

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

GUSTAVO ROCHA

**QUANTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS PRIMÁRIOS, SECUNDÁRIOS E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FRUTOS E FOLHAS DE *Passiflora tenuifila*
Killip E *Passiflora setacea* DC (PASSIFLORACEAE).**

**FLORIANÓPOLIS
2017**

Gustavo Rocha

**QUANTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS PRIMÁRIOS, SECUNDÁRIOS E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FRUTOS E FOLHAS DE *Passiflora tenuifila*
Killip E *Passiflora setacea* DC (PASSIFLORACEAE).**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da UFSC como requisito básico para a obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria Viana

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Maraschin

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Rocha, Gustavo

Quantificação de metabólitos primários, secundários e atividade antioxidante em frutos e folhas de *Passiflora tenuifila* Killip e *Passiflora setacea* DC (Passifloraceae) / Gustavo Rocha ; orientador, Ana Maria Viana, coorientador, Marcelo Maraschin, 2017.

83 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Passiflora. 3. Fenólicos totais. 4. Flavonoides. 5. Atividade antioxidante. I. Viana, Ana Maria. II. Maraschin, Marcelo. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Gustavo Rocha

**QUANTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS PRIMÁRIOS, SECUNDÁRIOS E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FRUTOS E FOLHAS DE *Passiflora tenuiflora*
Killip E *Passiflora setacea* DC (PASSIFLORACEAE).**

Banca examinadora:

Profa. Dr^a Ana Maria Viana (Universidade Federal de Santa Catarina)
Orientadora

Prof. Dr. João de Deus Medeiros (Universidade Federal de Santa Catarina)

Prof. Dr. Paulo Tamaso Miotto (Universidade Federal de Santa Catarina)

Florianópolis, 06 de setembro de 2017

AGRADECIMENTOS

Eu gostaria de agradecer à professora Dra. Ana Maria Viana, por ter me orientado, ensinado e permitido que esse trabalho se realizasse.

Ao professor Dr. Marcelo Maraschin, pela coorientação e por ter disponibilizado o seu laboratório para a realização das análises fitoquímicas das amostras do presente trabalho.

À professora Dra. Ana Maria Costa, da Embrapa Cerrados, pelas amostras fornecidas para o trabalho.

À doutoranda Daiane Fiuza Montagner, por ter me ajudado imensamente durante todo o período de realização desse trabalho e pelos momentos de descontração e amizade que pudemos passar em conjunto.

À Dra. Fernanda Ramlov, por ter ajudado na revisão dos cálculos necessários para a realização do trabalho.

À Universidade Federal de Santa Catarina, por toda a estrutura fornecida durante todo o período de minha graduação.

E principalmente aos meus pais, Milton e Sonia, por toda a criação e ensinamento de valores que me deram, além de todo o suporte e amor que nunca me faltou.

RESUMO

Espécies silvestres de *Passiflora* vêm sendo utilizadas pela cultura popular há muito tempo, por apresentarem propriedades antioxidantes e medicinais na prevenção e tratamento de diversas enfermidades, como ansiedade, diabetes e hipertensão, entre outros. As espécies *Passiflora tenuifila* e *Passiflora setacea* são endêmicas do Brasil, ocorrem nos biomas Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica e estudos recentes evidenciam o potencial dessas espécies na produção de compostos bioativos de interesse. Este trabalho teve como objetivo quantificar e correlacionar fenólicos totais, flavonoides, clorofilas totais e açúcares solúveis totais com a atividade antioxidante de extratos de sementes, pericarpos e de folhas de *Passiflora tenuifila* e *Passiflora setacea* e também identificar diferenças no padrão de síntese desses compostos em folhas de plantas de *Passiflora tenuifila* crescidas em ambiente natural e em casa de vegetação. As análises demonstraram que os valores de compostos fenólicos totais, flavonoides, clorofilas totais, açúcares solúveis totais e atividade antioxidante variaram entre as duas espécies, assim como nos diferentes tipos de órgãos (folhas e frutos). Em pericarpos, as maiores concentrações de fenólicos e de flavonoides foram encontradas em *P. tenuifila* (7,86 mg Eq AG/g MS; 1,26 mg Eq Q/g MS, respectivamente). Em sementes, os maiores teores de compostos fenólicos totais e flavonoides foram encontrados em *P. setacea* (57,26 mg Eq AG/g MS; 3,42 mg Eq Q/g MS, respectivamente), valores ligeiramente superiores aos encontrados em *P. tenuifila* (37,29 mg Eq AG/g MS; 1,13 mg Eq Q/g MS, respectivamente). Em folhas, os níveis mais elevados de fenólicos totais e flavonoides foram encontrados na espécie *P. tenuifila* (13,72 mg Eq AG/g MS e 19,79 mg Eq Q/g MS, respectivamente). Os níveis de açúcares solúveis totais foram maiores nos tecidos de pericarpo de *P. tenuifila* (164,31 mg/g MS) do que em *P. setacea* (134,49 mg/g MS). Folhas de plantas de ambas as espécies, crescidas em casa de vegetação, apresentaram maior concentração de clorofilas totais (*P. tenuifila* 28,47 mg/g MS; *P. setacea* 7,44 mg/g MS). A atividade antioxidante mensurada através da inibição do radical livre DPPH, foi maior em extratos de sementes de ambas as espécies (em *P. setacea* 93,63%; em *P. tenuifila* 87,76%) e em pericarpo de *P. tenuifila* (62%). Folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em ambiente natural sintetizaram mais compostos fenólicos, flavonoides, açúcares solúveis totais e apresentaram uma maior atividade antioxidante do que as folhas de plantas crescidas em casa de vegetação, apesar dessas plantas de casa de vegetação, terem apresentado maior teor de clorofilas totais. Os resultados obtidos evidenciam o potencial de utilização de

resíduos industriais de passifloras, principalmente de sementes de ambas as espécies e de folhas e pericarpos de *P. tenuifila*, pela indústria farmacêutica ou na produção e enriquecimento de alimentos funcionais, devido aos elevados teores de metabólitos secundários e/ou potencial antioxidante.

Palavras-chave: *Passiflora*, metabólitos secundários, fenólicos totais, flavonoides, atividade antioxidante, folhas, pericarpo, sementes.

ABSTRACT

Wild species of *Passiflora* have been used by popular culture for a long time, since they have antioxidant and medical properties in the prevention and treatment of several diseases, such as anxiety, diabetes and hypertension, among others. The species *Passiflora tenuifila* and *Passiflora setacea* are endemic to Brazil, occurring in the Cerrado, Caatinga and Mata Atlântica biomes, and recent studies show the potential of these species in the production of bioactive compounds of interest. The aim of this work was to quantify and correlate total phenolic, flavonoids, total chlorophylls and total soluble sugars with the antioxidant activity of seeds, pericarps and leaves extracts of *Passiflora tenuifila* and *Passiflora setacea* as well as to identify differences in the levels of these compounds in leaves of *Passiflora tenuifila* plants grown in the natural environment and in the greenhouse. The results showed the contents of total phenolic compounds, flavonoids, total chlorophylls, total soluble sugar and antioxidant activity varied between the two species, as well as in the different organs types (leaves and fruits). In the fruit pericarp, the highest concentration of phenolics and flavonoids were found in *P. tenuifila* (7.86 mg GA Eq/g DW; 1.26 mg Q Eq/g DW, respectively). In seeds, the highest content of total phenolic compounds and flavonoids were found in *P. setacea* (57.26 mg GA Eq/g DW; 3.42 mg Q Eq/g DW, respectively), values higher than those found in *P. tenuifila* (37.29 mg GA Eq/g DW; 1.13 mg Q Eq/g DW, respectively). In leaves, the highest levels of total phenolics and flavonoids were found in *P. tenuifila* (13.72 mg GA Eq/g DW; 19.79 mg Q Eq/g DW, respectively). Total soluble sugar levels were higher in the pericarp tissue of *P. tenuifila* (164.31 mg/g DW) than in *P. setacea* (134,49 mg/g DW). Plant leaves of both species, grown in a greenhouse, had a higher concentration of total chlorophylls (*P. tenuifila* 28.47 mg/g DW; *P. setacea* 7.44 mg/g DW). The antioxidant activity measured by the DPPH free radical capture, was higher in seed extracts of both species (in *P. setacea* 93.63%; *P. tenuifila* 87.76%), and in the pericarp of *P. tenuifila* (62%). Leaves of *P. tenuifila* plants grown in a natural environment synthesized more phenolic compounds, flavonoids, total soluble sugars and had a higher antioxidant activity than the leaves of plants grown in a greenhouse, despite the fact that these greenhouse plants presented a higher total chlorophyll content. The results obtained evidenced the potential of using industrial residues of passion fruit, mainly of seeds of both species and leaves and pericarp of *P. tenuifila*, by the

pharmaceutical industry or in the production and enrichment of functional foods, due to the high levels of secondary metabolites and/or antioxidant potential.

Key words: *Passiflora*, secondary metabolites, total phenolic, flavonoids, antioxidant activity, leaves, pericarp, seeds.

LISTA DE ABREVIATURAS

AA – Atividade antioxidante
AG – Ácido Gálico
AlCl₃ – Cloreto de alumínio
AS – Açúcares solúveis
CA – Catequina
Casa Veg – Casa de vegetação
Cond Nat – Condições naturais
DMSO – Dimetilsulfóxido
DNA – Ácido desoxirribonucleico
DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
DW – Dry weight
Eq – Equivalente em
ERO – Espécies reativas de oxigênio
ERN – Espécies reativas de nitrogênio
ES – Extrato seco
g – Grama
GA – Gallic acid
IS – Isoorientina
MCW – Metanol, clorofórmio e água
MF – Massa fresca
mg – Miligrama
mL – Mililitro
MS – Massa seca
Na₂CO₃ – Carbonato de sódio
nm – Nanômetro
P – Passiflora
PAL – Fenilalanina amônia-liase
Ps – Passiflora setacea
Pt – Passiflora tenuifila
Q – Quercetina
RNA – Ácido ribonucleico
RPM – Rotações por minuto

RU – Rutina

μg – Micrograma

μl – Microlitro

μmol – Micromol

UV – Ultravioleta

UV-vis – Espectrofotometria de absorção molecular no ultravioleta/visível

v – Volume

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura base dos compostos fenólicos.

Figura 2. Estrutura base dos flavonoides.

Figura 3. Estrutura base dos compostos fenólicos.

Figura 4. Estrutura base dos flavonoides.

Figura 5. Diferença estrutural entre as moléculas de clorofila *a* e *b*.

Figura 6: Morfologia de frutos de *P. setacea* (A) e *P. tenuifila* (B).

Figura 7. Teores de fenólicos totais (A) e flavonoides (B) de extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* (Pt) e *P. setacea* (Ps).

Figura 8. Atividade antioxidante de extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* (Pt) e *P. setacea* (Ps).

Figura 9. Valores de razões entre os teores de flavonoides e fenólicos totais de extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* (Pt) e *P. setacea* (Ps).

Figura 10. Complexação das hidroxilas e carbonila do flavonoide pelo $AlCl_3$.

Figura 11. Teores de açúcares solúveis totais de extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* (Pt) e *P. setacea* (Ps).

Figura 12. Teores de clorofilas (*a+b*) de extratos de sementes e pericarpo (A) e de folhas (B) de *P. tenuifila* (Pt) e *P. setacea* (Ps).

Figura 13. Teores de fenólicos totais (A) e flavonoides (B) de extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação (Casa Veg) e condições naturais (Cond Nat).

Figura 14. Atividade antioxidante de extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação (Casa Veg) e condições naturais (Cond Nat).

Figura 15. Teores de açúcares solúveis totais (A) e clorofilas (B) de extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação (Casa Veg) e condições naturais (Cond Nat).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lista dos tipos de radicais livres mais comuns.

Tabela 2. Alguns dos principais agentes de defesa antioxidante.

Tabela 3. Teores de fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante em extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* e *P. setacea*.

Tabela 4. Teores de açúcares solúveis totais e clorofilas ($a+b$) em extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* e *P. setacea*.

Tabela 5. Valores de coeficientes de correlação linear simples entre diferentes parâmetros analisados em extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* e *P. setacea*.

Tabela 6. Teores de açúcares solúveis totais e clorofilas ($a+b$) em extratos de sementes, pericarpo e folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação e em condições naturais.

Tabela 7. Teores de açúcares solúveis totais e clorofilas ($a+b$) em extratos de sementes, pericarpo e folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação e em condições naturais.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA	4
3. OBJETIVOS	6
3.1 Objetivo geral	6
3.2 Objetivos específicos	6
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
4.1 Família Passifloraceae e gênero <i>Passiflora</i>	7
4.2 Importância econômica e farmacológica das passifloras	8
4.3 Importância dos estudos envolvendo espécies de passifloras silvestres	9
4.4 <i>Passiflora setacea</i>	10
4.5 <i>Passiflora tenuifila</i>	11
4.6 Metabólitos secundários, produtos do metabolismo das plantas	12
4.7 Radicais livres	13
4.8 Antioxidantes	14
4.9 Compostos fenólicos	16
4.10 Flavonoides	18
4.11 Clorofilas	19
5. MATERIAIS E MÉTODOS	21
5.1 Materiais	21
5.1.1 Frutos.....	21
5.1.2 Folhas.....	23
5.2 Métodos	23
5.2.1 Quantificação dos metabólitos primários	23
5.2.1.1 Clorofilas totais	23
5.2.1.2 Extração e quantificação de açúcares totais	23
5.2.2 Quantificação dos metabólitos secundários	24
5.2.2.1 Fenólicos totais	24
5.2.2.2 Flavonoides totais	25
5.2.3 Determinação da atividade antioxidante	26
5.2.3.1 Atividade antioxidante DPPH	26
5.2.4 Análise estatística	26
6. RESULTADOS	28

6.1	Análises de fenólicos totais, flavonoides, atividade antioxidante, açúcares solúveis totais e clorofilas em extratos de sementes, pericarpo e folhas de <i>P. tenuifila</i> e <i>P. setacea</i>	28
6.1.1	Fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante	28
6.1.2	Razão entre os teores de flavonoides e fenólicos totais	30
6.1.3	Açúcares solúveis totais e clorofilas	32
6.1.4	Análise de correlação linear entre os diferentes parâmetros analisados para <i>P. tenuifila</i> e <i>P. setacea</i>	34
6.2	Análise de fenólicos totais, flavonoides, atividade antioxidante, açúcares solúveis totais e clorofilas em folhas de plantas crescidas em casa de vegetação e em condições naturais	35
6.2.1	Fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante	35
6.2.2	Açúcares solúveis totais e clorofilas	38
7.	DISCUSSÃO	40
7.1	Fenólicos totais	40
7.2	Flavonoides	43
7.3	Clorofila total	46
7.4	Açúcares solúveis totais	49
7.5	Atividade antioxidante dos extratos avaliada através da redução do DPPH .	52
8.	CONCLUSÕES	55
9.	REFERÊNCIAS	56

1. INTRODUÇÃO

Estima-se que a família Passifloraceae possua aproximadamente 700 espécies (FEUILLET & MACDOUGAL, 2007). Classificado dentro dessa família, o gênero *Passiflora* representa o maior e mais importante grupo (SOZO, 2014). Só no Brasil existem 145 espécies, onde 83 dessas são endêmicas (FLORA DO BRASIL, 2017), tornando o Brasil uma grande fonte de recursos genéticos desse gênero (PERDOMO, 2016). Espécies silvestre de maracujás são fonte de genes que oferecem resistência a patógenos e doenças que comumente atacam as lavouras de espécies comerciais, sendo importante seu estudo para programas de melhoramento genético do gênero (SOZO, 2014). Além disso, o conhecimento dessas espécies silvestres também permite sua preservação, segundo a portaria N° 443, do Ministério do Meio Ambiente (2014), algumas espécies do gênero *Passiflora* encontram-se na lista de espécies da flora brasileira ameaçada de extinção, devido a grande destruição dos biomas naturais dessas espécies, principalmente na Mata Atlântica e no Cerrado (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2014).

