

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Contribuição ao estudo do gênero *Campomanesia*: Análise
de metabólitos secundários e atividades biológicas

Marina Gnoatto

CAMPO GRANDE

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Contribuição ao estudo do gênero *Campomanesia*: Análise
de metabólitos secundários e atividades biológicas

Marina Gnoatto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) como um dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Química, área de concentração em Físico - Química, sob orientação da Prof. Dra. Nilva Ré Poppi e co-orientação da Prof. Dra. Cláudia Andréa Lima Cardoso.

CAMPO GRANDE

2010

DEDICATÓRIA

Ausente, mas presente sempre no meu coração.

Ao meu Pai.

AGRADECIMENTOS

Considero esta dissertação como o resultado de uma caminhada que não começou na UFMS, portanto, agradecer pode não ser tarefa fácil, nem justa. Para não correr o risco da injustiça, agradeço de antemão a todos que, de alguma forma, passaram pela minha vida e contribuíram para a construção de quem sou hoje;

A Deus, por acreditar que nossa existência pressupõe outra infinitamente superior. O que seria de mim sem a fé que tenho Nele?;

À minha professora orientadora, Nilva, obrigada pelo auxílio, disponibilidade de tempo, paciência, sobretudo, por permitir que eu realizasse grande parte deste trabalho na cidade de Dourados;

À professora Cláudia que, de co-orientadora, passou a fazer parte da minha vida, me ajudando, ensinando, dando broncas, cobrando e fazendo de mim a cada dia uma profissional melhor;

À minha mãe, que mesmo longe escutava as minhas reclamações, me deu força e acreditou em mim sempre, mãe você é a base de tudo isso, te amo muito.

Ao meu irmão por estar presente em nossas vidas, trazendo alegrias, distrações e preocupações também.

À Valdira, por estar presente desde o dia em que prestei a prova para ingressar no mestrado até o dia de minha defesa, sem nem hesitar, tornando-se companheira nas idas e vindas;

Ao Alessandro, que, de uma forma carinhosa, sempre me apoiou e escutou nos momentos mais difíceis, e que mesmo reclamado me ajudou com a dissertação, amo você. Ao Adalberto, por sempre querer que eu buscasse algo ainda melhor e mais proveitoso para minha dissertação, e pelo custo de todas essas viagens;

À Karine, vezes sem conta ligava desesperada para ela e recebia um amor e apoio incondicional, assim como conselhos e dicas, você é minha irmã, amo você incondicionalmente.

Ao engenheiro agrônomo, amigo e padrinho, Ricardo Michelin, pelo fornecimento de material para pesquisa do tema e pela orientação e ajuda incondicional;

Aos meus amigos que permaneceram comigo mesmo com toda a distância, provocada por este curso. Em especial à Dani e Josnei, mais presentes do que ausentes e à Day, que manda aquela luz nos dias em mais preciso. O contato é pouco, mas o carinho continua imenso;

Meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que de alguma forma doaram um pouco ou muito de si para que a conclusão deste trabalho se tornasse possível.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ABREVIATURAS	IX
RESUMO	X
ABSTRACT	XI
INTRODUÇÃO	1
1.1 Soja e Ferrugem Asiática	1
1.2 Inibição da germinação e do crescimento	6
1.3 Atividade antioxidante, flavonóides e fenóis e toxicidade	7
1.3.1 Atividade antioxidante	7
1.3.2 Flavonóides.....	7
1.3.3 Fenóis.....	8
1.3.4 Toxicidade	9
1.4 Família Myrtaceae e o Gênero <i>Campomanesia</i>	9
2. OBJETIVOS	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS	17
3.1 Materiais e equipamentos	17
3.1.1 Solventes utilizados.....	17
3.1.3 Espectrofotômetro de absorção molecular na região do ultravioleta e visível	18
3.1.4 Cromatógrafo em fase Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	18
3.1.5 Cromatógrafo em fase Gasosa acoplado ao Espectrômetro de Massas (CG/EM-EM)	18
3.2 Metodologia.....	18
3.2.1 Coleta do material vegetal	18
3.2.2 Estudo dos metabólitos secundários das folhas de <i>C. adamantium</i> , <i>C. sessiliflora</i> e <i>C. guaviroba</i>	19
3.2.2.1 Preparo dos extratos.....	19
3.2.2.1.1 Preparo do extrato aquoso.....	19
3.2.2.1.2 Preparo do extrato etanólico.....	20
3.2.2.1.3 Preparo do extrato metanólico	21
3.2.2.2 Condições cromatográficas empregadas nas análises de CLAE.....	21
3.2.2.2 Preparo dos padrões utilizados em CLAE	22
3.2.2.4 Curvas analíticas e análise dos extratos.....	22
3.2.3 Caracterização química de óleos essenciais de <i>Campomanesia guaviroba</i> e <i>Campomanesia sessiliflora</i> em diferentes estágios fenológicos	23
3.2.3.1 Condições cromatográficas empregadas nas análises de óleo essencial	24
3.2.3.2 Preparo dos padrões utilizados na análise por CG-EM.....	25
3.2.4 Testes químicos e biológicos com os extratos de <i>C. adamantium</i> , <i>C. sessiliflora</i> e <i>C. guaviroba</i>	25
3.2.4.2 Teste de flavonóides.....	26
3.2.4.3 Teste de fenóis.....	26
3.2.4.4 Teste de toxicidade sobre <i>Artemia salina</i>	27
3.2.5 Avaliação da atividade fungitóxica dos extratos de <i>Campomanesia</i> com o patógeno <i>Phakopsora pachyrhizi</i> em plantas.....	27
3.2.5.1 Plantio com mudas	27
3.2.5.2 Preparo da solução de inóculo	28
3.2.5.3 Experimentos para avaliação da atividade fungitóxica.....	28
3.2.6 Teste de inibição em sementes de soja	31
3.2.6.1 Teste de inibição da germinação das sementes de soja.....	31
3.2.6.2 Teste de inibição do crescimento das plantas de soja	31
4. RESULTADOS	33
4.1 Estudo dos metabólitos secundários nas folhas de <i>C. adamantium</i> , <i>C. sessiliflora</i> e <i>C. guaviroba</i> analisados por CLAE	33
4.2 Caracterização química dos óleos essenciais de <i>Campomanesia guaviroba</i> e <i>Campomanesia sessiliflora</i> em diferentes estágios fenológicos	40
4.2.1 Caracterização química de óleos essenciais das folhas de <i>Campomanesia sessiliflora</i> 1 e <i>Campomanesia sessiliflora</i> 2	41
4.2.2 Caracterização química de óleos essenciais das folhas de <i>Campomanesia guaviroba</i>	43
4.2.3 Comparação dos resultados obtidos com referências literárias do gênero <i>Campomanesia</i> ...	44

4.3 Testes químicos e biológicos com extratos aquosos de <i>C. adamantium</i> , <i>C. sessiliflora</i> e <i>C. guaviroba</i> e extratos orgânicos de <i>C. adamantium</i>	46
4.3.1 Atividade antioxidante	46
4.3.2 Teor de fenóis totais.....	48
4.3.3 – Teor de flavonóides.....	49
4.3.2 Teste de toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	52
4.4 – Avaliação da atividade fungitóxica dos extratos aquosos de <i>Campomanesia</i> com o patógeno <i>Phakopsora pachyrhizi</i> em plantas e sementes de soja	53
4.4.2 - Teste de inibição da germinação e crescimento das sementes de soja	59
5. CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
ANEXO 1. Compostos identificados nos óleos essenciais de <i>Campomanesia sessiliflora</i> 1 e 2 e de <i>Campomanesia guaviroba</i> , nas quatro estações do ano.....	74

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1. Reagentes utilizados nos testes de fenóis, flavonóides, CLAE, CG, toxicidade e atividade antioxidante	17
TABELA 2. Local de coleta e identificação das amostras.	20
TABELA 3. Concentrações das soluções estoques dos padrões utilizados nas análises	22
TABELA 4. Concentração dos analitos e respectivos rendimentos	24
TABELA 5. Seqüência das atividades desenvolvidas em cada um dos experimentos	28
TABELA 6. Descrição dos tratamentos empregados nos experimentos utilizando extratos aquosos de <i>C. adamantium</i> , <i>C. sessiliflora</i> e <i>C. guaviroba</i>	29
TABELA 7. Descrição dos tratamentos empregando extratos orgânicos de <i>C. adamantium</i>	30
TABELA 8. Tempo de retenção (t_R), faixa de concentração linear (F.I.), linearidade entre outras figuras de mérito do método utilizado.....	33
TABELA 9. Concentração das substâncias nos extratos aquosos de <i>C. adamantium</i> , <i>C. sessiliflora</i> e <i>C. guaviroba</i> e nos extratos etanólico e metanólico de <i>C. adamantium</i>	37
TABELA 10 - Rendimentos obtidos para os óleos essenciais.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Localização da produção de soja dentro dos estados produtores (áreas com tom de vermelho seguido pelo amarelo indicam maior concentração). Fonte: Bayer Cropsdence.	1
FIGURA 2. Focos da Ferrugem Asiática na safra 2007/08. Fonte: Agrosoft Brasil	2
FIGURA 3. Sintoma da ferrugem asiática causada pelo fungo <i>Phakopsora pachyrhizi</i> em folhas de soja. Fonte: J. T. Yorinori	4
FIGURA 4. Esporos do fungo disseminados pelo vento, em folha de soja. Fonte: J. T. Yorinori	4
FIGURA 5. Folhas, flores e frutos de <i>C. sessiliflora</i> . Fonte: mariplantas.com.br	10
FIGURA 6. Folhas e frutos de <i>C. guaviroba</i> . Fonte: frutasararas.sites.uol.com.br	10
FIGURA 7. Frutos e folhas <i>Campomanesia adamantium</i> . Fonte: frutasararas.sites.uol.com.br	11
FIGURA 8. Distribuição dos vasos no experimento com extratos aquosos.	29
FIGURA 9. Distribuição dos vasos na casa de vegetação no experimento com extratos orgânicos.	30
FIGURA 10. Cromatogramas representativos da análise do extrato metanólico de <i>C. adamantium</i> em 360 nm e 284 nm.	34
FIGURA 11. Cromatogramas representativos da análise do extrato etanólico de <i>C. adamantium</i> em 360 nm e 284 nm.	34
FIGURA 12. Cromatogramas representativos da análise do extrato aquoso de <i>C. adamantium</i> em 360 nm e 284 nm.	35
FIGURA 13. Cromatogramas representativos da análise do extrato aquoso de <i>C. guaviroba</i> em 360 nm e 284 nm.	35
FIGURA 14. Cromatogramas representativos da análise do extrato aquoso de <i>C. sessiliflora</i> em 360 nm e 284 nm.	36
FIGURA 15. Substâncias previamente isoladas utilizadas como padrões em CLAE.	38
FIGURA 16. Estrutura química do iso leptospermona.	45
FIGURA 17. Gráfico demonstrando potencial antioxidante apresentado pelos extratos aquosos.	46
FIGURA 18. Gráfico demonstrando potencial antioxidante apresentado pelos extratos de <i>C. adamantium</i> . .	47
FIGURA 19. Gráfico comparativo demonstrando o teor de fenóis nos extratos aquosos e os extratos orgânicos.	49
FIGURA 20. Estrutura base de um flavonóide.	49
FIGURA 21. Gráfico comparativo do teor de flavonóides presentes nos extratos aquosos e extratos orgânicos.	50
FIGURA 22. Gráfico comparando o efeito tóxico sobre <i>Artemia salina</i> dos extratos testados.	53
FIGURA 23. Escala diagramática que mede a severidade da ferrugem asiática da soja.	54
FIGURA 24. Gráfico demonstrando os focos de ferrugem asiática por folha, após uma semana de inoculação do patógeno.	56
FIGURA 25. Gráfico demonstrando o amarelecimento das folhas doentes, após a inoculação do patógeno. .	57
FIGURA 26. Gráfico representando a morte total das plantas de soja.	58

ABREVIATURAS

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

RS – Rio Grande do Sul

SC – Santa Catarina

PR – Paraná

GO – Goiás

MG – Minas Gerais

MS – Mato Grosso do Sul

MT – Mato Grosso

BA – Bahia

MA – Maranhão

PI – Piauí

DNA – *deoxyribonucleic acid* – ácido desoxirribonucleico

ERO's – Espécies Reativas ao Oxigênio

DPPH – radical 1,1- difenil-2-picrilhidrazila

CI₅₀ – Concentração de Inibição de 50%

RFC – Reagente de Folin-Ciocalteu

CL₅₀ – Concentração Letal de 50%

TAS – Teste com *Artemia salina*

LDL – *Low density lipoprotein* – proteína de pequena densidade

CG/EM – Cromatografia em fase Gasosa com detector de Espectrometria de Massas

CLAE – Cromatografia em fase Líquida de Alta Eficiência

HPLC – *Hight Performance Liquid Chromatography*

USA – *United States of America*

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pecuária e Agricultura

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento

RESUMO

As plantas do gênero *Campomanesia* são nativas do Cerrado e encontradas em abundância no Estado de Mato Grosso do Sul. As folhas dessas espécies são amplamente utilizadas na fabricação de sorvetes e licores, bem como na medicina popular para o combate às diarreias, inflamações no sistema urinário e contra o colesterol. No presente trabalho, foram estudadas três espécies: *C. adamantium*, *C. guaviroba* e *C. sessiliflora*. Por CLAE, foram analisadas oito substâncias em extratos aquosos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* e em extratos orgânicos de *C. adamantium*. Todas as substâncias investigadas (Rutina; 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona; 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona; 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona; 7-hidroxi-5-metoxiflavanona; 2',4'-diidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona; 5-hidroxi-7-metoxiflavanona; 5,7-dihidroxi-8-metilflavanona) foram identificadas no extrato metanólico de *C. adamantium* e as concentrações variaram entre 0,61 e 61,99 mg g⁻¹. Foram identificados seis metabólitos no extrato etanólico com concentração entre 2,18 e 43,19 mg g⁻¹. Nos extratos aquosos de *C. adamantium* e *C. guaviroba* foram determinadas 4 substâncias: 7-hidroxi-5-metoxiflavanona, 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona, 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona, 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona. A substância 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona foi majoritária, dentre as substâncias identificadas nos extratos aquosos, apresentando teores entre 11,41 e 12,19 mg g⁻¹. Os óleos essenciais de três plantas do gênero *Campomanesia* (2 plantas de *sessiliflora* e uma de *guaviroba*), foram analisados por CG-EM e os constituintes identificados por índices de retenção e espectros de massas. No óleo essencial das duas plantas de *C. sessiliflora* foram identificadas em média 136 substâncias no inverno, 95 na primavera, 32 no outono e 22 no verão. As principais substâncias encontradas nas amostras de outono foram: mirtenal, E-salveno, iso-verbanol e linalol. Os principais constituintes do óleo essencial das amostras de verão foram: E-salveno, β-ocimeno, 5-hidroxi-pentanal e espatulenol, enquanto o iso-leptospermona, cis-tujona, γ-amorfenol, mesitileno e α-tujopsan-2-ol se destacaram nas amostras de primavera. Para as amostras de inverno, o constituinte de maior destaque foi o δ-terpinol. O óleo essencial do outono foi caracterizado pela predominância ao invés da diversidade de substâncias como foi determinado em outras estações do ano. Mirtenal, linalol e o salveno foram os principais constituintes do óleo na amostra de outono de *C. guaviroba*, e na primavera verbeneno, leptospermona e 2-metoxi-3-metil-pirazino, enquanto no inverno se destacaram viridifloreno, α-pineno, δ-terpineol e silvestreno. Os teores de fenóis encontrados nos extratos aquosos foram de 459,44 mg g⁻¹ para *C. sessiliflora*, de 315,4 mg g⁻¹ para *C. adamantium* e de 236,40 mg g⁻¹ para *C. guaviroba*. Para os extratos orgânicos de *C. adamantium* foram determinados 233,25 mg g⁻¹ no extrato metanólico e 153,85 mg g⁻¹ no extrato etanólico. Para flavanóides foram determinados nos extratos aquosos: 207,07 mg g⁻¹ para *C. sessiliflora*, 98,05 mg g⁻¹ para *C. guaviroba* e 19,74 mg g⁻¹ para *C. adamantium*. Nos extratos orgânicos determinou-se 72,19 mg g⁻¹ no extrato etanólico e 76,29 no extrato metanólico. Nos extratos orgânicos, não há diferença significativa em relação à atividade antioxidante, pois ambos chegam próximos a 100% de inibição do radical livre DPPH. Nenhum extrato se mostrou tóxico, frente ao teste biológico com *Artemia salina*, em baixas concentrações, e em concentrações mais elevadas, os extratos tornaram-se levemente tóxicos. Foi verificado que plantas de soja infectadas pelo fungo causador da ferrugem asiática, quando tratadas com extratos de plantas de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba*, apresentaram sintomas mais brandos da doença, bem como o amarelecimento e a morte das plantas de soja foram retardados. Os extratos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* mostraram-se capazes de inibir a germinação e o crescimento dos embriões das sementes de soja.

ABSTRACT

The plants of *Campomanesia* genus are native from *Cerrado* and can be found in abundance in the State of Mato Grosso do Sul. Their leaves are widely used in ice cream and liqueurs as well as in Brazilian native medicine to solve problems as diarrhea, inflammation of the urinary system and against cholesterol. In this research, three species of *C. adamantium*, *C. guaviroba* and *C. sessiliflora* were studied. Eight substances were analyzed in aqueous extracts of *C. adamantium*, *C. sessiliflora* and *C. guaviroba* and in organic extracts of *C. adamantium* by HPLC. All substances investigated (Rutin; 7-hydroxy-6-methyl-5-methoxyflavanone; 5,7-dihydroxy-6-methylflavanone; 2',4'-dihydroxy-6'-methoxychalcone; 7-hydroxy-5-methoxyflavanone; 2',4'-dihydroxy-3',5'-dimethyl-6'-methoxychalcone; 5-hydroxy-7-methoxyflavanone; 5,7-dihydroxy-8-methylflavanone) were identified in methanol extracts of *C. adamantium* and the concentrations ranged between 0.61 and 61.99 mg g⁻¹. Six metabolites were identified in the ethanol extract with a concentration between 2.18 and 43.19 mg g⁻¹. In aqueous extracts of *C. adamantium* and *C. guaviroba* 4 substances were determined: 7-hydroxy-5-methoxyflavanone, 7-hydroxy-6-methyl-5-methoxyflavanone, 5,7-dihydroxy-6-methylflavanone, 2',4'-dihydroxy-6'-methoxychalcone. The substance 5,7-dihydroxy-6-methylflavanone was predominant among the substances identified in the extracts, showing levels between 11.41 and 12.19 mg g⁻¹. The essential oils of three plants of the genus *Campomanesia* (2 *sessiliflora* plants and a *guaviroba*) were analyzed by GC-MS and the constituents identified by retention indices and mass spectra. Essential oils from two plants of *C. sessiliflora* were on average 136 substances identified in winter, 95 in primavera, 32 and 22 fall in the summer. The main substances found in autumn samples were mirtenal, E-Salven, iso-verbanol and linalool. The main constituents of essential oil samples of summer were: E-Salven, β -ocimene, and 5-hydroxy-pentanal and spathulenol while leptospermona this, cis-thujone, amorfeno- γ , and α -mesitileno tujopsan-2-ol stood out in samples of spring. For samples of the constituent winter the most important is the δ -Terpinol. The essential oil of autumn was characterized by the predominance of rather diverse substances as determined in other seasons. Mirtenal, Salven and linalool were the main constituents of the oil sample in the autumn of *C. guaviroba*, and spring verbeneno, leptospermona and 2-methoxy-3-methyl-pyrazine, while in winter stood out viridifloreno, α -pinene, δ -terpineol and silvestreno. The phenols found in aqueous extracts were 459.44 mg g⁻¹ for *C. sessiliflora*, from 315.4 mg g⁻¹ for *C. adamantium* and 236.40 mg g⁻¹ for *C. guaviroba*. For the organic extracts of *C. adamantium* were determined 233.25 mg g⁻¹ in the methanol extract and 153.85 mg g⁻¹ in ethanol extract. For flavonoids were determined in aqueous extracts: 207.07 mg g⁻¹ for *C. sessiliflora*, 98.05 mg g⁻¹ for *C. guaviroba* and 19.74 mg g⁻¹ for *C. adamantium*. In organic extracts was determined 72.19 mg g⁻¹ in the ethanol extract and methanol extract at 76.29. In organic extracts, no significant difference in relation to antioxidant activity, since both come close to 100% inhibition of DPPH free radical. No extract proved toxic, compared to bioassay with *Artemia salina* at low concentrations and at higher concentrations, the extracts became slightly toxic. It was found that soybean plants infected with the fungus that causes Asian soybean rust when treated with extracts of plants of *C. adamantium*, *C. sessiliflora* and *C. guaviroba* showed milder symptoms of the disease, and the yellowing and death of soybean plants were stunted. The extracts of *C. adamantium*, *C. sessiliflora* and *C. guaviroba* were able to inhibit the germination and growth of embryos of soybean seeds.

INTRODUÇÃO

1.1 Soja e Ferrugem Asiática

A soja (*Glycine max* L. Merrill), espécie de origem asiática, é a oleaginosa mais cultivada no mundo e representa um dos principais itens de exportação do agronegócio brasileiro (CONAB, 2009).

No Brasil, segundo maior produtor dessa oleaginosa, o cultivo da soja teve grande expansão na última década, quando a produção nacional passou de 23 (safra 1992/93) para 57,1 milhões de toneladas na safra 2008/09 (CONAB, 2009).

Em termos absolutos, segundo o Censo Agropecuário 2006, divulgado pelo IBGE em 2009, houve aumento de 6,4 milhões de hectares de soja, sendo que grande parte desta área pertence ao Centro-Oeste (IBGE, 2009).

Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento, CONAB, (2009) a produção nacional da soja em 2009 contabilizou 57,1 milhões de toneladas, com queda de 4,9% em relação à safra anterior (de 60 milhões de toneladas). Sendo que o Centro-Oeste colheu 29,1 milhões de toneladas (0,07% superior em relação a safra anterior).

Na safra 2008/09, a cultura ocupou uma área de 21,7 milhões de hectares. A produtividade média da soja brasileira é de 2823 kg por hectares, chegando a alcançar cerca de 3000 kg/ha no Estado de Mato Grosso (Figura 1), o maior produtor brasileiro de soja (EMBRAPA, 2009).

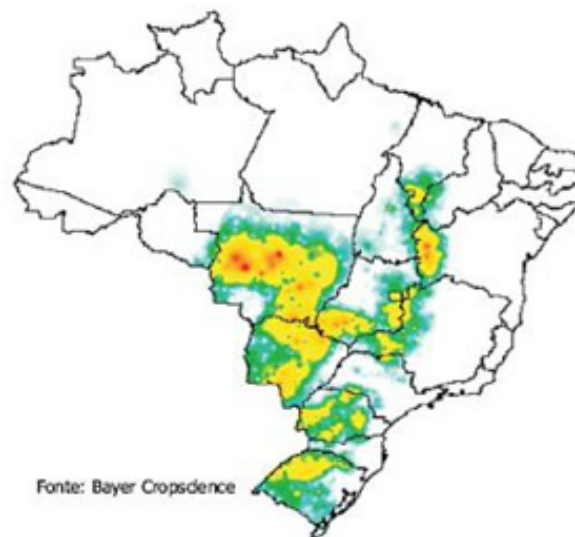


FIGURA 1. Localização da produção de soja dentro dos estados produtores (áreas com tom de vermelho seguido pelo amarelo indicam maior concentração). Fonte: Bayer Cropsdence.

Com raras exceções, a soja concentra-se cultivada em terras altas e planas, no interior do continente (planaltos do RS, SC, PR, GO, MG e Chapadas do MS, MT, BA, MA e PI) (Figura 1)(EMBRAPA, 2003).

Devido ao vigoroso crescimento das safras, além de outros fatores complexos como a localização geográfica e a micro ecologia de cada região, os problemas de pestes têm se intensificado (EMBRAPA, 2003).

Alguns fatores têm limitado o rendimento, a lucratividade e o sucesso da produção de soja, sendo as doenças um dos mais importantes. Mais de 100 doenças afetam a cultura da soja, em todo o mundo (HARTMAN et al., 1999).

Aproximadamente 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematóides e vírus já foram identificados no Brasil. Na safra 2001/2002 uma nova doença, a ferrugem da soja causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, foi detectada desde o Rio Grande do Sul até o Mato Grosso causando perdas significativas em lavouras isoladas. Atualmente, é a maior ameaça potencial (Figura 2), preocupando tanto a pesquisa quanto os produtores pelos prejuízos que causa principalmente, na Ásia e África onde ocorre há anos (EMBRAPA, 2003).



FIGURA 2. Focos da Ferrugem Asiática na safra 2007/08. Fonte: Agrosoft Brasil

A ferrugem da soja é causada pelo fungo pertencente ao gênero *Phakopsora*, filo *Basidiomycota*, classe *Urediniomycetes*, ordem *Uredinales*, e família *Phakopsoraceae*. Trata-se de um parasita biotrófico (PASSINI, 2007).

Há duas espécies de fungo do gênero *Phakopsora*: a *P. meibomiae*, causadora da ferrugem "americana", que ocorre naturalmente em diversas leguminosas desde Porto Rico, no Caribe, ao sul do Estado do Paraná (Ponta Grossa) e a *P. pachyrhizi* Sydow & *P. Sydow*, causadora da ferrugem "asiática", presente na maioria dos países que cultivam a soja e, a partir da safra 2000/01, também no Brasil e no Paraguai. A distinção das duas espécies é feita através da morfologia de teliósporos e da análise do DNA (PASSINI, 2007).

A estiagem no início da safra de soja, o vazio sanitário adotado pelos estados produtores e as aplicações de fungicidas na floração da soja conseguiram segurar a incidência da ferrugem asiática na safra 2008/2009 (EMBRAPA, 2009a).

De acordo com o Consórcio Antiferrugem, na safra 2008/09, foram registrados 1139 focos, distribuídos nas principais regiões produtoras de soja: Paraná (418), Goiás (193), Mato Grosso do Sul (163), Mato Grosso (131), Rio Grande do Sul (103), Bahia (65), Minas Gerais (28), Santa Catarina (19), São Paulo (9), Rondônia (9) e Maranhão (1) (EMBRAPA, 2009).

