,883	1527	0,75
14	41,245	1576	10,23
15	41,552	1587	0,59
16	41,722	1593	0,51
17	41,987	1603	2,55
18	42,245	1613	2,87
19	42,534	1624	0,48
20	43,010	1643	1,17
21	43,767	1672	0,75
22	43,946	1679	1,59
23	44,863	1716	2,05
24	49,380	1913	13,76
25	51,300	2004	5,99
26	51,448	2012	0,56

Amostra 8

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	19,231	1043	1,13
2	22,223	1098	2,57
3	33,473	1333	1,13
4	34,308	1355	0,68
5	35,583	1390	0,81
6	36,732	1424	4,64
7	38,076	1467	12,05
8	38,966	1495	1,48
9	39,150	1501	1,66
10	39,609	1518	1,17
11	39,732	1522	2,56
12	40,025	1532	1,95
13	41,335	1579	0,43
14	41,633	1590	26,94
15	41,780	1595	9,99
16	42,750	1632	3,72
17	43,053	1644	2,14
18	43,256	1652	1,05
19	43,314	1654	2,22
20	43,629	1667	2,94
21	44,055	1683	1,33
22	44,734	1711	0,83
23	45,128	1727	0,85
24	46,428	1782	7,93
25	46,652	1791	0,85
26	47,832	1843	0,72
27	47,949	1849	0,95
28	49,131	1902	3,76
29	49,320	1911	1,52

Amostra 9

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	16,028	985	1,19
2	18,603	1032	0,93
3	19,186	1043	1,48
4	22,176	1097	1,47
5	36,703	1423	3,83
6	38,038	1466	7,98
7	39,126	1500	0,53
8	39,576	1516	1,12
9	39,707	1521	2,09

Amostra 10

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	33,702	1339	0,92
2	36,934	1431	0,60
3	38,285	1474	13,43
4	39,156	1501	0,77
5	39,792	1524	1,19
6	39,923	1529	1,51
7	40,221	1539	2,39
8	41,532	1586	0,90
9	41,624	1589	0,55

10	40,000	1531	2,00	10	41,835	1597	36,69
11	41,237	1576	1,62	11	41,973	1602	5,90
12	41,328	1579	0,54	12	42,056	1605	1,06
13	41,597	1588	30,55	13	42,934	1640	2,03
14	41,749	1594	8,25	14	43,242	1652	1,55
15	42,726	1631	4,72	15	43,504	1662	1,64
16	43,027	1643	2,32	16	43,815	1674	1,50
17	43,290	1654	2,90	17	43,947	1679	0,77
18	43,608	1666	2,92	18	44,244	1691	1,54
19	43,736	1671	0,78	19	44,544	1703	1,98
20	44,029	1682	2,06	20	44,918	1718	1,40
21	44,712	1710	1,35	21	45,318	1735	3,84
22	45,108	1726	3,08	22	46,617	1790	8,77
23	46,407	1781	7,70	23	46,836	1799	0,96
24	46,982	1805	0,82	24	47,186	1815	0,80
25	47,535	1830	0,75	25	48,022	1852	0,83
26	47,814	1843	0,81	26	48,139	1857	1,07
27	47,930	1848	1,14	27	49,313	1910	3,07
28	48,980	1895	0,58	28	49,514	1920	2,32
29	49,110	1901	2,77				
30	49,305	1910	1,73				

Amostra 11

Amostra 12

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)	Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	19,312	1045	0,28	1	19,227	1043	0,35
2	22,305	1099	0,29	2	33,574	1335	0,24
3	33,636	1337	0,39	3	35,599	1390	2,81
4	35,655	1392	2,92	4	36,735	1424	1,07
5	36,792	1426	0,94	5	36,941	1431	1,59
6	37,001	1433	2,31	6	38,059	1466	0,13
7	38,470	1479	0,17	7	38,414	1478	0,16
8	38,755	1488	1,83	8	38,698	1487	1,33
9	39,039	1497	0,51	9	38,984	1496	0,60
10	39,214	1503	1,66	10	39,158	1501	1,90
11	39,784	1524	0,20	11	39,728	1522	0,18
12	40,258	1541	0,20	12	40,201	1539	0,13
13	41,143	1572	5,89	13	41,076	1570	3,49
14	41,346	1579	0,19	14	41,291	1578	0,34
15	41,627	1590	0,16	15	41,574	1588	0,34
16	42,102	1607	0,74	16	41,838	1597	0,30
17	43,079	1645	56,39	17	42,088	1607	0,40
18	43,685	1669	0,19	18	43,044	1644	55,70
19	43,846	1675	0,37	19	43,632	1667	0,19
20	44,040	1683	0,14	20	43,791	1673	0,41

21	44,130	1686	0,33	21	43,984	1681	0,14
22	44,770	1712	1,64	22	44,074	1684	0,42
23	45,102	1726	0,28	23	44,700	1709	0,39
24	45,905	1760	21,54	24	44,806	1714	0,16
25	48,104	1856	0,43	25	45,044	1724	0,28
				26	45,869	1758	25,76
				27	48,043	1853	0,17
				28	51,145	1997	0,99

Amostra 13

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	16,459	993	0,5
2	33,803	1342	1,9
3	34,630	1364	1,2
4	35,459	1386	0,8
5	37,032	1434	1,2
6	38,375	1476	8,0
7	39,252	1505	0,4
8	39,445	1512	1,0
9	39,906	1528	1,0
10	40,023	1532	4,0
11	40,315	1543	1,1
12	41,626	1589	0,5
13	41,919	1600	21,2
14	42,067	1606	6,2
15	43,222	1651	13,9
16	43,338	1655	1,0
17	43,602	1666	4,2
18	43,923	1678	4,7
19	44,612	1706	1,9
20	45,000	1722	0,6
21	45,390	1738	1,3
22	46,100	1768	14,7
23	46,699	1793	4,0
24	47,281	1819	0,9
25	48,100	1855	0,4
26	48,227	1861	0,5
27	49,398	1914	1,3
28	49,603	1924	1,0
29	51,407	2010	0,7

Amostra 14

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	16,209	988	0,5
2	33,617	1337	2,4
3	34,450	1359	1,5
4	35,284	1379	1,0
5	36,856	1428	1,2
6	38,202	1471	10,1
7	39,277	1506	0,9
8	39,740	1522	1,1
9	39,855	1526	4,1
10	40,147	1537	1,1
11	41,461	1584	0,6
12	41,754	1594	29,4
13	41,899	1599	8,3
14	43,025	1643	6,2
15	43,164	1649	1,4
16	43,372	1657	1,3
17	43,431	1659	3,1
18	43,749	1671	4,5
19	43,877	1676	0,6
20	44,444	1699	1,1
21	44,831	1715	1,0
22	45,132	1727	1,0
23	45,236	1732	0,7
24	45,910	1760	9,8
25	46,532	1786	3,8
26	47,118	1812	0,7
27	49,234	1907	1,1
28	49,435	1916	1,3

Amostra 15

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	16,124	987	0,6
2	19,289	1045	0,5
3	33,638	1337	0,6
4	35,664	1392	4,9
5	36,797	1426	0,7
6	37,003	1433	1,8
7	38,48	1480	0,2
8	38,762	1489	3,0
9	38,883	1493	0,1
10	39,201	1503	70,2
11	39,399	1510	0,6
12	39,798	1524	0,3
13	41,142	1572	4,8
14	41,634	1590	0,3
15	41,905	1599	0,7
16	42,108	1607	2,1
17	42,95	1640	0,6
18	43,66	1668	0,8
19	43,893	1677	1,9
20	44,812	1714	5,2
21	46,709	1794	0,2
22	49,255	1908	0,1

Amostra 16

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	16,078	986	4,5
2	18,075	1022	1,0
3	18,652	1033	3,9
4	19,243	1044	9,2
5	35,62	1391	3,9
6	36,76	1425	1,5
7	36,962	1432	0,7
8	38,728	1488	2,0
9	39,134	1501	48,4
10	39,76	1523	0,2
11	41,101	1571	3,6
12	41,6	1589	1,2
13	41,784	1595	0,1
14	41,878	1598	0,5
15	42,077	1606	2,0
16	42,923	1639	1,2
17	43,626	1667	1,1
18	43,859	1676	3,8
19	43,944	1679	0,4
20	44,801	1714	10,2
21	49,207	1905	0,6

Amostra 17

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	16,45	993	0,5
2	19,029	1040	0,3
3	19,611	1050	0,7
4	35,879	1398	7,8
5	37,014	1433	4,1
6	37,214	1440	4,9
7	38,18	1470	0,2
8	38,678	1486	0,4
9	38,961	1495	3,0
10	39,244	1504	1,1
11	39,422	1511	2,0
12	39,979	1531	0,4
13	41,348	1580	10,5
14	41,829	1597	1,0
15	42,009	1603	0,3
16	42,291	1614	0,5
17	43,218	1651	41,1
18	43,868	1676	0,6
19	44,036	1683	1,0
20	44,224	1690	0,3

Amostra 18

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	19,323	1045	0,5
2	33,655	1338	0,4
3	35,676	1392	4,5
4	37,018	1433	3,1
5	38,136	1469	0,2
6	38,49	1480	0,3
7	38,772	1489	2,0
8	38,9	1493	0,2
9	39,195	1503	60,2
10	39,806	1525	0,3
11	40,274	1541	0,2
12	40,463	1548	0,1
13	40,601	1553	0,2
14	41,157	1573	6,4
15	41,639	1590	0,2
16	41,909	1600	0,6
17	41,976	1602	0,3
18	42,122	1608	4,8
19	42,947	1640	0,6
20	43,672	1668	0,8