No Brasil, a Embrapa Cerrado, através da rede Passitec, desenvolve pesquisas com passifloras silvestres, com o objetivo de promover o desenvolvimento tecnológico do uso funcional desse gênero (COSTA *et al.*, 2010; SOZO, 2014). Dentre as espécies pesquisadas pela rede estão: a espécie *Passiflora setacea*, popularmente conhecida como maracujá do sono, sururuca, ou maracujá de veado (PERDOMO, 2016), que é nativa e endêmica do Brasil e se encontra presente nos biomas Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga, nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste do Brasil (FLORA DO BRASIL, 2017), e também a espécie *Passiflora tenuifila*, popularmente conhecida no Brasil como maracujá alho, ou maracujá de cobra (PERDOMO, 2016), sendo endêmica do Brasil e se encontrando presente nos biomas de Mata Atlântica e Cerrado, nas regiões Sul e Sudeste do Brasil (FLORA DO BRASIL, 2017). Ambas as espécies de *Passiflora* apresentam potencial de exploração pela indústria farmacêutica, na produção de medicamentos, cosméticos e suplementos alimentares (SANTOS *et al.*, 2005). Entretanto, poucos autores, como Sozo (2014) e Wolfart (2015), buscaram quantificar metabólitos secundários nesses organismos.

Metabólitos secundários são produzidos nas plantas a partir de moléculas precursoras originadas pelo metabolismo dos carboidratos, como no processo da glicólise, via das pentoses fosfato e através do ciclo de Krebs (TAIZ & ZEIGER, 2013). Esses metabólitos

secundários não são responsáveis diretos pelo desenvolvimento das plantas, porém apresentam grande importância no processo de defesa contra herbivoria, patógenos e na proteção contra raios UV (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Os metabólitos secundários das plantas são classificados em compostos nitrogenados, terpenoides e compostos fenólicos (TAIZ & ZEIGER, 2013). Foco de grandes estudos, esses compostos naturais das plantas são conhecidos por apresentar propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antitumorais e antibacterianas (DHAWAN *et al.*, 2004; HARBORNE & WILLIAMS, 2000).

O gênero *Passiflora* vem demonstrando um grande potencial biológico na produção de metabólitos secundários (DHAWAN *et al.*, 2004), onde pesquisas demonstraram que esses metabólitos extraídos de folhas das espécies de *Passiflora edulis* e *Passiflora ligulares* possuem propriedades antioxidantes e antibacterianas promissoras (AKANBI *et al.*, 2011; RAZIA *et al.*, 2014).

Os antioxidantes são substâncias responsáveis por inibir ou reduzir os danos causados pela ação dos radicais livres (BIANCHI & ANTUNES, 1999). Mesmo em concentrações muito baixas, as substâncias antioxidantes impedem que moléculas de DNA, RNA, proteínas e lipídios sofram danos causados pelo estresse oxidativo dos radicais livres, detoxificando os agentes oxidativos antes deles causarem lesão ou reparando os danos já causados (FERREIRA & MATSUBARA, 1997; REISCHE *et al.*, 2002).

A indústria farmacêutica vem demonstrando crescente interesse no estudo de compostos antioxidantes, pois esses estão associados à prevenção e tratamento de várias doenças degenerativas relacionadas ao envelhecimento, como o câncer, doenças cardiovasculares, artrite reumática, mal de Alzheimer, Parkinson, entre outras (MELO *et al.*, 2006).

Os radicais livres são produzidos, naturalmente, pelo metabolismo oxidativo dos organismos aeróbios, ou podem se formar devido a fatores extrínsecos, como a exposição a poluentes, agentes químicos ou radiações (BIANCHI & ANTUNES, 1999). Essas moléculas são altamente reativas e instáveis, pois possuem elétrons não pareados que tendem a sequestrar elétrons de outra molécula próxima, como DNAs, RNAs, lipídios e proteínas, ocasionando a perda de função irreversível dessas moléculas devido a suas alterações de conformação (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

Moléculas antioxidantes podem ser sintetizadas artificialmente ou obtidas através de

fontes naturais. Os compostos antioxidantes naturais são geralmente extraídos de plantas, destacando-se os compostos fenólicos e flavonoides (MASTRO-DURÁN & BORJA-PADILLA, 1993; TIVERON *et al.*, 2012).

Compostos fenólicos, amplamente encontrados em espécies de passifloras, apresentam uma estrutura química formada por um anel aromático ligado a um radical hidroxila (Figura 1).

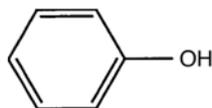


Figura 1. Estrutura base dos compostos fenólicos (Adaptado VERMERRIS & NICHOLSON, 2009).

Existem aproximadamente 10.000 compostos químicos classificados como compostos fenólicos, dentre eles, os aldeídos, ácidos fenólicos e os flavonoides (TAIZ & ZEIGER, 2013). Os flavonoides são formados por dois anéis benzênicos ligados em um anel pirano (Figura 2) e apenas esse grupo engloba mais de 8.000 moléculas naturais produzidas pelas plantas, sendo o maior e mais importante grupo dos compostos fenólicos (TAIZ & ZEIGER, 2013).

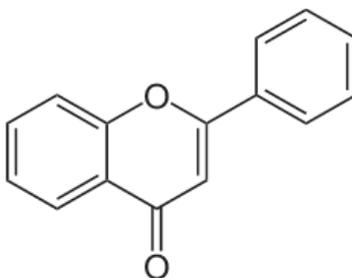


Figura 2. Estrutura base dos flavonoides (RAHMAN *et al.*, 2006)

Visto que espécies silvestres de passifloras apresentam grande potencial de produção de moléculas antioxidantes, podendo ser exploradas pela indústria farmacêutica e alimentícia e que existem poucos trabalhos que visam quantificar e relacionar a produção de metabólitos secundários com a atividade antioxidante em espécies de passifloras, este trabalho se torna essencial para o desenvolvimento de conhecimentos nessa área, contribuindo assim com o conhecimento e preservação das espécies *P. tenuiflora* e *P. setacea* e ainda desenvolver o uso funcional dessas espécies na indústria e medicina.

2. JUSTIFICATIVA

A indústria farmacêutica vem demonstrando um crescente interesse na realização de pesquisas envolvendo os benefícios dos antioxidantes, pois cada vez mais estudos demonstram a eficiência desses compostos na inativação de moléculas radicais livres e conseqüentemente na prevenção de inúmeras doenças associadas a essas espécies reativas.

Os radicais livres são produzidos naturalmente pelo metabolismo oxidativo dos organismos aeróbios, ou podem se formar devido a fatores extrínsecos, como a exposição a poluentes, agentes químicos ou radiações (BIANCHI & ANTUNES, 1999). Os radicais livres são reativos e extremamente instáveis, reagindo com moléculas de DNA, RNA, proteínas e lipídios, promovendo danos que estão associados ao envelhecimento e ao aparecimento de doenças degenerativas como o câncer, doenças cardiovasculares, artrite reumática, mal de Alzheimer, Parkinson, entre outras (BIANCHI & ANTUNES, 1999; FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

Radicais livres presentes nos organismos são combatidos por antioxidantes produzidos pelo corpo e principalmente pelos obtidos através de uma dieta balanceada (FERREIRA & MATSUBARA, 1997; BIANCHI & ANTUNES, 1999). Diversos estudos têm demonstrado que uma dieta balanceada que promova quantidades diárias de substâncias antioxidantes produzem uma proteção efetiva contra oxidações do organismo (BIANCHI & ANTUNES, 1999; HEIM *et al.*, 2002).

Os antioxidantes inativam os radicais livre antes que esses possam reagir com moléculas biológicas do organismo, evitando que aconteçam as reações em cadeia ou prevenindo a ativação do oxigênio em produtos de alta reatividade (RATNAM *et al.*, 2006).

Compostos fenólicos comumente encontrados nos alimentos, como frutas e verdura, são potentes antioxidantes, o que vem alavancando a produção de artigos científicos nessa área (BIANCHI & ANTUNES, 1999; HEIM *et al.*, 2002). Dentre os compostos fenólicos, destaca-se o poder antioxidante dos flavonoides, que já se mostrou mais efetivo na ação antioxidativa do que as vitaminas C e E (ALVES *et al.*, 2007), possuindo a capacidade de inibir a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (RAUHA *et al.*, 2000), além de apresentarem propriedades antimicrobianas, antitumorais e de prevenir o aparecimento de doenças cardiovasculares (HARBORNE & WILLIAMS, 2000).

Visto que o processamento industrial do maracujá produz até 70% de resíduos, principalmente em relação ao pericarpo e a sementes (DURIGAN & YAMANAKA, 1987) e que essas estruturas são ricas em óleos essenciais e em substâncias de interesse farmacológico e industrial (FERRARI, 2004; DHAWAN *et al.*, 2004; CANTERI *et al.*, 2010), como por exemplo os antioxidantes, estudos envolvendo essas estruturas em passifloras apresentam bastante relevância para o desenvolvimento de novas aplicações e produtos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo desse trabalho foi o de caracterizar e comparar as sementes, pericarpo e folhas de *Passiflora tenuifila* e *Passiflora setacea* quanto aos teores de açúcares solúveis totais, clorofilas, fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante.

3.2 Objetivos específicos

A) Quantificar compostos fenólicos totais, flavonoides, açúcares solúveis totais e clorofilas em extratos de sementes, pericarpo e folhas de *Passiflora tenuifila* e *Passiflora setacea*.

B) Avaliar a atividade antioxidante de extratos de sementes, pericarpo e folhas de *Passiflora tenuifila* e *Passiflora setacea*.

C) Analisar a relação entre compostos fenólicos totais e flavonoides com a atividade antioxidante dos extratos.

D) Quantificar compostos fenólicos totais, flavonoides, açúcares solúveis totais e clorofilas, em folhas de *Passiflora tenuifila* crescidas em condições naturais e em casa de vegetação.

E) Avaliar a atividade antioxidante de extratos de folhas de *Passiflora tenuifila* crescidas em condições naturais e em casa de vegetação.

F) Analisar a relação entre as quantidades de açúcares solúveis totais e fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante em folhas de *P. tenuifila* crescidas em diferentes condições.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Família Passifloraceae e gênero *Passiflora*

Estimasse que a família Passifloraceae possua aproximadamente 700 espécies distribuídas predominantemente em ambientes de clima tropical, sendo o continente americano o local responsável por concentrar a maior riqueza de indivíduos, enquanto poucas espécies podem ainda ser encontradas no sudeste da China, Nova Zelândia e em regiões tropicais do continente africano (FEUILLET & MACDOUGAL, 2007). A família Passifloraceae pertence ao Filo Magnoliophyta, Classe Magnoliopsida e Ordem Malpighiales. Essa família engloba 19 gêneros, quatro com ocorrência no Brasil, sendo o gênero *Passiflora* o principal e mais importante economicamente (SOZO, 2014).

O gênero *Passiflora* agrupa mais de 525 espécies (ULMER & MACDOUGAL, 2004). A maioria dessas espécies apresentam hábitos de lianas e trepadeiras, existindo poucos exemplares de árvores, arbustos e ervas classificados como *Passiflora*. No Brasil existem 144 espécies do gênero, sendo 83 endêmicas (FLORA DO BRASIL, 2017) e pelo menos 70 com frutos comestíveis (CUNHA *et al.*, 2002), tornando o Brasil um país privilegiado em relação à biodiversidade e aos recursos genéticos deste gênero (PERDOMO, 2016).

O termo “*Passiflora*”, presente no nome da família e do gênero, é derivado do latim e tem o significado de ‘flor da paixão’, sendo uma referência a primeira espécie de *Passiflora* descoberta pelos jesuítas espanhóis no México (KILLIP, 1938). Os primeiros jesuítas espanhóis na América do Sul identificaram as primeiras espécies de *Passiflora* como “La Flor de las cinco llagas” ou “Flor das cinco chagas” devido a uma analogia da flor de passiflora com as cinco chagas de Jesus Cristo (FOLKARD, 1884). A espécie *Passiflora incarnata* foi considerada como a imagem semelhança da paixão de Cristo, pois seus três estigmas equivalem aos três pregos, suas cinco anteras representam as cinco chagas e seu filamento coronal simboliza a coroa de espinhos do momento da crucificação de Cristo (HOEHNE, 1937), tornando o fruto conhecido, principalmente em países da Europa, como “Passion fruit”, o fruto da paixão.

Já no Brasil, as espécies do gênero *Passiflora* são conhecidas como maracujás, devido aos traços culturais indígenas ainda presentes na sociedade brasileira. O nome maracujá deriva da palavra Tupi “marakuia”, que significa “Alimento dentro da cuia” (SOUZA

& MELETTI, 1997), uma alusão ao formato do fruto.

O maracujazeiro é largamente distribuído pelo Brasil. O seu cultivo prospera em diferentes condições ambientais e tipos de solos, desde que bem drenados e com pH levemente ácido, apresentando variações comportamentais por influência de fatores ambientais (COSTA *et al.*, 2008).

4.2 Importância econômica e farmacológica das passifloras.

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de maracujá. Em 2015 o plantio desse fruto se estendeu por 51.187 hectares e gerou uma colheita equivalente a 694.539 toneladas e uma receita próxima de 1 bilhão de reais (IBGE, 2015). Embora exista grande diversidade de espécies do gênero *Passiflora*, apenas três são cultivadas e exploradas comercialmente no país, são elas: *Passiflora edulis*, conhecido como maracujá azedo ou amarelo, *Passiflora alata* ou maracujá doce e a *Passiflora incarnata*, que embora não possua frutos comestíveis ainda é utilizada pela indústria farmacêutica e de cosméticos.