A partir destes dados, a ferrugem asiática da soja foi identificada em lavouras comerciais de Aral Moreira (MS), Rio Verde (GO) e Cascavel (PR). Os três novos focos da doença foram cadastrados pela Fundação MS, Universidade de Rio Verde (Fesurv) e a Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola (Coodetec), membros do Consórcio Antiferrugem. A partir de agora, são 22 os focos da doença na safra 2009/2010, sendo 4 em lavouras comerciais e 18 relacionados à soja voluntária ou irrigada (EMBRAPA, 2009).

De acordo com a pesquisadora Cláudia Godoy (EMBRAPA SOJA), as condições climáticas no inverno de 2009, propiciaram a sobrevivência de plantas voluntárias e do fungo causador da ferrugem, o que pode estar favorecendo o aparecimento precoce da doença já nas primeiras lavouras em florescimento (EMBRAPA, 2009).

Na ferrugem "asiática", as lesões das cultivares suscetíveis são predominantemente castanho-claras (Figura 3), porém, quando em alta incidência pode causar crestamento foliar, assemelhando ao crestamento foliar de *Cercospora*; em cultivares resistentes ou tolerantes, as lesões são predominantemente castanho-avermelhadas (EMBRAPA, 2003) (Figura 4).



FIGURA 4. Esporos do fungo disseminados pelo vento, em folha de soja. Fonte: J. T. Yorinori



FIGURA 3. Sintoma da ferrugem asiática causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* em folhas de soja. Fonte: J. T. Yorinori

A disseminação da ferrugem é feita unicamente através da dispersão dos uredosporos pelo vento. A infecção por *P. pachyrhizi* causa rápido amarelecimento ou bronzeamento e queda prematura das folhas, impedindo a plena formação dos grãos. Quanto mais cedo ocorrer a desfolha, menor será o tamanho dos grãos e, conseqüentemente, maior a perda do rendimento e da qualidade (grãos verdes) (EMBRAPA, 2003).

Considerando que a ferrugem asiática se trata de uma doença altamente destrutiva, umas das alternativas de manejo ainda é o uso de fungicidas, desde que variedades resistentes ainda não foram desenvolvidas (MEDICE et al., 2007).

Porém, o uso indiscriminado de agrotóxicos pode ocasionar danos ao ambiente, levando ao desequilíbrio ambiental e a seleção de populações do fungo resistentes aos fungicidas (MEDICE et al., 2007).

Com isso, a procura por produtos alternativos que sirvam como defensivos e causem menores danos ao ambiente, sejam estes químicos, biológicos, orgânicos ou naturais, vem crescendo. Poderiam ser enquadrados nesta categoria, os diversos biofertilizantes, as caldas, os agentes de biocontrole e os óleos essenciais, sendo que a utilização de óleos essenciais de plantas medicinais tem mostrado resultados promissores no controle de patógenos de plantas (MEDICE et al., 2007).

Para que a soja torne-se um alimento ainda mais promissor, o uso de quantidades menores de pesticidas e, em contrapartida, a busca por produtos alternativos que sirvam como defensivos agrícolas aperfeiçoam esse processo, estimulando a produção da soja mais saudável e também favorecendo seu consumo, vislumbrando seus potenciais efeitos para a saúde.

Atualmente, a soja pode ser encontrada em muitos alimentos além daqueles mais tradicionais como shoyu, tofu e cereais. O grão tem sido utilizado como ingredientes de biscoitos, chocolates, margarina e temperos e o interesse por produtos como leite de soja e suco de frutas enriquecido com soja têm aumentado cada vez mais. A soja é uma excelente fonte de minerais como ferro, potássio, fósforo, cálcio, vitaminas do complexo B, é rica em proteínas e possui isoflavonas (ANDRADE et al., 2004).

1.2 Inibição da germinação e do crescimento

Em algumas regiões do Brasil é comum o cultivo de trigo e de outras culturas nos meses de inverno, antecedendo as culturas de verão. Para verificar a possibilidade de efeitos alelopáticos das culturas de inverno sobre as que as seguem, procedem-se ensaios de germinação de feijão, milho e soja, usando extratos aquosos de palha de plantas adultas de trigo, aveia, centeio, tremoço e nabo forrageiro. Estes podem contribuir para uma melhor germinação da semente da cultura subsequente, como também podem inibir a germinação (BORTOLINI & FORTES, 2005)..

A agricultura sustentável ou alternativa, que pode ser definida como aquela agricultura que utiliza recursos naturais racionalmente, visando a suprir as necessidades das gerações presentes e futuras, abrange a utilização de compostos químicos presentes nas plantas e que são resultantes do metabolismo primário e secundário. O primeiro grupo comporta as substâncias indispensáveis à planta e que se formam graças ao processo fotossintético. O segundo grupo, oriundo do metabolismo secundário, aparentemente sem atividade na planta, possui efeitos terapêuticos notáveis. Tais substâncias, denominadas princípios ativos ou compostos secundários, são os óleos essenciais (ou essências naturais), resinas, alcalóides, flavonóides, taninos, princípios amargos, entre outros (DI STASI, 1996).

Exudados radiculares de milho apresentaram, como efeitos de culturas anteriores, o melhor resultado para a germinação das sementes de soja, mas com pequena diferença da porcentagem de germinação da testemunha. Um resultado pouco relevante quando no campo. Houve influência sobre o tempo médio de germinação, visto que as sementes de soja com o tratamento testemunha germinaram em menor tempo do que as tratadas com extrato de aveia (BORTOLINI & FORTES, 2005).

Ao avaliar o efeito de suspensões aquosas de óleo essencial e de extratos brutos da planta medicinal capim limão (*Cymbopogon citratus*) no controle de fungos fitopatogênicos em sementes de trigo, verificou que a porcentagem de germinação das sementes, decresceu à medida que a concentração dos produtos avaliados aumentou (INOUE et al., 1998a). Também foi verificada a inibição total da germinação de sementes de soja tratadas com suspensão aquosa do óleo essencial de losna (*Artemisia absinthium*), capim limão (*C. citratus*) e eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) na concentração de 5% e suspensão aquosa de óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*), na concentração de 3% (INOUE et al., 1998b).

1.3 Atividade antioxidante, flavonóides e fenóis e toxicidade

1.3.1 Atividade antioxidante

As espécies reativas do oxigênio são reconhecidas como responsáveis por um grande número de doenças, assim como pelo processo de envelhecimento. Nesse contexto, os antioxidantes de origem natural merecem atenção especial, pois as plantas sintetizam um grande número de metabólitos capazes de captar os radicais livres (HOSTETTSMANN et al., 2003).

Nas condições fisiológicas, durante a redução do oxigênio molecular, são formadas Espécies Reativas de Oxigênio, as ERO's, no entanto, quando em excesso, estes radicais livres podem causar danos. Com o conhecimento de que antioxidantes sintéticos vêm causando danos sobre o fígado, está cada vez maior a procura por substâncias antioxidantes de origem vegetal. Estas podem ser encontradas em óleos essenciais e extratos de muitas plantas nativas brasileiras.

Produtos de origem natural são amplamente estudados por serem capazes de proteger os sistemas biológicos, especialmente membranas lipídicas, dos danos produzidos por esse estresse oxidativo. O ensaio de descoloração do radical DPPH (radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila) em que ocorre captura de radicais e formação de DPPH-H é bastante robusto e independe da polaridade do extrato para exercer sua atividade (SOUZA et al., 2007).

No ensaio com o radical livre DPPH ocorre a diminuição da absorbância a 517 nm, bem como a redução de antioxidantes devido à habilidade das substâncias em transferir átomos de hidrogênio para os radicais (DJERIDANE et al., 2006).

A porcentagem de atividade antioxidante corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada CI_{50} (SOUZA et al., 2007a).

1.3.2 Flavonóides

Os flavonóides existem naturalmente numa grande variedade de alimentos de origem vegetal como frutas, vegetais, sementes, flores e folhas e fazem parte da dieta humana. As propriedades antioxidantes dos flavonóides têm atraído a atenção para a nutrição preventiva, pois eles protegem os constituintes alimentares contra o dano

oxidativo, podendo contribuir para a prevenção de importantes patologias como doenças cardiovasculares, envelhecimento, câncer e outras (YUNES & CALIXTO, 2001).

O uso do cloreto de alumínio (AlCl_3) no diagnóstico da presença de alguns grupamentos químicos foi pela primeira vez empregado para antocianinas. Mais recentemente, foi proposta a utilização de métodos espectrofotométricos para a determinação de flavonóides totais em plantas, utilizando-se AlCl_3 (MARCUCCI et al., 2005).

Neste método o cátion alumínio forma complexos estáveis com os flavonóides, ocorrendo na análise espectrofotométrica um desvio para maiores comprimentos de onda e uma intensificação da absorção, dessa maneira, é possível determinar a quantidade de flavonóides, evitando-se a interferência de outras substâncias fenólicas. O uso do cloreto de alumínio para a determinação da quantidade de flavonóides totais não é, no entanto, um procedimento isento de limitações. O método é preciso, isto é, ele é reproduzível, fornecendo desvios muito pequenos ou nulos entre um ensaio e outro com a mesma amostra. No entanto, ele pode ser pouco exato, ou seja, o valor que ele fornece pode ser diferente (geralmente inferior) em relação à quantidade de flavonóides totais realmente presente na amostra analisada (MARCUCCI et al., 2005).

1.3.3 Fenóis

A quantificação espectrofotométrica de substâncias fenólicas é realizada por meio de uma variedade de técnicas, todavia, a que utiliza o reagente de *Folin-Ciocalteu* figura entre as mais extensivamente utilizadas. Os resultados obtidos na determinação de fenóis totais apresentaram altos teores de compostos fenólicos, encontrado em extratos etanólicos (SOUZA et al., 2007a).

No teste espectrofotométrico de quantificação de fenóis totais, a reação envolvida é de óxido-redução, onde o íon fenolato é oxidado em meio alcalino, enquanto reduz o complexo fosfotúngstico – fosfomolibdico, ficando a solução azul. Para o teste espectrofotométrico de quantificação de flavonóides totais, utiliza-se da facilidade com que essa classe de substâncias tem de formar complexos com o cátion alumínio, e assim deslocando para um comprimento de onda maior e intensificando a absorção (FUNARI & FERRO, 2006).

O RFC (Reagente de Folin-Ciocalteu) consiste de mistura dos ácidos fosfomolibdico e fosfotungstico, na qual o molibdênio se encontra no estado de oxidação

(VI) (cor amarela no complexo $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$); porém, em presença de certos agentes redutores, como as substâncias fenólicas, formam-se os chamados complexos molibdênio-tungstênio azuis $[(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^4]$, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 (V) e 6 (VI) e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras que, não necessariamente, precisam ter natureza fenólica (OLIVEIRA et al., 2009).

1.3.4 Toxicidade

Artemia salina é utilizada como indicador de toxicidade de substâncias químicas, pesticidas, poluentes e outros. Utilizando-se a concentração letal média (CL_{50}) é possível determinar e avaliar a atividade biológica (toxicidade) de um certa substância ou extrato natural. O custo da implantação e manutenção da cultura de *Artemia salina* é muito baixo, o que faz desta, um excelente modelo experimental, utilizado nas mais diversas áreas da biologia. Extratos vegetais são amplamente utilizados pela população e, portanto, o estudo da letalidade destes extratos sobre bioindicadores como *Artemia salina* é indiscutivelmente necessário (LOPES et al., 2002).

Devido ao baixo custo, simplicidade e eficiência, o teste de toxicidade em *Artemia salina* (a substância é considerada tóxica quando a concentração letal média é inferior a 1000 mg/mL) vem cada vez mais sendo reconhecido como uma alternativa para a busca de compostos candidatos a novas drogas (MEYER, 1982).

Foram submetidos ao bioensaio com *Artemia salina* os extratos de folhas, sementes e de cascas do caule de *Unonopsis lindmanii* e pôde-se observar a validade e a confiabilidade do bioensaio TAS, onde a toxicidade convergiu para as frações que continham uma substância reconhecidamente ativa, o alcalóide oxaporfínico liriodenina. Pode-se também afirmar que os resultados obtidos também demonstraram a sensibilidade da metodologia (SIQUEIRA et al., 1998).

1.4 Família Myrtaceae e o Gênero *Campomanesia*

A família Myrtaceae compreende aproximadamente 140 gêneros e 3.000 espécies, distribuídas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, com centros de diversidade na América tropical e Austrália e poucas espécies ocorrendo nas regiões temperadas (BARROSO, 1984).

Myrtaceae é uma das famílias de plantas mais importantes em várias formações vegetais brasileiras, especialmente nas florestas. Suas flores hermafroditas, de cor geralmente clara e com numerosos estames e os frutos carnosos são procurados por diversas espécies de animais (GRESSLER et al., 2006).

As plantas da família Myrtaceae têm sido organizadas tradicionalmente em duas subfamílias, Leptospermoideae e Myrtoideae (GRESSLER et al., 2006).

A Myrtoideae, de ampla ocorrência na América tropical, e Leptospermoideae ocorrem principalmente na Austrália, Malásia e Polinésia (LIMBERGER et al., 2004; VIEIRA et al., 2004). Todas as plantas da família Myrtaceae brasileiras estão incluídas na Tribo *Myrteae* (GRESSLER et al., 2006).

As espécies de *Campomanesia* (Figuras 5 e 6) são abundantes no Cerrado Sulmatogrossense, popularmente conhecidas por guavira, guaivira ou guabiroba, seus frutos são consumidos *in natura*, ou são feitos doces e licores.



FIGURA 6. Folhas e frutos de *C. guaviroba*. Fonte: frutasraras.sites.uol.com.br

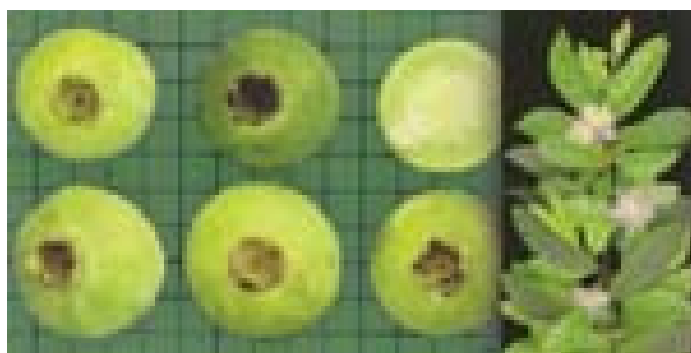


FIGURA 5. Folhas, flores e frutos de *C. sessiliflora*. Fonte: mariplantas.com.br

As espécies são usadas tradicionalmente como aromática, adstringente, antireumática, reguladora do fluxo intestinal, contra cistites, uretrites, e antidiarréica (DICKEL et al., 2006).

Óleos essenciais das folhas de *C. guazumifolia*, *C. rhombea* e *C. xanthocarpa* foram analisados e mostraram-se ricos em sesquiterpenos e em *C. aurea* houve predominância de monoterpenos. Verificou-se a predominância dos sesquiterpenos espatulenol (27,7%) e do óxido de β -cariofileno (29,0%) em *C. guazumifolia*; o biciclogermacreno (13,6%) e o globulol (10,8%) em *C. rombea* e o (E)-nerolidol (28,8%) em *C. xanthocarpa* (LIMBERGER et al., 2001).

O resultado da análise qualitativa do óleo dos frutos de *C. adamantium* (Figura 7), permitiu identificar 30 componentes entre monoterpenos e sesquiterpenos. Constataram-se como compostos majoritários o sesquiterpeno cariofileno, bem como, monoterpenos ocimeno, 3-careno e D-limoneno (VALLILO et al., 2006a).



FIGURA 7. Frutos e folhas *Campomanesia adamantium*. Fonte: frutasraras.sites.uol.com.br

Trinta e cinco compostos foram identificados, no óleo essencial de folhas frescas de *C. phaea*, representando 94,9% do total. O óleo desta espécie é caracterizado pela predominância de sesquiterpenos e monoterpenos (ADATI & FERRO, 2006).

O óleo essencial de folhas frescas de *C. xanthocarpa* contém linalol (29%) e globulol (20%), identificados como constituintes majoritários (MARKMAN, 2002).

Pôde-se identificar e quantificar 40 componentes no óleo volátil dos frutos de *C. adamantium*, que corresponderam a 93,3% dos compostos presentes. Os componentes majoritários deste óleo foram os hidrocarbonetos monoterpênicos α -pineno (10,6%), limoneno (10,1%) e β -(z)-ocimeno (9,2%). Entre os sesquiterpenos, destacam-se o β -cariofileno (7,04%), o ledeno (5,16%) e o globulol (3,18%) (VALLILO et al., 2006b).

Segundo OSÓRIO et al. (2006) foram caracterizados os componentes voláteis da polpa, casca, folhas e sementes de champa (*C. lineatifolia*), onde foram encontrados ésteres, β -tricetonas, álcoois e C₁₃-norisoprenóides, terpenos como 1,8 cineol, α -pineno e β -cariofileno.

No óleo essencial das frutas frescas de *C. xanthocarpa* estão presentes os monoterpênicos (23,1%), sendo o monoterpene majoritário o limoneno (10,9%), enquanto na fração dos sesquiterpenos, o predominante é o β -cariofileno (21,8%) (MARIN et al., 2008).

Segundo COUTINHO et al. (2008) no óleo essencial extraído das folhas de *C. adamantium*, foram identificados 82 componentes em que monoterpênicos representam 48,8% e sesquiterpenos correspondem também à 48,8%. Enquanto no óleo essencial das flores de *C. adamantium*, foram identificados 37 substâncias sendo 10,8% monoterpênicos e 86,5% sesquiterpenos. Os constituintes majoritários do óleo da folha foram limoneno (21,9%), α -pineno (13,4%) e β -pineno (9,0%) e no óleo volátil da flor foram o ledol (20,9%), globulol (9,3%), α -cadinol (7,5%) e epi- α -muurolol (5,0%).

Foram identificados no total 55 substâncias no óleo essencial das folhas de *C. adamantium*. Este óleo proveniente das folhas de *C. adamantium* foi caracterizado predominantemente com sesquiterpenos (59,9%) e significantes quantidades de monoterpênicos (28,7%). Os principais constituintes foram o geraniol (18,1%), espatulenol (7,8%) e o globulol (5,6%). Esta composição é similar a outros óleos de folhas de espécies de *Campomanesia*, mas diferente do óleo proveniente do fruto (STEFANELLO et al., 2008).

Foram identificados 9 compostos (7-hidroxi-5-metoxi-flavonona; 7-hidroxi-5-metoxi-6-metilflavonona; 5,7-diidroxi-6-metilflavonona; 5,7-diidroxi-6-metilflavonona; 2',4'-diidroxi-6'-metoxichalcona; 5,7-diidroxi-6,8-di metilflavonona; 2',4'-diidroxi-6'-metoxi-5'-metilchalcona; 2',4'-diidroxi-6'-metoxi-3'-metilchalcona; 2',4'-diidroxi-6'-metoxi-3',5'-dimetilchalcona) no extrato metanólico das folhas de *C. adamantium*. Todos os extratos testados exibiram grande atividade antioxidante (COUTINHO et al., 2008).

O óleo essencial dos frutos de *C. xanthocarpa*, teve baixo rendimento (0,2%), apresentou cor amarela clara e aroma cítrico agradável e persistente. Foram identificados 62 componentes, sendo os majoritários α -pineno (15%) o-cimeno (10,8%), e β -pineno (10,5%). O óleo dos frutos de *C. xanthocarpa*, contém mais hidrocarbonetos monoterpênicos quando comparado com o óleo essencial dos frutos de *C. adamantium*, contudo, a composição do óleo das duas plantas apresenta somente nove substâncias em comum (VALLILO et al., 2008).

O rendimento do óleo essencial de frutas frescas de *C. pubescens* foi de 0,10%. No óleo essencial das folhas, 38 compostos foram identificados, destes, 7,9% são monoterpenos, 89,5% são sesquiterpenos e 2,6% são outros compostos. Os constituintes majoritários foram o criptomeridiol (14,2%), espatulenol (6,7%), globulol (6,2%), α -cadinol (5,9) e o β -cariofileno (4,0%) (SILVA et al., 2009).

O óleo das flores frescas de *C. pubescens* teve um rendimento de 0,04% e neste foram identificados 38 compostos, sendo 10,9% monoterpenos e 86,5% sesquiterpenos. Os constituintes majoritários foram o ledol (19,8%), globulol (9,2%), α -cadinol (7,3%), e epi- α -muurolol (5,0%) (CARDOSO & POPPI, 2009).

De acordo com CARDOSO et al. (2009) o óleo essencial extraído dos frutos de *C. xanthocarpa* rendeu 0,12%, e foram identificados 37 substâncias, sendo 10,8% monoterpenos e 89,2% sesquiterpenos. Enquanto o óleo volátil extraído dos frutos de *C. adamantium* rendeu 0,10%, e foram identificadas 38 substâncias, das quais 10,8% monoterpenos e 89,2% sesquiterpenos. O constituinte majoritário identificado nas duas espécies foi o criptomeridiol.

No óleo essencial extraído das folhas de *C. pubescens* foram identificadas 61 substâncias, sendo, 60,3% monoterpenos e 34,5% sesquiterpenos. As substâncias identificadas como majoritárias foram, limoneno (22,4%), α -pineno (13,3%), sabineno (9,5%), biciclogermacreno (4,4%) e linalol (3,9%) (SILVA et al., 2009a).

Taninos representam 2,86% na droga vegetal e 8,49% no extrato hidro-alcóolico (EHA) de *C. xanthocarpa*. A droga vegetal e o extrato EHA contêm 6,27 e 16% de saponinas, respectivamente. Devido às suas características, o extrato demonstrou grande atividade antioxidante (MARKMAN, 2002).

Quando testado como controlador dos níveis lipídicos, o extrato aquoso das folhas de *C. xanthocarpa* não demonstrou alterações significativas, mas como anti-hiperglicêmico, o mesmo apresentou efeitos após quatro semanas de tratamento (BIAVATTI et al., 2004).

A análise fitoquímica do extrato etanólico de folhas de *C. xanthocarpa* indicou a presença de flavonóides, saponinas e taninos. Este quando administrado em doses orais de 400 mg kg⁻¹ promoveu a prevenção de gastrite ulcerativa em ratos e não produz sintomas tóxicos em camundongos em doses acima de 5 g kg⁻¹. O percentual do efeito gastroprotetor de *C. xanthocarpa* e do misoprostol é 62 e 64%, respectivamente (MARKMAN et al., 2004).

O perfil cromatográfico obtido dos extratos hexânicos de *C. adamantium* dos pontos selecionados mostraram semelhança ao se empregarem dois comprimentos de luz ultravioleta, 254 nm e 366 nm. Assim, presume-se que não ocorra alteração do extrato vegetal nos diferentes pontos, como já esperado, em função desses estarem sobre a mesma influência microclimática e edáfica. Como antioxidantes, os extratos demonstraram ser inferiores à ação da rutina (tida como padrão). Também foi analisada a toxidez para *Artemia salina* dos extratos, os quais não apresentaram substâncias potencialmente citotóxicas (RAMOS et al., 2007).

Segundo BONILLA et al., (2005) a partir do extrato aquoso de sementes *C. lineatifolia* foram isoladas dois novos pigmentos amarelos. Foram denominados champononas A (2,224,4-tetrametil-6-(1-oxo-3-fenilprop-2-enil)ciclohexano-1,3,5-triona) e B (2,2,4-trimetil-6(1-oxo-3-fenilprop-2-enil)ciclohexano-1,3,5-triona) e também outra champanona previamente conhecida a 2,3-diidro-5-hidroxi-6,8,8-trimetil-2-fenil-4H-1-benzopiran-4,7(8H)-diona). As três champanonas mostraram uma leve atividade antimicrobiana.

A avaliação preliminar dos efeitos da administração de uma dose de 500 mg de folhas de *C. xanthocarpa* em sujeitos com colesterol elevado demonstrou uma significativa redução do mesmo (KLAFKE et al., 2008).

No extrato hexânico das folhas de *C. pubescens* foram identificados 23 sesquiterpenos representando 58,8% da área relativa e triterpenos, os quais são substâncias de baixa polaridade. Os majoritários foram biciclogermacreno (13,6%), espatulenol (12,6%), germacreno D (10,4%), δ -cadineno (2,6%) e α -cadinol (2,6%). O extrato hexânico de *C. pubescens* apresentou baixo efeito de 'sequestro' de radical bem como não surgiu coloração amarela nas concentrações testadas (CARDOSO et al., 2008).

De acordo com VALLILO et al., (2008) os frutos de *C. xanthocarpa* apresentam alto teor de água, 1,9% de lipídeos, 8,9% de carboidratos totais, 6,3% de fibra alimentar. Também foram identificados minerais como potássio, fósforo e magnésio além de microelementos.

A polpa dos frutos maduros de *C. xanthocarpa* foi analisada por SANTOS et al, (2009) e apresentou 3,84% de fibra bruta, 0,12% de lipídeos e 1,08% de proteínas. O teor de compostos fenólicos foi significativo, assim como o de vitamina C (233,56mg/100g). Também foram isoladas pectinas constituídas de monossacarídeos.

De acordo com KLAFKE et al. (2010) a administração de cápsulas com as folhas moídas de *C. xanthocarpa* em quantidades de 250 e 500 mg diminuí significativamente os níveis de colesterol total e LDL (lipoproteína de baixa densidade) em pacientes hipercolesterolêmicos após 45 dias de tratamento. Também foi constatada a presença intensa de saponinas, taninos e terpenos, com pouca presença de flavonóides.

No óleo extraído no período de floração das folhas de *C. adamantium* foram identificados 95 compostos, sendo os compostos majoritários monoterpênicos. Estes óleos essenciais demonstraram alta atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, e atividade moderada frente a *Escherichia coli*. No estágio vegetativo os constituintes majoritários são sesquiterpenos. A atividade antioxidante dos óleos essenciais não foi significativa, variando de 6,89% a 9,91% (COUTINHO et al, 2009).

Extratos acetato de etila e metanólico dos frutos de *C. adamantium* e frações destes foram analisadas frente ao agente causador da tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*. Este bioensaio demonstrou promissora atividade anti tuberculose (PAVAN et al., 2009).