21	44,951	1720	1,0	21	43,897	1677	2,3
22	45,063	1725	0,4	22	44,837	1715	11,4
23	45,296	1734	0,6	23	45,206	1731	0,2
24	45,929	1761	0,7				
25	46,055	1766	14,5				
26	46,24	1774	0,7				
27	48,861	1889	1,3				

Amostra 19

Amostra 20

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)	Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	16,098	986	0,4	1	18,674	1033	0,3
2	18,104	1023	0,7	2	19,258	1044	0,7
3	18,677	1033	0,8	3	33,599	1336	0,6
4	19,263	1044	2,0	4	35,627	1391	4,7
5	33,604	1336	0,3	5	36,766	1425	2,6
6	35,629	1391	4,4	6	36,968	1432	1,6
7	36,767	1426	1,8	7	37,939	1463	0,2
8	36,973	1432	2,4	8	38,447	1479	0,2
9	38,445	1479	0,2	9	38,731	1488	2,3
10	38,728	1488	1,9	10	38,854	1492	0,1
11	39,172	1502	72,7	11	39,176	1502	78,8
12	39,366	1509	0,6	12	39,368	1509	0,6
13	39,767	1523	0,3	13	39,769	1523	0,2
14	41,111	1571	5,0	14	41,104	1571	3,4
15	41,6	1589	0,8	15	41,603	1589	0,2
16	41,776	1595	0,1	16	41,876	1598	0,3
17	41,871	1598	0,6	17	42,115	1608	0,3
18	42,126	1608	0,6	18	43,626	1667	0,7
19	42,916	1639	0,7	19	43,862	1676	2,1
20	43,628	1667	0,9	20	46,676	1792	0,3
21	43,858	1676	2,4				
22	44,654	1707	0,2				
23	46,673	1792	0,3				

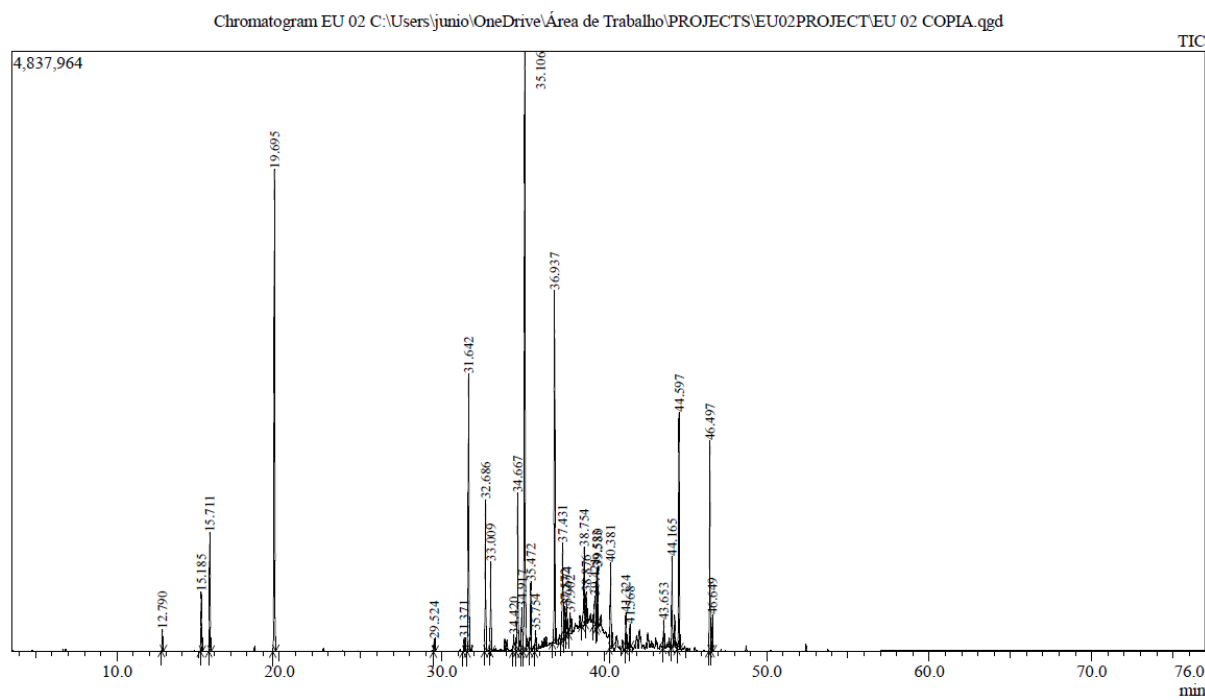
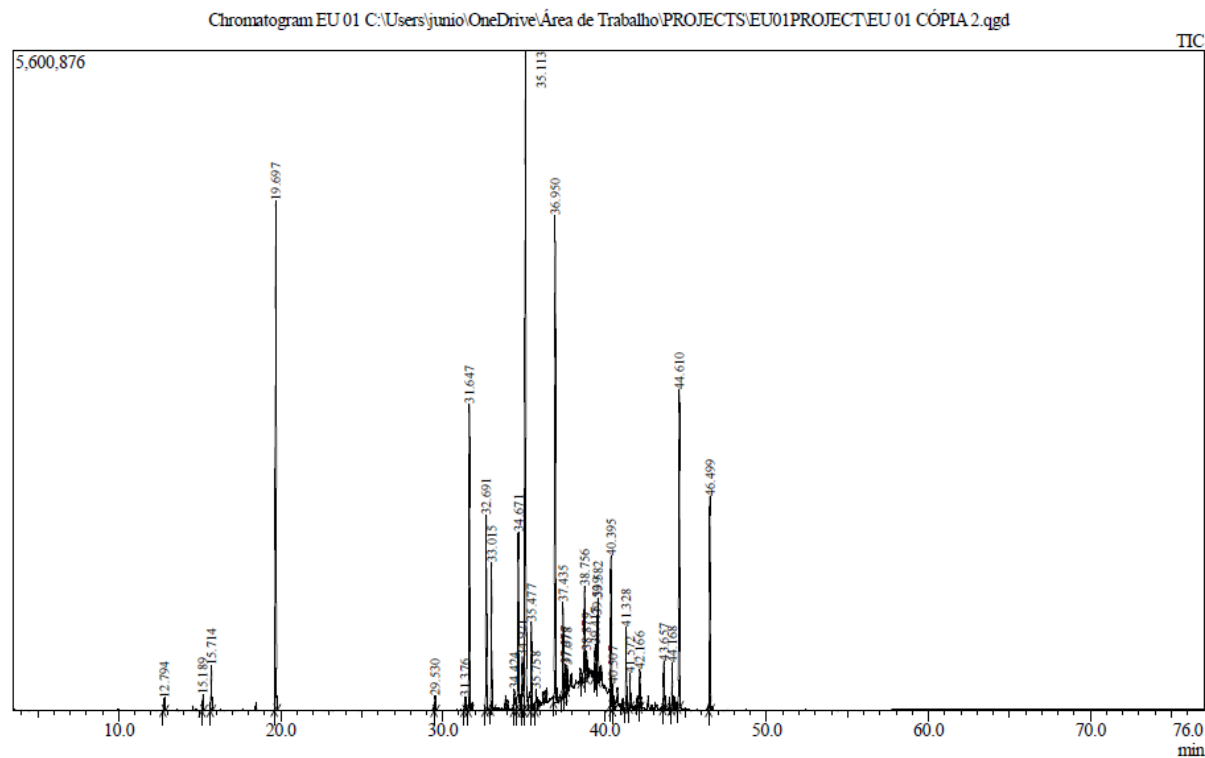
Amostra 21