Embora a maior parte do consumo interno do maracujá seja na forma do fruto *in natura*, parte da produção é convertida nos mais diversos produtos manufaturados como sucos, polpas, iogurtes, doces e licores, tendo boa aceitação do público consumidor pelo agradável sabor e aroma do fruto (LIMA, 2002). O processamento industrial do maracujá produz grande quantidade de resíduos, principalmente em relação a estruturas de pericarpo e sementes, que representam aproximadamente 70% da massa do fruto (DURIGAN & YAMANAKA, 1987).

As sementes de maracujá são ricas em óleos essenciais, representando até 25% de sua composição (FERRARI, 2004). Esses óleos possuem odor e sabor agradável, podendo ser utilizados pela indústria alimentícia, farmacêutica e de perfumes e cosméticos (DHAWAN *et al.*, 2004; FERRARI, 2004). Já o mesocarpo dos frutos é rico em pectina, muito utilizada pela indústria de alimentos na produção de geleias e doces por ter propriedades geleificante e estabilizante (CANTERI *et al.*, 2010). O resíduo do processamento industrial do maracujá também pode ser utilizado na alimentação animal, por possuir bom valor nutricional e baixo custo (JÚNIOR *et al.*, 2006), além de já ter demonstrado um significativo aumento na produção de leite em rebanhos leiteiros, como proposto por Paiva (1998).

O maracujá é reconhecido etnofarmacologicamente como um poderoso remédio com

propriedades sedativas, anti-ansiolíticas, vermícidas, anti-helmínticas, antimicrobianas, diuréticas, digestivas, antidiarreicas, antiespasmódicas e antiasmáticas, sendo utilizado para o tratamento de enfermidades como insônia, dores crônicas, hipertensão, cefaleia, pressão alta, diabetes e para aliviar os sintomas da menopausa (DHAWAN *et al.*, 2004).

O maracujá é utilizado na medicina popular principalmente através da infusão de suas folhas, onde os benefícios da utilização de folhas de *Passiflora edulis* foram confirmados para o tratamento de varias enfermidades como a insônia, cefaleia, ansiedade, nervosismo e o alcoolismo (DHAWAN *et al.*, 2004; ZIBADI, 2007). Além disso, segundo Ozarowski e colaboradores (2013), o extrato de folhas de *P. alata* inibiu em 72 horas, até 60% da multiplicação de células cancerígenas *in vitro*.

As três espécies de *Passiflora* cultivadas comercialmente no Brasil (*P. edulis*, *P. alata* e *P. incarnata*) foram regulamentadas pelo Ministério da Saúde como sendo espécies de importância fitoterápica (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) também aprovou o uso fitoterápico das três espécies de maracujá, através da divulgação do Formulário de Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira, que regulamenta a prescrição de infusões de folhas de maracujá como ansiolítico e sedativo suave (BRASIL, 2011).

As propriedades medicinais dos maracujás são reconhecidas principalmente devido a suas altas taxas de produção de compostos fenólicos e flavonoides, que apresentam ação antioxidante e inúmeros benefícios farmacológicos como atividade anti-inflamatória, antibacteriana, antiviral, antialérgica e vasodilatadora (ZERAİK *et al.*, 2010). E segundo Akanbi *et al.* (2011), o potencial antimicrobiano de diferentes extratos de *P. edulis* apresentou eficácia na redução da contaminação de diversos patógenos testados (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi* e *Staphylococcus aureus*).

4.3 Importância dos estudos envolvendo espécies de passifloras silvestres.

Com o crescente conhecimento das propriedades nutricionais e farmacológicas dos maracujás, as espécies silvestres vêm ganhando cada vez mais mercado, seja pelo consumo da fruta *in natura* ou por seu uso em produtos manufaturados (LIMA, 2002; WONDRACEK, 2008). Segundo Sozo (2014), os maracujás silvestres são uma fonte importante de genes de resistência a pragas e doenças, sendo seu conhecimento

importante para pesquisas em melhoramentos genéticos. Além disso, algumas características de espécies silvestres de maracujá são interessantes de serem incorporadas em espécies comerciais, como por exemplo o fato delas serem naturalmente melhor adaptadas ao clima do Brasil e de algumas espécies florescerem no inverno, enquanto os maracujás comerciais apenas florescem em estações de dias longos, como o verão, enfrentando assim a sazonalidade da produção do fruto (WONDRACEK, 2008). Outras espécies de passifloras silvestres também apresentam vantagens anatômicas e morfológicas para aumentar a produtividade das lavouras, como por exemplo, apresentar o androginóforo mais curto, com estigmas mais curtos em relação à coroa, facilitando a polinização por insetos, aumentando assim a produtividade por hectare e ainda diminuindo custos com polinização manual (PERDOMO, 2016).

O desmatamento e a destruição dos biomas brasileiros como a Mata Atlântica e o Cerrado fizeram com que algumas espécies de passifloras silvestres entrassem recentemente na Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2014), portanto o estudo dessas espécies pode ajudar também na preservação das mesmas.

4.4 *Passiflora setacea*

A espécie *Passiflora setacea* é endêmica do Brasil e pode ser encontrada nos biomas Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica, distribuindo-se pelos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo na região Sudeste, Alagoas e Bahia pela região Nordeste e pelo Distrito Federal, Goiás e Mato Grosso na região Centro-Oeste (FLORA DO BRASIL, 2017). É uma espécie heliófita, necessitando de total exposição ao sol para seu desenvolvimento apropriado, sendo encontrada principalmente em florestas primárias, capoeiras e capoeirões e também em regiões de restinga. A *Passiflora setacea* é uma espécie de dias curtos, portanto floresce e frutifica quando os dias são mais curtos entre os meses de maio e setembro (CERVI, 1997; JUNQUEIRA *et al.*, 2005).

Descrita no ano de 1828, o nome *setacea* foi derivado do latim e significa “Em forma de setas”, em analogia ao formato das estípulas da espécie (CERVI, 1997). Seu nome popular varia de acordo com a região do Brasil em que se encontra, podendo ser chamado de maracujá veado, maracujá do sono ou maracujá sururuca (PERDOMO, 2016).

Essa espécie possui flores brancas e frutos comestíveis em formato ovoide, com polpa

na coloração amarelo claro e epicarpo verde amarelado, apresentando aproximadamente cinco centímetros de comprimento e quatro centímetros de largura (OLIVEIRA & RUGGIERO, 2005). O fruto da *Passiflora setacea* possui um grande potencial de exploração comercial, pois apresenta características que agradam a necessidade da indústria, como possuir um sabor doce-acidulado suave e agradável, podendo ser consumido tanto *in natura* ou na forma de sucos e doces (OLIVEIRA & RUGGIERO, 2005). Suas propriedades farmacológicas também podem ser exploradas pelas indústrias de cosméticos, suplementos, farmacêutica e na produção de fitoterápicos (SANTOS *et al.*, 2005; JÚNIOR *et al.*, 2006).

A Embrapa Cerrados realiza vários estudos com maracujás silvestres e uma das características mais promissoras descoberta na espécie *Passiflora setacea* é o fato dela ser resistente a várias pragas e doenças, como viroses e antracnoses (JUNQUEIRA *et al.*, 2005). Estudos evidenciam a tolerância das mudas de *P. setacea* a bacterioses, antracnose e verrugose, além de serem resistentes à morte prematura causada pelo fungo *Fusarium oxysporum*, pelo nematoide fitoparasita *Meloidogyne incognita* e pela espécie de lagarta *Dione juno juno*, conhecida como lagarta preta do maracujá (LARA, 1999; JUNQUEIRA *et al.*, 2005; PAULA, 2006).

Após intensa pesquisa da Embrapa Cerrados, a *Passiflora setacea* foi a primeira espécie de maracujá silvestre a ser registrada no Registro Nacional de Cultivares (RCN N° 21714) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sendo lançada comercialmente em 2013 com o nome “Pérola do cerrado” (SOZO, 2014).

4.5 *Passiflora tenuifila*

A espécie *Passiflora tenuifila* é endêmica do Brasil, sendo encontrada nos biomas Cerrado e Mata Atlântica e está distribuída pelos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo pela região Sudeste e nos estados Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul na região Sul do país (FLORA DO BRASIL, 2017). É uma espécie heliófita e higrófila, necessitando de plena exposição ao sol e proximidade de cursos de água para seu desenvolvimento apropriado, podendo ser encontrada em florestas primárias, capoeiras, capoeirões e também em regiões de floresta de araucária (CERVI, 1997). Seu florescimento ocorre de agosto a outubro e a sua frutificação entre os meses de setembro e dezembro (CERVI, 1997).

O nome *tenuifila* é derivado do latim e tem origem de duas palavras distintas, sendo elas “*tenius*” que significa delgado e “*filum*” significando fio, fazendo uma analogia aos filamentos capilares da coroa da flor dessa espécie (Fios delgados). Seu nome popular varia de acordo com a região do Brasil em que se encontra, sendo chamado de maracujá alho e maracujá de cobra (PERDOMO, 2016).

A espécie *Passiflora tenuifila* possui frutos comestíveis em formato globoso, com polpa na coloração amarelo-alaranjado e epicarpo amarelo, apresentando aproximadamente 4,5 centímetros de comprimento e 4 centímetros de largura. O seu fruto possui características físicas favoráveis para a sua aceitação pela indústria de alimentos, possuindo bom rendimento de seu suco e baixa acidez, tornando seu sabor agradável (BRAGA *et al.*, 2005).

Segundo Braga e colaboradores (2005) a espécie *Passiflora tenuifila* se mostrou resistente à bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodis* e à verrugose causada pela espécie *Cladosporium herbarum*.

Poucas referências são encontradas na literatura se tratando de *Passiflora tenuifila*, tanto sobre as análises fitoquímicas quanto sobre aspectos comportamentais e ecológicos.

4.6 Metabólitos secundários, produtos do metabolismo das plantas.

Mais de 47.000 compostos provenientes do metabolismo secundário das plantas já foram descritos pela ciência. Enquanto os metabólitos primários (Proteínas, lipídeos, açúcares e ácidos nucleicos) são encontrados em todas as espécies vegetais e são responsáveis diretos pela manutenção e crescimento dos organismos, os metabólitos secundários são restritos a uma espécie ou a espécies relacionadas, tendo função ecológica aquém do crescimento da planta, como no controle e proteção contra herbivoria e infecções por microrganismos patógenos, atração de polinizadores pelo odor, cor ou sabor, e também funcionando como alelopático e na proteção contra raios UV (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: compostos fenólicos, compostos nitrogenados e terpenos (TAIZ & ZEIGER, 2013). As moléculas precursoras dos metabólitos secundários das plantas são originadas a partir do metabolismo primário do carbono, fruto da fotossíntese.

Desde o início das civilizações os humanos já utilizavam plantas muito além da alimentação, sendo utilizadas para adicionar sabores e odores aos alimentos, como fontes de fragrâncias em perfumes e cosméticos, como biocombustíveis e inseticidas e para fins medicinais e recreativos (SIDDIQUI *et al.*, 2013; CETIN, 2014), muito devido as diferentes propriedades dos metabólitos secundários. A grande diversidade de metabólitos secundários permitiu ao homem empregar essas substâncias em diferentes produtos e com as mais distintas finalidades, como por exemplo, o mentol utilizado pela indústria de alimentos, o limoneno utilizado em inseticidas, o latex usado na produção de borracha, e até o THC da *Cannabis* (Princípio ativo da maconha), todos sendo exemplos de metabólitos do grupo dos terpenos. Já a estricnina empregada na produção de veneno, a morfina, cafeína e a nicotina são exemplos de metabólitos do grupo dos compostos nitrogenados alcaloides (TAIZ & ZEIGER, 2013), demonstrando a diversidade de produtos e princípios ativos que se pode obter através da identificação e isolamentos de compostos proveniente do metabolismo secundário das plantas.

O gênero *Passiflora* tem o potencial de ser alvo de muitos estudos em relação a exploração do uso de seus metabólitos secundários, devido à grande diversidade de espécies e por apresentarem uma gama enorme de moléculas orgânicas com potencial biotecnológico, dentre elas alcaloides, flavonoides, terpenos, glicosídeos e fenóis (DHAWAN *et al.*, 2004). Uma das aplicações mais promissoras desse gênero é a exploração do potencial antioxidante dos metabólitos secundários.

4.7 Radicais livres

Os radicais livres podem ser átomos ou moléculas orgânicas e inorgânicas que contêm um número ímpar de elétrons na última camada eletrônica, ou seja, que apresenta um elétron não pareado. São moléculas altamente instáveis, de meia-vida curta e quimicamente muito reativas, apresentando riscos para a manutenção das funções fisiológicas normais dos organismos (BIANCHI & ANTUNES, 1999; FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

Os radicais livres têm poder de danificar a estrutura e função de moléculas orgânicas como proteínas, carboidratos, lipídios e DNA, dependendo prioritariamente do local do sítio de formação dessas moléculas, que pode ser no citoplasma, mitocôndria, ou nas membranas celulares (ANDERSON, 1996). Esses danos oxidativos estão diretamente

relacionados ao surgimento de várias doenças, ao processo de mutagênese e ao surgimento de diversos tipos de câncer (BIANCHI & ANTUNES, 1999).

Espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) são formas bastante comuns de radicais livres, como indicado na tabela 1, podendo ser formadas naturalmente durante o processo de transferência de elétrons e oxirredução que ocorrem na respiração celular, ou através da exposição a fatores exógenos como ozônio, radiações ou tabagismo (BIANCHI & ANTUNES, 1999).

Símbolo	Nome
$^1\text{O}_2$	Oxigênio singlete
O_2^-	Radical superóxido
OH^\cdot	Radical hidroxila
NO^\cdot	Óxido Nítrico
ONOO^-	Peroxinitrito
Q^\cdot	Radical semiquinona

Tabela 1. Lista dos tipos de radicais livres mais comuns. (BIANCHI & ANTUNES, 1999).

A ineficiência das defesas antioxidantes associada a um excesso de formação de espécies reativas de oxigênio e ao baixo consumo de antioxidantes na dieta são causadores de danos e morte celular, sendo chamado de estresse oxidativo (BIANCHI & ANTUNES, 1999).