Um estudo buscando avaliar o potencial de *C. pubescens* para produção de uma bebida fermentada e com base nas características da polpa e aceitação na análise sensorial, os frutos demonstraram bom potencial para uso na produção de bebida fermentada (DUARTE et al., 2009).

2. OBJETIVOS

Efetuar a caracterização do óleo essencial em diferentes estágios fenológicos empregando CG/EM de *C. sessiliflora* e *C. guaviroba*.

Avaliar a composição química por CLAE dos extratos aquosos de *C. sessiliflora*, *C. guaviroba* e *C. adamantium*, e extrato etanólico e metanólico de *C. adamantium*.

Analisar a atuação fungitóxica dos extratos aquosos (*C. sessiliflora*, *C. guaviroba* e *C. adamantium*) e orgânicos (*C. adamantium*) aplicando em soja na presença da ferrugem asiática, provocada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & P. Sydow.

Avaliar a toxicidade e atividade antioxidante e determinar o teor de fenóis totais e flavonóides dos extratos aquosos de *C. sessiliflora*, *C. adamantium* e *C. guaviroba* e dos extratos etanólico e metanólico de *C. adamantium*.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais e equipamentos

3.1.1 Solventes utilizados

Hexano, ChomAR grau HPLC, foi o solvente utilizado para as diluições dos óleos essenciais e soluções dos padrões de n-alcenos.

Foi utilizado como gás de arraste o hélio 99,999%.

Metanol grau cromatográfico e água ultrapurificada pelo ultrapurificador biohuman, modelo human up 900, foram os solventes utilizados na separação das substâncias por CLAE.

Foram utilizados metanol, etanol e água destilada na preparação dos extratos e na preparação dos padrões utilizados (Tabela 1).

Para avaliar o teor de fenóis e flavonóides foram utilizados alguns reagentes descritos na metodologia e também padrões para quantificação dos resultados.

TABELA 1. Reagentes utilizados nos testes de fenóis, flavonóides, CLAE, CG, toxicidade e atividade antioxidante .

REAGENTES	MARCAS COMERCIAIS
Hexano	<i>Mallinckrodt</i>
Gás Hélio	<i>White Martins</i>
Metanol	<i>Dinâmica</i>
Etanol	<i>Dinâmica</i>
Quercetina	<i>Sigma</i>
Ácido Gálico	<i>Sigma</i>
Folin-Ciocalteu	<i>Sigma</i>
Rutina	<i>Sigma</i>
DPPH	<i>Sigma</i>
Álcool etílico	<i>Dinâmica</i>
Cloreto de alumínio	<i>Dinâmica</i>
Acetato de sódio	<i>Dinâmica</i>
Carbonato de sódio	<i>Dinâmica</i>

3.1.2 Padrões utilizados

Os hidrocarbonetos saturados (C9 a C22) usados como padrões de referência no cálculo dos índices de retenção foram obtidos da Sigma-Aldrich, USA.

Foram utilizados padrões das substâncias rutina com 98 % de pureza (Sigma-Aldrich, USA), 7-hidroxi-5-metoxiflavanona, com 98,1% de pureza, 7-hidroxi-6-metil-metoxiflavanona com 98,3% de pureza, 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona com 97,4% de pureza, 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona com 98,8% de pureza, 5,7-dihidroxi-8-metilflavanona com 97,9% de pureza, 5-hidroxi-7-metoxiflavanona com 96,7% de pureza e 2',4'-dihidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona com 98,7% de pureza. Todos isolados pelo grupo de estudos do laboratório da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul.

3.1.3 Espectrofotômetro de absorção molecular na região do ultravioleta e visível

O espectrofotômetro utilizado foi fabricado pela *Femto*, é o modelo 700 S, o qual possui leitura na faixa de 190-1100nm (lâmpada de deutério e tungstênio).

3.1.4 Cromatógrafo em fase Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

As amostras de extratos foram analisadas empregando um cromatógrafo em fase líquida de alta eficiência, modelo *Shimadzu*, constituído por duas bombas, detector de UV-VIS (SPD20A) e detector com índice de refração (RID10A), integrador e degaseificador.

3.1.5 Cromatógrafo em fase Gasosa acoplado ao Espectrômetro de Massas (CG/EM-EM)

As amostras de óleos essenciais foram analisadas empregando um cromatógrafo em fase gasosa, GC 3900 marca *Varian*, acoplado a um Espectrômetro de massas com detector de massas Saturn 2100 T/MS/MS, injetor automático CP 8410 e processador de dados MS 2.0 com banco de dados da NIST/02 .

3.2 Metodologia

3.2.1 Coleta do material vegetal

As coletas foram realizadas nas cidades de Dourados e Itaporã, durante o ano de 2008, no Estado do Mato Grosso do Sul (Tabela 2).

As coletas foram realizadas no período da manhã e sempre no mesmo horário e com plantas de mesmo porte.

Estas foram identificadas por Marcos Sobral da Universidade Federal de Minas Gerais.

As folhas coletadas (*C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba*) foram secas em estufa por cerca de 12 horas a 37 °C, moídas em moinho de facas (Marconi MA680-1).

3.2.2 Estudo dos metabólitos secundários das folhas de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba*

3.2.2.1 Preparo dos extratos

3.2.2.1.1 Preparo do extrato aquoso

Para os extratos aquosos, as folhas moídas (2,00 g) das três espécies em análise foram maceradas com 50 mL de água e colocadas em contato por 24 h. Após, foram filtrados e o volume aferido novamente para 50 mL em balão volumétrico para obtenção dos extratos aquosos. Estes, após secagem foram preparados na concentração de 2000 µg mL⁻¹ para serem analisados.

Para o preparo da solução de extrato aquoso usado nas análises foi empregada uma massa (0,1000 g) do extrato seco, a qual foi avolumada para 50 mL em balão volumétrico com etanol, para obtenção de uma solução de concentração 2000 µg mL⁻¹.

TABELA 2. Local de coleta e identificação das amostras.

Amostras	Local de Coleta	Estação do ano	Latitude/Longitude	Número exsicata
<i>C. sessiliflora</i> 1	Dourados	Outono	22° 08' 18'' O/ 055° 08' 24,6'' W	1239
<i>C. guaviroba</i>	Dourados	Outono	22° 08' 20,5'' S/ 055° 08' 29,3'' W	1240
<i>C. sessiliflora</i> 2	Itaporã	Outono	22° 07' 39,5'' S/ 054° 48' 61,2'' W	1241
<i>C. Sessiliflora</i> 1	Dourados	Inverno	22° 08' 18'' O/ 055° 08' 24,6'' W	1242
<i>C. guaviroba</i>	Dourados	Inverno	22° 08' 20,5'' S/ 055° 08' 29,3'' W	1243
<i>C. sessiliflora</i> 2	Itaporã	Inverno	22° 07' 39,5'' S/ 054° 48' 61,2'' W	1244
<i>C. sessiliflora</i> 1	Dourados	Primavera	22° 08' 18'' O/ 055° 08' 24,6'' W	1245
<i>C. guaviroba</i>	Dourados	Primavera	22° 08' 20,5'' S/ 055° 08' 29,3'' W	1246
<i>C. sessiliflora</i> 2	Itaporã	Primavera	22° 07' 39,5'' S/ 054° 48' 61,2'' W	1247
<i>C. sessiliflora</i> 1	Dourados	Verão	22° 08' 18'' O/ 055° 08' 24,6'' W	1249
<i>C. guaviroba</i>	Dourados	Verão	22° 08' 20,5'' S/ 055° 08' 29,3'' W	1250
<i>C. sessiliflora</i> 2	Itaporã	Verão	22° 07' 39,5'' S/ 054° 48' 61,2'' W	1251
<i>C. adamantium</i>	Dourados	Verão	22° 11' 813'' S/ 054° 55' 801'' W	1196

3.2.2.1.2 Preparo do extrato etanólico

Foram pesados 200,00 g de folhas moídas e secas de *C. adamantium*, estas foram deixadas em contato com um litro do solvente etanol durante sete dias. Foi efetuada a filtração e adicionado mais um litro do solvente. Posteriormente, foi efetuada nova

filtração e adicionado mais um litro do solvente. Novamente procedeu-se a filtração após a terceira extração, totalizando 2,25 L de extrato etanólico, o qual foi concentrado em evaporador rotativo obtendo-se 12,98 g de extrato.

Para o preparo da solução de extrato etanólico usado nas análises foi empregada uma massa (0,1000 g) do extrato seco, a qual foi avolumada para 50 mL em balão volumétrico com etanol, para obtenção de uma solução de concentração 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

3.2.2.1.3 Preparo do extrato metanólico

Foram pesados 200,00 g de folhas moídas e secas de *C. adamantium*, estas foram deixadas em contato com um litro do solvente metanol durante sete dias. Em seguida, foi efetuada a filtração e adicionado mais um litro do solvente. Posteriormente foi efetuada nova filtração e adicionado mais um litro do solvente. Novamente, procedeu-se a filtração após a terceira extração, totalizando 2,35 litros de extrato metanólico, o qual foi concentrado em evaporador rotativo obtendo-se 11,53 g de extrato.

Para o preparo da solução de extrato metanólico usado nas análises foi empregada uma massa (0,1000 g) do extrato seco, a qual foi avolumada para 50 mL em balão volumétrico com etanol, para obtenção de uma solução de concentração 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

3.2.2.2 Condições cromatográficas empregadas nas análises de CLAE

A coluna utilizada para as análises foi a fase reversa C-18 (25 cm x 4,6 mm x 5 μm) e pré-coluna (2,5 cm x 3 mm) de mesma fase da coluna (Phenomenex).

A eluição das 8 substâncias (rutina, 7-hidroxi-5-metoxiflavanona, 7-hidroxi-6-metil-metoxiflavanona, 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona, 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona, 5,7-diidroxi-8-metilflavanona, 5-hidroxi-7-metoxiflavanona, 2',4'-diidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona) foi realizada com solventes de grau HPLC em sistema gradiente, na seguinte condição: 16% de metanol e 84% de água à 1 mL min^{-1} , durante os primeiros 10 minutos. Ao atingir 10 minutos passou a 41% de metanol e 59% de água permanecendo nesta condição por 10 minutos, em 20 minutos foi a 79% de metanol e 21% de água durante mais 10 minutos. Em trinta minutos o sistema eluiu com 100% metanol por 20 minutos, e retornou à condição inicial à 1 mL min^{-1} . Tempo de análise foi de 50 minutos.

Para as substâncias Rutina, 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona e 2',4'-diidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona o comprimento de onda utilizado na quantificação foi 360

nm, para as substâncias 7-hidroxi-5-metoxiflavanona, 7-hidroxi-6-metil-metoxiflavanona, 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona, 5,7-diidroxi-8-metilflavanona e 5-hidroxi-7-metoxiflavanona foi utilizado o comprimento de onda de 284 nm.

3.2.2.2 Preparo dos padrões utilizados em CLAE

Os padrões foram preparados a partir de substâncias previamente isoladas (Tabela 2). Para cada padrão foi pesada uma massa e dissolvida em 9 mL de metanol empregando ultrassom. Após a dissolução as amostras foram filtradas em ultrafiltros de 0,22 μm e avolumadas para 10 mL em balão volumétrico. Estas soluções foram chamadas de soluções estoque (Tabela 3), desta foram preparadas as diluições para o preparo da curva analítica para CLAE.

TABELA 3. Concentrações das soluções estoques dos padrões utilizados nas análises

Substância	Massa pesada (g)	Pureza (%)	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Rutina	0,0039	98,0	381,22
7-hidroxi-5-metoxiflavanona	0,0027	98,1	264,87
7-hidroxi-6-metil-metoxiflavanona	0,0014	98,3	137,62
5,7-dihidroxi-6-metilflavanona	0,0049	97,4	477,26
2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona	0,0011	98,8	108,68
5,7-diidroxi-8-metilflavanona	0,0017	97,9	166,43
5-hidroxi-7-metoxiflavanona	0,0049	96,7	473,83
2',4'-diidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona	0,0003	98,7	29,61

3.2.2.4 Curvas analíticas e análise dos extratos

Foram preparadas e analisadas, em triplicatas, soluções padrão (5 ou 6 concentrações) para elaboração das curvas analíticas. O comportamento linear foi avaliado nas concentrações entre 1,3 e 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para rutina, 1,1 e 64,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para 5,7-diidroxi-8-metilflavanona e 2',4'-diidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona, $4,0 \times 10^{-3}$ e $7,0 \times 10^{-1}$ $\mu\text{g mL}^{-1}$ para 7-hidroxi-5-metoxiflavanona, $3,5 \times 10^{-1}$ e $12,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ para 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona, 1,1-22,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona, 3,0

$\times 10^{-1}$ e $3,8 \mu\text{g mL}^{-1}$ para 5-hidroxi-7-metoxiflavana e entre 5,0 e $250,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ para 5,7-dihydroxi-6-metilflavanona.

A equação da reta para a curva analítica foi obtida pelo método dos mínimos quadrados e a linearidade avaliada por intermédio do coeficiente de correlação linear (r).

Os extratos das folhas de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* foram analisados, em triplicata, e as concentrações das substâncias de interesse determinadas usando a equação da reta.

3.2.3 Caracterização química de óleos essenciais de *Campomanesia guaviroba* e *Campomanesia sessiliflora* em diferentes estágios fenológicos

Quatrocentos gramas das folhas frescas coletadas em diferentes estágios fenológicos foram submetidas à extração por hidrodestilação em equipamento CLEVINGER.

A partir das amostras coletadas do extrator de Clevenger, efetuou-se a separação por partição com hexano, grau cromatográfico, obtendo-se uma fase aquosa e uma fase hexânica. A fase hexânica foi submetida a análise em CG-EM.

A Tabela 4 mostra a massa de substâncias extraídas em 1,0 mL do substrato e massa de substância em 100 g de amostra in natura para cada uma das amostras analisadas. As concentrações das amostras de *C. sessiliflora* 1, *C. sessiliflora* 2 e *C. guaviroba*, todas coletadas no inverno, não foi possível calcular devido à pequena quantidade de óleo essencial obtida.

TABELA 4. Concentração dos analitos e respectivos rendimentos

Amostras	Local de Coleta	C. do Analito (µg/mL)	Estação do ano	Teor (%)
<i>C. sessiliflora</i> 1	Dourados	1030	Outono	0,06
<i>C. guaviroba</i>	Dourados	1050	Outono	0,06
<i>C. sessiliflora</i> 2	Itaporã	1000	Outono	0,06
<i>C. sessiliflora</i> 1	Dourados	-	Inverno	0,002
<i>C. guaviroba</i>	Dourados	-	Inverno	0,002
<i>C. sessiliflora</i> 2	Itaporã	-	Inverno	0,002
<i>C. sessiliflora</i> 1	Dourados	1100	Primavera	0,06
<i>C. guaviroba</i>	Dourados	1050	Primavera	0,09
<i>C. sessiliflora</i> 2	Itaporã	1180	Primavera	0,11
<i>C. sessiliflora</i> 1	Dourados	980	Verão	0,07
<i>C. guaviroba</i>	Dourados	1008	Verão	0,06
<i>C. sessiliflora</i> 2	Itaporã	999	Verão	0,06

C. do analito – Concentração do analito.

3.2.3.1 Condições cromatográficas empregadas nas análises de óleo essencial

Para a separação cromatográfica foi empregada uma coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária de poli-dimetil-siloxano com 5% de fenila (VF-5MS), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e recobrimento de fase de 0,25 µm. A temperatura inicial do forno foi de 50°C, seguido de um aquecimento de 50 °C a 250 °C a 3 °C /min. Foi empregado como gás de arraste o hélio 99,999% (fluxo de 1 mL min⁻¹); volume de injeção de 1 µL e razão de split (1:20). As temperaturas do injetor e do detector ion-trap foram de 240 °C e 200 °C, respectivamente, manifold a 70 °C e linha de transferência 240 °C. Para o espectrômetro de massas foram empregadas a energia de ionização de 70 eV, com intervalo de massas de 40-450 m/z e um intervalo de varredura de 0.5 s.

Os constituintes nas amostras de óleo essencial foram identificados com base no índice de retenção calculado para temperatura programada, de acordo com a equação de Van Dool e Kratz (VAN DEN DOOL & KRATZ, 1963) e espectros de massas. O índice de retenção obtido para o analíto foi comparado com os da literatura (ADAMS, 2001) e o espectro de massas com os do banco de dados Nist 2.0 e Saturn.

$$I = \frac{(T_{rx} - Tr_z)}{(T_{rz+1} - Tr_z)} 100 + 100z \quad (\text{EQUAÇÃO 1})$$

EQUAÇÃO 1 – Fórmula de Van Den Dool & Kratz utilizada para cálculo do índice de retenção das substâncias presentes no óleo essencial. I = índice de retenção do composto considerado. T_{rx} – tempo de retenção do composto considerado. Tr_z – Tempo de retenção do padrão à esquerda. T_{rz+1} – Tempo de retenção do padrão à direita. Z – número de carbonos do padrão à direita.

3.2.3.2 Preparo dos padrões utilizados na análise por CG-EM

Os padrões da série de n-alcenos (C_8 - C_{22}) utilizados foram adquiridos da Sigma-Aldrich e utilizados na concentração de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ em hexano.

3.2.4 Testes químicos e biológicos com os extratos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba*

3.2.4.1 Ensaio antioxidante com o radical livre DPPH

O teste de atividade antioxidante com o radical livre DPPH (1,1 – difenil – 2 picril – hidrazila) foi realizado nas amostras (concentrações 20, 100 e $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$) dos extratos aquosos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* e também dos extratos etanólico e metanólico de *C. adamantium*. Preparou-se uma solução de DPPH ($40 \mu\text{g mL}^{-1}$) em metanol. Adicionou-se 1,00 mL da solução de DPPH para cada 0,5 mL de amostra. A solução reagiu por 30 minutos antes de se fazer a leitura em espectrofotômetro a 517 nm. Fez-se o mesmo procedimento para o branco, utilizando 0,5 mL de solvente o invés de amostra. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Através das absorbâncias foi calculado o percentual de inibição (PI) (Equação 1) KUMARAN & KARUNAKARAN, 2006).

$$\%PI = \frac{[A_0 - A]}{A_0} \times 100 \quad (\text{EQUAÇÃO 2})$$

EQUAÇÃO 2 - Equação utilizada para verificação do percentual de inibição (%PI), onde PI é o percentual de inibição e A corresponde à absorbância da amostra em DPPH decorridos 30 minutos de reação e A0 corresponde à absorbância do solvente de dissolução da amostra em DPPH decorridos 30 minutos de reação.

3.2.4.2 Teste de flavonóides

A cada 500 µL das amostras (dos extratos aquosos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* e os extratos etanólico e metanólico de *C. adamantium*, todos na concentração de 2000 µg mL⁻¹) adicionaram-se 1,5 mL de álcool etílico 95%, 0,1 mL de cloreto de alumínio 10% (AlCl₃.6H₂O), 0,1 mL de acetato de sódio (NaC₂H₃O₂.3H₂O) (1 mol L⁻¹) e 2,80 mL de água destilada.

A solução reagiu à temperatura ambiente por 40 minutos. Fez-se a leitura no espectrofotômetro num comprimento de onda de 415 nm. O mesmo procedimento foi realizado para o branco, sendo substituídos 500 µL de amostra por 500 µL de solvente (LIN & TANG, 2007).

Para calcular a concentração de flavonóides foi preparada uma curva analítica (2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 25,0; 50,0; 100,0 e 125,0 µg) empregando a quercetina como padrão e as respectivas absorbâncias foram lidas (Figura 6). O procedimento experimental realizado com o padrão foi o mesmo utilizado para as amostras. Com estes dados foi feita a regressão linear e foi obtida a equação da reta (a = 0,00246, b = 0,01048 e R = 0,99975), a qual teve seus dados empregados no cálculo das amostras reais. O resultado foi expresso em mg de quercetina por g de extrato. Todos os testes foram realizados em triplicata.

3.2.4.3 Teste de fenóis

A cada 100 µL de amostra (dos extratos aquosos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* e nos extratos etanólico e metanólico de *C. adamantium* na concentração de 2000 µg mL⁻¹) adicionou-se 1,5 mL de solução aquosa de carbonato de sódio 20%, 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteau (1:10 v/v) e 1 mL de água destilada e cada amostra reagiu por 30 minutos. Fez-se a leitura no espectrofotômetro num comprimento de onda de 760 nm. O mesmo procedimento foi realizado para o branco, sendo substituídos 100 µL de amostra por 100 µL de solvente (DJERIDANE et al., 2006).

Para calcular a concentração de fenóis foi preparada uma curva analítica (1,0; 5,0; 10,0; 15,0; 30,0; 40,0 µg) empregando o ácido gálico como padrão e as respectivas absorbâncias foram lidas. O procedimento experimental realizado com o padrão foi o

mesmo utilizado para as amostras. Com estes dados foi feita a regressão linear e foi obtida a equação da reta ($a = 0,04969$, $b = 0,04069$ e $R = 0,99945$), a qual teve seus dados empregados no cálculo das amostras reais. O resultado foi expresso em mg de ácido gálico por g de extrato. Todos os testes foram realizados em triplicata.

3.2.4.4 Teste de toxicidade sobre *Artemia salina*

Para a realização do teste de toxicidade sobre *Artemia salina* foi efetuada a diluição dos extratos em três diferentes concentrações, partindo dos extratos aquosos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* e dos extratos etanólico e metanólico de *C. adamantium*.

Em um recipiente contendo água marinha artificial (38,0 g de sal marinho por litro de água destilada), adicionou-se os ovos de *Artemia salina*, ficando sob luz e oxigenação durante 48 horas. A amostra dos extratos aquosos, etanólico e metanólico foram diluídas em água em três concentrações (100, 300 e 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Para o teste foram utilizados 0,5 mL das diluições feitas em água em 4,50 mL da solução salina.

Como controle negativo foi utilizada a mesma metodologia colocando o respectivo solvente ao invés da amostra a ser testada.

Ao término dessas 48 horas 10 larvas recém eclodidas foram colocadas nos frascos contendo as amostras e controle negativo. Após 24 horas foi feita a contagem de larvas. Todos os testes foram realizados em triplicata.

3.2.5 Avaliação da atividade fungitóxica dos extratos de *Campomanesia* com o patógeno *Phakopsora pachyrhizi* em plantas.

Estes experimentos foram conduzidos com o acompanhamento de um engenheiro agrônomo. Analisou-se o solo a ser utilizados nos vasos para o plantio da soja, determinando-se os teores de macro e micronutrientes, e de pH, parâmetros importantes quanto a fertilidade.

3.2.5.1 Plantio com mudas

Foram preparados vasos para o plantio das mudas utilizando-se 3 quilos de uma mistura de terra e adubo (98:2) com capacidade para desenvolver até duas plantas por vaso. As mudas de soja cultivar CD 208 obtidas após 15 dias da semeadura em lavoura comum

foram transplantadas para os vasos (uma por vaso) com aproximadamente 15 cm de altura, passando do 1º para o 2º nó trifólio.

3.2.5.2 Preparo da solução de inóculo

Para o preparo da solução de inóculo foram solicitadas folhas contaminadas com os esporos do fungo causador da ferrugem asiática da EMBRAPA – SOJA, situada no município de Londrina – PR.

A partir do pincelado de 20 folhas os esporos foram suspensos em 2 litros de água destilada, esta solução foi aplicada as plantas já com 15 dias de transplantadas em vasos (30º dia do experimento) utilizando pulverizador manual.

3.2.5.3 Experimentos para avaliação da atividade fungitóxica

Foram montados cinco experimentos em ambiente sem monitoração das condições climáticas, distribuindo os vasos totalmente ao acaso.

A Tabela 5 mostra o cronograma de atividades seguido para cada um dos experimentos.

TABELA 5. Seqüência das atividades desenvolvidas em cada um dos experimentos

Atividades	Data
1ª aplicação do tratamento	30º dia
Inoculação do patógeno	37º dia
1ª avaliação	44º dia
2ª aplicação do tratamento	52º dia
2ª avaliação	59º dia

Nos experimentos com extratos aquosos foram preparados 36 vasos. As plantas foram tratadas conforme descrito na Tabela 6, onde foram utilizados 4 tratamentos diferentes. Descritos abaixo e representados pela Figura 8. O agrotóxico utilizado como controle foi o Piori Xtra, desenvolvido e fabricado pela Syngenta, este possui duplo mecanismo de ação, pois é a combinação de dois fungicidas, azoxistrobina e ciproconazol.

TABELA 6. Descrição dos tratamentos empregados nos experimentos utilizando extratos aquosos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba*.

Experimentos com extratos aquosos	
Tratamento 1 – (T1)	Água
Tratamento 2 – (T2)	Agrotóxico (Priori Xtra)
Tratamento 3 – (T3)	Extrato aquoso da espécie vegetal
Tratamento 4 – (T4)	Agrotóxico (Priori Xtra) + Extrato aquoso da espécie vegetal

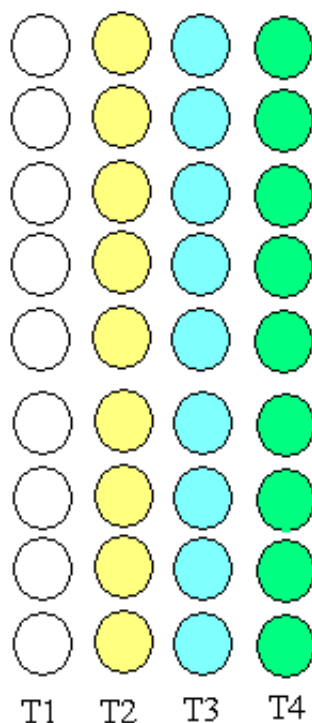


FIGURA 8. Distribuição dos vasos no experimento com extratos aquosos.

Nos tratamentos com extratos orgânicos os vasos foram distribuídos totalmente ao acaso, num total de 6 tratamentos diferentes, conforme descrito na Tabela 7. Estes experimentos contém 9 vasos por e estão representados pela Figura 9.

TABELA 7. Descrição dos tratamentos empregando extratos orgânicos de *C.adamantium*.