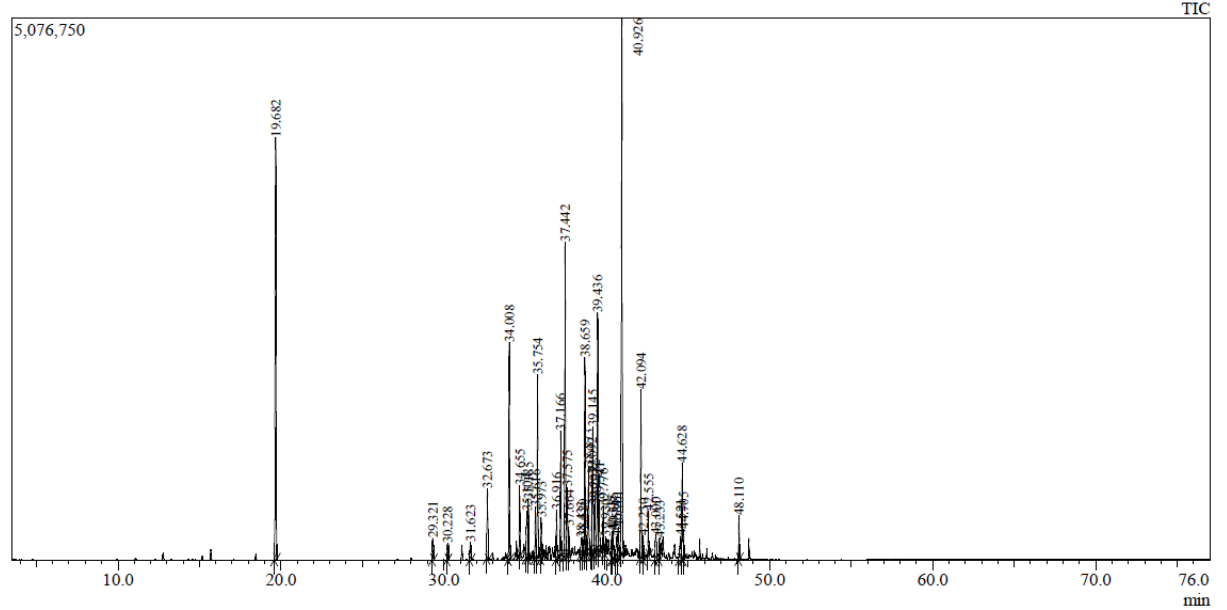
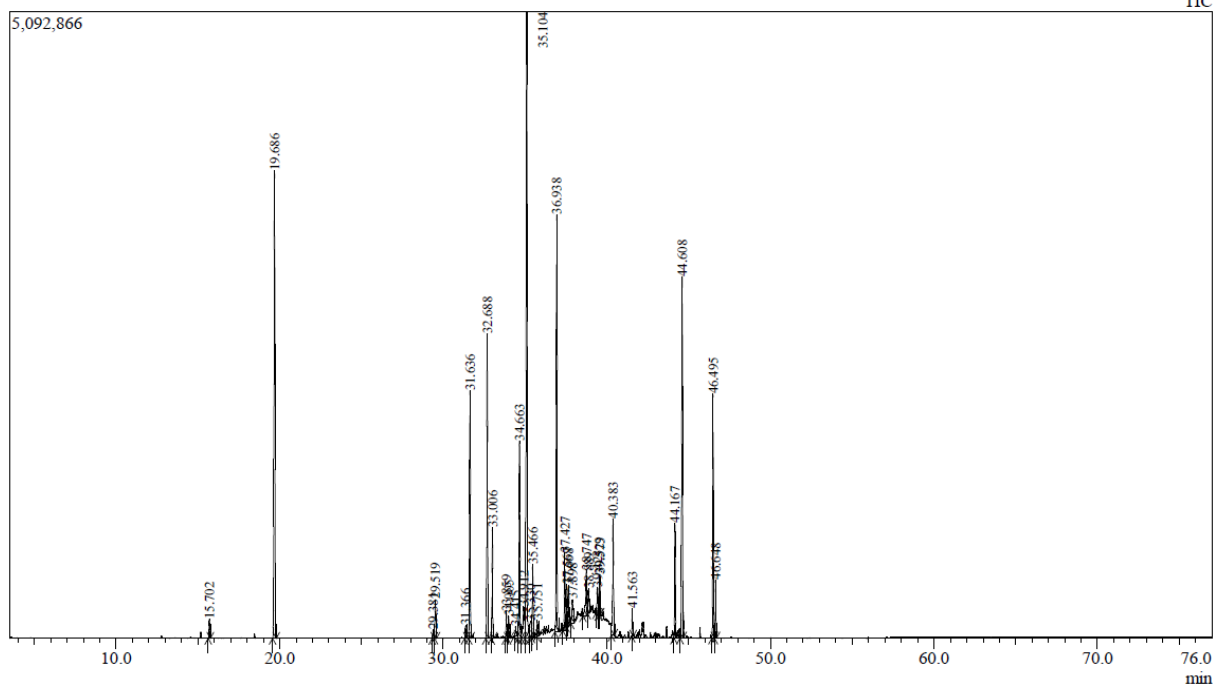
Amostra 22

Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)	Nº Pico	TR	IR calc	Área (%)
1	19,442	1047	0,7	1	16,114	987	0,8

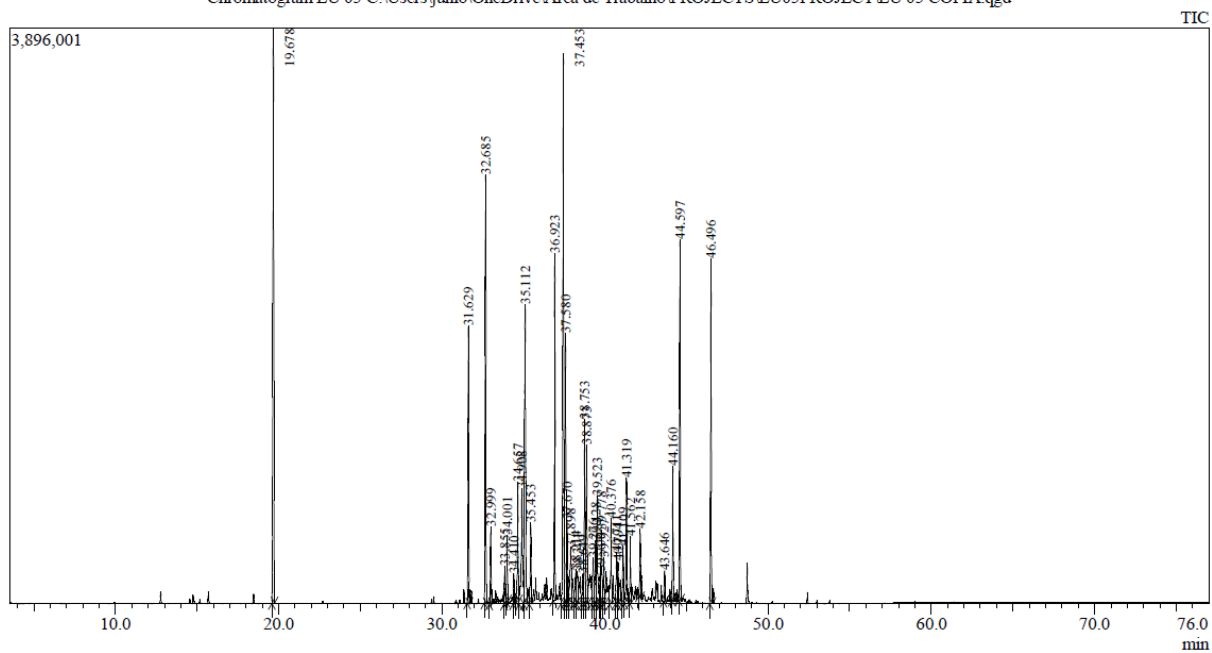
2	35,765	1395	4,4	2	18,128	1023	1,0
3	36,904	1430	2,5	3	18,698	1034	1,4
4	37,102	1436	1,8	4	19,286	1044	2,9
5	38,572	1483	0,3	5	35,652	1392	4,5
6	38,856	1492	1,8	6	36,793	1426	4,9
7	39,279	1506	76,9	7	36,993	1433	2,1
8	39,486	1513	0,5	8	38,113	1468	0,6
9	41,227	1575	4,1	9	38,745	1488	1,4
10	41,724	1593	1,1	10	39,16	1501	56,6
11	41,896	1599	0,3	11	39,781	1524	0,2
12	41,995	1603	0,7	12	41,127	1572	5,8
13	42,25	1613	0,6	13	41,63	1590	6,0
14	43,738	1671	0,9	14	41,806	1596	1,7
15	43,972	1680	2,8	15	41,891	1599	1,4
16	49,325	1911	0,3	16	42,148	1609	1,2
				17	42,943	1640	1,4
				18	43,094	1646	1,1
				19	43,867	1676	2,3
				20	44,872	1717	0,4
				21	45,083	1725	0,8
				22	46,035	1765	0,2
				23	46,843	1799	0,4
				24	49,221	1906	0,8

Anexo H. Cromatogramas gerados na análise CG-MS das amostras do OEs de exemplares de pitangueira coletados no Estado do Rio de Janeiro.