4.8 Antioxidantes

Como os radicais livres são formados naturalmente endogenamente através do metabolismo do O_2 e também através da exposição a fatores extrínsecos, as células têm um sistema de defesa próprio que ataca a ação dos radicais livres em duas frentes, detoxificando os agentes oxidativos, antes deles causarem lesão ou reparando os danos já causados (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

A inibição do estresse oxidativo também ocorre principalmente por meio de antioxidantes obtidos através de uma dieta balanceada, rica principalmente em frutas, verduras e legumes. Os antioxidantes são substâncias responsáveis por inibir ou reduzir

os danos causados pela ação dos radicais livres (BIANCHI & ANTUNES, 1999). Vários estudos demonstram que o consumo de antioxidantes em uma dieta rica e balanceada reduz o risco de doenças degenerativas e crônicas (BIANCHI & ANTUNES, 1999; HEIM *et al.*, 2002).

Segundo Sies (1993), a definição de antioxidante é qualquer substância que em pequena quantidade quando comparada ao substrato oxidável, é capaz de atrasar ou inibir a oxidação de maneira eficaz. Podem ser classificados em antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (Tabela 2) (SIES, 1993). Dentre as substâncias antioxidantes existem aquelas produzidas pelo metabolismo secundário das plantas como flavonoides, β -carotenos e ácido ascórbico (Vitamina C) (SIES & STAHL, 1995), tornando a busca por antioxidantes de fontes naturais, uma tendência tanto para a indústria alimentícia quanto para o consumidor final através do consumo do fruto *in natura* (FERRERES *et al.*, 2007).

Não Enzimáticos (Exógenos)	Enzimáticos (Endógenos)
Flavonoides	Superóxido dismutase
α -tocoferol (Vitamina E)	Catalase
β -caroteno	NADPH-quinona oxidoreductase
Ácido ascórbico (Vitamina C)	Glutathione peroxidase
Glutathione	Enzimas de reparo
Clorofilina	

Tabela 2. Alguns dos principais agentes de defesa antioxidante (BIANCHI & ANTUNES, 1999).

Os antioxidantes podem ser separados em dois grupos, os primários e os secundários, de acordo com a maneira que eles neutralizam os radicais livres (REISCHE *et al.*, 2002). Os antioxidantes primários neutralizam os radicais livres ao doar um átomo de hidrogênio ou elétrons para a molécula oxidativa, fazendo com que ela se torne estável (REISCHE *et al.*, 2002). Um exemplo de antioxidante primário são os compostos fenólicos, que em sua cadeia cíclica possuem grupos doadores de elétrons na posição orto e para (REISCHE *et al.*, 2002).

Já os antioxidantes secundários possuem diferentes formas de ação na neutralização dos radicais livres, sendo divididos em 4 grupos, são eles:

- Antioxidantes sinérgicos: podem apresentar pouca ou nenhuma ação antioxidante,

porém quando se juntam com algum antioxidante primário eles potencializam seus efeitos (REISCHE *et al.*, 2002).

- Antioxidantes removedores de oxigênio: eles sequestram o oxigênio do meio através de reações químicas e impedem que ocorra a oxidação por essas moléculas (REISCHE *et al.*, 2002).
- Antioxidantes quelantes: esses antioxidantes retiram do meio íons metálicos, como ferro e cobre, que atuam como catalizadores da oxidação lipídica (REISCHE *et al.*, 2002).
- Antioxidantes biológicos: são enzimas e peptídeos que desativam os radicais livres, como o exemplo da glutathione e catalase (REISCHE *et al.*, 2002).

Antioxidantes das mais variadas espécies são utilizados pela indústria alimentícia para retardar a oxidação de seus produtos, atrasando os processos de degradação, rancificação e descoloração e com isso aumentando o tempo de validade dos alimentos (RAMALHO & JORGE, 2006). No setor de biocombustíveis os antioxidantes são utilizados no processo de neutralização da oxidação lipídica, garantindo assim uma estabilidade no armazenamento do biodiesel (BORSATO, 2012). Na indústria farmacêutica e de cosméticos os antioxidantes são aplicados nas fórmulas dos produtos, para prevenir e tratar doenças e reduzir os efeitos do envelhecimento (FERREIRA & MATSUBARA, 1997; SIDDIQUI *et al.*, 2013).

Os antioxidantes podem ser sintéticos, sendo muito utilizados pela indústria alimentícia, porém o uso dessas substâncias é controlado ou até mesmo proibido em alguns países, pois estudos revelam a relação dessas substâncias sintéticas com doenças, tornando a busca por antioxidantes naturais ainda mais relevante (SOARES, 2002; RAMALHO & JORGE, 2006).

4.9 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários produzidos por plantas e amplamente presentes em frutas e vegetais, apresentado aproximadamente 10.000 moléculas já descritas pela ciência. Atuam nas plantas como compostos de defesa contra a herbivoria e infecções de patógenos, sendo mais sintetizados em situações de estresse. Possuem também ação na proteção contra raios UV, na atração de polinizadores e dispersores de sementes (TAIZ & ZEIGER, 2013). Essas substâncias possuem ao menos

um anel aromático ligado a um grupo hidroxila funcional (Figura 3) (TAIZ & ZEIGER, 2013) e são divididos em compostos fenólicos flavonoides e não flavonoides (DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004).

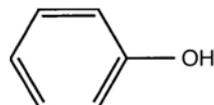


Figura 3. Estrutura base dos compostos fenólicos (Adaptado VERMERRIS & NICHOLSON, 2009).

Uma dieta balanceada contendo compostos fenólicos como por exemplo a vitamina C e carotenoides, está diretamente relacionada a uma diminuição de índices de câncer e doenças cardiovasculares (HEIM *et al.*, 2002).

Os compostos fenólicos das plantas são sintetizados através de várias rotas distintas, o que explica a grande quantidade e diversidade de moléculas desse grupo. Duas rotas metabólicas principais estão envolvidas na biossíntese dos compostos fenólicos, a via do ácido chiquímico, responsável pela síntese da maioria dos fenólicos em plantas superiores e a via do ácido malônico, importante fonte de fenólicos para fungos e bactérias, porém menos relevante no metabolismo das plantas (TAIZ & ZEIGER, 2013).

O fosfoenolpiruvato, proveniente da via glicolítica, e a eritrose-4-fosfato, proveniente da via das pentoses-fosfato, se combinam para formar o ácido chiquímico. Através desse processo são formadas as moléculas precursoras dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano. A rota do ácido chiquímico está presente apenas no metabolismo de plantas, fungos e bactérias, portanto a obtenção desses três aminoácidos essenciais só pode ocorrer através da dieta em indivíduos do Reino Animal. A maioria dos compostos fenólicos nas plantas deriva do aminoácido fenilalanina, através da eliminação da molécula de amônia, por meio da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL), originando o ácido cinâmico. O ácido cinâmico é então hidroxilado para formar cumarinas, precursores da lignina e o ácido *p*-cumárico, que é convertido em *p*-cumaroil-CoA e vai servir de substrato para a produção de moléculas do grupo dos compostos fenólicos (TAIZ & ZEIGER, 2013).

4.10 Flavonoides

Os flavonoides fazem parte do maior grupo de moléculas incluídas na classificação de compostos fenólicos e são o maior grupo de moléculas naturais do Reino Vegetal. Aproximadamente 8.000 flavonoides já foram identificados e descritos pela ciência (TAIZ & ZEIGER, 2013). Estão presentes em folhas, flores, frutos e sementes de espécies vegetais, possuindo propriedades antioxidantes, antimicrobianas, antitumorais e prevenindo o aparecimento de doenças cardiovasculares (HARBORNE & WILLIAMS, 2000).

Os flavonoides são moléculas de baixo peso molecular, que consistem em um esqueleto difenilpropano (C6-C3-C6) com dois anéis benzênicos ligados a um anel pirano (Figura 4) e que apresentam grande diversidade estrutural (TAIZ & ZEIGER, 2013).

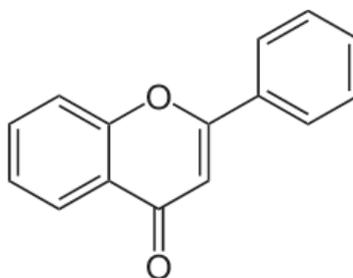


Figura 4. Estrutura base dos flavonoides (RAHMAN *et al.*, 2006).

Os flavonoides estão associados à proteção contra raios UV, herbivoria, infecções de patógenos, atividade antioxidante e na atração de polinizadores e dispersores de sementes através de pigmentos e odores (HEIM *et al.*, 2002), podendo sua síntese ser influenciada por fatores biológicos, como o Filo, a Ordem e a Família do vegetal, ou através de variações dentro da própria espécie e, também, por fatores ambientais, como índices de exposição à radiação solar, pois a síntese dos flavonoides é acelerada pela luz, fazendo com que uma planta cultivada em uma estufa produza até 5 vezes menos flavonoides do que uma planta no campo (DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004).

Em espécies de *Passiflora*, os flavonoides C-Glicosídeos são utilizados como marcadores de controle de qualidade em fitoterápicos. Os principais flavonoides C-Glicosídeos estão presentes em passifloras no formato de isoorientina, isovitexina, orientina e vitexina, sendo amplamente identificados e quantificados em estudos com *P. alata*, *P. edulis* e *P. incarnata* (PEREIRA *et al.* 2005).

4.11 Clorofilas

As moléculas de clorofilas são os pigmentos mais abundantes em indivíduos do Reino Vegetal, estando sempre presentes nos cloroplastos das folhas e de outros tecidos vegetais (STREIT *et al.*, 2005). Durante o processo da fotossíntese, a energia dos raios solares é primariamente absorvida por pigmentos fotossintéticos, como os β -carotenos e as clorofilas *a* e *b*, presentes nos cloroplastos das plantas. Enquanto a clorofila *a* é responsável por realizar a fase fotoquímica da fotossíntese, os β -carotenos e a molécula de clorofila *b* são chamados de pigmentos acessórios, pois apenas auxiliam a clorofila *a* no processo fotossintético, transferindo a energia solar absorvida para centros de reação na membrana dos tilacóides (STREIT *et al.*, 2005).

As clorofilas são moléculas do grupo das porfirinas, apresentando uma estrutura anelar complexa cercado um átomo de magnésio, além de uma cauda hidrofóbica de hidrocarbonetos (TAIZ & ZEIGER, 2013). A única diferença entre as clorofilas *a* e *b* é que enquanto a clorofila *a* apresenta um grupo metil (-CH₃) na posição C-3 do anel de porfirina, a clorofila *b* substitui o grupo metil por um grupo aldeído (-CHO) na mesma posição (Figura 5) (STREIT *et al.*, 2005).

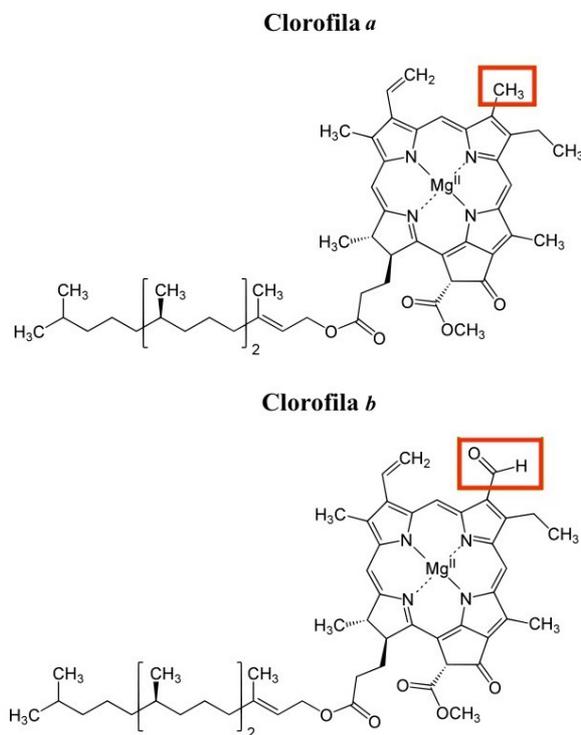


Figura 5. Diferença estrutural entre as moléculas de clorofila *a* e *b* (adaptado TAIZ & ZEIGER, 2013).

As clorofilas *a* e *b* absorvem as faixas azul e vermelha do espectro de luz visível. Os fótons provenientes da luz excitam os elétrons das clorofilas, que através da cadeia transportadora de elétrons nos cloroplastos, irão transformar a energia luminosa em energia química, na forma de ATP e NADPH, que posteriormente vão ser utilizados na redução do CO² para formar as moléculas de glicose (STREIT *et al.*, 2005; TAIZ & ZEIGER, 2013).

O teor de clorofila em determinado tecido é diretamente proporcional à quantidade de energia absorvida na fotossíntese para a assimilação do carbono (CIGANDA *et al.*, 2008). No processo de amadurecimento dos frutos, as células vegetais sofrem alterações bioquímicas e estruturais, apresentando diminuição dos cloroplastos e da quantidade de clorofilas *a* e *b* (SOZO, 2014).

As clorofilas apresentam grande importância comercial, podendo ser utilizadas como pigmentos e também como antioxidantes, sendo utilizadas na conservação de alimentos e na produção de medicamentos (STREIT *et al.*, 2005). Estudos sugerem que as moléculas de clorofila apresentam potencial de inibição da peroxidação lipídica (SAKATA *et al.*, 1990), além de função antimutagênica (CHERNORMORSKY *et al.*, 1999).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Materiais

5.1.1 Frutos

Para a realização dos experimentos foram utilizados frutos maduros das espécies de *Passiflora setacea* e *Passiflora tenuifila*, produzidos pelas plantas cultivadas pela Embrapa Cerrados Unidade de Planaltina, localizada no município de Brasília na latitude 15° 35' 30'' S, longitude 47° 42' 30'' O e altitude de 1007 metros. Os frutos foram coletados e enviados para análise em agosto de 2016.

Os frutos de *Passiflora setacea* e *Passiflora tenuifila* foram higienizados com água e detergente neutro e mantidos sobre a bancada. Após duas semanas os mesmos foram cortados com o auxílio de uma tesoura, separando-se o pericarpo. As sementes então foram separadas dos arilos em água corrente e com o auxílio de uma peneira.

Para as análises foram utilizadas todas as camadas de pericarpo do fruto de *P. setacea* (epicarpo, mesocarpo e endocarpo), enquanto que para *P. tenuifila* as extrações foram feitas apenas com o epicarpo e parte do mesocarpo, conforme indicado na figura 6.

Os pericarpos e sementes das duas espécies de passifloras foram então armazenadas em nitrogênio líquido, por 20 dias, até o período das análises.