Experimento com extratos orgânicos	
Tratamento 1 – (T1)	Mistura de água e etanol (3:1)
Tratamento 2 – (T2)	Agrotóxico (Priori Xtra)
Tratamento 3 – (T3)	Extrato etanólico de <i>C. adamantium</i> + etanol (3:1)
Tratamento 4 – (T4)	Extrato metanólico de <i>C. adamantium</i> + etanol (3:1)
Tratamento 5 – (T5)	Agrotóxico (Priori Xtra) + Extrato etanólico de <i>C. adamantium</i> + etanol (3:1)
Tratamento 6 – (T6)	Agrotóxico (Priori Xtra) + Extrato metanólico de <i>C. adamantium</i> + etanol (3:1)

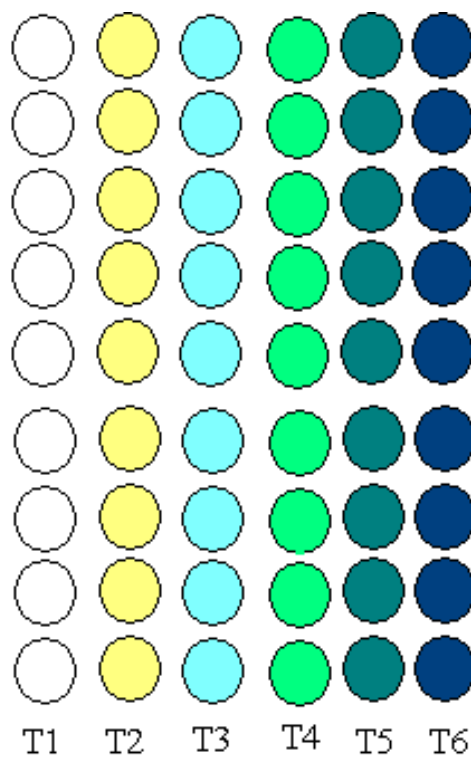


FIGURA 9. Distribuição dos vasos na casa de vegetação no experimento com extratos orgânicos.

3.2.6 Teste de inibição em sementes de soja

3.2.6.1 Teste de inibição da germinação das sementes de soja

Cento e cinco sementes de soja da cultivar EMBRAPA 48 foram colocadas para germinar em papel filtro, estes papéis foram divididos em sete blocos. Bloco 1 tratado com 40 mL do extrato aquoso de *C. adamantium* ($2000 \mu\text{g mL}^{-1}$), bloco 2 tratado com 40 mL do extrato aquoso de *C. guaviroba* ($2000 \mu\text{g mL}^{-1}$), bloco 3 tratado com 40 mL do extrato aquoso de *C. sessiliflora* ($2000 \mu\text{g mL}^{-1}$), bloco 4 tratado com 40 mL do extrato etanólico de *C. adamantium* ($2000 \mu\text{g mL}^{-1}$), bloco 5 tratado com 40 mL do extrato metanólico de *C. adamantium* ($2000 \mu\text{g mL}^{-1}$), bloco 6 tratado com 40 mL de água destilada (branco para blocos 1, 2 e 3) e no bloco 7 utilizou-se uma solução água:etanol (25:1) (branco para blocos 4 e 5).

Os tratamentos foram realizados por 120 horas (nas 72 horas iniciais foram adicionados 10 mL do extrato ou solvente, e nas 48 horas restantes foram adicionados 5 mL do extrato ou solvente), tanto para os blocos de experimento como nos blocos controle. Estes blocos foram acondicionados com foto período de 12 horas. O período estipulado para avaliar a germinação foi de 5 dias (120 horas).

3.2.6.2 Teste de inibição do crescimento das plantas de soja

As sementes de soja da cultivar EMBRAPA 48 foram colocadas para germinar em papel filtro, com foto período de 12 horas na presença de água. Foram adicionados 20 mL de água diariamente para um total de cento e cinco sementes. O período de germinação foi de 5 dias (120 horas).

Após germinadas foi medido o tamanho do embrião de cada semente e estas foram divididas em sete blocos. Bloco 1 tratado com 40 mL do extrato aquoso de *C. adamantium* ($2000 \mu\text{g mL}^{-1}$), bloco 2 tratado com 40 mL do extrato aquoso de *C. guaviroba* ($2000 \mu\text{g/mL}$), bloco 3 tratado com 40 mL do extrato aquoso de *C. sessiliflora* ($2000 \mu\text{g mL}^{-1}$), bloco 4 tratado com 40 mL do extrato etanólico de *C. adamantium* ($2000 \mu\text{g mL}^{-1}$), bloco 5 tratado com 40 mL do extrato metanólico de *C. adamantium* ($2000 \mu\text{g mL}^{-1}$), bloco 6 tratado com 40 mL de água destilada (branco para blocos 1, 2 e 3) e no bloco 7 utilizou-se uma solução água:etanol (25:1) (branco para blocos 4 e 5).

Os tratamentos foram realizados durante 120 horas (nas 72 horas iniciais foram adicionados 10 mL do extrato ou solvente, e nas 48 horas restantes foram adicionados 5

mL do extrato ou solvente). Os blocos controle foram tratados da mesma forma sendo que nestes houve substituição dos extratos pelos solventes.

Ao final das 120 horas, foi medido novamente o tamanho dos embriões e foi calculado o crescimento em mm.

4. RESULTADOS

Neste capítulo serão apresentados os dados referentes às substâncias identificadas nos extratos aquosos e orgânicos de folhas de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba*, caracterização química de óleos essenciais de *C. guaviroba* e *C. sessiliflora* em diferentes estágios fenológicos, testes químicos e biológicos realizados com as três espécies.

4.1 Estudo dos metabólitos secundários nas folhas de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* analisados por CLAE

Os parâmetros referentes a equação da reta ($y = a + bx$), determinados para as curvas analíticas das substância de interesse, são apresentados na Tabela 8. Foram obtidos coeficientes lineares ($r \geq 0,9993$) no intervalo de concentração estabelecido para cada analito.

TABELA 8. Tempo de retenção (t_R), faixa de concentração linear (F.I.), linearidade entre outras figuras de mérito do método utilizado

Substância	t_R (min)	λ (nm)	F.I. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	(b)	(a)	r	N
Rutina	15,24	360	1,3 – 10,0	60,52	0,09	0,99995	5
7-hidroxi-5-metoxiflavanona	19,98	284	$4,0 \times 10^{-3} - 7,0 \times 10^{-1}$	44073,27	-371,94	0,99964	5
7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona	21,71	284	$3,5 \times 10^{-1} - 12,2$	835,76	-102,60	0,99928	5
5,7-dihidroxi-6-metilflavanona	25,39	284	5,0 -250,0	43,73	104,71	0,99955	5
2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona	25,78	360	1,1 – 22,0	243,44	-15,44	0,99951	5
5,7-dihidroxi-8-metilflavanona	25,91	360	1,1 – 64,0	98,78	40,47	0,99956	6
5-hidroxi-7-metoxiflavanona	27,96	284	$3,0 \times 10^{-1} - 3,8$	917,97	-20,03	0,99978	5
2',4'-dihidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona	29,70	360	1,1 – 64,0	192,92	10,56	0,99999	6

(t_R) = tempo de retenção; λ = comprimento de onda utilizado para quantificação; (F. I.) = faixa de concentração linear; (a) – coeficiente linear; (b) – coeficiente angular; (r) = coeficiente de correlação; (N) = número de pontos na curva analítica.

As Figuras 10, 11 e 12 mostram cromatogramas representativos para os extratos metanólico, etanólico e aquoso de *C. adamantium* obtidos em análise por CLAE. As substâncias foram identificadas comparando-se o tempo de retenção do analito nas amostras com os tempos obtidos em análise de padrões. Os coeficientes de variação para os tempos de retenção foram inferiores a 3,8%, demonstrando boa repetitividade de injeção de amostras e de padrões.

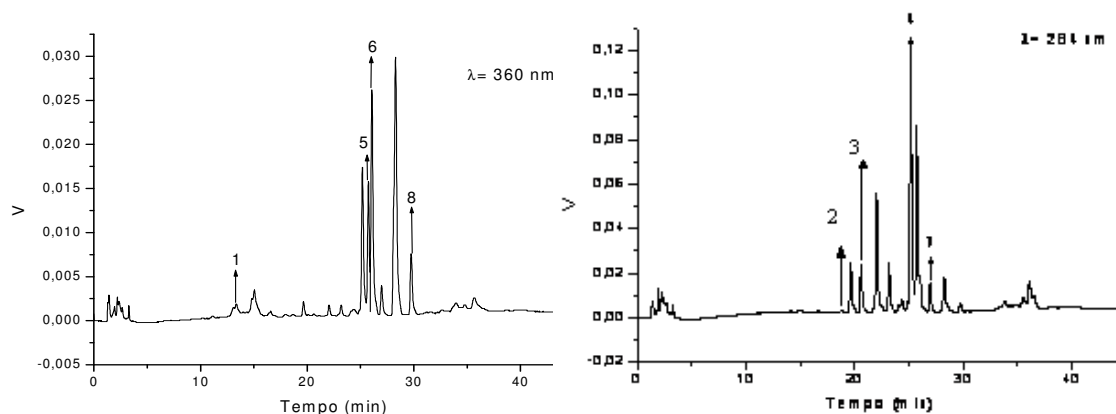


FIGURA 10. Cromatogramas representativos da análise do extrato metanólico de *C. adamantium* em 360 nm e 284 nm.

Substância: (1) rutina; (2) 7-hidroxi-5-metoxiflavanona; (3) 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona; (4) 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona; (5) 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona; (6) 5,7-diidroxi-8-metilflavanona; (7) 5-hidro-7-metoxiflavano; (8) 2',4'-diidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona.

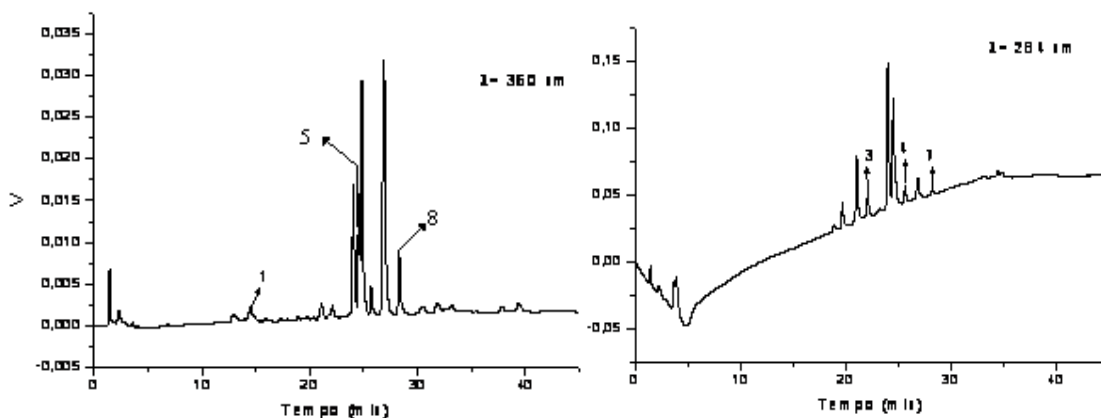


FIGURA 11. Cromatogramas representativos da análise do extrato etanólico de *C. adamantium* em 360 nm e 284 nm.

Substâncias: (1) rutina; (2) 7-hidroxi-5-metoxiflavanona; (3) 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona; (4) 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona; (5) 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona; (7) 5-hidro-7-metoxiflavano; (8) 2',4'-diidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona.

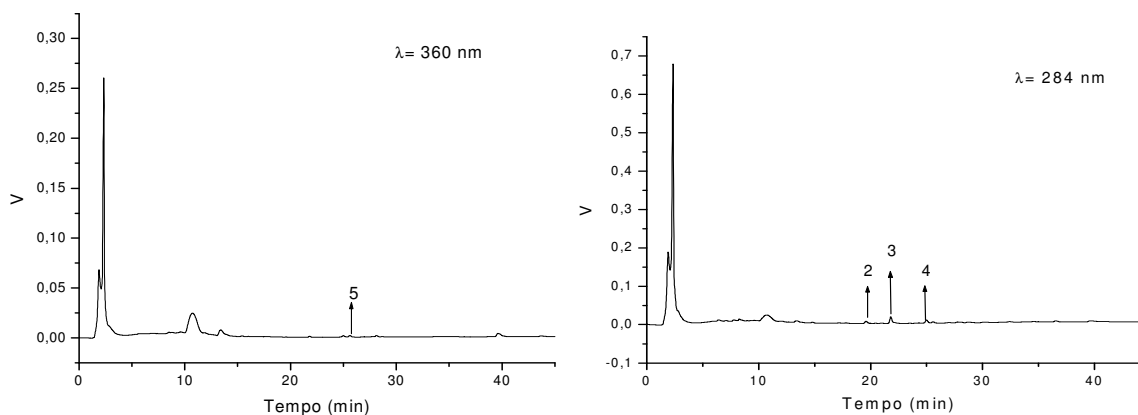


FIGURA 12. Cromatogramas representativos da análise do extrato aquoso de *C. adamantium* em 360 nm e 284 nm.

Substâncias: (1) rutina; (2) 7-hidroxi-5-metoxiflavanona; (3) 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona; (4) 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona; (5) 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona;

Os cromatogramas obtidos para as análises dos extratos aquosos de *C. guaviroba* e *C. sessiliflora* são apresentados nas Figuras 13 e 14.

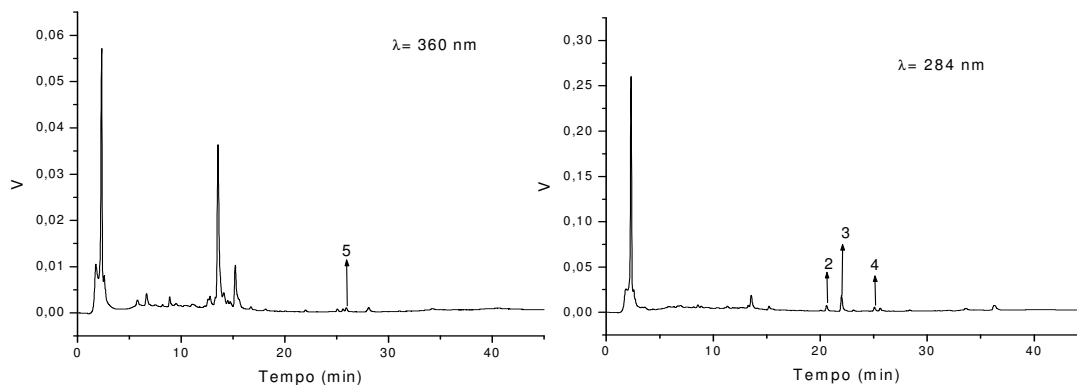


FIGURA 13. Cromatogramas representativos da análise do extrato aquoso de *C. guaviroba* em 360 nm e 284 nm.

Substâncias: (2) 7-hidroxi-5-metoxiflavanona; (3) 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona; (4) 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona; (5) 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona.

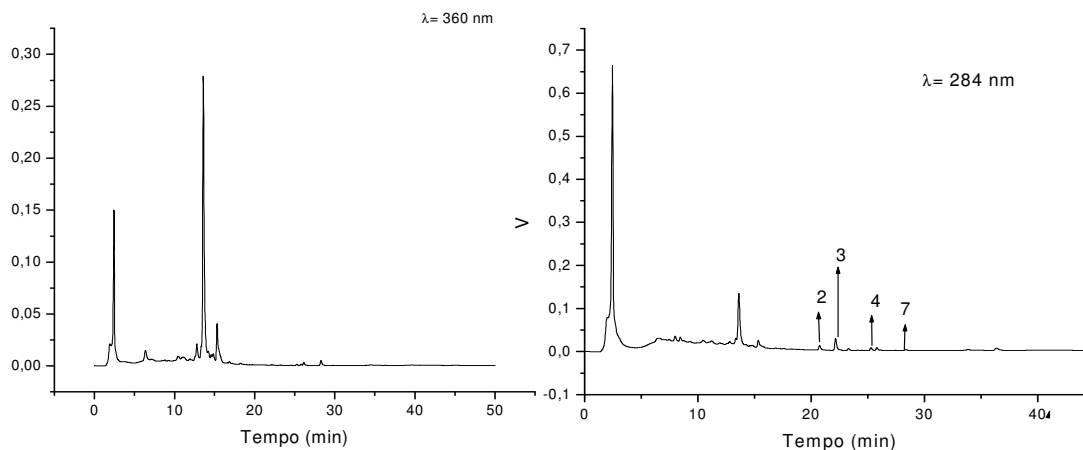


FIGURA 14. Cromatogramas representativos da análise do extrato aquoso de *C. sessiliflora* em 360 nm e 284 nm.

Substâncias: (2) 7-hidroxi-5-metoxiflavanona; (3) 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona; (4) 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona; (7) 5-hidro-7-metoxiflavano; (8) 2',4'-dihidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona.

As substâncias identificadas e suas respectivas quantidades nos extratos aquosos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* e nos extratos orgânicos de *C. adamantium* são apresentadas na Tabela 9.

Calculou-se o desvio padrão dos valores de concentração obtidos das triplicatas de injeção de cada extrato analisado, os coeficientes de variação situaram-se entre 2 e 8,2%, sendo o menor valor obtido para a rutina e o maior para 7-hidroxi-e-metoxiflavanona.

TABELA 9. Concentração das substâncias nos extratos aquosos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* e nos extratos etanólico e metanólico de *C. adamantium*.

Substância	<i>C. adamantium</i>			<i>C. guaviroba</i>	<i>C. sessiliflora</i>
	mg g ⁻¹ ± DP			mg g ⁻¹ ± DP	
	E. aquoso	E. etanólico	E. metanólico	E. aquoso	E. aquoso
Rutina	-	43,19 ± 1,73	25,00 ± 1,25	-	-
7-hidroxi-5-metoxiflavanona	0,35 ± 0,02	-	0,61 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,26 ± 0,01
7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona	6,17 ± 0,08	30,91 ± 1,62	30,52 ± 1,54	6,13 ± 0,06	6,12 ± 0,28
5,7-dihidroxi-6-metilflavanona	12,19 ± 0,16	30,94 ± 1,54	61,99 ± 2,82	11,41 ± 0,11	11,83 ± 0,12
2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona	6,44 ± 0,08	20,09 ± 0,08	21,04 ± 1,20	10,10 ± 0,09	-
5,7-diidroxi-8-metilflavanona	-	-	31,91 ± 1,50	-	-
5-hidroxi-7-metoxiflavanona	-	2,18 ± 0,03	18,90 ± 0,06	-	0,90 ± 0,01
2',4'-diidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona	-	35,02 ± 1,31	31,62 ± 1,48	-	-

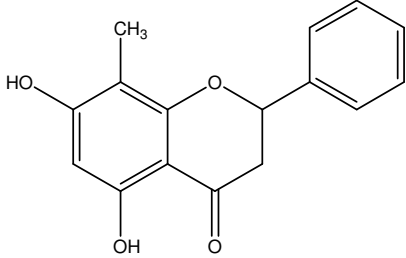
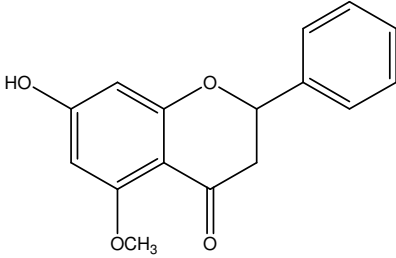
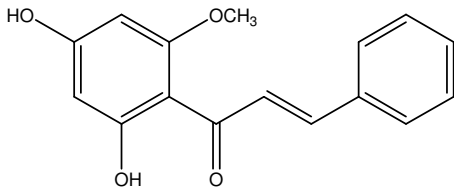
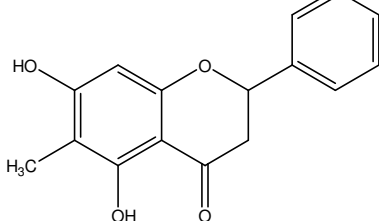
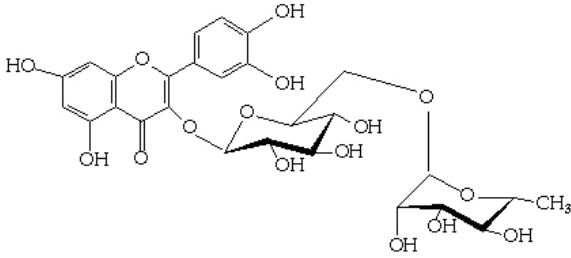
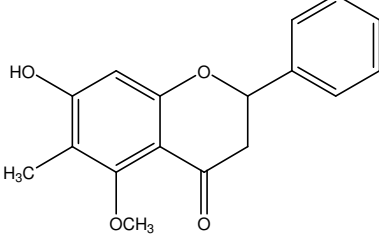
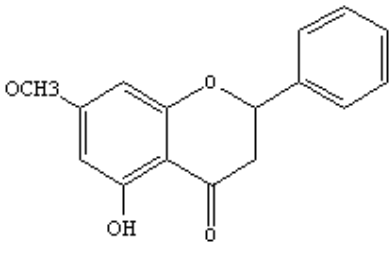
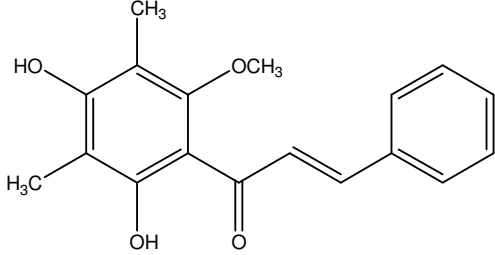
	
7-dihidroxi-8-metilflavanona	7-hidroxi-5-metoxiflavanona
	
2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona	5,7-dihidroxi-6-metilflavanona
	
Rutina	7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona
	
5-hidroxi-7-metoxiflavanona	2',4'-dihidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona

FIGURA 15. Substâncias previamente isoladas utilizadas como padrões em CLAE.

Nos extratos orgânicos determinou-se um maior número de substâncias (*C. adamantium*) sendo 6 substâncias no extrato etanólico e 8 no extrato metanólico, enquanto nos extratos aquosos apenas 4 substâncias foram determinadas e suas estruturas estão demonstradas na figura 15. Dentre as 8 substâncias investigadas neste trabalho, 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona e 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona foram detectadas em todas as amostras analisadas, enquanto a rutina e a 2',4'-dihidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona foram encontradas apenas nos extratos orgânicos.

A substância 5,7-dihidroxi-8-metilflavanona foi identificada somente no extrato metanólico de *C. adamantium*, enquanto a 7-hidroxi-5-metoxiflavanona só não foi detectada no extrato etanólico da mesma espécie vegetal. A 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona somente não foi identificada no extrato aquoso de *C. sessiliflora*.

A substância 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona se mostrou majoritária no extrato metanólico de *C. adamantium* (61,99 mg g⁻¹). No extrato etanólico quatro substâncias se destacaram: rutina (Figura 19) (43,10 mg g⁻¹), 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona (30,91 mg g⁻¹), 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona (30,94 mg g⁻¹) e 2',4'-dihidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona (35,02 mg g⁻¹). A substância 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona foi majoritária, dentre as substâncias identificadas nos extratos aquosos, apresentando teores entre 11,41 mg g⁻¹ e 12,19 mg g⁻¹.

Segundo MARKMAN et al, (2004) análises fitoquímicas realizadas com o extrato etanólico das folhas de *C. xanthocarpa* demonstraram a presença de flavonóides, saponinas e taninos. Todas as substâncias identificadas neste trabalho pertencem ao grupo dos flavonóides, sendo das subclasses flavanona, chalcona e flavonol.

Em um estudo realizado por COUTINHO et al, (2008) foram isoladas de extratos orgânicos de folhas de *C. adamantium* em estágio de floração 9 substâncias, são elas: 5-hidroxi-7-metoxiflavanona, 7-hidroxi-5-metoxi-6-metilflavanona, 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona, 5,7-dihidroxi-8-metilflavanona, 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona, 5,7-dihidroxi-6,8-dimetilflavanona, 2',4'-dihidroxi-6'-metoxi-5'-metilchalcona, 2',4'-dihidroxi-6'-metoxi-3'-metilchalcona e 2',4'-dihidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona. Quando comparamos os resultados obtidos por COUTINHO et al, (2008) e os resultados obtidos com o extrato metanólico das folhas de *C. adamantium* neste estudo, verificamos a presença de seis substâncias: (7-hidroxi-5-metoxiflavanona, 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona, 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona, 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona, 5,7-dihidroxi-8-metilflavanona, 2',4'-dihidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona) das nove substâncias identificadas pela autora. Por não ter disponível

no laboratório os padrões de 5,7-diidroxi-6,8-dimetilflavanona, 2',4'-diidroxi-6'-metoxi-5'-metilchalcona, 2',4'-dihidroxi-6'-metoxi-3'-metilchalcona, a presença das mesmas nos extratos não pode ser investigada.

Os extratos aquosos analisados possuem em comum três substâncias (7-hidroxi-5-metoxiflavanona, 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona e 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona), sendo duas (7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona e 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona) identificadas no trabalho de COUTINHO et al, (2008). Os extratos aquosos de *C. adamantium* e *C. guaviroba* possuem ainda a substância 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona em comum com o trabalho acima citado.

4.2 Caracterização química dos óleos essenciais de *Campomanesia guaviroba* e *Campomanesia sessiliflora* em diferentes estágios fenológicos

Foram obtidos os óleos essenciais de folhas frescas de duas plantas de *C. sessiliflora* e em uma planta de *C. guaviroba* nas quatro estações do ano. Os percentuais em massa dos óleos obtidos são apresentados na tabela 10.

TABELA 10 - Rendimentos obtidos para os óleos essenciais

Amostra	Rendimento (%)			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
<i>C. sessiliflora</i> 1	0,06	0,07	0,06	0,002
<i>C. sessiliflora</i> 2	0,11	0,06	0,06	0,002
<i>C. guaviroba</i>	0,09	0,02	0,06	0,002

Segundo MORAIS (2009), a composição química de plantas varia de acordo com a sazonalidade, o pesquisador encontrou para óleos essenciais de *Lippia alba* valores mais altos nas amostras de primavera e de verão, enquanto os menores valores foram detectados nas amostras coletadas no inverno.