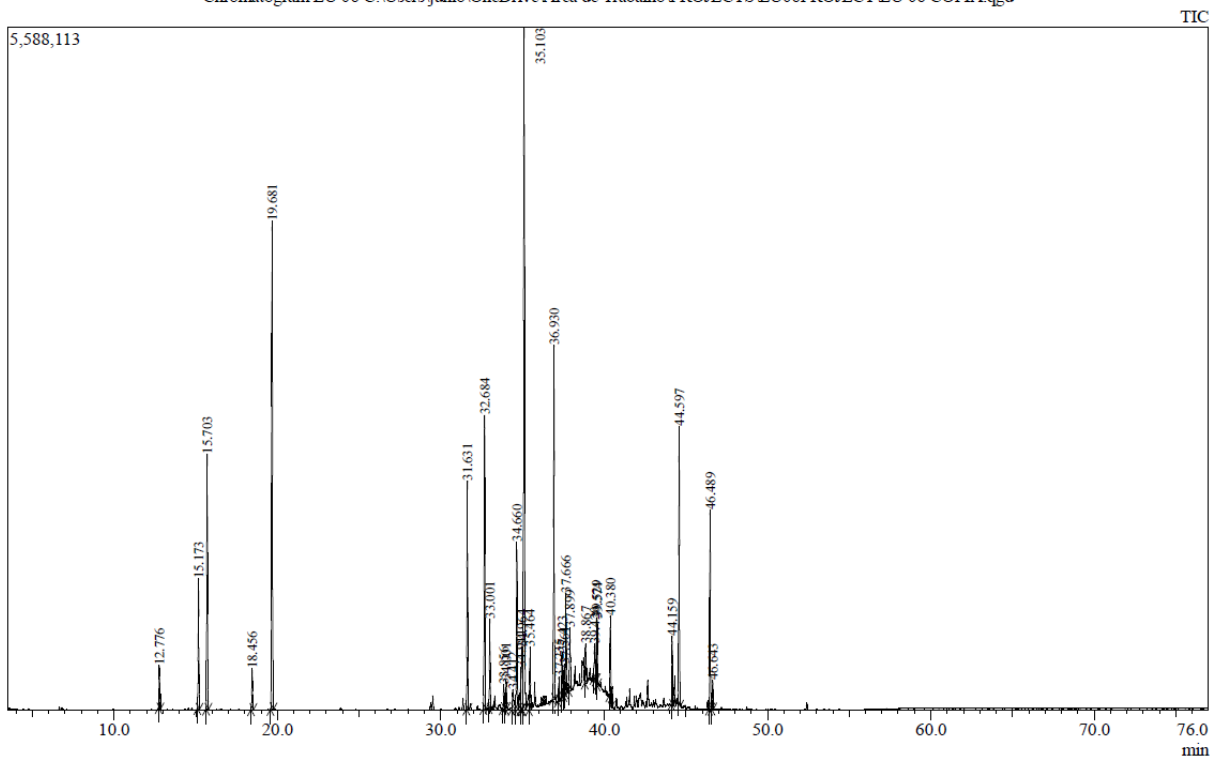




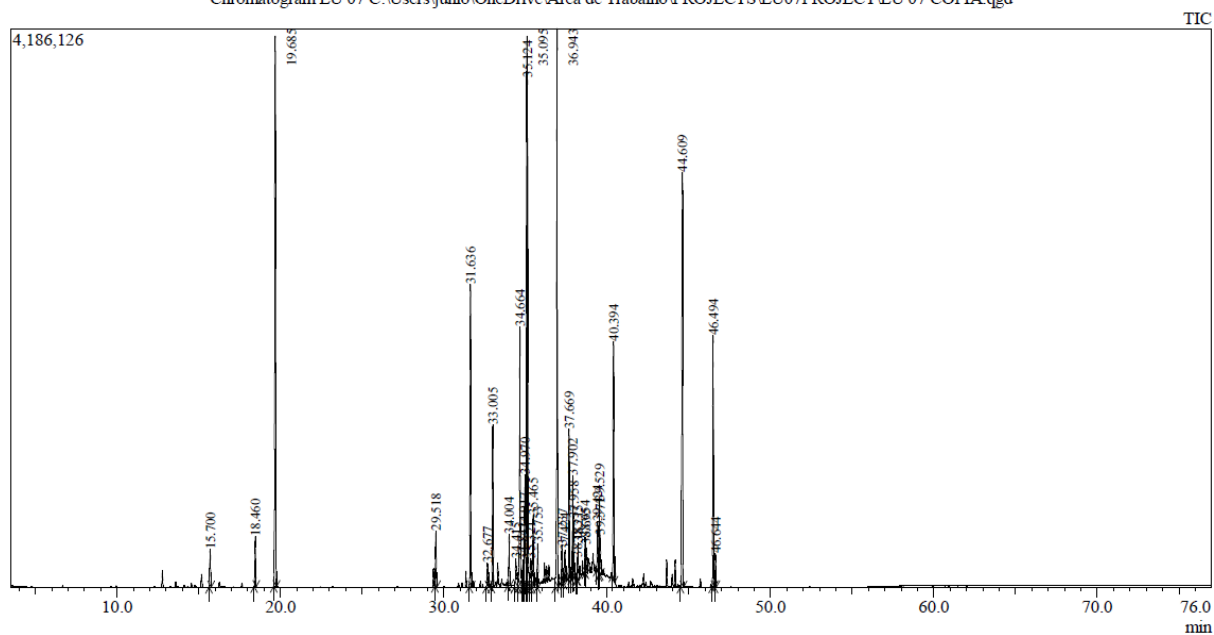
Chromatogram EU 05 C:\Users\junio\OneDrive\Área de Trabalho\PROJECTS\EU05PROJECT\EU 05 COPIA.qgd



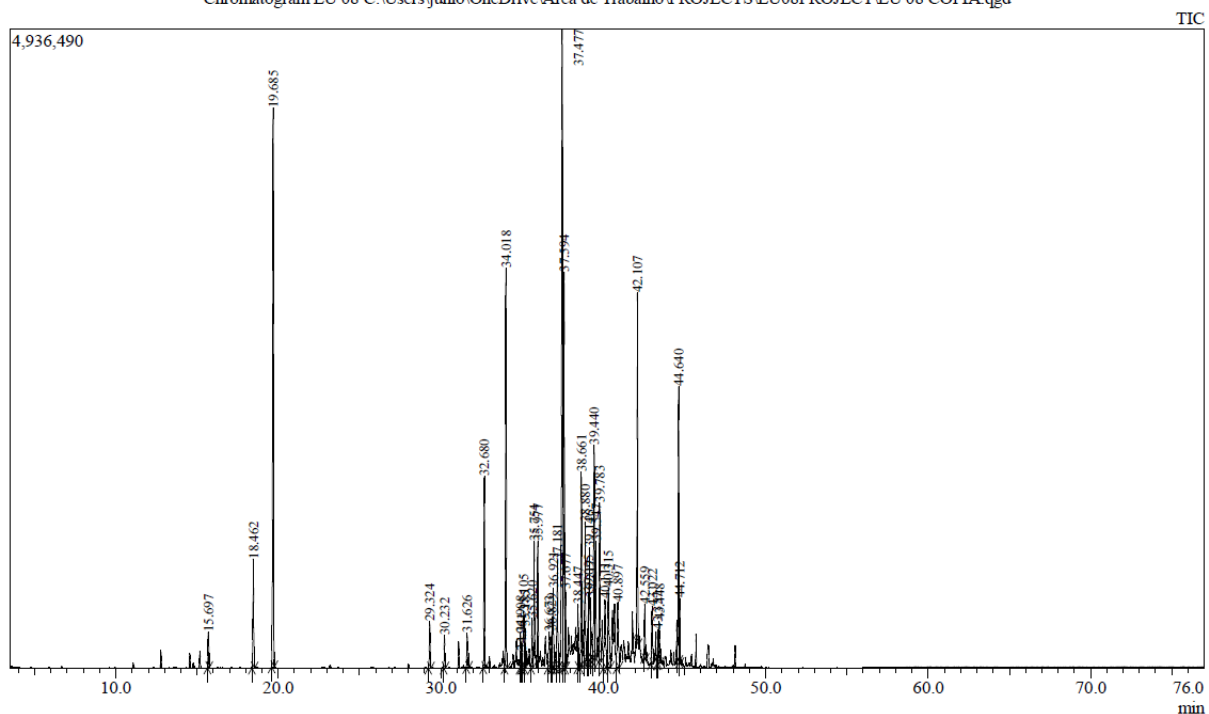
Chromatogram EU 06 C:\Users\junio\OneDrive\Área de Trabalho\PROJECTS\EU06PROJECT\EU 06 COPIA.qgd

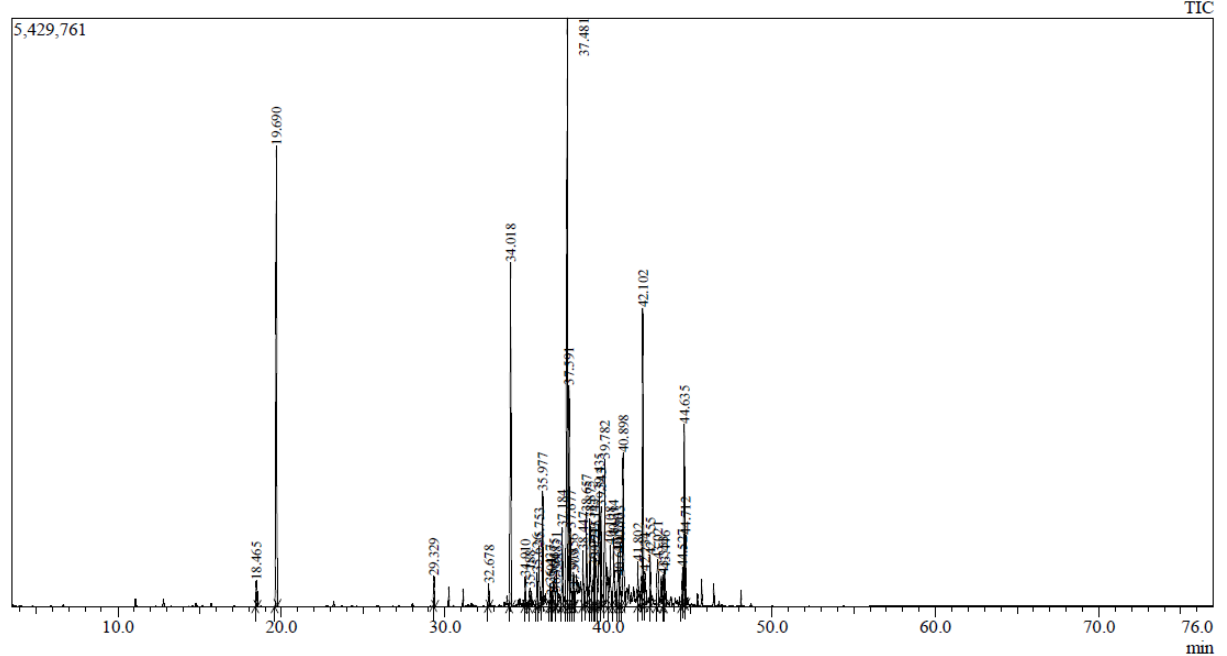
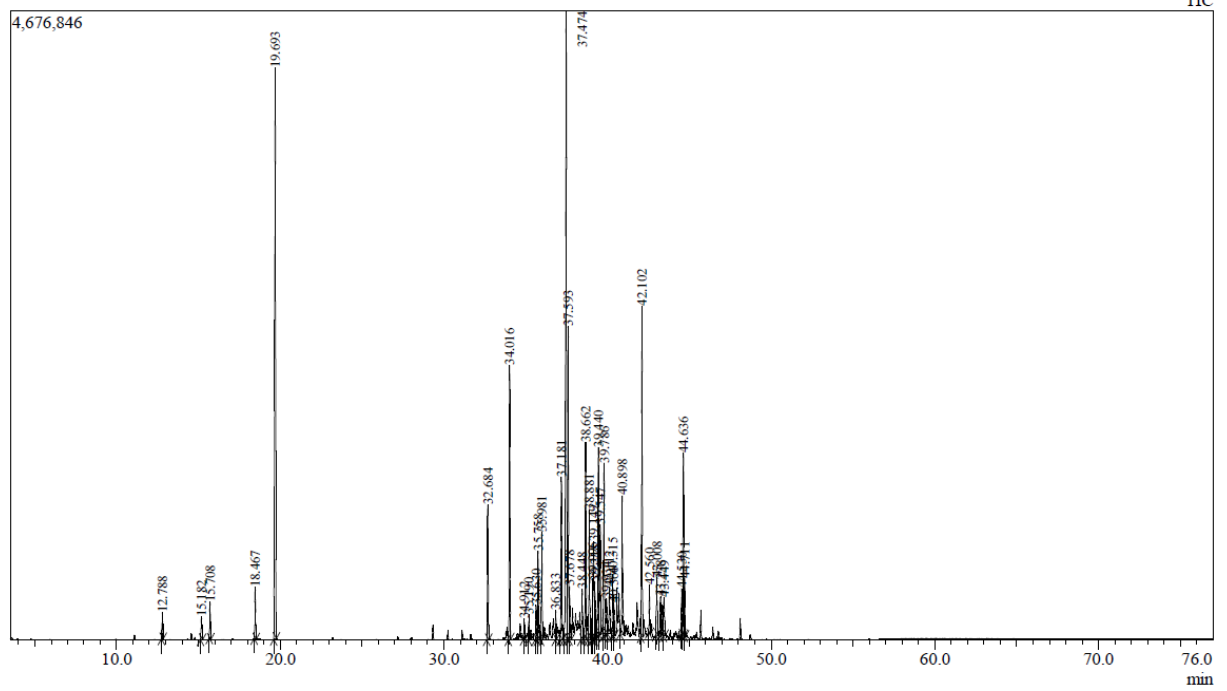