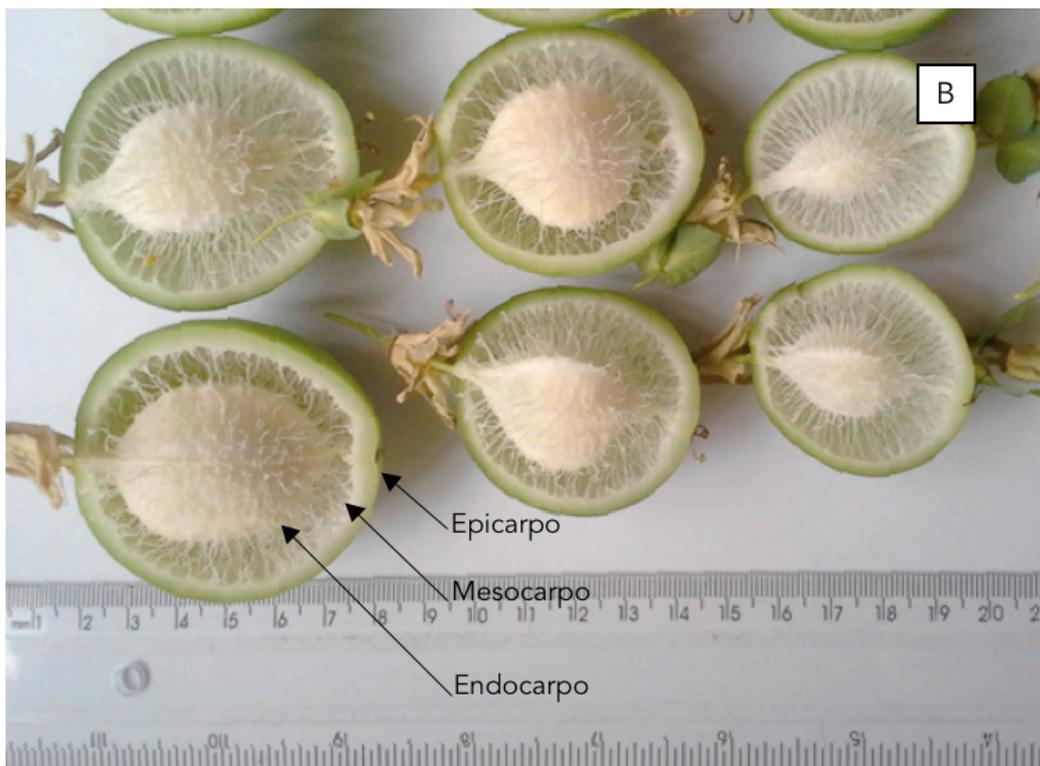
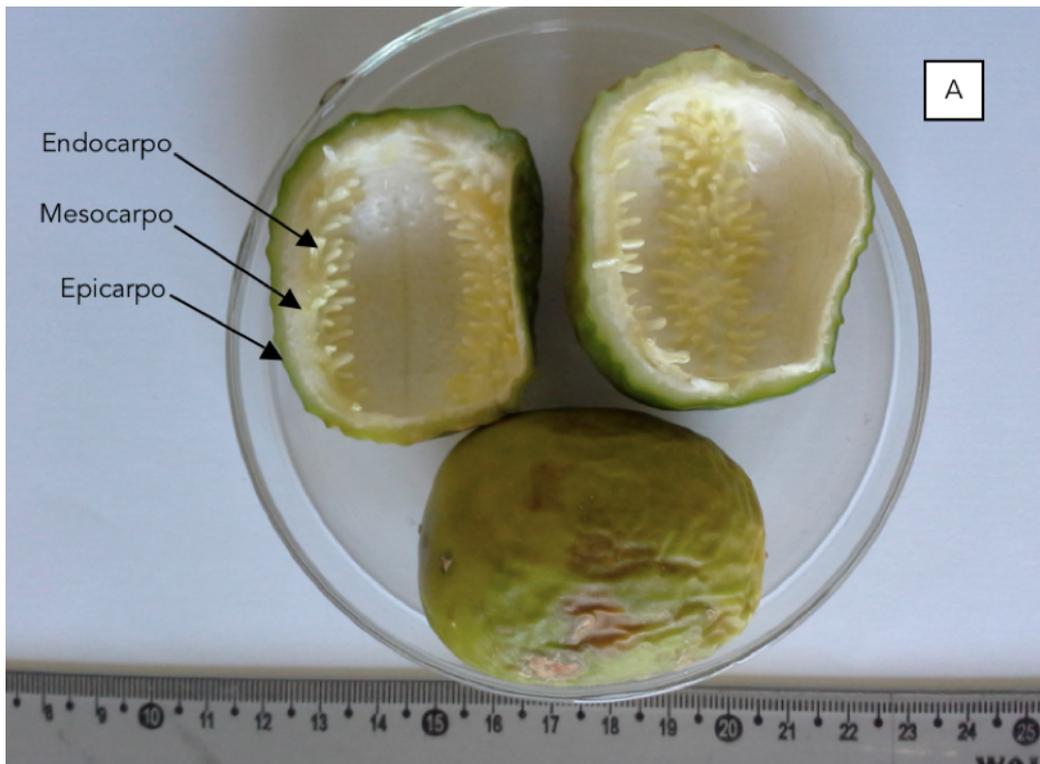


Figura 6: Morfologia de frutos de *P. setacea* (A) e *P. tenuifila* (B). As setas indicam as camadas de tecidos do pericarpo (epicarpo + mesocarpo + endocarpo) de ambas as espécies.

5.1.2. Folhas

As folhas de *Passiflora setacea* foram coletadas de plantas cultivadas na casa de vegetação do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina, localizado no Centro de Ciências Biológicas. As folhas de *Passiflora tenuifila* foram coletadas de plantas cultivadas na mesma casa de vegetação que as folhas de *P. setacea* foram cultivadas e de plantas crescidas em condições naturais, no Horto Medicinal do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina, portanto, de dois locais distintos para comparação durante as análises de padrão de produção de metabólitos primários, secundários e de atividade antioxidante.

Todas as amostras de folhas foram coletadas no mesmo período no mês de setembro de 2016 e imediatamente armazenadas em nitrogênio líquido, por 20 dias, até o período de análises.

5.2 Métodos

5.2.1 Quantificação dos metabólitos primários

5.2.1.1 Clorofilas totais

A dosagem da clorofila total dos extratos seguiu a metodologia descrita por Hiscox & Israelstam (1979), com modificações. Macerou-se 50 mg de massa fresca das amostras em nitrogênio líquido e em seguida foi adicionado 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO). Os extratos foram transferidos para tubos falcon e mantidos tampados, em estufa a 50 °C, por 6 horas. Os extratos foram centrifugados a 4.000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi coletado para leitura em espectrofotômetro UV-visível, no comprimento de onda de 645 e 663 nm. A quantificação das clorofilas foi feita utilizando-se a fórmula de Arnon (1949) e os resultados foram expressos em mg de clorofila por grama de massa seca.

$$\text{mg.mL}^{-1} \text{ de clorofila a} = 0,0127.D_{663} - 0,00269.D_{645}$$

$$\text{mg.mL}^{-1} \text{ de clorofila b} = 0,0229.D_{645} - 0,00468.D_{663}$$

5.2.1.2 Extração e quantificação de açúcares totais

A metodologia de extração dos açúcares solúveis das amostras foi proposta por

Shannon (1968 *apud* Wolfart 2015), com modificações. Foram maceradas em nitrogênio líquido 100 mg da massa fresca de cada amostra, após a maceração adicionou-se 2 mL de uma solução MCW (Metanol, Clorofórmio e água), na proporção de 12:5:3 v/v. Os extratos foram centrifugados a 4.000 rpm por 5 minutos em temperatura ambiente, coletou-se o sobrenadante e o resíduo passou novamente pela extração com 2 mL da solução de MCW e foi mais uma vez centrifugado a 4.000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi coletado e adicionado ao sobrenadante da primeira extração, totalizando assim 4 mL. Para diluição utilizou-se 400 µl do extrato em MCW em 9,6 ml de de MCW. 4 mL do extrato bruto diluído foi adicionado a 1 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água e a solução foi centrifugada novamente. A fase superior (fase aquosa) de cada extrato foi então coletada para a quantificação dos açúcares solúveis totais, seguindo a metodologia aplicada por Umbreit & Burris (1964 *apud* Wolfart, 2015). Para cada 1 mL do extrato de açúcares solúveis foi adicionado 2 mL do reagente antrona a 0,2% (200 mg de antrona em 100 mL de ácido sulfúrico), a solução foi então agitada em vortex e aquecida a 100°C, em banho-maria, por 3 minutos. Após resfriamento em temperatura ambiente, a solução foi lida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 630 nm, replicado 5 vezes para cada amostra. A quantidade de açúcares solúveis totais foi determinada através de uma curva padrão de glucose (10 a 200 µg.mL), obtendo-se a equação de reta $y = 0,0143X + 0,0808$; $R^2 = 0,9969$. Os resultados para açúcares solúveis totais foram expressos em mg de glucose por grama de massa seca.

5.2.2 Quantificação dos metabólitos secundários.

5.2.2.1 Fenólicos totais

A quantificação de compostos fenólicos totais das amostras foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Schiavon *et al.* (2012), com modificações. Foram maceradas em nitrogênio líquido 100 mg da massa fresca de cada amostra e posteriormente adicionou-se 10 mL de metanol 80% para realizar a extração dos compostos fenólicos, em repouso por 1 hora ao abrigo da luz. Após a extração os extratos foram centrifugados a 4.000 rpm por 15 minutos em temperatura ambiente de 25°C. O sobrenadante foi então coletado e armazenado em um freezer -20°C até o momento da reação. O sobrenadante foi diluído em uma relação de 1:10 em metanol 80%. 2475 µl de

uma solução de 2% Na₂CO₃ e 225 µl do reagente Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich) foram adicionados ao tubo contendo 300 µl do extrato fenólico diluído, que foi então agitado em um vortex. A reação foi então encubada no escuro por 1 hora em temperatura ambiente de 25°C e após esse período foi realizada a leitura em um espectrofotômetro UV-visível, em uma absorbância de 750 nm, em quintuplicata. Como branco foi utilizado 300 µl de metanol 80% no lugar da amostra de extrato fenólico. Para quantificar os compostos fenólicos totais das amostras foi utilizada uma curva padrão de ácido gálico (Sigma-Aldrich) nas concentrações de 5 a 200 µg/mL⁻¹ obtendo-se a equação da reta $y = 0,0102X + 0,054$; $R^2 = 0,9904$. Os resultados para compostos fenólicos foram expressos em mg de ácido gálico por grama de massa seca.

5.2.2.2 Flavonoides totais

Para quantificar os flavonoides totais das amostras foi utilizada a metodologia descrita por Zacarias *et al.* (2007). Foram maceradas em nitrogênio líquido 100 mg da massa fresca de cada amostra e posteriormente adicionou-se 10 mL de metanol 80% para realizar a extração dos flavonoides das amostras. Os recipientes foram mantidos em repouso por 1 hora ao abrigo da luz e após esse período os extratos foram centrifugados a 4.000 rpm por 15 minutos em temperatura ambiente de 25°C e o sobrenadante foi coletado e armazenado em um freezer -20°C até o momento da reação. Em um tudo de ensaio foi adicionado 500 µl de cloreto de alumínio (AlCl₃) 2% em metanol, 500 µl do extrato e 2,5 mL de etanol P.A.. O tubo foi agitado manualmente e permaneceu em repouso ao abrigo da luz por 1 hora. A reação foi então medida em um espectrofotômetro UV-vis sob o comprimento de onda de 420 nm, em quintuplicata. Como branco foi utilizado 500 µl de metanol 80% no lugar do extrato. Para quantificar os flavonoides totais das amostras foi feito uma curva padrão de quercetina nas concentrações de 25 a 150 µg/mL⁻¹ obtendo-se a equação da reta $y = 0,0112X + 0,0378$; $R^2 = 0,9969$. Os resultados para flavonoides foram expressos em mg de quercetina por grama de massa seca.

5.2.3. Determinação da atividade antioxidante

5.2.3.1. Atividade antioxidante DPPH

Para quantificar a capacidade antioxidante das amostras, foi aplicado o método de redução do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil - DPPH (Sigma – Aldrich), através da metodologia usada por Kim *et al.* (2002), com modificações. Para esse experimento foram utilizados os mesmos extratos brutos obtidos no experimento de quantificação de flavonoides totais, que foi mantido em freezer -80°C até a realização dos testes. Foi preparada uma solução metanólica padrão de DPPH dissolvendo-se 7,9 mg de DPPH em 2,5 mL de metanol PA. Desta solução padrão foram coletados 500 µL que posteriormente foi diluído em 49,5 mL de metanol 80%, em um balão volumétrico. A solução metanólica de DPPH foi ajustada até apresentar um valor absoluto de absorvância entre 0,500 e 0,600 nm, ao ser medido em espectrofotômetro UV-visível, sob o comprimento de onda de 530 nm. Para proceder à reação da atividade antioxidante, 100 µL do extrato bruto das amostras foi diluído em 2,9 mL da solução metanólica de DPPH. Após 30 minutos de repouso, em temperatura ambiente e sob o abrigo da luz, as amostras foram lidas em um espectrofotômetro UV-visível no comprimento de onda de 530 nm. Todas as amostras foram lidas em quintuplicata. A inativação do radical livre DPPH foi referente à concentração de 333 µg/ml de extrato e foi calculada em porcentagem, utilizando-se a equação a seguir:

$$\text{DPPH (\%)} = 100 \times \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right)$$

Onde o valor de A_1 corresponde a absorvância da amostra metanólica contendo o extrato e A_0 é correspondente a absorvância da solução de DPPH sem extrato, ambas sob o comprimento de onda de 530 nm.

5.2.4. Análise estatística

Todos os experimentos foram montados de acordo com o delineamento estatístico completamente casualizado. Os resultados foram analisados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) simples ou fatorial, com separação de médias pelo teste

de Tukey, com nível de probabilidade de 95%. O teste t de Student, também ao nível de 95% de probabilidade, foi utilizado para a separação das médias, nos casos em que apenas dois tratamentos foram comparados. Foram, também, realizadas as análises de correlação linear simples (para o cálculo do coeficiente de correlação linear simples r), ao nível de 5% de probabilidade, e as análises de regressão linear e não linear simples (para a determinação das equações das linhas de tendência e dos valores de coeficiente de determinação R^2). As análises estatísticas foram realizadas com os programas de estatística do EXCEL (Microsoft) e STATISTICA 7.0 (StatSoft. Inc).

6. RESULTADOS

6.1 Análises de fenólicos totais, flavonoides, atividade antioxidante, açúcares solúveis totais e clorofilas em extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* e *P. setacea*

6.1.1 Fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante

Na Tabela 3 estão representados os valores obtidos para fenólicos totais, flavonoides e porcentagem de inibição do DPPH pelos extratos de sementes, pericarpo e de folhas de *P. tenuifila* e *P. setacea*.

Tabela 3. Teores de fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante em extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* e *P. setacea*.