Neste trabalho foi observado um baixo rendimento para óleos essenciais nas amostras coletadas nas quatro estações do ano, valores entre 0,002 e 0,11%, sendo os menores valores obtidos para as amostras de inverno. Para *C. sessiliflora* 1 o rendimento das amostras de primavera, verão e outono foram similares, enquanto para *C. sessiliflora* 2 foram similares apenas os valores de verão e outono. Segundo MARCONDES et al, (2002) o óleo essencial extraído das folhas frescas de *C.*

sessiliflora apresentou rendimento de 0,5%, sendo superior aos rendimentos obtidos neste trabalho.

As substâncias identificadas nos óleos essenciais das folhas de *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* no estágio reprodutivo de floração são mostradas no Anexo1. O percentual relativo foi obtido empregando a área de cada pico em relação ao somatório das áreas de todos os picos do cromatograma. Os dados obtidos para o óleo da amostra de verão de *C. guaviroba* foram descartados por apresentar um elevado teor de alcoóis, que se confirmou ser proveniente do solvente hexano utilizado para particionar o óleo, após análise do mesmo por CG-EM.

Quando comparamos os constituintes de óleos de mesma espécie, temos que levar em consideração os fatores que influenciam o conteúdo de metabólitos secundários das plantas. Deve-se levar em consideração a época do ano em que foi coletada a amostra, pois a quantidade e a natureza dos constituintes químicos variam durante o ano. Também já foram relatadas variações circadianas apreciáveis nas concentrações de óleos voláteis, bem como a idade e desenvolvimento da planta, variação dos diferentes órgãos vegetais (GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

4.2.1 Caracterização química de óleos essenciais das folhas de *Campomanesia sessiliflora* 1 e *Campomanesia sessiliflora* 2

Nos óleos essenciais analisados, no período de inverno, foram identificados em média 136 substâncias, representando 84,6% (*C. sessiliflora* 1) e 84,2% (*C. sessiliflora* 2) com relação a área relativa.

Na primavera o número de compostos identificados diminuiu para 95 em média, que representam 72,8 % (*C. sessiliflora* 1) e 75,1% (*C. sessiliflora* 2) em área relativa. No outono e no verão, houve uma queda drástica no número de compostos identificados os quais variaram entre 27 e 39, representando valores de área relativa entre 65,9% à 76,1%.

No outono, a fração predominante foi os monoterpenos oxigenados, tanto para *C. sessiliflora* 1 (24,7%) como para *C. sessiliflora* 2 (58,7%), onde se destaca a quantidade mais elevada na amostra de *C. sessiliflora* 2. Os compostos majoritários desta estação para as duas plantas foram mirtenal com 14,4% (*C. sessiliflora* 1) e 27% (*C. sessiliflora* 2) e o salveno com 15,7% (*C. sessiliflora* 1) e 6,6% (*C. sessiliflora* 2). O outono ficou caracterizado pela predominância de alguns compostos, como e-salveno e mirtenal, ao invés da diversidade como foi determinado em outras estações do ano.

Um dos fatores relevantes durante o ano de 2008 foi o estresse hídrico que enfrentaram as plantas da região do Cerrado, principalmente nos meses de outono. A deficiência hídrica é a principal causa de perda de produtividade, porém, apresenta correlação direta na concentração de metabólitos secundários, havendo relatos na literatura de que o estresse hídrico geralmente induz um aumento na produtividade de alguns terpenóides (MORAIS, 2009).

No inverno, monoterpenos oxigenados continuaram predominantes no óleo essencial de *C. sessiliflora* 2 (26,1%), enquanto para *C. sessiliflora* 1 houve uma distribuição entre monoterpenos oxigenados (18,8%) e sesquiterpenos oxigenados (18,8%). O δ -terpineol foi o composto identificado em maiores quantidades nas amostras de *C. sessiliflora* 1 e 2. O α -pineno foi identificado com 4,3% em *C. sessiliflora* 1 e em pequenas quantidades em *C. sessiliflora* 2 (0,8%). Silvestreno e viridifloreno estão presentes em *C. sessiliflora* 1 (4,5% e 4,3% respectivamente) e não foram identificados em *C. sessiliflora* 2. Além da variabilidade química apresentada decorrente de diferentes ambientes, é importante considerar as variações decorrentes de diferenças genéticas (POTZERNHEIM et al, 2006). As espécies de *C. sessiliflora* foram coletadas em diferentes localidades do Estado, o que pode ter influenciado em muito os resultados obtidos.

No período de primavera o constituinte de maior destaque nas duas plantas foi o iso leptospermone, que representa 16,2% e 17,6% da área relativa de *C. sessiliflora* 1 e 2, respectivamente. Outros constituintes também se destacaram como γ -amorfeno (4,5% e 4,6%), cis-tujona (5,3% e 3,5%), mesitileno (3,6% e 4,2%), α -tujopsan-2-ol (3,4 e 3,1%) e flavesone (2,8% e 3,5%) respectivamente em *C. sessiliflora* 1 e 2. A fração com maior relevância foram os sesquiterpenos oxigenados com 29,9% (*C. sessiliflora* 1) e 28,1% (*C. sessiliflora* 2).

Os óleos essenciais extraídos das folhas de *C. sessiliflora* 1 e 2 no verão tiveram como predominantes os constituintes terpênicos. O salveno, se destacou com 18,6% e 19,8% para *C. sessiliflora* 1 e 2, respectivamente. Outro constituinte que se destacou como majoritário com 5,9% e 12,3% de área relativa das amostras de verão de *C. sessiliflora* 1 e 2, respectivamente foi o (Z)- β -ocimeno.

Segundo MARCONDES et al, (2002) no óleo essencial extraído das folhas frescas de *C. sessiliflora* foram separadas em 4 frações bem distintas, de acordo com a densidade e a coloração do óleo essencial. Nas diferentes frações foram identificados componentes distintos, sendo os majoritários, acetato de 4-isopropil-2,5-

dimetoxibenzila (10,5% na primeira fração e 23,9% na segunda fração) e globulol (10,1% na primeira fração e 6,92% na segunda fração). Na terceira fração foram identificados o globulol (7,0%) e ledeno (6,6%) como constituintes encontrados em maiores quantidades, e na quarta fração identificou-se α -gurjuneno (9,7%) e δ -cadineno (7,7%).

Ao comparar os resultados obtidos por MARCONDES et al, (2002) *C. sessiliflora*, e os constituintes identificados neste trabalho, verificamos que ocorreram grandes diferenças. Os constituintes identificados como majoritários pelo autor não foram identificados nas duas plantas de *C. sessiliflora* estudadas neste trabalho. Dentre os 7 compostos encontrados pelo mesmo autor como constituintes majoritários nas 4 frações do óleo volátil, apenas 3 estão presentes nas amostras estudadas, e em baixas porcentagens. Nenhum dos constituintes identificados como majoritários neste trabalho esta presente nas amostras estudadas por MARCONDES et al, (2002).

Estas grandes diferenças podem estar relacionadas com fatores genéticos ou ambientais, como clima, solo, época de colheita, que afetam a produção de determinados constituintes em óleos essenciais, sendo necessários estudos em ambientes controlados (POTZERNHEIM et al, 2006).

4.2.2 Caracterização química de óleos essenciais das folhas de *Campomanesia guaviroba*

Não há relatos na literatura atual quanto à composição química do óleo essencial de *Campomanesia guaviroba*.

Todavia, foram identificadas trinta e três substâncias, as quais corresponderam a 68,4% da área relativa da amostra de outono de *C. guaviroba*. Foi caracterizada a maior parte como monoterpenos oxigenados (42,9%), com destaque para o mirtenal (22%), linalol (13,6%) e o salveno (7,8%). Nesta espécie, o outono também ficou caracterizado pela predominância ao invés da diversidade de compostos, como foi determinado em outras estações do ano (Anexo1).

Enquanto na amostra de óleo essencial obtido de amostras coletadas no inverno, foi possível identificar um maior número de substâncias, totalizando 142, que representam 84% da área relativa da amostra. A fração dos monoterpenos se destacou com 19,9% dos constituintes identificados e tem como constituinte majoritário o α -pineno (6,1%).

Na primavera, sesquiterpenos oxigenados representaram a fração dominante, sendo 17,6% dos constituintes identificados. Os constituintes majoritários foram o verbeneno (5,5%) e leptospermona iso (4,3%).

4.2.3 Comparação dos resultados obtidos com referências literárias do gênero *Campomanesia*

Os óleos essenciais são constituídos por uma mistura complexa de diversas classes de substâncias, pertencentes ao metabolismo secundário das plantas. O metabolismo secundário por sua vez, pode ser influenciado por fatores genéticos, climáticos e edáficos (MORAIS, 2009).

Os estímulos decorrentes do ambiente, no qual a planta se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a grande variação de compostos. Dentre estes fatores, podem-se ressaltar as interações planta/microorganismos, planta-insetos e planta/planta; idade e estágio de desenvolvimento, fatores abióticos como luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, época e horário da coleta, bem como as técnicas de colheita e pós-colheita (MORAIS, 2009).

No óleo volátil analisado por STEFANELLO et al., (2008) das folhas de *C. adamantium* coletadas na primavera, foi caracterizada a predominância de sesquiterpenos (59,9%), e como constituintes majoritários foram encontrados geraniol (18,1%), espatulenol (7,8%) e globulol (5,6%). Os dois últimos compostos também estão presentes nas amostras analisadas de *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* neste trabalho.

Segundo COUTINHO et al., (2008) os constituintes majoritários identificados no óleo essencial extraído das folhas de *C. adamantium* são limoneno (21,9%), α -pineno (13,4%) e β -pineno (9,0%). Estas plantas foram coletadas em diferentes estados e também em diferentes meses do ano, o que deve ter levado as discrepâncias entre os dados encontrados na literatura para a mesma espécie.

Nas três plantas estudadas, nas estações de inverno e primavera, foram obtidos os maiores números de substâncias identificados, bem como a maior área relativa identificada. Como no ano de 2008 a estação de inverno esteve antecipada e perdurou por pouco tempo, nas coletas de inverno o tempo já estava quente e com clima de primavera, com a presença de flores nos arbustos de guavira. Esse número alto de substâncias identificadas pode ter ocorrido pela maior produção de metabólitos secundários sob altos níveis de radiação solar, que são explicados devido ao fato de que as reações biossintéticas dependem dos suprimentos de esqueletos carbônicos, obtidos

por processos fotossintéticos e de compostos energéticos que participam da regulação dessas reações (MORAIS, 2009).

A queda do número de substâncias identificados no verão dá-se devido ao aumento no teor dos óleos essenciais quando as plantas produtoras se encontram em ambientes com temperaturas elevadas, porém, em dias muito quentes, pode-se observar perda excessiva dos mesmos (MORAIS, 2009), como as regiões onde as plantas foram coletadas o verão é bastante rigoroso, pode ter ocorrido esta perda excessiva dos óleos voláteis.

Pode-se também ressaltar o influência da nutrição nos constituintes dos óleos essenciais, como a deficiência de magnésio pode causar uma sensível diminuição na formação de princípios ativos de um modo geral, devido à diminuição da clorofila e, conseqüentemente, da taxa de fotossíntese (MORAIS, 2009).

Dos constituintes majoritários descritos por MARCONDES et al, (2002) STEFANELLO et al, (2008) e COUTINHO et al, (2008) apenas o globulol esta presente em todas as amostras analisadas neste trabalho.

Nas três plantas estudadas (*C. sessiliflora* 1 e 2 e *C. guaviroba*), nas amostras de primavera, obtivemos como constituinte majoritário o iso leptospermona, que até o presente momento não foi relatada sua presença em óleos voláteis de plantas do gênero *Campomanesia*. Porém, este constituinte é comumente encontrado em plantas do gênero *Leptospermum*, que pertence a família *Myrtaceae*, assim como o gênero *Campomanesia*.

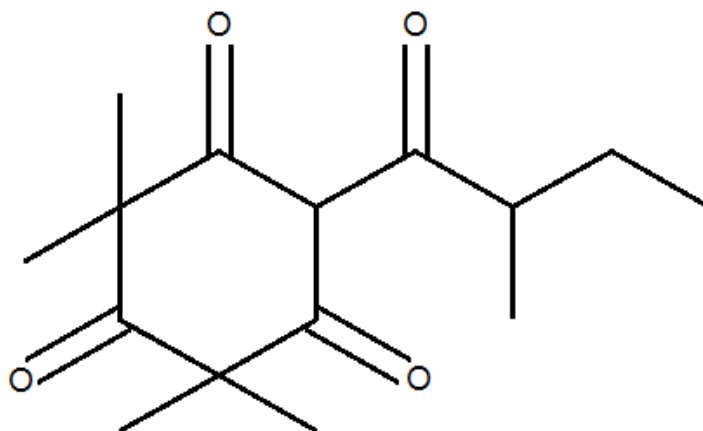


FIGURA 16. Estrutura química do iso leptospermona.

4.3 Testes químicos e biológicos com extratos aquosos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* e extratos orgânicos de *C. adamantium*

4.3.1 Atividade antioxidante

Para os testes químicos os coeficientes de variação encontrados foram inferiores à 5%.

O potencial antioxidante apresentado pelos extratos aquosos de *C. adamantium*, e *C. guaviroba* aumentam conforme o aumento da concentração do extrato. No extrato aquoso de *C. sessiliflora*, a atividade antioxidante diminui com o aumento da concentração (Figura 17). De acordo com ALVES et al., (2007) que avaliou a atividade antioxidante de alguns flavonóides isolados de plantas da região do semi-árido, o potencial antioxidante varia de acordo com o tipo de substância e o método de análise empregado.

A capacidade antioxidante é influenciada pelo substrato utilizado no ensaio, pelo solvente e pela técnica de extração utilizada, bem como pelo binômio tempo-temperatura (OLIVEIRA et al., 2009).

A avaliação da atividade antioxidante pelo método de DPPH é influenciado pelo solvente e pelo pH das reações. O método é considerado fácil e útil para análise de substâncias puras e amostras complexas (OLIVEIRA et al, 2009).

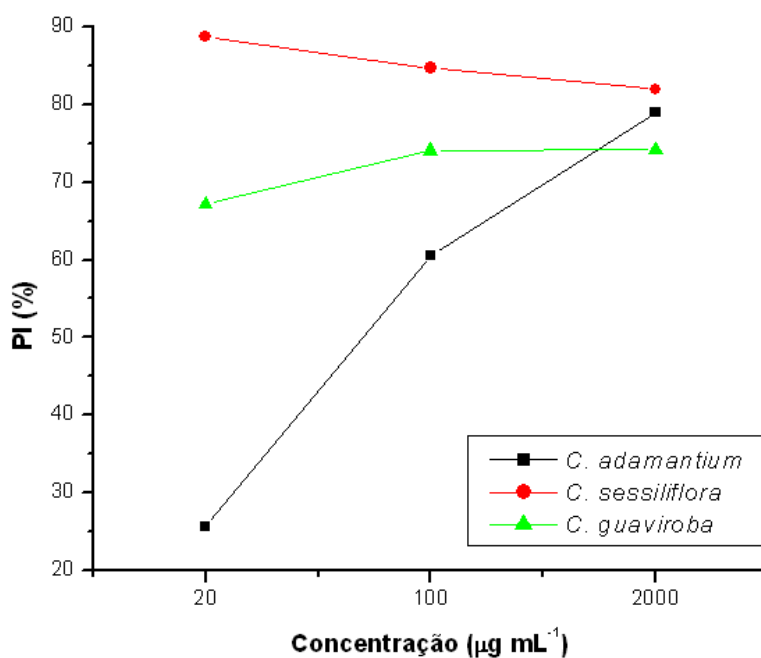


FIGURA 17. Gráfico demonstrando potencial antioxidante apresentado pelos extratos aquosos.

Segundo COUTINHO et al., (2008) os extratos metanólicos das folhas de *C. adamantium* apresentaram variação quanto à inibição do radical livre DPPH, de acordo com o local onde as amostras de folhas são coletadas. O extrato metanólico das folhas de *C. adamantium* inibiu 91,6% do radical livre na concentração de 160 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e este trabalho apresentou atividade antioxidante superior ao demonstrado pela autora supracitada, cujos resultados chegaram a 99,8% de inibição na concentração de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Os extratos orgânicos de *C. adamantium* apresentaram elevada atividade antioxidante que foi semelhante aos dois extratos, enquanto os extratos aquosos demonstraram ser inferiores quanto à atividade antioxidante, quando comparados aos extratos orgânicos (Figura 18). Esse resultado pode ser atribuído à eficiência antioxidante das substâncias que foram melhor extraídas pelos solventes orgânicos.

Os resultados obtidos para os extratos aquosos demonstraram que o extrato aquoso de *C. sessiliflora* é o que tem maior capacidade antioxidante, sendo que seu potencial antioxidante tem uma correlação inversa com a concentração do extrato.

A atividade antioxidante dos extratos aquosos de *C. adamantium* e *C. guaviroba* possuem uma correlação direta com a concentração. Sendo que o extrato aquoso de *C. adamantium* teve o maior crescimento do potencial antioxidante, saindo de aproximadamente 25% para 80% em sua máxima concentração.

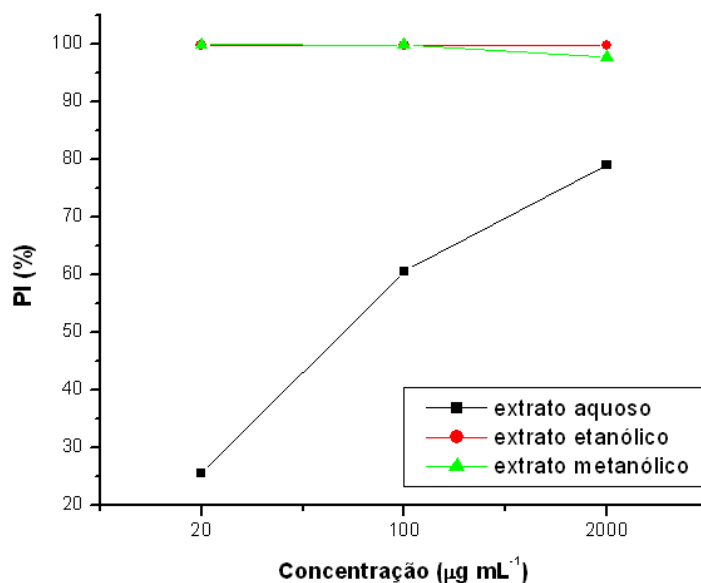


FIGURA 18. Gráfico demonstrando potencial antioxidante apresentado pelos extratos de *C. adamantium*.

CARDOSO et al., (2008) constatou que o extrato hexânico das folhas de *C. pubescens* apresenta um baixo efeito seqüestro do radical livre, obtendo um CI_{50} de $1780 \mu\text{g mL}^{-1}$, e não surgimento de coloração amarela em nenhuma das concentrações testadas. Enquanto as amostras testadas neste trabalho apresentaram coloração amarelada em todas as concentrações testadas, demonstrando um resultado superior ao constatado por CARDOSO et al., (2008). Foi possível calcular o valor de CI_{50} para o extrato aquoso de *C. adamantium*, obtendo um CI_{50} de $83 \mu\text{g mL}^{-1}$. Nas outras amostras é necessário empregar concentrações mais baixas nos testes visando calcular o CI_{50} podendo-se afirmar que o CI_{50} das amostras analisadas, são inferiores ao obtido pela autora.

Devem ser levados em consideração os solventes utilizados na extração, uma vez que as diferenças de polaridade de cada solvente extraem diferentes substâncias. Os solventes utilizados nas extrações influenciam significativamente na eficiência da extração de acordo com as especificidades e interações das moléculas analisadas (SENNÁ et al, 2006).

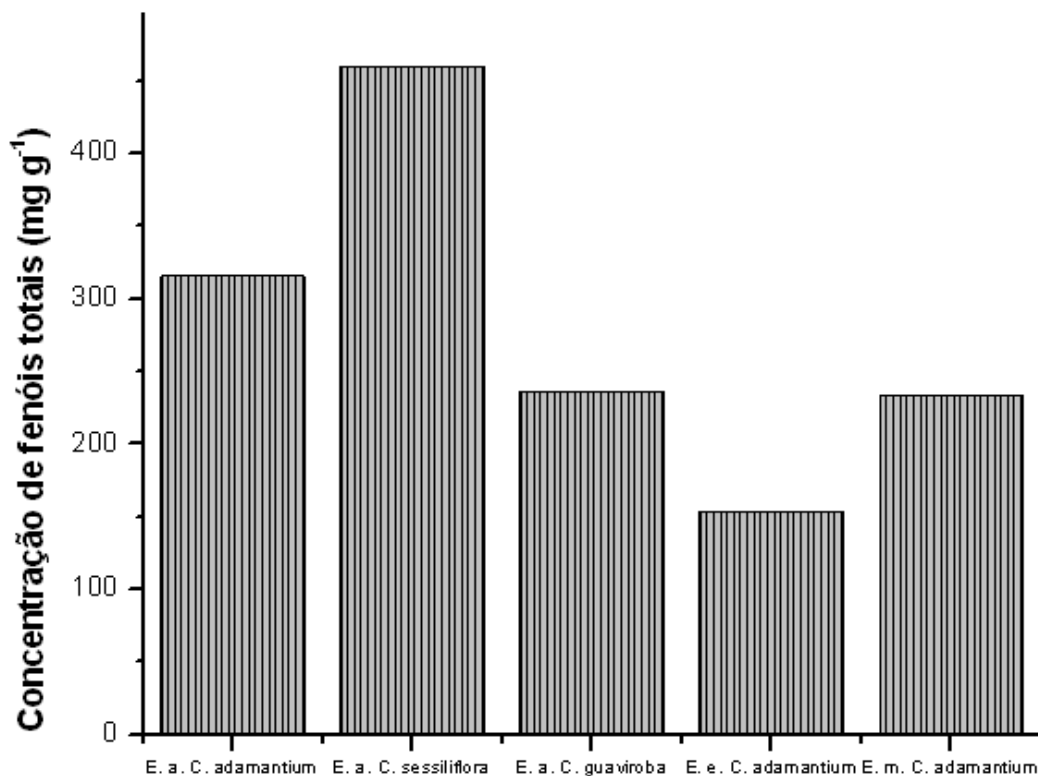
4.3.2 Teor de fenóis totais

O maior teor de fenóis foi encontrado no extrato aquoso de *C. sessiliflora* ($459,55 \text{ mg g}^{-1}$) e o menor teor ($153,85 \text{ mg g}^{-1}$) no extrato etanólico de *C. adamantium*.

Os teores de fenóis encontrados para *C. adamantium* foram de $315,4 \text{ mg g}^{-1}$ no extrato aquoso, de $233,25 \text{ mg g}^{-1}$ no extrato metanólico e de $153,85 \text{ mg g}^{-1}$ no extrato etanólico. Estes foram superiores aos encontrados por COUTINHO et al., (2008) em extratos metanólicos de amostras de folhas de *C. adamantium* ($7,2 - 21,2 \text{ mg g}^{-1}$).

O teor de fenóis encontrado no extrato aquoso de *C. guaviroba* representa metade do valor encontrado no extrato aquoso de *C. sessiliflora*. Os extratos aquosos de *C. guaviroba* e metanólico de *C. adamantium* apresentaram teores de fenóis semelhantes ($236,40$ e $233,25 \text{ mg g}^{-1}$ respectivamente) (Figura 19).

Os resultados obtidos neste trabalho para teor de fenóis totais no extrato etanólico de *C. adamantium* foi 19% maior quando comparado com os extratos de *C. adamantium* coletadas em várias regiões do Mato Grosso do Sul, analisados por COUTINHO et al., (2008), pelo mesmo método.



E. a. – Extrato aquoso. E. e. – Extrato etanólico. E. m. – Extrato metanólico.

FIGURA 19. Gráfico comparativo demonstrando o teor de fenóis nos extratos aquosos e os extratos orgânicos.

4.3.3 – Teor de flavonóides

Os flavonóides são substâncias naturais presentes nos vegetais que desempenham um papel fundamental na proteção contra agentes oxidantes. Esses pigmentos são compostos de baixo peso molecular, com uma estrutura base C6-C3-C6 (dois anéis fenil A e B ligados através de um anel pirano C) (Figura 20).

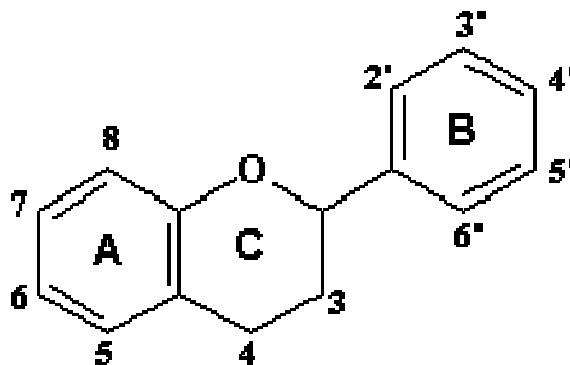


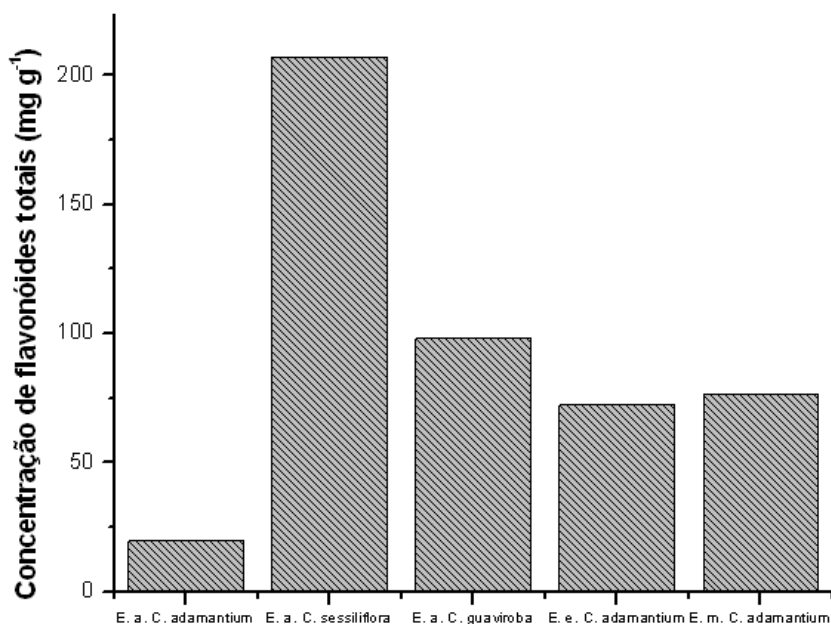
FIGURA 20. Estrutura base de um flavonóide.