Chromatogram EU 07 C:\Users\junio\OneDrive\Área de Trabalho\PROJECTS\EU07PROJECT\EU 07 COPIA.qgd

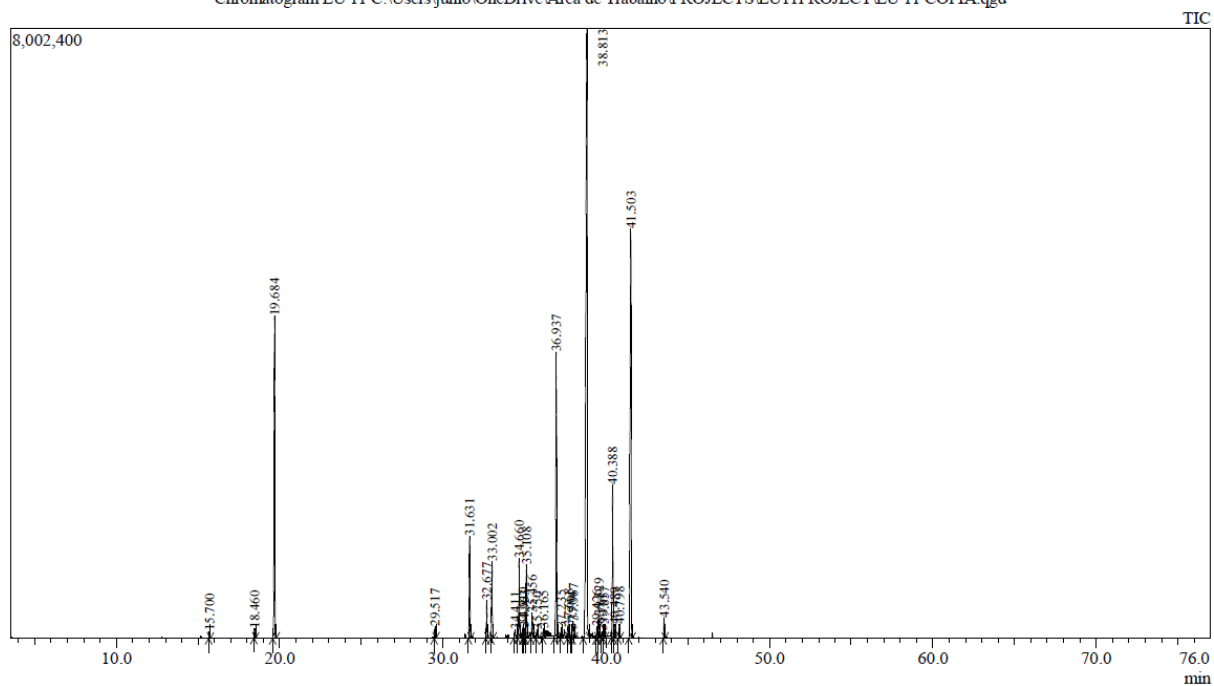


Chromatogram EU 08 C:\Users\junio\OneDrive\Área de Trabalho\PROJECTS\EU08PROJECT\EU 08 COPIA.qgd

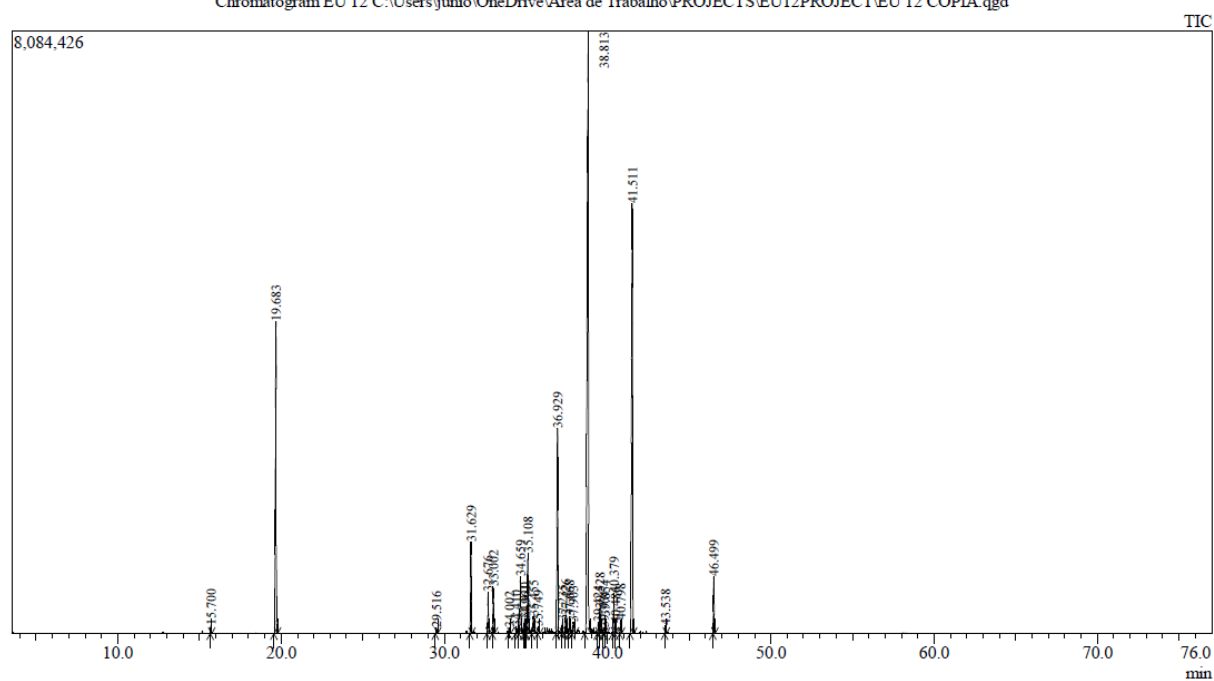




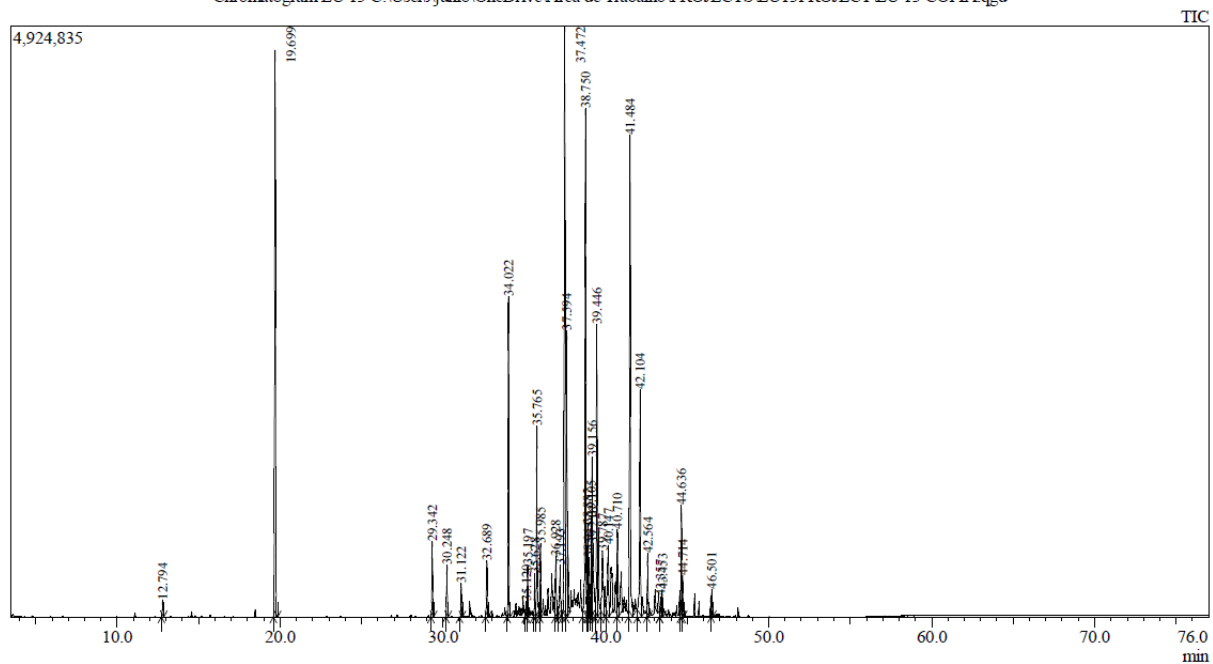
Chromatogram EU 11 C:\Users\junio\OneDrive\Área de Trabalho\PROJECTS\EU11PROJECT\EU 11 COPIA.qgd