Espécie	Órgão	Fenólicos totais (mg Eq AG/g MS) ^x	Flavonoides (mg Eq Q/g MS) ^x	% de inibição do DPPH (% DPPH)
<i>P. tenuifila</i>	Semente	37,29 ± 2,47 b	1,13 ± 0,02 d	87,76 ± 0,57 b
	Pericarpo	7,86 ± 0,32 d	1,26 ± 0,03 d	62,22 ± 1,59 c
	Folha	13,72 ± 0,82 c	19,79 ± 0,50 a	16,98 ± 2,06 d
<i>P. setacea</i>	Semente	57,26 ± 2,55 a	3,42 ± 0,06 c	93,62 ± 0,08 a
	Pericarpo	1,07 ± 0,19 e	0,30 ± 0,01 e	11,23 ± 1,34 e
	Folha	7,50 ± 0,55 d	4,46 ± 0,16 b	15,63 ± 0,71 d

^xValores são médias ± desvio padrão de 5 repetições (n=5), para fenólicos e flavonoides e 4 repetições (n=4) para atividade antioxidante. Letras diferentes, na coluna, indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey (p<0,05).

Verifica-se que os maiores teores de fenólicos totais foram encontrados em sementes de *P. tenuifila* e *P. setacea* (37,29 mg Eq AG/g MS; 57,26 mg Eq AG/g MS, respectivamente), sendo que a concentração encontrada em sementes de *P. setacea* foi significativamente superior em relação a *P. tenuifila* (Figura 7A). Os menores valores foram mensurados nos tecidos de pericarpo de ambas as espécies (7,86 mg Eq AG/g MS; 1,07 mg Eq AG/g MS, respectivamente), sendo o valor obtido no pericarpo de *P. tenuifila* foi muito superior ao encontrado no pericarpo de *P. setacea*. Em folhas, a maior concentração de fenólicos totais foi detectada na espécie *P. tenuifila* (13,72 mg Eq AG/g MS), enquanto que a concentração em folhas de *P. setacea* (7,50 mg Eq AG/g MS) não diferiu significativamente em relação ao valor encontrado em extrato de pericarpo de *P. tenuifila*.

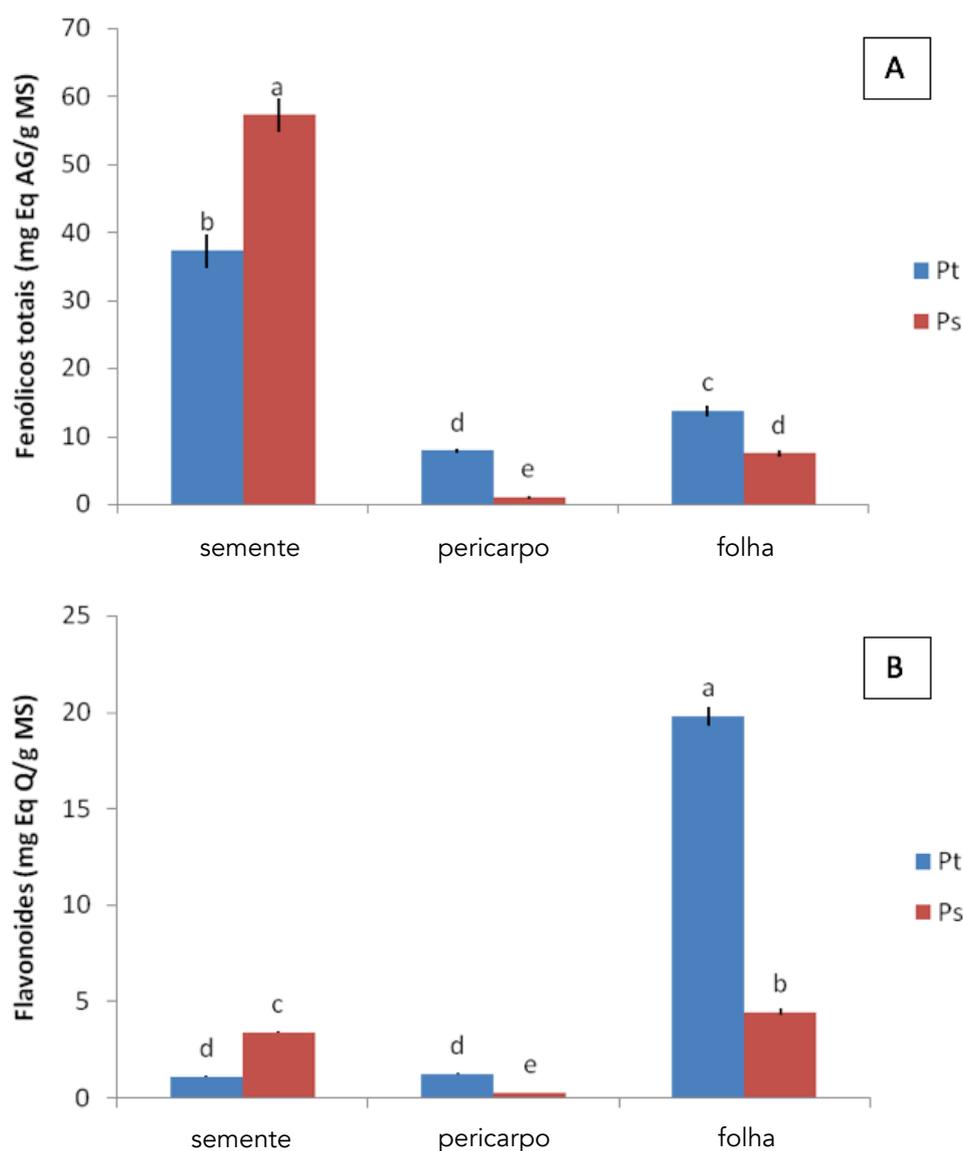


Figura 7. Teores de fenólicos totais (A) e flavonoides (B) de extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* (Pt) e *P. setacea* (Ps). Valores são médias \pm desvio padrão de 5 repetições (n=5). Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação apresentaram maior concentração de flavonoides (19,79 mg Eq Q/g MS) em relação às folhas de plantas de *P. setacea*, crescidas nas mesmas condições (4,46 mg Eq Q/g MS) (Figura 7B) e esses valores foram muito superiores aos encontrados em extratos de pericarpo e de sementes de ambas as espécies. Verifica-se que sementes e o pericarpo de *P. tenuifila* não apresentaram diferenças significativas na concentração de flavonoides

(1,13 mg Eq Q/g MS; 1,26 mg Eq Q/g MS, respectivamente). Assim como para fenólicos, o extrato de pericarpo de *P. setacea* apresentou o menor valor para flavonoides totais (0,30 mg Eq Q/g MS).

A maior porcentagem de inibição do DPPH ocorreu em extratos de sementes de *P. setacea* (93,62%), sendo superior à porcentagem observada em sementes de *P. tenuifila* (87,76%) (Figura 8). Esses valores de inibição do DPPH, significativamente maiores em relação aos outros extratos, foram obtidos pelos mesmos extratos que apresentaram os maiores valores para fenólicos totais. Já em extratos de pericarpo, *P. tenuifila* apresentou menor porcentagem de redução do DPPH (62,22%) em relação às sementes, mas esse valor foi maior do que o encontrado no extrato de pericarpo de *P. setacea* (11,23%). Folhas de ambas as espécies não apresentaram diferença significativa no nível de redução do DPPH (16,98% *P. tenuifila*; 15,63% *P. setacea*).

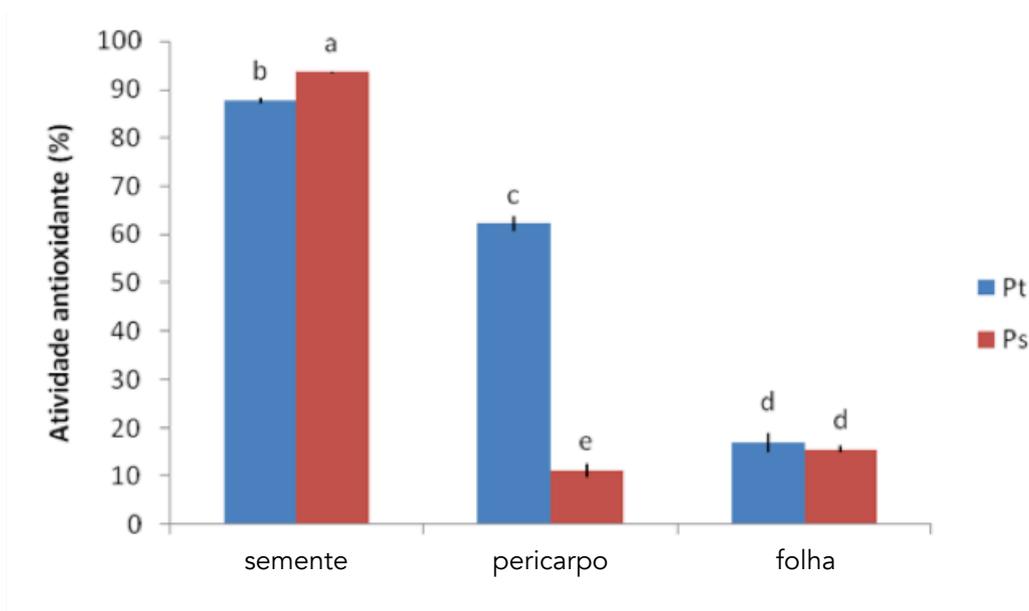


Figura 8. Atividade antioxidante de extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* (Pt) e *P. setacea* (Ps). Valores são médias \pm desvio padrão de 5 repetições (n=5). Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (p<0,05).

6.1.2 Razão entre os teores de flavonoides e fenólicos totais

O cálculo da razão entre os metabólicos secundários flavonoides e fenólicos totais foram realizados com o objetivo de verificar se as razões se mantiveram constantes ou se apresentaram variações entre os extratos de sementes, pericarpos e folhas, já que flavonoides são uma classe de compostos fenólicos.

Os resultados da Figura 9 indicam que os menores valores para a razão entre flavonoides e fenólicos totais foi encontrada nos tecidos de sementes de ambas as espécies, não havendo diferença significativa entre elas, o que indica que a proporção de flavonoides em relação aos fenólicos totais foi a menor quando comparado com pericarpo e folha. Pericarpos de *P. tenuifila* e *P. setacea* também apresentaram um baixo valor para a razão de flavonoides e fenólicos totais, na qual o pericarpo de *P. tenuifila* não apresentou diferença significativa quando comparada com os valores da razão em sementes de ambas as espécies.

Os maiores valores para a razão foram encontrados nos tecidos de folhas, em que em *P. setacea* a proporção de flavonoides em relação aos compostos fenólicos totais correspondeu a 59,5% de todos os compostos fenólicos encontrados nas análises, enquanto que em *P. tenuifila* esse valor chegou a 144%.

Esses resultados indicam que os níveis de biossíntese de flavonoides, em relação aos fenólicos totais, nos diferentes órgãos das plantas variaram, possivelmente de acordo com a função que desempenham.

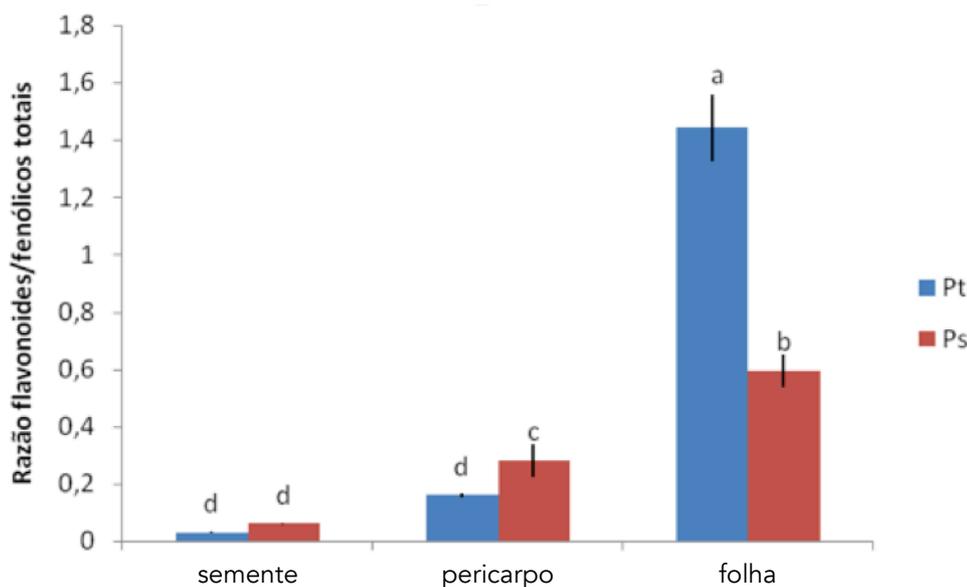


Figura 9. Valores de razões entre os teores de flavonoides e fenólicos totais de extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* (Pt) e *P. setacea* (Ps). Valores são médias \pm desvio padrão de 5 repetições (n=5). Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (p<0,05).

A quantificação dos flavonoides nos extratos de passifloras foi determinada utilizando o reagente complexante $AlCl_3$. Este reagente forma um complexo estável com as

hidroxilas e carbonilas dos flavonoides (Figura 10), gerando um deslocamento batocrômico das bandas de absorvância do espectro de UV-Vis (ZUANAZZI & MONTANHA, 2003).

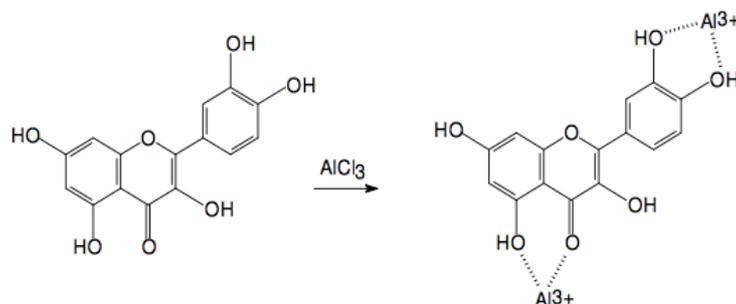


Figura 10. Complexação das hidroxilas e carbonila do flavonoide pelo AlCl_3 (MAGINA, 2008).

Em alguns casos, como o apresentado pelas folhas de *P. tenuifila*, a proporção de flavonoides pode ser maior que o valor total de compostos fenólicos do tecido devido a presença de outros componentes no extrato que podem complexar com o AlCl_3 , ou também moléculas que apresentam grande números de hidroxilas em sua estrutura formando assim muitas regiões de complexação, gerando um resultado falso positivo.

6.1.3 Açúcares solúveis totais e clorofilas

Os resultados da Tabela 4 expressam os níveis de açúcares solúveis totais e clorofilas encontrados em extratos de sementes, pericarpos e folhas de *P. tenuifila* e *P. setacea*.