Dois métodos foram utilizados com objetivo de quantificar flavonóides nas amostras analisadas. Com o método espectrofotométrico analisou-se o teor total dos flavonóides, enquanto com o método cromatográfico monitorou-se alguns flavonóides com o uso de padrões.

Teores mais elevados de flavonóides e fenóis foram detectados no extrato aquoso de *C. sessiliflora*, 207,02 mg g⁻¹ e 459,55 mg g⁻¹, respectivamente. Os extratos orgânicos apresentaram menor quantidade de flavonóides.

Comparando os teores de flavonóides encontrados na mesma espécie, observou-se para o extrato aquoso uma menor quantidade de flavonóides (19,74 mg g⁻¹), enquanto os extratos orgânicos apresentaram quantidades parecidas desta classe de substâncias, sendo 72,19 mg g⁻¹ de flavonóides no extrato etanólico e 76,29 mg g⁻¹ de flavonóides no extrato metanólico, de *C. adamantium*. Essas variações podem ocorrer devido à diferenças do tipo de solvente extrator, o que pode levar a presença de diferentes substâncias nos extratos.

O menor teor de flavonóides (19,74 mg g⁻¹) foi encontrado no extrato aquoso de *C. adamantium*, sendo 10 vezes menor que o teor encontrado no extrato de *C. sessiliflora*, e 5 vezes menor que o teor encontrado no extrato aquoso de *C. guaviroba* (Figura 21).



E. a. – Extrato aquoso. E. e. – Extrato etanólico. E. m. – Extrato metanólico.

FIGURA 21. Gráfico comparativo do teor de flavonóides presentes nos extratos aquosos e extratos orgânicos.

Os teores de flavonóides identificados nos extratos por CLAE foram maiores nos extratos metanólico (221,59 mg g⁻¹) e etanólico (152,19 mg g⁻¹), enquanto nos extratos aquosos os teores foram bem inferiores, no extrato aquoso de *C. adamantium* (25,15 mg g⁻¹), e no extrato aquoso de *C. guaviroba*, (27,78 mg g⁻¹). Contudo, no extrato aquoso de *C. sessiliflora* os teores de flavonóides identificados por CLAE somaram o menor teor de substâncias identificadas por CLAE, 19,11 mg g⁻¹ dos flavonóides monitorados. Comparando com os resultados obtidos no teste espectrofotométrico de flavonóides, conforme mostra a figura 27, com os dados de CLAE verificamos que não há uma correlação linear nos mesmos.

No extrato etanólico de *C. adamantium*, o teor de flavonóides obtido através do espectrofotômetro demonstrou ser equivalente ao resultado obtido empregando cromatografia. Indicando que possivelmente os flavonóides monitorados na cromatografia são os mesmos que foram quantificados pelo espectrofotômetro na análise de flavonóides totais (Figura 21).

Os flavonóides das classes flavonas e flavonóis (rutina) são pouco solúveis em água, enquanto os di-hidroflavonóis são mais solúveis. Em geral as agliconas (flavanonas) aparecem sob forma de cristais amarelos, são solúveis em solventes orgânicos apolares e em soluções alcalinas (SIMÕES et al., 1999).

As flavanonas que foram monitoradas por cromatografia líquida são extraídas mais facilmente por solventes mais apolares, que permitem recuperar as agliconas livres pouco polares, como as flavanonas. Aumentando a polaridade do solvente consegue-se extrair as chalconas. A extração com água levará os heterosídeos mais polares (SIMÕES et al., 1999).

Um estudo realizado por PEIXOTO et al., (2007) demonstrou que o teor de flavonóides extraídos das folhas de *Bauhinia cheilantha* diferem de acordo com o solvente utilizado. O maior teor de flavonóides foi extraído com acetona à 80%, seguido de etanol à 80% e metanol p. a..

Avaliando os teores médios de flavonóides em capim-limão por diferentes processos de extração, demonstrou que o etanol 70% foi mais eficiente em extrair flavonóides, produzindo maiores rendimentos (MORAES et al., 2007).

Segundo SENNA et al., (2006) o extrato etanólico a 70% foi o melhor solvente para extração de flavonóides da própolis verde, pois apresentou os mais elevados teores.

Em contra partida, o extrato aquoso foi aquele que apresentou a concentração mais reduzida de flavonóides.

Os extratos aquosos demonstraram perfis diferentes com relação aos teores de flavonóides. O extrato aquoso de *C. adamantium* possui o menor teor de flavonóides totais, enquanto o extrato aquoso de *C. sessiliflora* possui o maior teor. O extrato aquoso de *C. guviroba* possui teores de flavonóides semelhantes aos obtidos nos extratos orgânicos de *C. adamantium*.

As diferenças significativas entre os teores de flavonóides dos extratos de *C. adamantium* e *C. sessiliflora* podem estar relacionadas às classes de flavonóide que o solvente (água) conseguiu extrair.

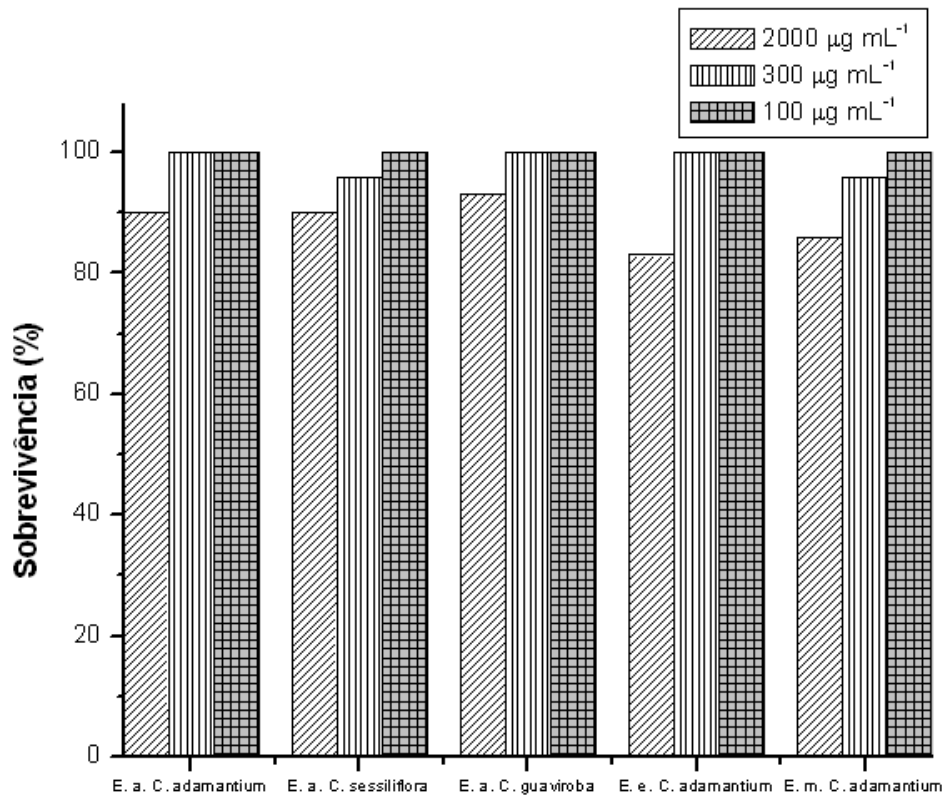
De acordo com RODRIGUES et al., (2004) a utilização de proporções maiores de água a fim de aumentar a polaridade da solução extrativa, poderia otimizar a extração de flavonóides e outros compostos fenólicos, diminuindo a concentração de interferentes lipofílicos no extrato. Tal fato não ocorreu com todos os extratos analisados neste trabalho, pois os extratos orgânicos de *C. adamantium* extraíram um teor mais elevado de flavonóides, enquanto o extrato aquoso demonstrou menor quantidade de flavonóides totais. Esse fato se refletiu na atividade antioxidante dos extratos.

4.3.2 Teste de toxicidade frente à *Artemia salina*

Para todas as análises realizadas encontramos coeficientes de variação inferior à 4,6 %.

O teste avaliando a toxicidade de substâncias utilizando *Artemia salina* foi avaliado por SIQUEIRA et al., (1998) onde observou-se a confiabilidade do bioensaio, os extratos foram considerados ativos quando TAS<1000 ppm, como utilizado por SIQUEIRA et al., (2001) que avaliou a atividade citotóxica em substâncias isoladas de extratos da casca de *Duguetia glabriuscula*.

Os extratos aquosos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* e os extratos etanólico e metanólico de *C. adamantium* tornam-se levemente tóxicos em concentrações elevadas. Obteve-se 100% de sobrevivência em todos os extratos em suas menores concentrações (Figura 22).



E. a. – Extrato aquoso. E. e. – Extrato etanólico. E. m. – Extrato metanólico.
 FIGURA 22. Gráfico comparando o efeito tóxico sobre *Artemia salina* dos extratos testados.

Outras espécies de *Campomanesia* já tiveram seu potencial tóxico analisado e segundo CARDOSO et al., (2008) o extrato hexânico das folhas de *C. pubescens* não apresentou mortalidade nas concentrações testadas, sendo a máxima concentração testada de 2200 µg mL⁻¹.

A toxidez do extrato liofilizado de *C. xanthocarpa* foi analisado por MARKMAN, (2002) e este demonstrou ser tóxico com DL₅₀ igual a 0,503 mg mL⁻¹.

4.4 – Avaliação da atividade fungitóxica dos extratos aquosos de *Campomanesia* com o patógeno *Phakopsora pachyrhizi* em plantas e sementes de soja

No experimento com o patógeno *Phakopsora pachyrhizi* foram observadas algumas características importantes na produção da soja. Sendo a produtividade avaliada através do número de grãos, do amarelecimento e morte total das plantas.

Como referência para as avaliações utilizou-se uma escala diagramática para avaliar a severidade da doença (Figura 23).

O aparecimento dos sintomas da doença foi avaliado de acordo com o número médio de focos da doença por folha, considerando 10 focos como o número máximo de focos por folha, sendo os demais resultados correlacionados com este dado.

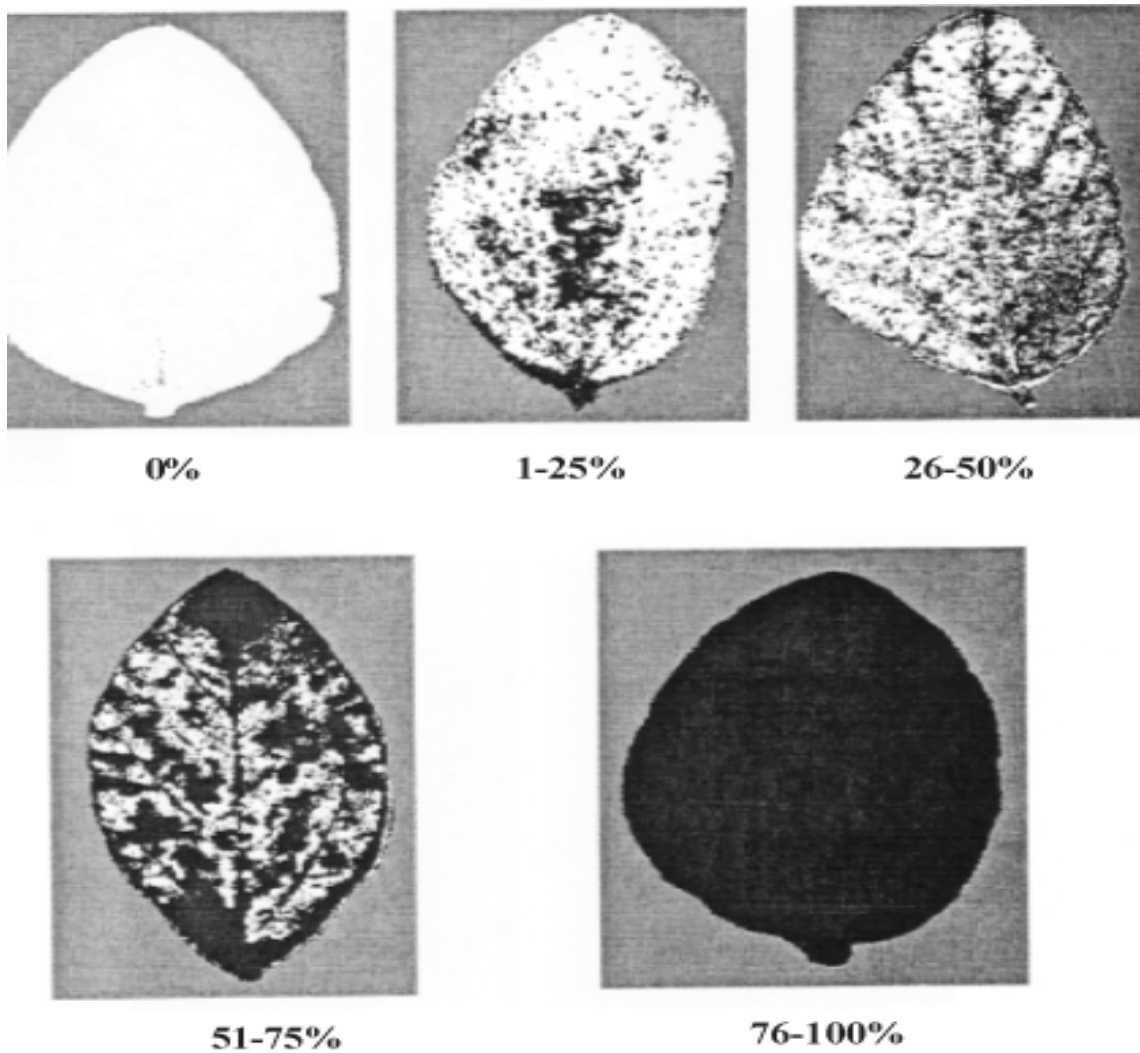


FIGURA23. Escala diagramática que mede a severidade da ferrugem asiática da soja.

O Piori Xtra é o fungicida mais utilizado no controle da ferrugem asiática e de outras patologias. Desenvolvido pela Syngenta, é a combinação de dois fungicidas, azoxistrobina e ciproconaxol, possui um duplo mecanismo de ação sistêmica. Atua diretamente em pontos distintos do metabolismo dos fungos e possui amplo espectro de controle (SYNGENTA, 2008).

A procura por produtos alternativos que sirvam como defensivos e causem menores danos ao ambiente, sejam estes químicos, biológicos, orgânicos ou naturais, vem crescendo. Poderiam ser enquadrados nesta categoria, os diversos biofertilizantes, as caldas, os agentes de biocontrole, extratos e os óleos essenciais, sendo que a utilização de óleos essenciais e outros extratos oriundos de plantas medicinais têm mostrado resultados promissores no controle de patógenos de plantas. (MEDICE, 2007).

Existem relatos da utilização de óleos essenciais no controle do fungo causador da ferrugem asiática *in vitro* e *in vivo*, em plantas de diversas famílias. Até o presente momento, não há trabalhos utilizando plantas do gênero *Campomanesia* no controle do patógeno causador da ferrugem asiática, e são poucos os trabalhos que utilizam extratos aquosos, infusos ou chás, que seriam mais viáveis ao produtor rural em relação ao preparo.

No experimento em que foi analisado o extrato aquoso de *C. adamantium*, no tratamento controle foi utilizado somente água e encontramos em média 9 focos de ferrugem por folha. Ademais, quando os focos foram comparados com o controle do agrotóxico mais utilizado para o controle da ferrugem asiática tivemos uma redução de 60% da ferrugem, e, quando foi comparado o grupo testemunha ao tratamento com o extrato aquoso de *C. adamantium*, essa redução dos focos de ferrugem diminuíram em 50% nas folhas tratadas com extrato (Figura 24).

O tratamento utilizando o extrato aquoso de *C. adamantium* aliado ao agrotóxico demonstrou resultados semelhantes ao resultado obtido no tratamento onde foi utilizando somente extrato aquoso de *C. adamantium*.

No experimento onde avaliamos a influência dos extratos aquosos de *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* sobre a ferrugem asiática da soja, nota-se que apresentam resultados diferentes. Para o tratamento onde as folhas receberam o extrato aquoso de *C. sessiliflora* os resultados foram melhores, apresentando 20% menos focos da doença por folha quando comparado ao tratamento utilizando somente extrato aquosos de *C. guaviroba*. O tratamento utilizando o extrato aquosos de *C. sessiliflora* aliado ao

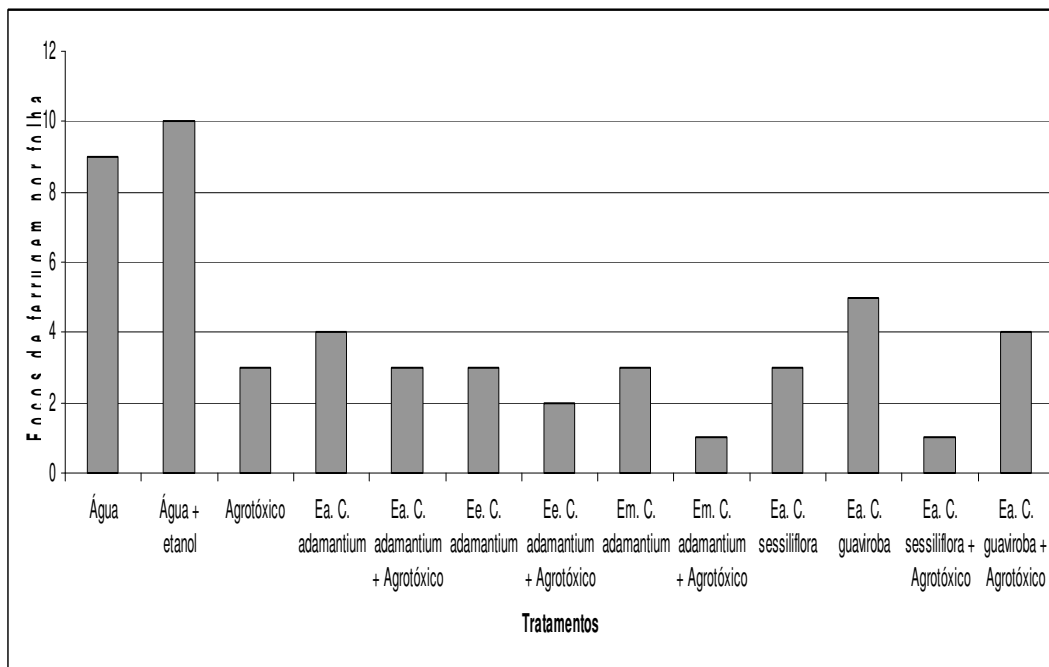
agrotóxico, diminuiu em 80% os focos de ferrugem asiática por folha de soja quando comparados ao tratamento controle (Figura 24).

Os tratamentos onde utilizou-se extrato aquoso de *C. guaviroba* e extrato aquoso de *C. guaviroba* somando ao agrotóxico, apresentaram 40% e 50% menos focos da doença por folha, comparado ao tratamento controle, respectivamente.

No experimento onde foram analisados os extratos etanólico e metanólico de *C. adamantium*, onde, os tratamentos feitos somente com extratos orgânicos mostraram-se bem eficientes no controle da ferrugem asiática da soja, uma vez que mostraram igualdade ao tratamento onde se utiliza somente o agrotóxico.

As folhas que foram tratadas com o extrato etanólico de *C. adamantium* somado ao agrotóxico, apresentaram 80% menos focos de ferrugem asiática, quando comparado ao tratamento controle.

No tratamento onde utilizou-se o extrato metanólico de *C. adamantium* aliado ao agrotóxico, os focos da doença diminuíram 90%, comparado ao tratamento controle.



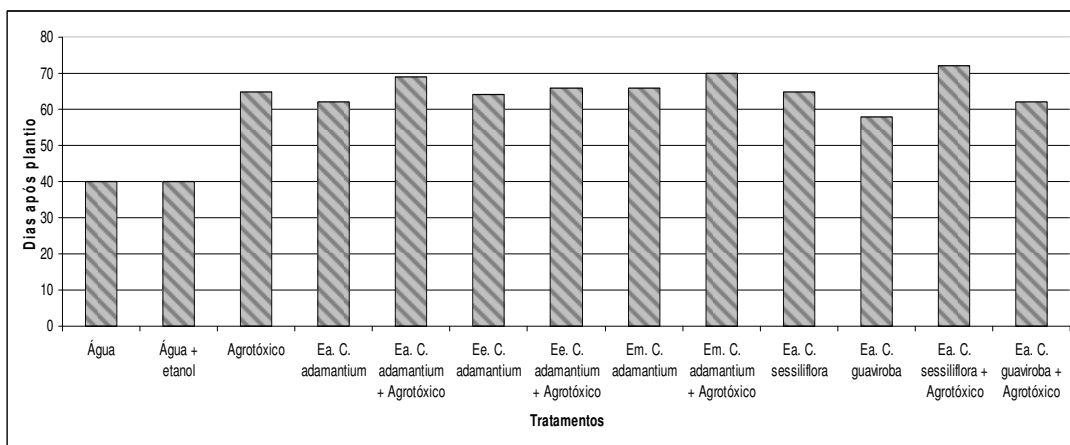
Ea: Extrato aquoso; Ee: Extrato etanólico; Em: Extrato metanólico.

FIGURA 24. Gráfico demonstrando os focos de ferrugem asiática por folha, após uma semana de inoculação do patógeno.

Foi avaliado também o amarelecimento das folhas da soja, estes dados foram avaliados de acordo com as datas em que as folhas amarelas foram aparecendo. No tratamento controle, o início do amarelecimento das folhas da soja iniciou-se precocemente, 40 dias após o plantio. Nos tratamentos com agrotóxico, extrato aquoso de *C. adamantium*, extrato etanólico de *C. adamantium*, extrato etanólico de *C. adamantium* aliado ao agrotóxico e o extrato metanólico de *C. adamantium* as folhas amarelas apareceram, em média, 35% mais tarde, quando comparados ao tratamento controle.

Os tratamentos que utilizaram extrato aquoso de *C. adamantium* aliado ao agrotóxico e extrato metanólico de *C. adamantium* também aliado ao agrotóxico, demonstraram bons resultados, retardando a senescência das plantas. Estes tratamentos renderam às plantas, 5 dias a mais de folhas robustas e frescas, quando comparado ao tratamento onde utilizou-se somente agrotóxicos (Figura 25).

Ao avaliar o potencial de óleos essenciais na inibição da germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* e também a redução da severidade dos sintomas da doença, MEDICE et al., (2007) concluiu que o óleo essencial extraído do tomilho (*Thymus vulgaris*), reduziu a incidência de pústulas nas três cultivares avaliados por formar uma barreira à germinação e penetração do fungo na superfície dos folíolos, o óleo essencial de tomilho conseguiu retardar os sintomas e também diminuir a severidade da doença.



Ea: Extrato aquoso; Ee: Extrato etanólico; Em: Extrato metanólico.

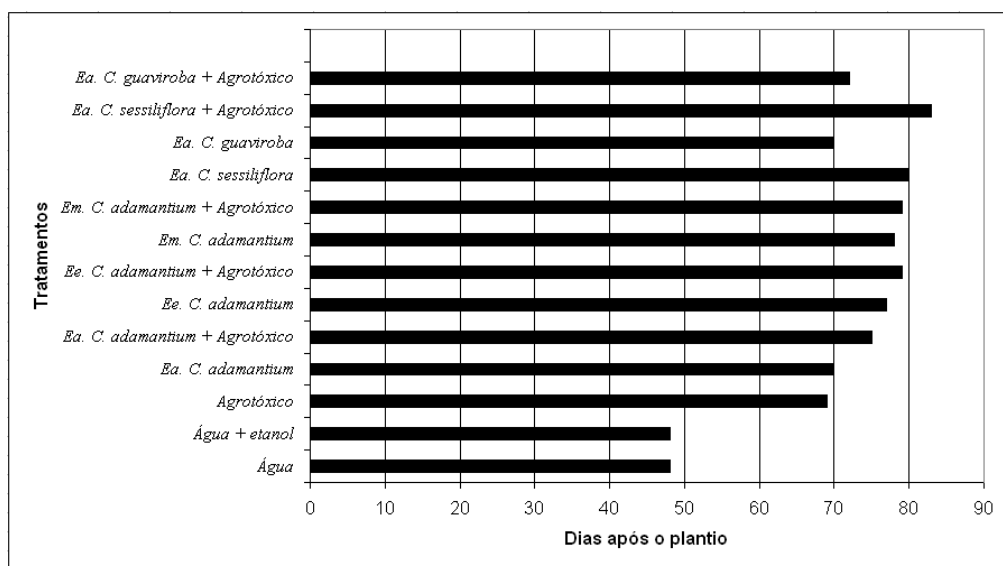
FIGURA 25. Gráfico demonstrando o amarelecimento das folhas doentes, após a inoculação do patógeno.

Segundo MEDICE et al, (2007) os resultados visuais demonstraram que devido à alta severidade da doença nas folhas das plantas testemunhas as mesmas encontravam-se amareladas, encarquilhadas e em estágio avançado de senescência, enquanto as folhas das plantas tratadas com óleos essenciais se apresentavam verdes e túrgidas. O mesmo ocorreu nos tratamentos testados neste trabalho, o tratamento considerado testemunha, iniciou o amarelecimento de suas folhas aos 40 dias após o plantio, enquanto nas plantas tratadas com extratos as folhas continuaram verdes por mais 20 à 32 dias.

Avaliamos a morte total das plantas, onde observamos a maior longevidade nas plantas tratadas com o extrato aquoso de *C. sessiliflora* somado ao agrotóxico, que sobreviveram 48,2% a mais que o controle (Figura 26).

As plantas tratadas com extrato aquoso de *C. sessiliflora*, extrato etanólico de *C. adamantium* aliado ao agrotóxico e o extrato metanólico de *C. adamantium* aliado ao agrotóxico, renderam tempo de vida as plantas semelhantes, onde o extrato aquoso de *C. sessiliflora* chama atenção por estar equivalente, quanto a permanência das plantas vivas, aos outros dois tratamentos onde utiliza-se o agrotóxico.

Todos os tratamentos testados levaram as plantas de soja a uma maior sobrevivência do que a garantida pelo uso somente do agrotóxico. Portanto, sugere-se que a utilização de agrotóxico rendeu pouco tempo de vida às plantas (Figura 26).