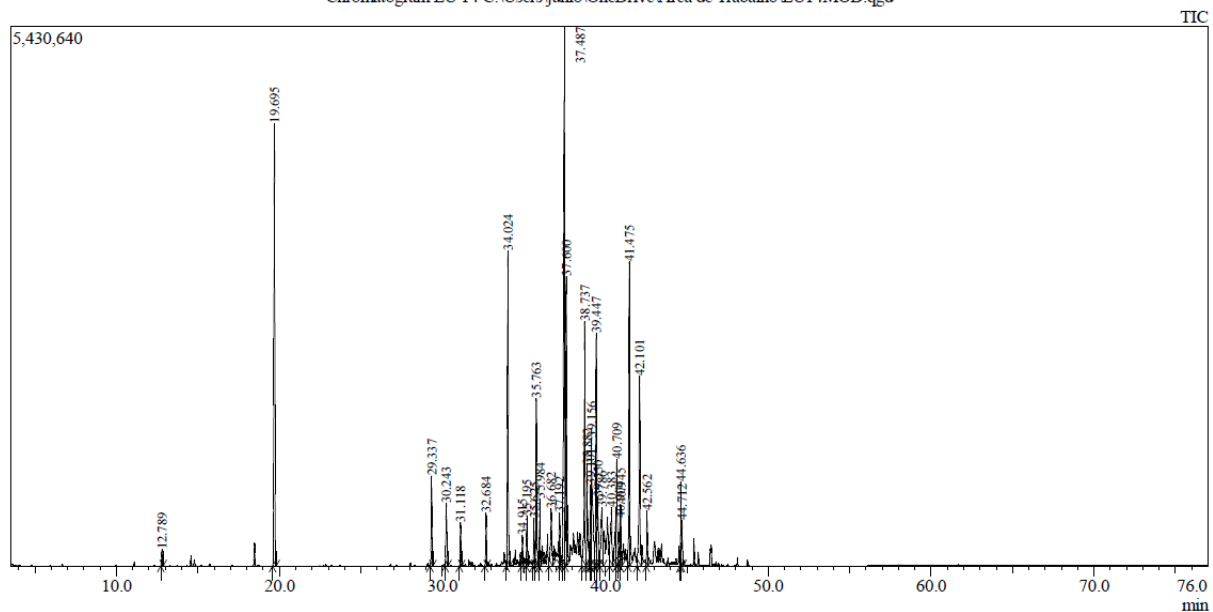
Chromatogram EU 12 C:\Users\junio\OneDrive\Área de Trabalho\PROJECTS\EU12PROJECT\EU 12 COPIA.qgd



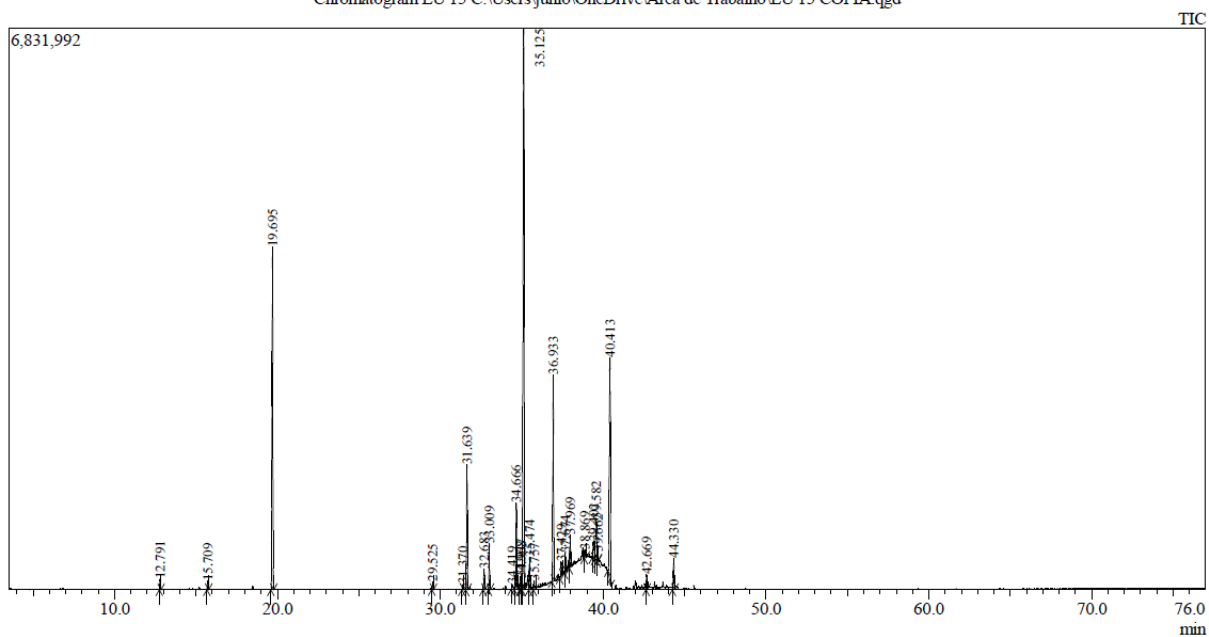
Chromatogram EU 13 C:\Users\junio\OneDrive\Área de Trabalho\PROJECTS\EU13PROJECT\EU 13 COPIA.qgd



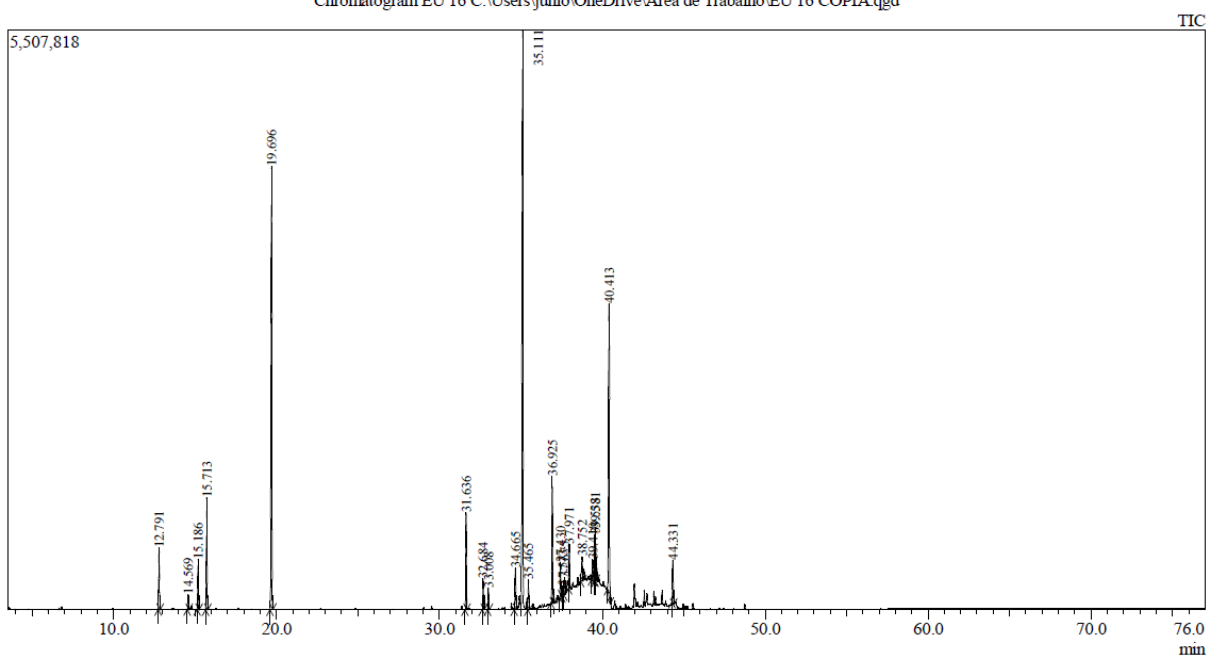
Chromatogram EU 14 C:\Users\junio\OneDrive\Área de Trabalho\EU14MOD.qgd