Tabela 4. Teores de açúcares solúveis totais e clorofilas ($a+b$) em extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* e *P. setacea*.

Espécie	Órgão	Açúcares solúveis totais (mg/g MS) ^x	Clorofilas ($a+b$) (mg/g MS) ^x
<i>P. tenuifila</i>	Semente	32,08 ± 2,81 e	0,12 ± 0,002 d
	Pericarpo	164,31 ± 17,34 a	0,08 ± 0,003 f
	Folha	66,43 ± 3,66 d	28,47 ± 0,012 a
<i>P. setacea</i>	Semente	31,66 ± 2,18 e	0,09 ± 0,00 e
	Pericarpo	134,49 ± 10,67 b	0,23 ± 0,002 c
	Folha	96,46 ± 6,47 c	7,44 ± 0,06 b

^xValores são médias ± desvio padrão de 4 repetições (n=4), para açúcares solúveis totais e de e repetições (n=4), para clorofilas ($a+b$). Letras diferentes, na coluna, indicam

diferença estatística significativa, entre os órgãos das diferentes espécies, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Observa-se que o extrato de pericarpo de *P. tenuifila* apresentou maior teor de açúcares solúveis totais (164,31 mg/g MS) em relação à *P. setacea* (134,49 mg/g MS) (Figura 11). Esses valores foram significativamente maiores do que as concentrações apresentadas pelas folhas e sementes de ambas as espécies, sementes essas que apresentaram as menores concentrações de açúcares solúveis totais entre os extratos (32,08 mg/g MS *P. tenuifila*; 31,66 mg/g MS *P. setacea*), não havendo diferenças estatísticas significativas entre eles.

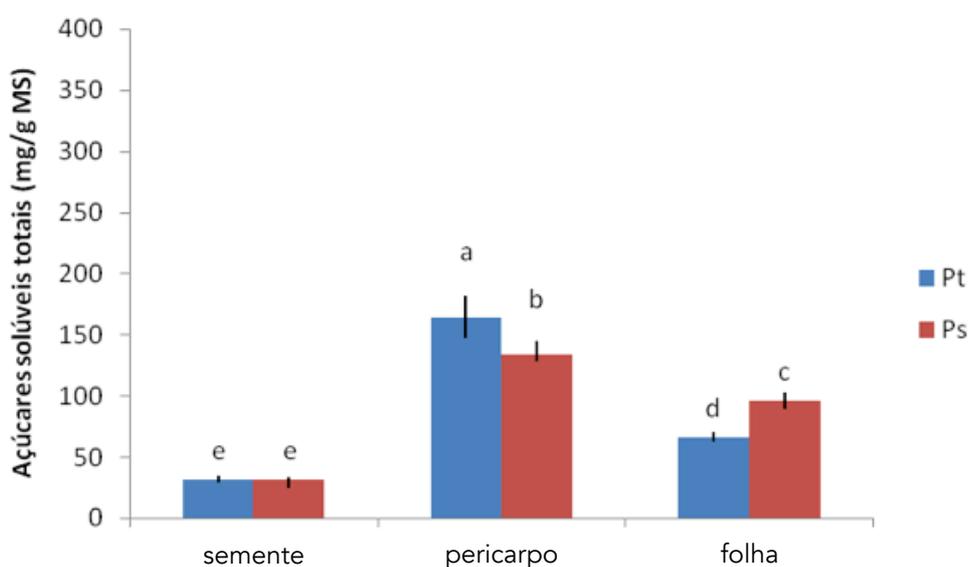


Figura 11. Teores de açúcares solúveis totais de extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* (Pt) e *P. setacea* (Ps). Valores são médias \pm desvio padrão de 4 repetições ($n=4$). Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O extrato de pericarpo de *P. tenuifila* apresentou o menor teor de clorofila em relação a todos os demais extratos (0,08 mg/g MS), enquanto que no extrato de pericarpo de *P. setacea* foi detectado valor quase três vezes maior (0,23 mg/g MS) (Figura 12A). Esse valor foi superior aos encontrados em extratos de sementes de ambas as espécies (0,12 mg/g MS em *P. tenuifila*; 0,09 mg/g MS em *P. setacea*).

O maior teor de clorofilas $a+b$ ocorreu em extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação (28,47 mg/g MS), enquanto que folhas de *P. setacea*, crescidas nas mesmas condições apresentaram menor teor de clorofilas (7,44 mg/g MS) (Figura 12B).

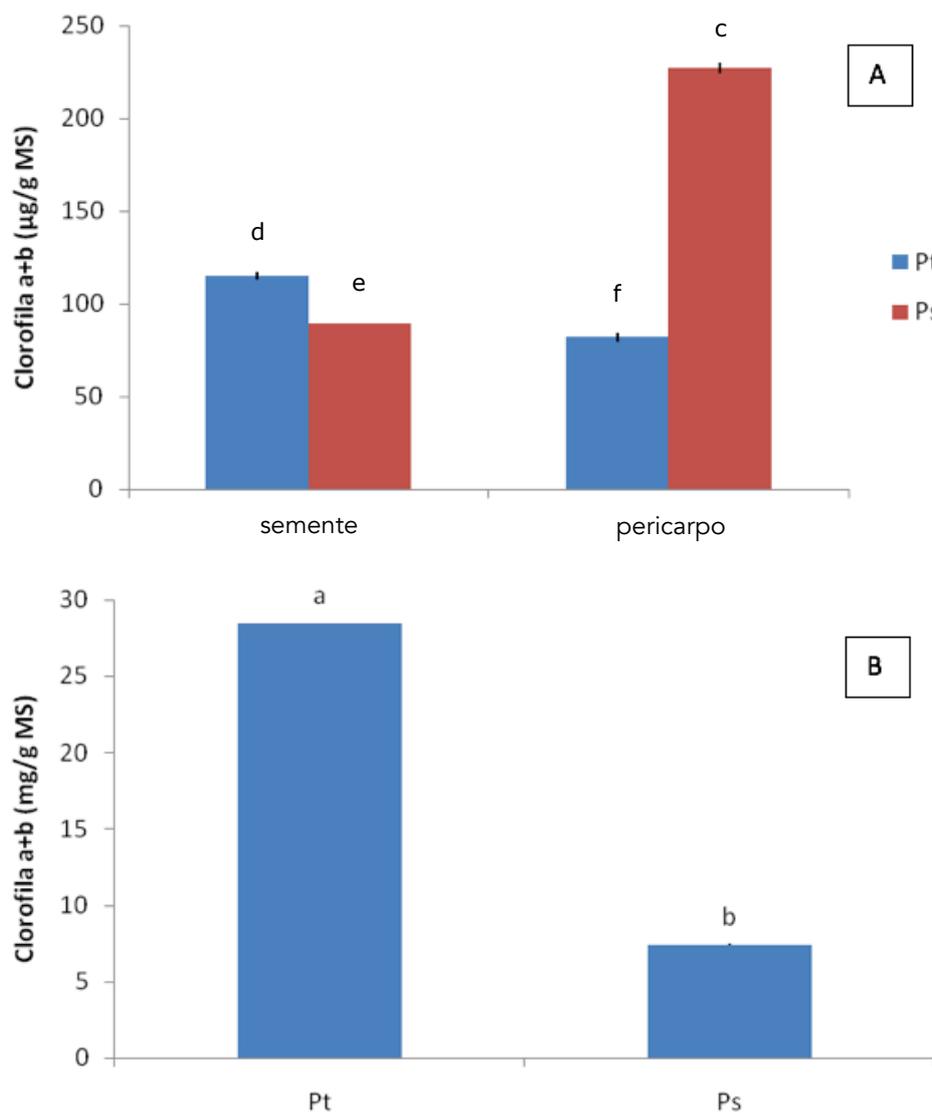


Figura 12. Teores de clorofilas ($a+b$) de extratos de sementes e pericarpos (A) e de folhas (B) de *P. tenuifila* (Pt) e *P. setacea* (Ps). Valores são médias \pm desvio padrão de 5 repetições ($n=5$). Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p<0,05$) (A) e pelo teste t de Student ($p<0,05$) (B).

6.1.4 Análises de correlação linear entre os diferentes parâmetros analisados para *P. tenuifila* e *P. setacea*.

Para verificar se, de um modo geral, nas espécies *P. tenuifila* e *P. setacea* os teores de fenólicos totais e flavonoides se correlacionaram com a atividade antioxidante foram

calculados os coeficientes de correlação linear simples, expressos na Tabela 5, utilizando-se os resultados obtidos para as sementes, pericarpos e folhas.

Os resultados indicam que, para *P. setacea*, a correlação linear entre fenólicos totais e atividade antioxidante foi alta ($r = 0,998^*$) e moderada para *P. tenuifila* ($r = 0,643$). Já em relação aos flavonoides, a correlação linear com a atividade antioxidante se mostrou baixa para *P. setacea* ($r = 0,321$) e alta, porém negativa para *P. tenuifila* ($r = -0,936$).

Tabela 5. Valores de coeficientes de correlação linear simples entre diferentes parâmetros analisados em extratos de sementes, pericarpo e folhas de *P. tenuifila* e *P. setacea*.

Parâmetros	<i>P. tenuifila</i>	<i>P. setacea</i>
AA x fenólicos totais	0,643	0,998*
AA x flavonoides	-0,936	0,321
Fenólicos totais x flavonoides	-0,3337	0,3749

AA= atividade antioxidante; *significante ao nível de 5%.

6.2 Análise de fenólicos totais, flavonoides, atividade antioxidante, açúcares solúveis totais e clorofilas em folhas de plantas crescidas em casa de vegetação e em condições naturais

6.2.1 Fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante

Na Tabela 6 são apresentados os valores de concentrações de fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante de extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação e em condições naturais.

Tabela 6. Teores de fenólicos totais e flavonoides em extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação e em condições naturais.

Condição de cultivo	Fenólicos totais (mg Eq AG/g MS) ^x	Flavonoides (mg Eq Q/g MS) ^x	Atividade antioxidante (% DPPH)
Casa vegetação	13,72 ± 0,82 b	19,79 ± 0,50 b	16,98 ± 2,06 b
Condições naturais	49,12 ± 3,78 a	35,46 ± 0,70 a	78,06 ± 3,94 a

^xValores são médias ± desvio padrão de 5 repetições (n=5), para fenólicos e flavonoides e 4 repetições (n=4), para atividade antioxidante. Letras diferentes, na coluna, indicam diferença estatística significativa, entre as diferentes condições de cultivo, pelo teste de t de Student ($p < 0,05$).

O maior valor encontrado para fenólicos totais foi observado em extratos de folhas de plantas *P. tenuifila* crescidas em condições naturais (49,12 mg Eq AG/g MS), enquanto que as folhas de plantas crescidas em casa de vegetação apresentaram um valor aproximadamente quatro vezes menor (13,72 mg Eq AG/g MS) (Figura 13A). O resultado encontrado para flavonoides foi um pouco menos discrepante, porém as folhas de *P. tenuifila* crescidas em condições naturais ainda apresentaram a maior concentração desses compostos (35,46 mg Eq Q/g MS), enquanto que as folhas da casa de vegetação obtiveram (19,79 mg Eq Q/g MS) (Figura 13B).

A atividade antioxidante, medida através da redução do DPPH, foi mais de quatro vezes maior nos extratos de folhas de *P. tenuifila* crescidas em condições naturais (78,06%), quando comparada com a de extratos de folhas das plantas crescidas em casa de vegetação (16,98%) (Figura 14).

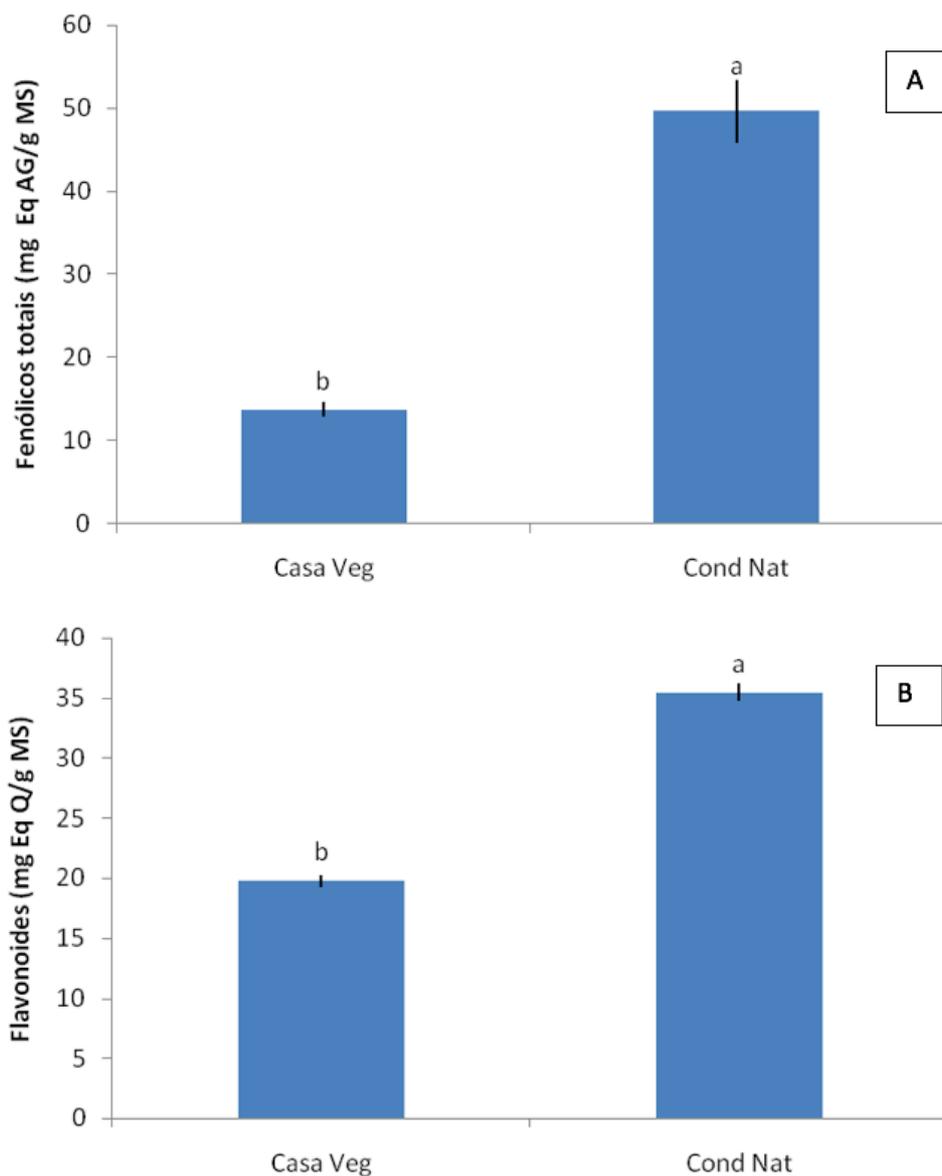


Figura 13. Teores de fenólicos totais (A) e flavonoides (B) de extratos de folhas de plantas de *P. tenuifolia* crescidas em casa de vegetação (Casa Veg) e condições naturais (Cond Nat). Valores são médias \pm desvio padrão de 5 repetições (n=5). Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de t de Student ($p < 0,05$).