Ea: Extrato aquoso; Ee: Extrato etanólico; Em: Extrato metanólico.

FIGURA 26. Gráfico representando a morte total das plantas de soja.

Verificamos que os tratamentos com os extratos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* demonstraram um efeito benéfico no controle do fungo causador da ferrugem asiática, provavelmente agindo na germinação de uredinósporos de *P. pachyrhizi*, também reduziram os sintomas e a severidade da doença.

4.4.2 - Teste de inibição da germinação e crescimento das sementes de soja

Os extratos orgânicos de *C. adamantium* e os extratos aquosos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* foram submetidos a testes de inibição de crescimento e germinação.

As sementes foram colocadas para germinar em contato com os extratos e estes não apresentaram germinação após as 120 horas de avaliação. Decorrido o tempo de 72 horas as sementes apresentavam coloração escura, amolecidas e com aspecto de necrose do tecido. No teste controle as sementes incharam durante as primeiras 48 horas e completando 96 horas de experimento todas haviam germinado e apresentavam embriões de coloração verde clara.

Quando as sementes previamente germinadas foram colocadas em contato com os extratos, estes não aumentaram o tamanho de seus embriões e apresentaram necrose do tecido e aspecto de apodrecimento do embrião ao final do tempo de teste. No teste controle os embriões continuaram a se desenvolver naturalmente, chegando, o embrião, a apresentar 8 centímetros de comprimento.

Dependendo da espécie vegetal e do tipo de extrato submetido a testes de germinação e crescimento (testes alelopáticos) os resultados obtidos podem diferir, consideravelmente, na mesma espécie vegetal ou em diferentes espécies.

A utilização de óleo essencial extraído das folhas de *Hydrocotyle bonariensis*, reduzem significativamente a porcentagem de germinação em alface e cebola, sendo as reduções de 54% em alface e 34% em cebola, em relação ao controle, para a maior concentração testada, ou seja, 1% (SILVA et al., 2009b).

De acordo com PERES et al., (2009) sementes de alface e cebola foram submetidas ao contato com extratos orgânicos de *Microgramma vacciniifolia* e suas frações. Observou-se que o extrato etanólico bruto reduziu significativamente o índice de velocidade de germinação de alface, nas maiores concentrações ensaiadas. Com cebola nenhum efeito significativo na germinação foi observado. Nos ensaios de crescimento, a raiz primária de alface foi estimulada pelo extrato etanólico bruto na menor concentração testada.

Em testes de germinação e crescimento, foram avaliados os efeitos dos extratos obtidos de folhas, caules, raízes, frutos e flores de *Aristolochia esperanzae*, em diversas concentrações, sobre sementes de alface e rabanete. Os extratos de caules e raízes influenciaram a viabilidade das sementes. O extrato das folhas foi o que provocou a maior inibição na germinação de sementes de alface. Pode-se notar que os extratos causaram atraso no processo germinativo a partir da concentração de 25%. O extrato das folhas proporcionou efeito inibitório na taxa de geminação de sementes de rabanete. Verificou-se que todos os extratos diminuíram significativamente os valores de velocidade de germinação das sementes de rabanete (GATTI et al., 2004).

5. CONCLUSÕES

O presente estudo mostrou que as substâncias rutina; 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona; 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona; 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona; 7-hidroxi-5-metoxiflavanona; 2',4'-diidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona; 5-hidroxi-7-metoxiflavanona; 5,7-diidroxi-8-metilflavanona estavam presentes no extrato metanólico das folhas de *C. adamantium* em concentração variando entre 0,61 e 61,99 mg g⁻¹. Seis metabólitos de oito estudados estavam presentes no extrato etanólico em concentração situando-se entre 2,18 a 43,19 mg.g⁻¹. Um menor número de substâncias foram encontradas nos extratos aquosos, quatro substâncias nos extratos de *C. adamantium* e *C. guaviroba* (7-hidroxi-5-metoxiflavanona, 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona, 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona, 2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona) e quatro no extrato de *C. sessiliflora*. A substância 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona foi detectada em maior concentração no extrato metanólico de *C. adamantium* com 61,99 mg.g⁻¹, sendo majoritária também entre as substâncias quantificadas nos extratos aquosos (11,41- 12,19 mg.g⁻¹). A rutina e a 2',4'-diidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona foram detectadas somente nos extratos orgânicos e a 5,7-diidroxi-8-metilflavanona foi encontrada apenas no extrato metanólico de *C. adamantium* (31,91 mg.g⁻¹). As substâncias 7-hidroxi-6-metil-5-metoxiflavanona e 5,7-dihidroxi-6-metilflavanona foram identificadas em todos os extratos analisados.

Para os óleos essenciais, obteve-se rendimento entre 0,002 e 0,11% para as amostras coletadas nas quatro estações, sendo os menores valores obtidos para as amostras de inverno. O estudo evidenciou que os óleos essenciais de *C. adamantium* e *C. sessiliflora* são ricos em terpenos, monoterpenos e sesquiterpenos, e que há variação na composição relativa destas classes de acordo com o estágio fenológico da planta. O óleo das amostras de outono se mostrou rico em monoterpenos oxigenados (24,7 - 58,7%) e o de primavera se caracterizou pela presença de sesquiterpenos oxigenados (17,6 - 29,9%).

As principais substâncias encontradas no óleo essencial das duas plantas de *C. sessiliflora* nas amostras de outono foram: mirtenal (14,4 e 27%), E-salveno (15,7 e 6,6%), isso-verbanol (3,4 e 9,0%) e linalol (2,8 e 8,9%), respectivamente em *C. sessiliflora* 1 e 2. Os principais constituintes do óleo essencial das amostras de verão foram: E-salveno (18,6 e 19,8%), β-ocimeno (5,9 e 12,3%) e 5-hidroxi-pentanal (6,6 e 4,9%) e espatulenol (0,4 e 6,0%), enquanto o iso leptospermona (16,2 e 17,6%), cistujona (53 e 3,5%), γ- amorfeno (4,5 e 4,6%), mesitileno (3,6 e 4,2%) e α-tujopsan-2-ol

se destacaram nas amostras de primavera. Para as amostras de inverno o constituinte de maior destaque foi o δ -terpineol (5,1 e 3,3%), sendo também encontrado na planta de *C. sessiliflora* 1 o α -tujopsan-2-ol (4,7%), α -pineno (4,3%), silvestreno (4,5%) e viridifloreno (4,3%).

O estudo realizado com óleo essencial de *C. guaviroba* evidenciou também nesta espécie que o outono é caracterizado pela predominância ao invés da diversidade de substâncias como foi determinado em outras estações do ano, tendo o mirtenal (22%), linalol (13,6%) e o salveno (7,8%) como principais componentes. Os constituintes majoritários para a espécie na primavera foram verbeneno (5,5%), leptospermona (4,3%) e 2-metoxi-3-metil-pirazino (4,3%), enquanto no inverno se destacaram viridifloreno (6,6%), α -pineno (6,1%), δ -terpineol (4,9%) e silvestreno (4,7%).

Os ensaios mostraram concentração mais altas de fenóis nos extratos aquosos, 459,55 mg.g⁻¹ para *C. sessiliflora*, 315,4 mg.g⁻¹ para *C. adamantium* e de 236,40 mg.g⁻¹ para *C. guaviroba*. Para flavanóides encontrou-se nos extratos aquosos: 207,07 mg.g⁻¹ para *C. sessiliflora*, 98,05 mg.g⁻¹ para *C. guaviroba* e 19,74 mg.g⁻¹ para *C. adamantium*. Os extratos orgânicos apresentaram concentrações semelhantes de flavonóides (72,19 e 76,29 mg.g⁻¹). O comparativo do teor de flavonóides identificados pelos métodos espectrofotométrico e cromatográfico demonstrou que os extratos orgânicos tem concentrações semelhantes de flavonóides nos dois métodos estudados, enquanto nos extratos aquosos o método espectrofotométrico identificou concentrações superiores de flavonóides nas amostras.

A maior atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH foi promovida pelos extratos orgânicos de *C. adamantium*, e nenhum dos extratos testados se mostrou tóxico, em baixas concentrações, no bioteste com *Artemia salina*.

Foi verificado que plantas de soja infectadas pelo vírus causador da ferrugem asiática, quando tratadas com extratos de plantas de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba*, apresentaram sintomas mais brandos da doença, bem como o amarelecimento e morte das plantas de soja foi retardado. Sugere-se que outras plantas sejam estudadas buscando novos defensivos agrícolas naturais, para que a soja torne-se um alimento ainda mais promissor. Essa busca por defensivos naturais diminuirá o uso de pesticidas, e, teremos produtos que possuam esta finalidade, tornando a soja mais saudável e também favorecendo seu consumo, vislumbrando seus potenciais efeitos para a saúde.

Os extratos de *C. adamantium*, *C. sessiliflora* e *C. guaviroba* são capazes de inibir a germinação e o crescimento dos embriões das sementes de soja.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. Allured Publishing: Illinois - USA, 2001.

ADATI, R. T.; FERRO, V. O. Volatile oil constituents of *Campomanesia phaea* (O. Berg) Landrum. (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**. v. 18, p. 691-692, 2006.

ALVES, C. Q.; BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; LIMA, L. S.; Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. **Diálogos e Ciências**, v. 5, n. 12, 2007.

ANDRADE, F. G.; NEGREIRO, M. C. C; FALLEIROS, A. M. F. Aspectos dos mecanismos de defesa da lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis* (Hubner, 1818) relacionados ao controle biológico por *Baculovirus anticarsia*. **Arquivo Instituto Biologia**, São Paulo, v.71, n.3, p.391-398, jul./set., 2004.

BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. v. 2. Imprensa Universitária: Viçosa, 377 pp. 1984.

BIAVATTI, M. W.; FARIAS, C.; CURTIUS, F.; BRASIL, L. M.; HORT, S.; SCHUSTER, L.; LEITE, S. N.; PRADO, S. R. T. Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenesis* (Jacq.) J. F. Macbr. Aqueous extract: weight control and biochemical parameters. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 93, p. 385-389, 2004.

BONILLA, A.; DUQUE, C.; GARZÓN, C.; TAKAISHI, Y.; YAMAGUCHI, K.; HARA, N.; FUJIMOTO, Y. Champanones, yellow pigments from the seeds of champa (*Campomanesia lineatifolia*). **Phytochemistry**, v. 66, p. 1736-1740, 2005.

BORTOLINI, M. F.; FORTES A. M. T. Efeitos alelopáticos sobre a germinação de sementes de soja. **Ciências Agrárias**. v. 26, n. 1, p. 5-10, 2005.

CARDOSO C. A. L.; LIMA A. S. V.; POPPI-RÉ N.; VIEIRA M. C.; Fruit oil of *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg and *Campomanesia adamantium* O. Berg. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, p. 481-483, 2009.

CARDOSO, C. A. L.; SILVA, J. R. M.; KATAOKA, V. M. F.; BRUM, C. S.; POPPI, N. R. Avaliação da atividade antioxidante, toxicidade e composição química por CG/EM do extrato hexânico das folhas de *Campomanesia pubescens*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 29, n. 3, p. 297-301, 2008.

CARDOSO, C. A. L.; POPPI, N. R.; Identification of the volatile compounds of flower oil of *Campomanesia pubescens* (Myrtaceae). **Journal of Essential oil research**, v. 21, p. 433-434, Sep/Oct, 2009.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Disponível em: www.conab.gov.br. Acesso em Dez. 2009.

COUTINHO, I. D.; COELHO, R. G.; KATAOKA, V. M. F.; HONDA, N. K.; SILVA, J. R. M.; VILEGAS W.; CARDOSO, C. A. L. Determination of phenolic compounds and evaluation of antioxidant capacity of *Campomanesia adamantium* leaves. **Eclética Química**. v. 33, n. 4, p. 53-60, 2008.

COUTINHO, D. I.; POPPI-RÉ, N.; CARDOSO, C. A. L.; Identification of the Volatile Compounds of leaves and flowers in Guavira (*Campomanesia adamantium* O. Berg.). **Journal of Essential Oil Research**. v. 20, p. 405-407, 2008a.

COUTINHO, I. D.; CARDOSO, C. A. L.; POPPI-RÉ, N.; MELO, A. M.; VIEIRA, M. C.; HONDA, N. K.; COELHO, R. G.; Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Guavira). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 4, São Paulo, Oct/Dec, 2009. ISSN 1984-8250.

DI STASI, L. C. **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência**: um guia de estudos multidisciplinares. Ed. Universidade Paulista: São Paulo, p. 215, 1996.

DICKEL, L. M.; RATES, K. M. S.; RITTER, R. M. Plants popularly used for loosing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **Journal of Ethno-Farmacology**. p. 60-71, 2006.

DJERIDANE, A.; YOUSFI, M.; NADJEMI, B.; BOUTASSOUNA, D.; STOCKER, P.; VIDAL, N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. **Food Chemistry**. v. 97, p. 654-660, 2006.

DUARTE, W. F.; DIAS, D. R.; PEREIRA, G. V. M.; GERVÁSIO, I. M.; SCHWAN, R. F.; Indigenous and inoculated yeast fermentation of gabioba (*Campomanesia pubescens*) pulp for fruit wine production. **Journal of industrial microbiology and biotechnology**. V. 36, p. 557-569, 2009.

EMBRAPA. **Identificada ferrugem em lavouras comerciais de GO, MS e PR (safra 2009/10)**. Londrina: Centro Nacional de Pesquisa de soja (EMBRAPA – CNPSO), 2009. Disponível em: www.embrapa.gov.br. – Acesso em Dez. 2009.

EMBRAPA. **Pesquisadores avaliam situação da ferrugem da soja**. Londrina: Centro Nacional de Pesquisa de soja (EMBRAPA – CNPSO), 2009a. Disponível em: http://www.cnpso.embrapa.br/alerta/ver_alerta.php?cod_pagina_sa=205&cultura=1. – Acesso em Dez. 2009a.

EMBRAPA. Tecnologia de produção de soja, Região central do Brasil, 2003. **Doenças e medidas de controle**. Londrina: Centro Nacional de Pesquisa de soja (EMBRAPA – CNPSO), 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Soja/SojaCentralBrasil2003/doenca.htm>. Acesso em Out. 2009.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26, 1, 171-178, 2006.

GATTI B.; PEREZ S. C. J. G. A.; LIMA M. I. S.; Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esparanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de

Lactuca sativa L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botânica Brasileira**, v. 18, nº 3, p. 459-472, 2004.

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

GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; MORELLATO, L. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Rev. Bras. Bot.** [online]. 2006, v. 29, n. 4, pp. 509-530. ISSN 0100-8404. doi: 10.1590/S0100-84042006000400002.

HARTMAN, G.; SINCLAIR, J.; RUPE, J. **Compendium of soybean diseases**. Saint Paul: APS, 1999. 128 p.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. Série de textos da escola de verão em química. UFSCAR, São Carlos, 2003.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em www.ibge.gov.br/home/presidencia/oticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1464&id_pagina=1. Acesso em Set. 2009.

INOUE, M. H.; CRUZ, M. E. S.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. **Eficácia da planta medicinal capim limão no controle de fungos fitopatogênicos que incidem sobre sementes de trigo**. Ponta Grossa, 5º Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes. v.1, p. 28. 1998a.

INOUE, M. H.; CRUZ, M. E. S.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. **Eficácia de plantas medicinais no controle de fungos fitopatogênicos que incidem sobre sementes de soja**. Ponta Grossa, 5º Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes. v.1, p. 33. 1998b.

KLAFKE, J. Z.; PANIGAS, T. F.; BELLI, K. C.; SILVA, M. A.; CORACINI, J. C. H.; BIANCHI, P.; VIECILI, P. R. N.; OLIVEIRA, M. F.; BARICHELLO, M. M.; RIGO, F. K.; ROSSATO, M. F.; SANTOS, A. R. S.; PIZZOLATTI, M. G.; FERREIRA, J.; Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on biochemical, hematological, and oxidante

stress parameters in hypercholesterolemic patients. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 299-305, 2010.

KLAFKE, J. Z.; PANIGAS, T. F.; RICHTER, C. M.; DIPP, T.; BELLI, K. C.; BUNDCHEN, D. C.; SILVA, M. A., CORACINI, J. C. H.; BIANCHI, P.; VIECILI, P. R. N.; The effect of *Campomanesia xanthocarpa* “guabiroba” in hypercholesterolemic subjects. *Circulation*, v. 118, n. 12, p. 1212, 2008.

KUMARAN, A.; KARUNAKARAN, R. J. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. **Food Chemistry**. v 97, p. 109-114, 2006.

LIMBERGER, R. P.; APEL, M. A.; SOBRAL, M. Aromatic Plant from Brazil - Chemical Composition of Essential Oils from Some *Campomanesia* species (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**. v 13, n.2, p. 113-115, 2001.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T.; MENUT, C.; BESSIÈRE, J. M. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. **Química Nova**. v. 27, n. 6, p. 916-919, 2004.

LIN, J-Y.; TANG, C-Y. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. **Food Chemistry**. v.101, p. 140-147, 2007.

LOPES, W. B.; MORONI, F. T.; BRANDEBURGO, M. I. H.; HAMAGUCHI, A. **Desenvolvimento de um método alternativo ao uso de animais de laboratório para avaliação da toxicidade de extratos vegetais**. Acesso em jul. 2009. Disponível em <http://www.propp.ufu.br/revistaeletronica/edicao2002/B/Desenvolvimento.PDF>.

MARCONDES, A. A.; CORRÊA, M. A.; GUIMARÃES, O. A.; NAKASHIMA, T.; Extração e análise química de óleos essenciais de folhas verdes e frescas de *Campomanesia sessiliflora* (Berg) Mattos, via CG/MS-MSD. **Simpósio de plantas medicinais do Brasil**, 2000, Cuiabá. Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais, 2002. CD-ROM.

MARCUCCI, M. C.; WOISKY, R. G.; SALATINO, A. **Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonóides em amostras de própolis.** Associação Paulista de Apicultores, 2005. acesso em jul. 2009. Disponível em <http://www.bichoonline.com.br/artigos/apa0014.htm>.

MARIN, R.; APEL, M. A.; LIMBERGER, R. P.; RASEIRA, M. C. B.; PEREIRA, J. F. M.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T.; Volatile components and antioxidant activity from some Myrtaceous fruits cultivated in southern Brazil. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 2, p. 172-177, 2008.

MARKMAN, B. E. O. **Pharmacognosttic Characterization of *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg Myrtaceae.** 2002. 169 f. Dissertação de Mestrado em FÁrmacos e Medicamentos. Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP. São Paulo, 2002.

MARKMAN, B. E. O.; BACCHI, M. E.; KATO, M. T. E. Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. **Journal of Ethno-farmacology**. v. 94, p. 55-57, 2004.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; JUNIOR, R. G. M.; LOPES, H. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciênc. agrotec.** [online]. vol. 31, n. 1, 2007, pp. 83-90. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>.

MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n.1, p. 31-34, 1982.

MORAES, L. D.; OLIVEIRA, H. B.; SOUSA, O. V. Teores médios de flavonóides em amostras de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 5, supl. 2, p. 1035-1037, 2007.

MORAIS, L. A. S.; Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27: S4050-S4063, 2009.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OSÓRIO, C.; ALARCON, M.; MORENO, C.; BONILLA, A.; BARRIOS, J.; GARZÓN, C.; DUQUE, C.; Characterization of odor-active volatiles in Champa (*Campomanesia lineatifolia* R. & P.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 2, p. 509-516, 2006.

PASSINI, F. B.; **Ferrugem asiática da soja na cultura do feijão**, 2007. Dissertação de Mestrado em Agronomia, área de concentração Fitopatologia. Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG, Ponta Grossa, 2007.

PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; COELHO, R. G.; COUTINHO, I. D.; HONDA, N. K.; CARDOSO C. A. L.; VILEGAS, W.; LEITE, S. R. A.; SATO, D. N.; Evaluation of Anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1222-1226, 2009.

PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; SILVA, T. C. L.; SILVA, C. H. T. P.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C. **Processos extrativos para flavonóides de *bauhinia cheilantha* (bong) steudel (pata-de-vaca)**. ABQ – Associação Brasileira de Química. Rio Grande do Norte, 2007.

PERES M. T. L. P.; SIMIONATTO E.; HESS S. C.; BONANI V. F. L.; CANDIDO A. C. S.; CASTELLI C.; POPPI-RÉ N.; HONDA N. K.; CARDOSO C. A. L.; FACCENDA O.; Estudos químicos e biológicos de *Microgramma vacciniifolia* (Langsd. & Fish.) Copel (Polypodiaceae). **Química Nova**, v. 32, nº 4, 2009.

POTZERNHEIM, M.; BIZZO, H. R.; COSTA, A. T. S.; VIEIRA, R. F.; CARVALHO, C. M.; GRACINDO, L. A. M. B.; Chemical characterization of seven *Piper* species (Piperaceae) from Federal District, Brazil, based on volatile oil constituents. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, p. 10-12, 2006.

RAMOS, D. D.; CARDOSO, C. A. L.; YAMAMOTO, M. T. Avaliação do potencial citotóxico e atividade antioxidante em *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O.Berg (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Biociências**. v. 5, supl. 2, p. 774-776, 2007.

RODRIGUES, P. O.; GONÇALVES, T. C.; SILVA, W. B. Influência de Diferentes Sistemas de Solventes no Processo de Extração de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). **Acta Farm. Bonaerense**. N. 23, p. 27-31, 2004.

SANTOS, M. S.; CARNEIRO, P. I. B.; WOSIACKI, G.; PETKOWICZ, C. L. O.; CARNEIRO, E. B. B. Caracterização físico-química, extração e análise de pectinas de frutos de *Campomanesia xanthocarpa* B. **Rev. Ciências de Alimentos**. v. 30, n. 1, p. 101-106, 2009.

SENNA, J. R. C.; LEME, L. R. P.; MOURA, S. A. L.; VALADÃO, A. F. Estudo do teor de flavonóides em diferentes extratos da própolis verde produzida no município de Jaguaraçu-MG. **Anais.UNILESTE – MG**, 2006.

SILVA C. B.; SIMIONATTO E.; HESS S. C.; PERES M. T. L. P.; SIMIONATTO E. L.; JÚNIOR A. W.; POPPI-RÉ N.; FACCENDA O.; CÂNDIDO A. C. S.; SCALON S. P. Q.; Composição química e atividade alelopática do óleo volátil de *Hydrocotyle bonariensis* Lam (Araliaceae), **Química Nova**, v. 32, nº 9, 2009.

SILVA, J. R. M.; POPPI-RÉ N.; POPPI, N. R.; CARDOSO, C. A. L. Fruit oli of *Campomanesia pubescens* (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**. v. 21, n. 4, p. 315-316, 2009a.

SILVA J. R. M.; CARDOSO C. A. L.; POPPI-RÉ N.; Essential oil composition of the leaves of *Campomanesia pubescens*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 45, nº 4, 2009b.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. **In:** SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1999.

SIQUERA, J. M.; BOMM, M. D.; PEREIRA, N. F. G.; GARCEZ, W. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmani* – Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina* leach. **Química Nova**. v. 21, n. 5, p. 557-559, 1998.

SIQUEIRA, J. M.; ZIMINIANI, M. G.; RESENDE, U. M.; BOAVENTURA, A. M. D.; Estudo fitoquímico das cascas do caule de *Duguetia glabriúscula* – Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade frente a *Artemia salina* Leach, **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 185-187, 2001.

SOUZA, T. J. T.; APEL, M. A.; BORDIGNON, S.; MATZENBACHER, N. I.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium polystachyum* DC. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n. 3, p. 368-372, 2007.

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

SYNGENTA. **Priori XTRA**, Registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – (MAPA) sob nº: 04903. 2008. Disponível em: https://www.extrapratica.com.br/BR_Docs/Portuguese/Instructions/156.pdf. Acesso em Set. 2009.

STEFANELLO, E. M.; CERVI, C. A.; SIMIONATTO, E. L.; JÚNIOR, W. A. Essential oil composition of *Campomanesia adamantium* (Camb) O. Berg. **Journal of Essential Oil Research**. v.20, n. 5, p. 424-425, 2008.

VALLILO, M. I.; BUSTILLOS, O. V.; AGUIAR, O. T. de Identificação de terpenos no óleo essencial dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. Berg – Myrtaceae. **Rev. Inst. Flor**. v. 18, p. 15-22, 2006a.

VALLILO, M. I.; LAMARDO, L. C. A.; GABERLOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E.; MORENO, P. R. H. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. Berg. **Ciência, Tecnologia e Alimentos**. Campinas, v. 26, n. 4, p. 805-810, 2006b.

VALLILO, M. I.; MORENO, P. R. H.; OLIVEIRA, E.; LAMARDO, L. C. A.; GARBELOTTI, M. L. Composição química dos frutos de *Campomanesia xanthocarpa* Berg-Myrtaceae. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. supl. 28, p. 231-237, 2008.

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

VIEIRA, T. R.; BARBOSA, L. C. A.; MALTHA, C. R. A.; PAULA, V. F.; NASCIMENTO, E. A. Constituintes químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). **Química Nova**. v. 27, n. 4, p. 536-539, 2004.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Ed. Argos: Chapecó, p.17-44, 2001.

ANEXO 1. Compostos identificados nos óleos essenciais de *Campomanesia sessiliflora* 1 e 2 e de *Campomanesia guaviroba*, nas quatro estações do ano.