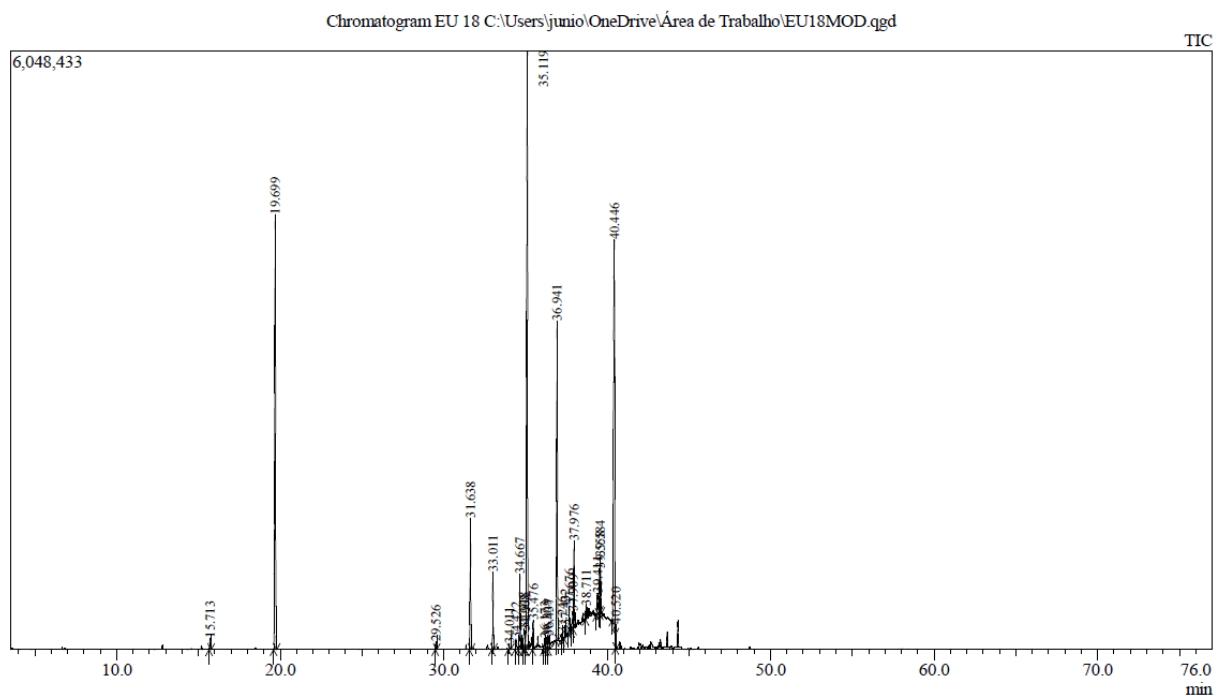
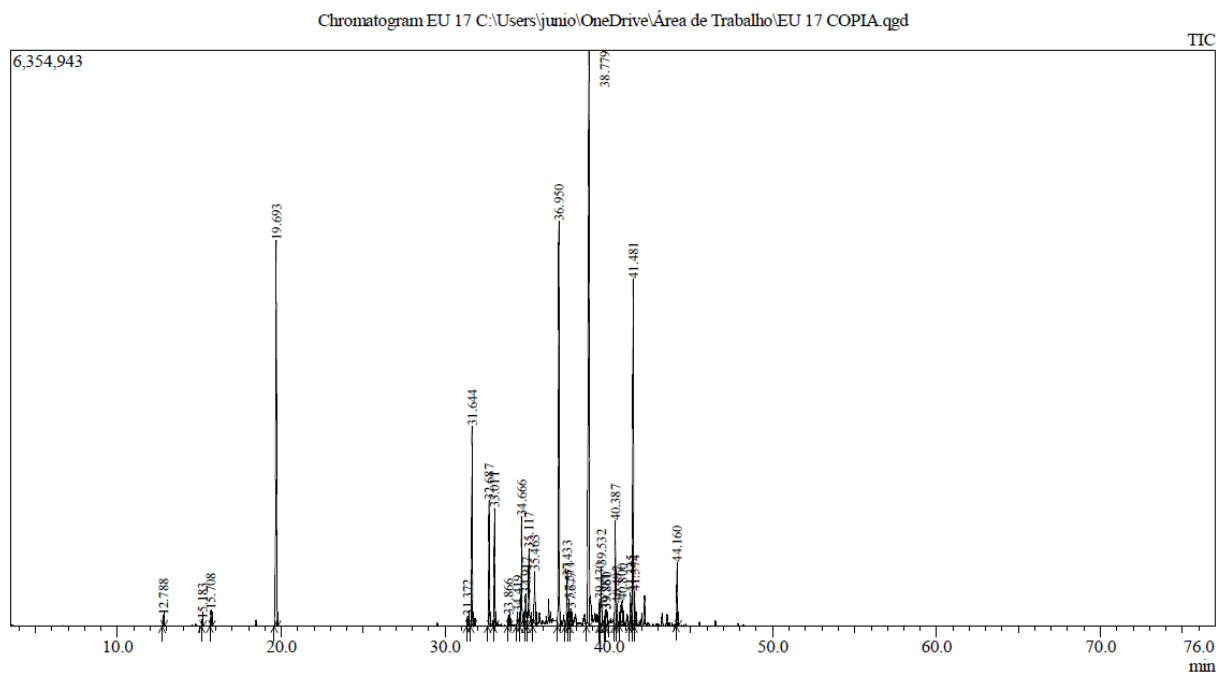


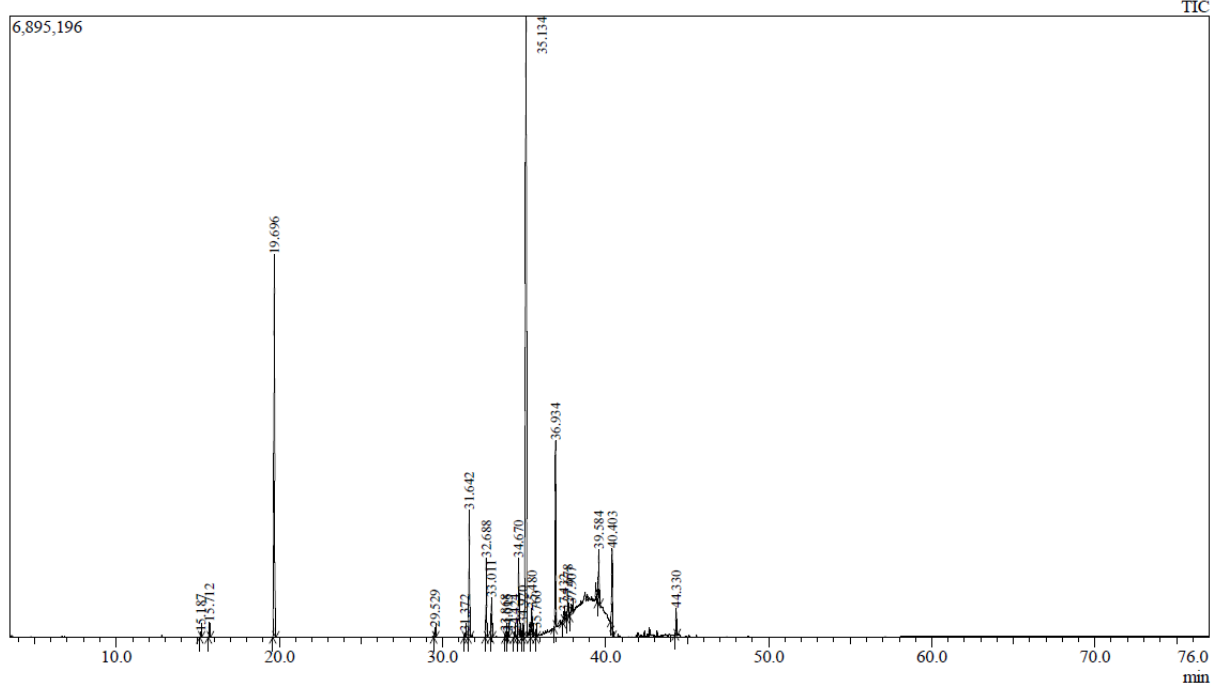
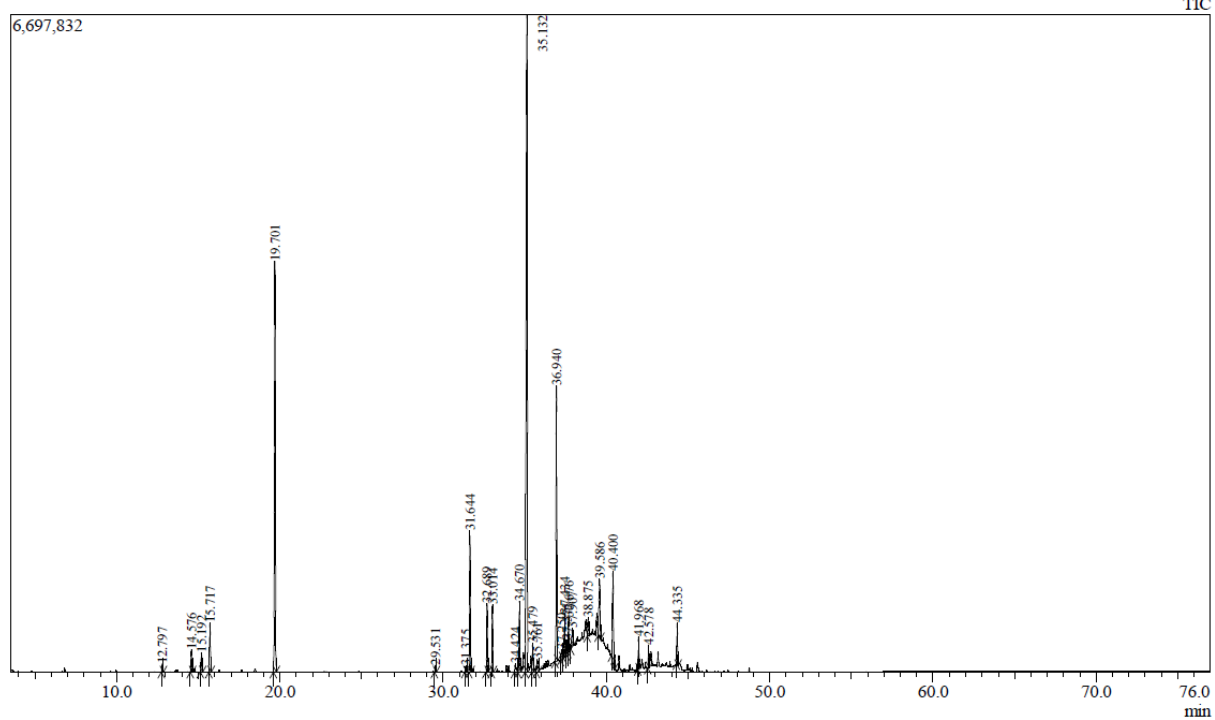
Chromatogram EU 15 C:\Users\junio\OneDrive\Área de Trabalho\EU 15 COPLA.qgd



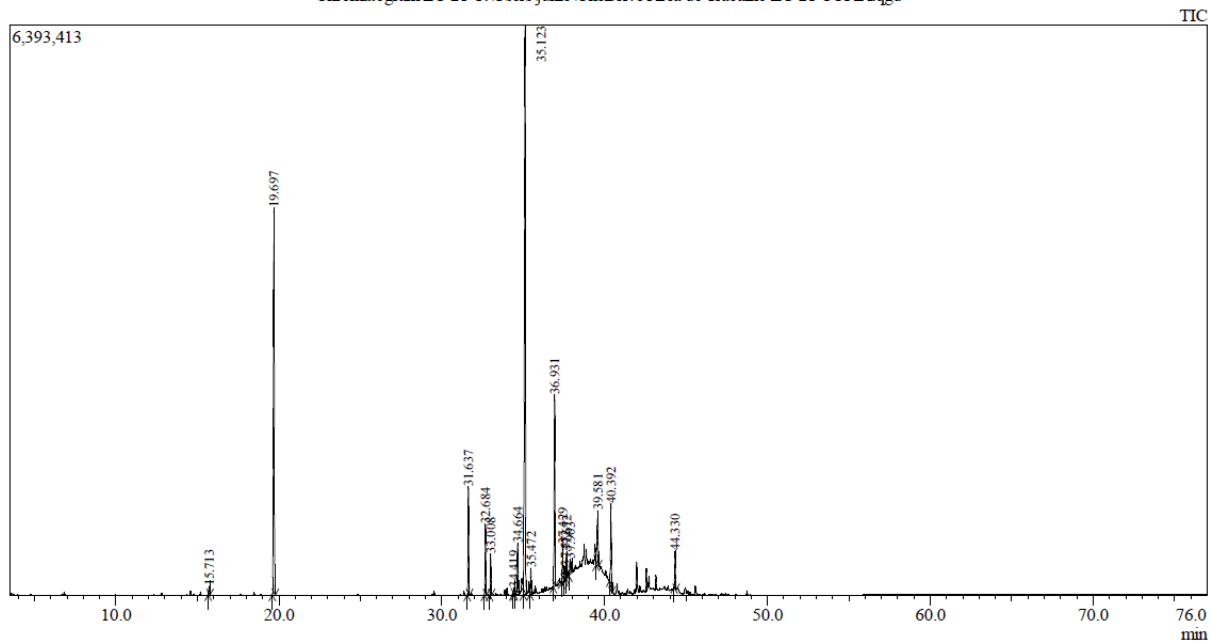
Chromatogram EU 16 C:\Users\junio\OneDrive\Área de Trabalho\EU 16 COPLA.qgd



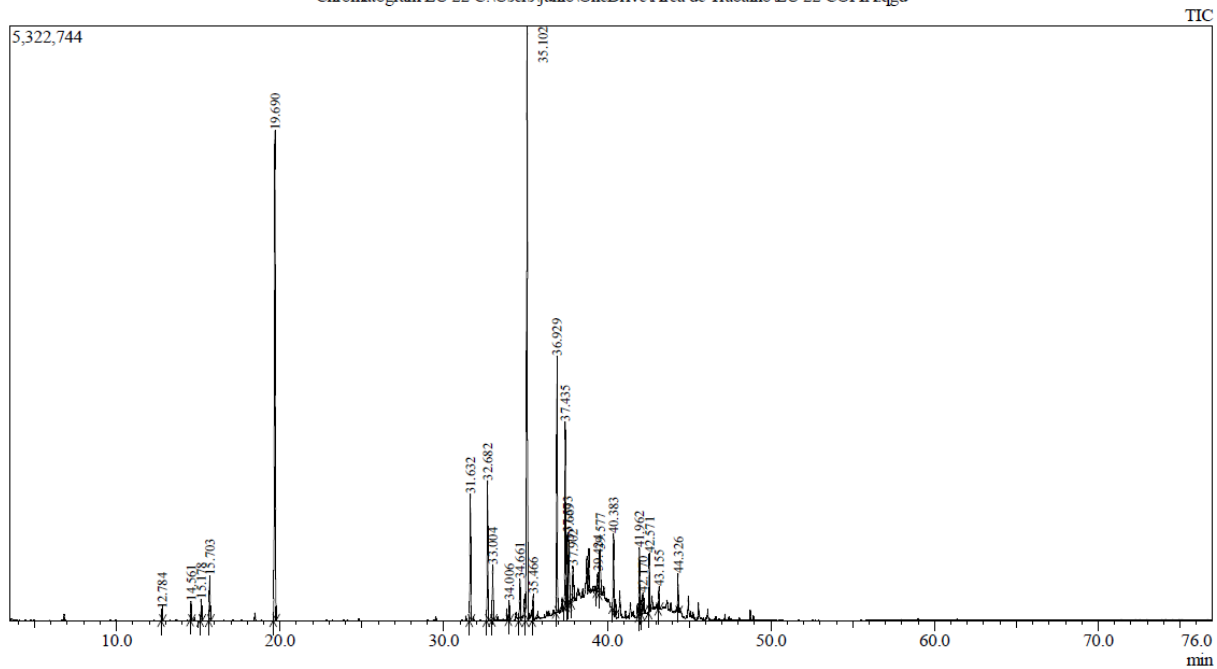




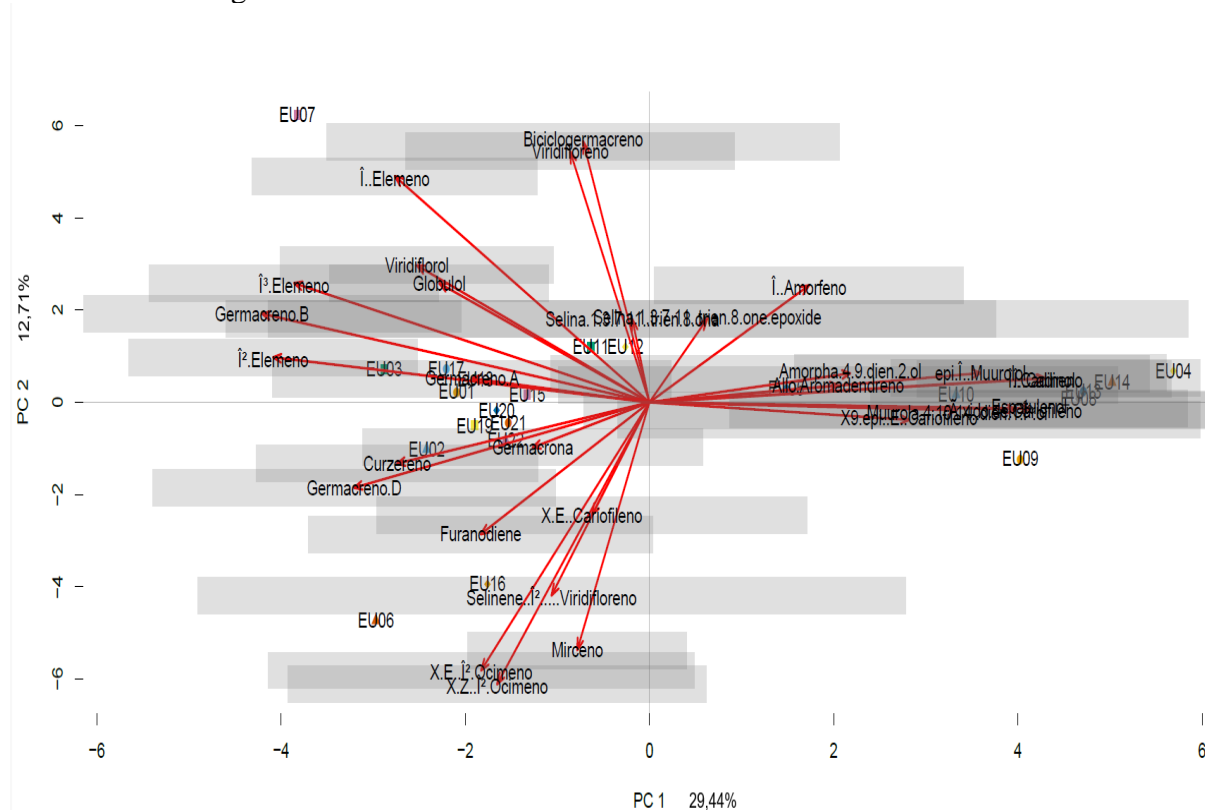
Chromatogram EU 21 C:\Users\junio\OneDrive\Área de Trabalho\EU 21 COPIA.qgd



Chromatogram EU 22 C:\Users\junio\OneDrive\Área de Trabalho\EU 22 COPIA.qgd



Anexo I. Análise de Componentes Principais 2D dos OEs de exemplares nativos de pitangueira das diferentes Regiões do Estado do Rio de Janeiro.



Anexo J. Análise de Componentes Principais 3D dos OEs de exemplares nativos de pitangueira das diferentes Regiões do Estado do Rio de Janeiro.