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora</i> 1				<i>C. sessiliflora</i> 2				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
(n)-octano	4,05	799	800	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-
(e)-4-octano	4,22	805	802	2,0	-	-	-	1,0	-	-	-	1,2	-	-
(z)-2-octano	4,35	810	812	1,5	0,4	0,1	3,5	0,8	1,0	0,1	2,6	1,0	0,4	0,1
4-metil-tiazol	4,40	817	818	-	-	-	3,0	-	-	-	-	-	-	-
(e)-2-octano	4,47	820	821	0,1	0,1	0,1	1,0	0,2	0,1	0,1	0,4	0,3	0,1	0,1
metil-pentanoato	4,70	827	828	1,3	0,1	-	1,6	0,8	0,2	0,1	1,0	0,6	0,1	0,1
ácido isovalérico	4,83	833	834	-	-	-	2,6	-	-	-	1,8	-	-	-
metil-4-pentanol	4,88	835	838	1,4	0,4	-	-	0,7	0,8	-	-	0,7	0,4	-
iso-propil-butanoato	5,04	842	845	-	0,3	-	2,3	-	0,7	-	2,0	0,7	0,4	-
(e)-3-hexenol	5,20	851	854	-	0,1	-	-	-	0,3	-	-	-	0,2	-
(e)-2-hexenal	5,28	854	855	-	0,1	0,1	1,0	-	0,1	0,1	0,5	-	0,1	0,1
(z)-salveno	5,32	856	856	-	0,1	-	-	-	0,3	-	-	-	0,2	-
etil-isovalerato	5,37	856	858	0,6	-	-	0,9	0,2	-	-	-	0,1	-	-

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
(z)-3-hexenol	5,43	858	859	0,5	0,1	0,1	-	2,2	0,3	0,1	0,5	0,2	0,1	0,1
(e)-salveno	5,59	864	867	15,7	0,1	0,1	18,6	6,6	0,3	0,1	19,8	7,8	0,1	0,2
metil-tiglato	5,61	868	871	-	0,4	0,1	1,1	-	0,9	0,1	0,1	-	0,6	0,2
2-metil-butil-acetato	5,73	881	881	-	-	-	1,8	-	-	-	0,2	-	-	-
3-metil-3-butenil-acetato	5,95	884	885	-	0,2	0,1	0,6	-	1,2	-	0,3	-	0,2	0,2
etil-4-pent-4-enoato	6,23	888	888	-	0,1	0,1	0,6	-	0,1	0,1	0,7	-	-	0,1
4-heptanol	6,25	890	889	-	0,2	-	-	-	0,5	-	-	-	0,2	0,1
5-hidroxi-pentanal	6,28	891	890	-	0,1	-	6,6	-	0,2	-	4,9	-	0,1	-
2-heptanona	6,36	894	892	-	0,2	-	-	-	0,4	-	-	-	0,2	-
2-metoxi-pirazino	6,42	897	897	-	0,4	-	3,2	-	1,0	-	3,4	-	0,5	-
propil-butanoato	6,50	897	899	2,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(n)-nonano	6,60	899	900	1,0	0,8	0,5	1,9	0,4	1,8	0,4	2,0	0,5	0,8	1,2
heptanal	6,72	902	902	-	0,1	-	-	-	0,2	-	-	-	0,1	-

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora</i> 1				<i>C. sessiliflora</i> 2				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
butil propanoato	6,98	910	909	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
(E)-2-(E)-4-hexadienal	7,08	911	910	-	0,1	-	-	-	0,2	-	-	-	0,1	-
2-acetilfurano	7,23	913	912	-	0,2	0,1	0,3	-	0,4	0,1	0,3	-	0,2	0,3
2,5-dietenil-2-metil-tetrahydrofurano	7,46	920	916	-	-	0,1	-	-	0,2	0,1	-	-	0,1	0,4
2-metil-4-heptanona	7,50	922	924	-	-	0,1	0,3	-	-	0,2	0,4	-	-	0,3
triciclono	7,57	926	927	-	0,3	0,1	-	-	0,7	-	-	-	0,3	-
artemisia trieno	7,60	928	930	-	-	0,1	-	-	0,1	0,1	-	-	-	0,1
α -tujeno	7,64	930	930	-	-	0,1	-	-	0,2	0,1	0,1	-	0,1	1,0
tetrahydro citroleneleno	7,76	934	937	-	-	-	0,5	-	-	-	0,6	-	-	-
2-etil-4,5-dimetil-oxazol	7,80	936	937	-	0,6	0,4	0,3	-	1,4	0,3	-	-	0,6	0,7
α -pineno	7,89	938	939	-	4,3	0,4	-	-	0,8	0,3	-	-	6,1	0,3
5-metil-3-heptanona	8,01	942	944	-	0,2	0,2	-	-	0,5	0,1	2,4	-	0,1	0,1

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
5-exo-norbonen-2-ol	8,05	944	947	-	-	-	-	-	1,3	-	-	-	-	-
β-citroneleno	8,16	949	950	-	-	0,1	-	-	0,2	0,1	-	-	-	0,1
3-metil-cicloexanona	8,19	949	952	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
α-fencheno	8,26	954	953	-	-	0,1	-	-	0,3	0,1	-	-	-	0,1
canfeno	8,30	956	954	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-	0,8	-
2-etoxi-tiazol	8,36	957	958	-	-	-	-	-	0,2	0,1	-	-	-	3,6
2,4(10)-tuja-dieno	8,43	958	960	-	-	0,5	-	-	0,2	0,6	-	-	0,1	-
formato cicloexilo	8,69	963	962	-	-	0,3	0,4	-	-	0,3	0,5	-	-	0,8
6-metil-hepta-2-ol	8,74	963	965	-	-	-	-	-	1,2	-	-	-	0,5	-
hepten-1-ol	8,85	965	967	-	-	2,4	-	-	-	-	-	-	-	-
verbeneno	8,93	968	968	0,4	0,5	1,7	0,3	0,5	1,0	1,9	0,4	0,4	0,4	5,5
2-metoxi-3-metil-pirazino	9,04	969	974	-	0,2	1,4	-	-	0,4	1,5	-	-	0,2	4,3
trans-pineno	9,20	974	975	-	0,4	0,1	-	-	0,8	0,1	-	-	0,3	0,1

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
2-exo-norboneol	9,35	977	976	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	0,1	-
artemiseol	9,42	979	977	0,4	-	-	-	0,1	-	-	-	0,2	-	-
trans-para-mentano	9,50	979	979	-	0,1	-	-	-	0,3	-	-	-	0,2	-
β-pineno	9,54	981	979	-	2,9	-	-	-	0,7	-	-	-	2,9	-
trans-meta-menta-2,8-dieno	9,57	981	984	-	-	0,2	-	-	-	0,9	-	-	-	2,5
3-para-menteno	9,72	987	988	-	0,2	0,1	-	-	0,6	0,1	-	-	0,2	0,2
1-deceno	9,80	989	990	-	0,1	-	-	-	0,3	-	-	-	0,1	-
mirceno	9,87	991	991	-	0,1	0,1	-	-	0,2	0,1	-	-	0,2	0,1
trans-diidroxilinalol-oxido	9,96	995	993	-	0,1	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
mesitileno	10,04	996	996	1,7	0,7	3,6	-	0,6	1,5	4,2	-	0,8	0,7	0,1
(n)-deceno	10,20	999	1000	0,7	1,0	0,9	-	-	2,3	0,8	-	0,3	0,9	2,1
iso-silvestreno	10,67	1009	1009	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-
1,4 cineole	10,74	1012	1015	-	-	0,2	-	-	-	0,1	-	-	-	0,3

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
α -terpineno	10,80	1013	1017	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-
para-metil-anisol	10,94	1020	1019	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-
para-cimeno	11,02	1024	1025	-	0,4	0,3	0,7	-	0,9	0,2	-	-	0,4	0,7
1-2-4-trimetil-benzeno	11,15	1025	1026	0,5	0,3	0,7	-	0,1	0,7	0,7	-	0,2	0,3	2,1
orto-cimeno	11,26	1029	1026	-	-	0,2	-	-	-	0,1	-	-	-	0,3
β -felandreno	11,35	1029	1030	-	0,6	-	-	-	0,5	-	-	-	0,9	-
3- δ -careno	11,44	1034	1031	-	-	0,8	-	-	-	0,2	-	-	-	0,5
silvestreno	11,49	1035	1031	-	4,5	-	-	-	-	-	-	-	4,7	-
1,8 cineol	11,60	1037	1031	-	-	0,9	-	-	-	0,4	-	-	-	0,6
(z)- β -ocimeno	11,64	1037	1037	0,5	-	-	5,9	-	-	-	12,3	4,8	-	0,3
alcool-santolina	11,73	1038	1040	-	2,2	0,2	-	-	2,1	0,2	-	-	4,4	0,1
2-etil-hexenoato	11,84	1040	1044	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
(e)- β -ocimeno	12,06	1050	1050	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
cis-arbusculono	12,27	1050	1053	-	0,2	0,1	-	-	0,5	0,1	-	-	0,1	0,3

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
δ-terpineno	13,02	1061	1060	-	-	0,2	-	0,1	-	0,2	-	-	-	-
2-butil-tiofeno	13,15	1063	1063	-	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
cis-sabineno-hidrato	13,26	1067	1070	-	0,2	0,1	-	-	0,4	0,1	-	-	0,2	0,2
para-menta-3,8-dieno	13,31	1072	1073	-	0,2	-	-	0,2	0,4	-	-	-	0,2	-
trans-oxido-linalol	13,37	1075	1073	-	-	0,1	1,3	-	-	0,1	-	-	-	0,4
diidro-mircenol	13,40	1075	1074	-	-	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-
cis-vertroci-tral c	13,51	1079	1080	-	0,2	0,1	-	-	0,4	0,1	-	-	0,2	0,3
para-tolualdeído	13,58	1081	1082	-	0,3	0,1	-	0,1	0,5	0,1	-	0,1	0,2	0,3
furfuril-propanoato	13,87	1086	1087	-	-	-	-	-	0,7	-	-	-	-	-
para-2,4-8-menta-dieno	14,02	1088	1088	-	1,2	0,5	-	-	-	0,1	-	-	1,4	0,5
terpinoleno	14,09	1088	1089	0,3	-	-	1,1	-	-	-	-	-	-	0,2
2-acetil-tiofeno	14,17	1089	1089	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
diidro-linalol	14,21	1089	1091	-	0,2	0,1	-	2,3	0,5	0,1	-	-	0,1	0,2
para-cimeneno	14,34	1092	1091	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
6,7-epoximirceno	14,40	1092	1093	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
linalol	14,55	1100	1097	2,8	-	-	-	8,9	-	-	-	13,6	-	-
n-undecano	14,58	1100	1100	-	1,0	0,3	-	-	2,3	0,4	-	-	1,2	1,0
cis-tujona	14,68	1102	1102	-	1,6	5,3	0,6	-	0,9	3,5	5,9	-	0,4	0,5
α-fenchocamforona	14,74	1105	1106	-	0,1	-	-	-	0,4	-	-	-	0,2	-
trans-vertocitral-c	14,81	1107	1107	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	0,2	-
endo-fenchol	15,09	1118	1117	-	0,4	-	-	-	0,8	-	-	-	0,4	-
trans-pineno hidratado	15,49	1124	1123	1,0	1,3	0,1	1,7	2,3	1,0	0,1	-	1,7	1,4	0,2
2-endo-acetato- norboneol	15,68	1128	1128	-	0,2	-	-	-	0,4	-	-	-	0,2	-
terpineol	15,82	1132	1134	-	0,2	0,1	0,4	-	0,2	0,1	-	-	0,2	0,1
diidro-linalol	15,94	1134	1135	-	0,3	-	-	-	0,6	-	-	-	0,2	-
trans-pinocarveol	16,19	1139	1139	-	-	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-	0,1
nopinona	16,23	1140	1140	-	0,2	-	-	-	0,5	-	-	-	0,2	-

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
cis-verbenol	16,31	1142	1141	-	0,3	-	-	-	0,5	-	-	-	0,2	-
trans-verbenol	16,47	1146	1145	-	-	-	-	1,2	-	-	-	1,1	-	-
canfor	16,62	1146	1146	-	0,4	-	-	-	0,2	-	-	-	0,4	-
fenol-2-1-(Z)-propenil	16,74	1154	1151	-	0,6	0,1	-	-	1,0	0,1	-	-	0,5	0,3
karahanaenono	16,81	1154	1159	0,2	-	-	-	0,5	-	-	-	0,2	-	-
cis-diidro-β-terpineol	16,89	1161	1160	-	-	0,1	0,4	-	-	0,1	-	-	-	0,1
isoborneol	16,94	1161	1162	-	0,6	-	-	-	0,8	-	-	-	0,6	-
cis-crisantenol	17,02	1164	1164	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
cis-diidro-α-terpineol	17,09	1165	1165	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
neo-mentol	17,14	1166	1166	0,8	0,3	0,1	-	1,3	0,6	0,1	-	1,2	0,3	0,1
neo-iso-isopulegol	17,78	1171	1171	-	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	-	-
mentol	17,81	1172	1172	-	0,3	-	-	-	0,6	-	-	-	0,2	-

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
acetato santonil	17,86	1176	1175	-	-	0,2	4,4	-	-	0,1	-	-	-	0,1
epóxido-rosefuran	17,88	1177	1177	-	2,2	-	-	-	1,6	-	-	-	2,2	-
iso-verbanol	17,91	1179	1180	3,4	-	-	-	9,0	-	-	-	-	-	-
iso-mentol	18,18	1183	1083	0,3	0,3	-	-	1,3	0,4	-	-	1,0	0,3	-
neo-verbanol	18,22	1184	1185	-	0,6	0,5	-	-	0,5	0,3	-	-	0,5	0,1
criptona	18,24	1186	1186	-	0,1	-	-	-	0,3	-	-	-	0,1	-
neo-iso-mentol	18,26	1186	1187	1,4	0,3	-	-	2,0	0,7	-	-	1,7	0,3	-
trans-para-menta-1-(7),8-dien-2-ol	18,50	1189	1189	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-
fenol-2-alil	18,58	1190	1191	0,4	-	-	-	0,7	-	-	-	0,4	-	-
cis-diidro-carvona	18,75	1193	1193	-	0,1	-	-	-	0,3	-	-	-	0,1	-
mirtenal	18,94	1197	1196	14,4	-	-	-	27,0	-	-	-	22,0	-	-
δ-terpineol	18,99	1198	1199	-	5,1	-	1,3	-	3,3	-	-	-	4,9	-
(n)-dodecano	19,02	1200	1200	-	1,1	-	0,4	-	2,2	-	-	-	1,0	-

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
trans-diidro-carvona	19,11	1201	1201	-	0,1	-	-	-	0,3	-	-	-	0,1	-
norboneno-2-metanol- acetato-5-exo	19,23	1203	1205	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	-
(e)-2(e)-4-nonadienal	19,41	1213	1212	-	0,4	-	-	-	0,9	-	-	-	0,4	-
trans-carveol	19,56	1217	1217	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
(z)-cinamaldeído	19,61	1218	1219	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
cis-acetato-sabineno- hidrato	19,77	1221	1221	-	0,2	-	-	-	0,5	-	-	-	0,2	-
citronelol	19,86	1224	1226	-	0,2	-	-	-	0,3	-	-	-	0,2	-
nor-davanona	19,98	1232	1231	-	0,1	-	-	-	0,2	-	-	-	0,1	-
ascaridol	21,02	1235	1237	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
neral	21,15	1238	1238	-	0,1	-	-	-	0,3	-	-	-	0,1	-
carvona	21,26	1243	1243	-	0,3	-	-	-	0,6	-	-	-	0,2	-
hexil-isovalerato	21,42	1245	1244	-	0,2	-	-	-	0,4	-	-	-	0,1	-
carvotanacetona	21,66	1247	1247	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
cis-epóxido-piperitona	21,83	1255	1254	-	0,2	-	-	-	0,5	-	-	-	0,2	-
acetato de linalil	21,97	1256	1257	-	0,8	-	-	-	0,2	-	-	-	0,8	-
(e)-4-decen-1-ol	22,06	1261	1262	-	0,3	-	-	-	0,6	-	-	-	0,2	-
cis-carvone-óxido	22,18	1264	1263	-	0,2	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-
(e)-2-decenal	22,26	1265	1264	-	0,2	-	-	-	0,5	-	-	-	0,2	-
(e)-cinamaldeído	22,31	1269	1270	-	0,2	-	-	-	1,2	-	-	-	0,2	-
tetra-hidro-acetato de lavandulol	22,48	1272	1271	-	0,5	-	-	-	1,1	-	-	-	0,5	-
para-menta-1-en-7-al	22,62	1277	1276	-	0,2	-	-	-	1,1	-	-	-	0,2	-
para-etil-acetofenona	22,74	1280	1282	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	-
2-etil-endo-fenchol	22,93	1289	1289	-	-	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-
trans-acetato-sabinil	23,01	1291	1291	-	0,2	-	-	-	0,4	-	-	-	0,2	-

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
2-etil-iso-mentona	23,21	1293	1295	-	-	-	-	-	2,7	-	-	-	0,1	-
trans-tio-rosa-óxido	23,40	1298	1297	-	0,2	-	-	-	0,5	-	-	-	0,2	-
(n)-tridecano	23,53	1299	1300	0,6	0,1	-	-	0,2	3,0	-	-	0,2	1,3	-
2-(e)-4-(e)-decadienal	24,31	1318	1317	-	0,2	-	-	-	0,4	-	-	-	0,2	-
di-diidro- cicloisolongifoleno	24,43	1323	1319	-	0,2	-	-	-	0,4	-	-	-	0,1	-
neo-iso-verbanol-acetato	24,61	1334	1331	-	-	0,2	-	-	-	0,1	-	-	-	0,1
cis-acetato-piperitol	24,73	1335	1335	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-
presilfierfol-7-eno	24,80	1336	1337	-	-	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-	-
verbenol acetato	24,98	1344	1344	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
benzil-butanoato	25,09	1347	1347	-	0,3	-	-	-	0,4	-	-	-	0,2	-
7-epi-5-eno-silfiperfol	25,16	1348	1348	-	-	-	-	-	0,2	0,1	-	-	-	-
silfiperfol-7-eno	25,29	1349	1348	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
etil-nerolato	25,47	1355	1354	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
cis-carvil-acetato	25,73	1366	1368	-	0,2	-	-	-	0,5	-	-	-	0,2	-
ciclosativeno	25,91	1372	1371	-	-	0,1	-	-	0,3	0,1	-	-	0,2	-
isoledeno	26,06	1376	1376	-	0,2	0,1	-	-	0,7	0,2	-	-	0,5	0,1
β-panasinseno	26,18	1383	1383	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
α-duprezianeno	26,29	1389	1389	-	0,4	-	-	-	0,3	-	-	-	0,4	-
iso-longifoleno	26,41	1390	1390	-	-	0,2	-	-	-	0,2	-	-	-	0,1
etil-geranato	26,57	1395	1395	-	-	-	-	-	0,7	-	-	-	0,1	-
(z)-trimenal	27,76	1398	1398	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
(n)-tetradecano	27,87	1399	1400	0,4	0,4	-	-	0,1	2,1	-	-	0,2	0,8	-
longifoleno	28,06	1408	1408	-	0,2	0,1	-	-	-	0,1	-	-	0,2	0,1
α-cedreno	28,31	1412	1412	-	-	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-	0,1
β-cedreno	28,49	1420	1421	-	-	2,8	-	-	-	2,8	-	-	-	1,4
β-ilangeno	28,57	1422	1421	-	2,1	-	-	-	0,3	-	-	-	2,8	-

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
4,8- β-epoxi-cariofilano	28,74	1425	1425	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
β-gurjuneno	28,89	1435	1434	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
α-guaieno	28,99	1441	1440	-	0,5	0,4	-	-	-	0,3	-	-	0,5	0,3
epi-cedrano	29,14	1450	1450	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	0,1	-
α-pachouleno	29,31	1458	1457	-	0,8	0,7	-	-	-	0,7	-	-	1,0	0,4
croweacina	29,43	1459	1460	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
sesquisabineno	29,56	1461	1460	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-
deidro-aromadendrano	29,60	1462	1463	-	0,5	0,4	-	-	-	0,4	-	-	0,7	0,3
2-(e)-decenal	29,74	1466	1466	-	0,1	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2	-
(n)-dodecanol	30,01	1471	1471	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
drima-7,9(11)-diene	30,47	1474	1473	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-
trans-cadina-1(6),4-diene	31,68	1477	1477	-	-	0,2	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
δ-curcumeno	31,84	1483	1483	-	1,0	2,2	-	-	-	2,4	-	-	1,6	0,4
(e)-metil-isoeugenol	32,08	1492	1492	-	0,7	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-
cis-β-guaieno	32,17	1493	1493	-	-	1,2	-	-	-	1,1	-	-	-	1,2
γ-amorfeno	32,28	1496	1496	-	-	4,5	-	-	-	4,6	-	-	-	0,2
viridifloreno	32,49	1497	1497	-	4,3	-	-	-	-	-	-	-	6,6	-
α-selineno	32,62	1498	1498	-	-	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-	0,1
biciclogermacreno	32,80	1499	1500	0,2	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(n)-pendadecano	32,97	1500	1500	-	0,4	-	-	-	0,8	-	-	-	0,3	-
β-himachaleno	33,02	1504	1505	-	-	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-	0,1
α-germacreno	33,16	1509	1509	-	-	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-	-
γ-cadineno	33,38	1515	1514	-	-	0,2	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2
silfiperfolan-6-β-ol-7-epi	33,50	1520	1519	-	-	0,1	-	-	-	1,0	-	-	-	1,0
α-7-epi-selineno	33,58	1521	1522	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
δ-cadineno	33,72	1525	1523	-	-	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-	0,1
flavesona	34,13	1540	1547	-	-	2,8	-	-	-	3,5	-	-	-	0,6
silfiperfol-5-en-3-ol	34,53	1560	1560	-	-	0,2	-	-	-	0,1	-	-	-	0,2
e-nerolidol	34,60	1564	1563	-	-	0,2	-	-	-	0,2	-	-	-	0,2
epi-longipinanol	34,65	1565	1564	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-
ledol	34,83	1572	1569	0,7	-	0,1	-	0,1	-	-	-	0,3	-	0,7
cariofileno álcool	34,91	1572	1572	-	-	0,7	-	-	-	0,7	-	-	-	-
cariolan-8-ol	35,01	1573	1573	-	0,7	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-
espatulenol	35,12	1579	1578	2,0	2,5	0,9	-	0,4	0,1	0,7	6,0	0,6	1,4	1,7
globulol	35,31	1584	1585	-	0,9	0,2	-	-	-	0,2	0,1	2,0	0,6	0,2
α-tujopsan-2-ol	35,47	1588	1587	2,8	4,7	3,4	-	0,7	0,2	3,1	2,4	-	2,5	3,0
viridiflorol	35,62	1594	1593	0,6	-	-	-	-	-	1,8	-	0,4	-	-
carotol	35,75	1597	1595	-	1,8	2,0	-	-	-	-	-	-	0,9	1,7
cis-arteanuic álcool	35,87	1598	1597	0,4	0,8	-	-	-	-	-	-	0,1	0,3	0,8

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
longibornol	35,90	1598	1599	-	-	1,2	-	-	-	-	-	-	-	1,3
(n)-hexadecano	35,98	1600	1600	-	0,4	-	-	-	0,3	-	-	-	0,3	-
sesquiteriferol	36,27	1607	1605	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5-epi-7-epi- α -eudesmol	36,39	1609	1608	0,3	0,7	0,4	-	-	-	0,3	-	0,1	0,3	-
trans-artenuic-álcool	36,53	1612	1613	-	0,7	0,8	-	-	-	0,8	-	-	0,4	-
iso leptospermona	36,64	1624	1623	-	-	16,2	-	-	-	17,6	-	-	-	4,3
citronelil-pentanoato	36,79	1625	1625	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	0,5	-
trans-isolongifolanona	36,97	1627	1627	-	0,9	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-
leptospermona	37,08	1628	1631	-	-	0,3	-	-	-	0,3	-	-	-	1,0
δ -eudesmol	37,26	1632	1632	0,5	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-
β -acorenol	37,51	1636	1637	-	1,1	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-
α -muurolol	37,74	1645	1646	-	0,5	0,6	-	0,1	-	0,6	-	-	0,2	0,6
agarospirol	37,89	1647	1648	0,3	0,6	0,7	-	-	0,1	0,7	-	0,1	0,3	0,6

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
cedrenol	38,02	1650	1652	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -cadinol	38,11	1656	1654	1,1	0,2	-	-	0,3	-	-	-	0,5	-	-
α -selin-11-en-4-ol	38,14	1659	1660	-	1,4	1,6	-	-	0,1	-	-	0,5	-	-
ageratocromeno	38,17	1662	1660	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
diidro-eudesmol	38,20	1663	1663	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	0,2
α -eudesmol-7-epi	38,22	1665	1664	-	-	-	-	0,1	-	-	-	0,1	-	-
eudesm-7(11-en-4-ol	38,96	1698	1700	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
(n)-heptadecano	39,29	1700	1700	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
(n)-octadecano	49,06	1800	1800	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-
outros terpenos				15,7%	0,2%	0,1%	18,6%	6,6 %	0,6 %	0,1 %	19,8 %	7,8 %	0,3 %	0,2 %
monoterpenos				1,2%	16,5%	5,6 %	8,5 %	0,8 %	8,3 %	13,5 %	13,4 %	5,2 %	19,9 %	12,5 %
monoterpenos oxigenados				24,7%	18,8 %	7,8 %	5,3%	58,7 %	26,1 %	5,2 %	5,9 %	42,9 %	19,3 %	2,6 %

ANEXO 1. (Continuação)

SUBSTÂNCIA	T.R.	I.R. CALC.	I.R. LIT.	<i>Campomanesia sessiliflora</i>								<i>Campomanesia guaviroba</i>		
				<i>C. sessiliflora 1</i>				<i>C. sessiliflora 2</i>				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)
				Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)	Outono (%)	Inverno (%)	Primavera (%)	Verão (%)			
sesquiterpenos				0,2%	10,6%	13,5 %	-	-	2,8 %	13,7 %	-	-	14,2 %	5,0 %
sesquiterpenos oxigenados				8,7%	18,8%	29,9 %	-	1,7 %	1,3 %	28,1 %	8,5 %	5,0 %	8,9 %	17,6 %
alcoóis				1,9 %	1,1 %	2,5 %	-	2,9 %	3,7 %	0,1 %	0,5 %	0,9 %	1,6 %	0,2 %
esteres				4,6 %	4,4 %	1,2 %	18,2 %	1,0 %	9,0 %	0,9 %	8,2 %	1,4 %	4,6 %	2,0 %
hidrocarbonetos				8,5 %	6,8 %	6,2 %	6,8 %	3,4 %	18,8 %	6,7 %	5,0 %	4,7 %	8,7 %	6,7 %
outras substâncias				0,4 %	7,4 %	6,0 %	14,1 %	1,0 %	13,6 %	6,8 %	10,3 %	0,5 %	6,5 %	11,9 %
TOTAL IDENTIFICADO				65,9 %	84,6 %	72,8 %	71,5 %	76,1 %	84,2 %	75,1 %	71,6 %	68,4 %	84,0 %	58,7 %