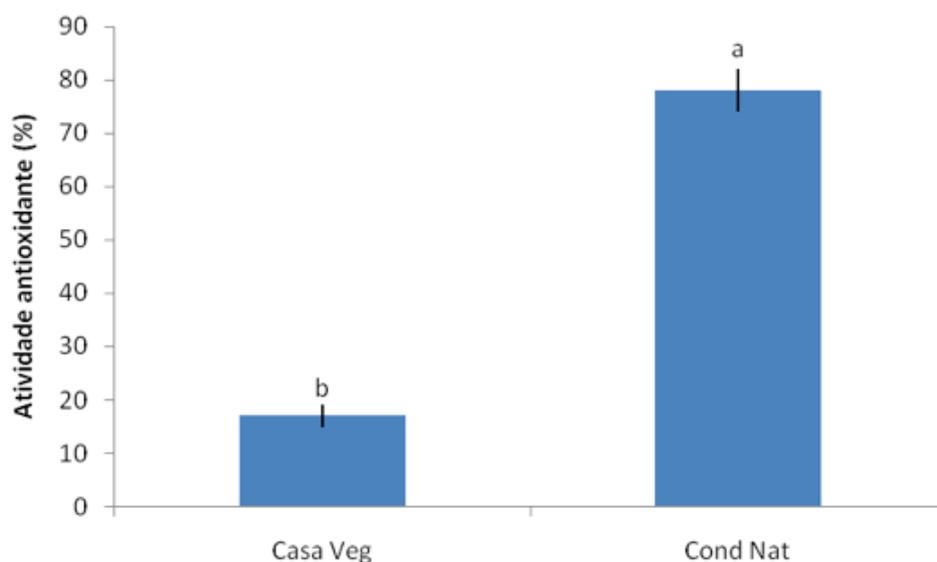


Figura 14. Atividade antioxidante de extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação (Casa Veg) e condições naturais (Cond Nat). Valores são médias \pm desvio padrão de 4 repetições (n=4). Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de t de Student ($p < 0,05$).

6.2.2 Açúcares solúveis totais e clorofilas

Os teores de açúcares solúveis totais e clorofilas quantificados nos extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Teores de açúcares solúveis totais e clorofilas ($a+b$) em extratos de sementes, pericarpo e folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação e em condições naturais.

Condição de cultivo	Açúcares solúveis totais (mg/g MS) ^x	Clorofilas ($a+b$) (mg/g MS) ^x
Casa vegetação	66,43 \pm 3,66 b	28,47 \pm 0,013 a
Condições naturais	251,75 \pm 6,47 a	25,55 \pm 0,02 b

^xValores são médias \pm desvio padrão de 5 repetições (n=5), para clorofilas e 4 repetições (n=4), para açúcares solúveis totais. Letras diferentes, na coluna, indicam diferença estatística significativa, entre as diferentes condições de cultivo, pelo teste de t de Student ($p < 0,05$).

Folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em condições naturais apresentaram o maior valor para açúcares solúveis totais (251,75 mg/g MS), sendo que esse valor foi

aproximadamente quatro vezes maior do que o obtido em folhas crescidas em casa de vegetação (66,43 mg/g MS) (Figura 15A).

Já pra clorofilas totais, os valores foram estatisticamente semelhantes, porém as folhas produzidas em casa de vegetação apresentaram um maior valor para clorofilas (28,47 mg/g MS) do que as folhas de *P. tenuifila* crescidas em ambiente natural (25,55 mg/g MS) (Figura 15B).

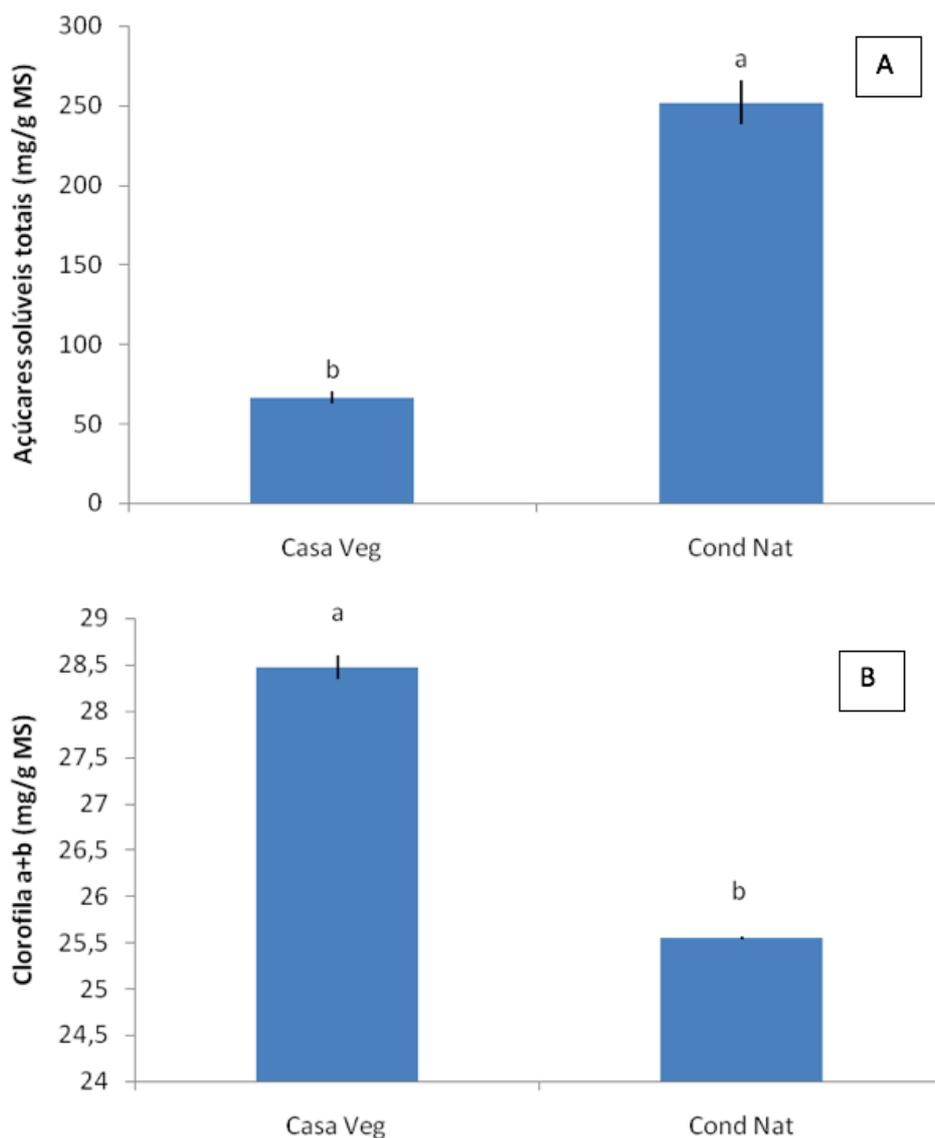


Figura 15. Teores de açúcares solúveis totais (A) e clorofilas (B) de extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação (Casa Veg) e condições naturais (Cond Nat). Valores são médias \pm desvio padrão de 5 repetições (n=5) para clorofilas e 4 repetições (n=4), para açúcares solúveis totais. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de t de Student ($p < 0,05$).

7. DISCUSSÃO

7.1 Fenólicos totais

Os valores de fenólicos totais encontrados em extratos de sementes de ambas as espécies foram considerados elevados quando comparados com outros tecidos do presente estudo, ou até mesmo com outros estudos envolvendo sementes de passifloras, como o proposto por Vieira (2013), que utilizando uma metodologia similar para a quantificação de fenólicos totais, com o uso do reagente Folin-Ciocalteu, porém seguindo uma curva padrão de catequina, obteve valores de fenólicos totais em sementes de *P. tenuifila* inferiores ao do presente estudo (12,81 mg Eq CA/g MS) e valor similar, porém também inferior, em sementes de *P. setacea* (50,18 mg CA/g MS). Ainda no mesmo estudo, foram encontrados valores baixos de concentração de fenólicos totais em sementes das espécies *P. edulis* e *P. alata* (2,74 mg Eq CA/g MS; 2,06 mg Eq CA/g MS, respectivamente), evidenciando o potencial de produção de compostos fenólicos de sementes de *P. tenuifila* e *P. setacea*.

Embora as metodologias de análises quantitativas de fenólicos totais apresentem adaptações, os valores obtidos para fenólicos totais nas espécies de *P. tenuifila* e *P. setacea* no presente estudo e no estudo realizado por Vieira (2013) apresentaram similaridades e seguiram a mesma tendência, com *P. setacea*, apresentando maior concentração de compostos fenólicos do que *P. tenuifila*. Porém, os resultados para fenólicos totais em *P. alata*, nos estudos propostos por Madoglio (2011) e Vieira (2013), diferiram bastante, podendo ser explicados pelo fato dos maracujás utilizados por Madoglio (2011) terem sido cultivados no estado de Santa Catarina, enquanto que os frutos utilizados por Vieira (2013), assim como no presente estudo, terem sido colhidos no Distrito Federal, onde diferentes fatores ambientais, principalmente a temperatura, e fatores genéticos podem ter influenciado a produção de compostos fenólicos.

Saravanan & Parimelazhagan (2013), utilizando metodologia similar a do presente trabalho, obtiveram o valor de 115,70 mg Eq AG/g ES, em sementes de *P. subpeltata*, através de uma extração metanólica, porém quando a extração foi feita com acetona os valores observados para as mesmas amostras foram quase o dobro (340,70 mg Eq AG/g ES), indicando que os solventes utilizados para a extração dos compostos fenólicos influenciam o resultado final da quantificação desses metabólitos em amostras vegetais.

Segundo o estudo realizado por Soong & Barlow (2004), também utilizando o reagente Folin-Ciocalteu e através de uma extração etanólica das sementes de tamarindo (*Tamarindus indica*), abacate (*Persea americana*) e jaca (*Artocarpus heterophyllus*), obtiveram os seguintes resultados para fenólicos totais: 94,50 mg Eq AG/g MS; 88,20 mg Eq AG/g MS; 27,70 mg Eq AG/g MS, respectivamente. Esse estudo demonstra que os níveis de compostos fenólicos encontrados em sementes de *P. setacea* e *P. tenuifila* foram intermediários e indicam que as sementes dessas espécies podem, também, ser fontes alternativas de fenólicos, e serem utilizadas no enriquecimento de alimentos funcionais, como sucos e farinhas, uma vez comprovada a correlação positiva entre estes compostos e a atividade antioxidante.

As concentrações de fenólicos encontradas em extratos de pericarpo de *P. tenuifila* foram superiores aos obtidos por Vieira (2013), que através de uma extração metanólica, encontrou na estrutura de pericarpo de *P. tenuifila* o valor de 5,09 mg Eq CA/g MS e 2,09 mg Eq CA/g MS no pericarpo de *P. setacea*. O mesmo estudo ainda quantificou fenólicos totais em pericarpos de mais duas espécies de Passiflora (*Passiflora edulis* e *Passiflora alata*) e obteve valores entre 4,34 e 3,66 mg Eq CA/g MS para as variedades de *P. edulis* e 2,54 mg EC/g MS na espécie de *P. alata*. Já Contreras-Calderón e colaboradores (2010), utilizando extração metanólica e uma metodologia similar ao presente estudo para quantificar fenólicos totais, obteve 2,46 mg Eq AG/g MF para pericarpo de *P. mollissima* e 2,88 mg Eq AG/g MF para pericarpo de *P. tarminiana*, valores aproximadamente três vezes menores do que os observados em *P. tenuifila*, enquanto que Cazarin *et al.* (2014), através de uma extração metanólica em pericarpo de *P. edulis* obteve o valor de 2,30 mg Eq AG/g MS.

Apesar de extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação, apresentarem níveis de fenólicos totais, que foram aproximadamente o dobro de *P. setacea*, esses são considerados medianos, quando comparados a outras espécies de passifloras. O fato desses valores terem sido cerca de três vezes menores do que os detectados em sementes de *P. tenuifila* e aproximadamente oito vezes menores do que o detectado em sementes de *P. setacea*, indica diferenças entre as espécies quanto ao metabolismo de acúmulo dessa classe de compostos nas folhas e sementes. A concentração quase quatro vezes superior de fenólicos totais apresentadas pelas folhas de *Passiflora tenuifila*, obtidas de plantas crescidas em condições naturais, pode ser explicado pela exposição à maior intensidade luminosa. Ghasemzadeh *et al.* (2010)

estudando os efeitos de diferentes intensidades luminosas na produção de fenólicos em folhas de gengibre (*Zingiber officinale*), observou um aumento gradual no teor de flavonoides, quando as plantas foram expostas a níveis de intensidade luminosa de 310 a 790 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, em que uma das variedades da espécie apresentou aumento de 27,43 mg Eq AG/g MS para 33,00 mg Eq AG/g MS, enquanto a outra aumentou de 31,73 mg Eq AG/g MS para 39,06 mg Eq AG/g MS. Resultado similar foi obtido por Karimi e colaboradores (2013), que relataram o aumento da concentração de fenólicos em folhas de *Labisia pumila*, proporcionalmente ao aumento da intensidade luminosa a que as plantas eram expostas.

Pineli *et al.* (2014) estudando cinco espécies de passifloras, obtiveram, através de extratos hidroalcoólicos de folhas, o valor de 18,82 mg Eq AG/g MS em *P. tenuifila*, 22,17 mg Eq AG/g MS em *P. setacea*, 13,72 mg Eq AG/g MS para *P. alata*, 46,05 mg Eq AG/g MS em *P. nitida* e valores entre 10,72 a 14,68 mg Eq AG/g MS em variedades de *P. edulis*, enquanto que, através de uma extração etanólica, Sesan *et al.* (2016) obtiveram valores de 15,46 mg Eq AG/g MS para fenólicos totais, em folhas de *P. caerulea*, valores inferiores aos detectados em folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em condições naturais e, no caso de *P. nitida*, similares aos encontrados para as folhas de *P. tenuifila* produzidas na casa de vegetação. Valores inferiores de fenólicos totais também foram encontrados por Ramaiya e colaboradores (2014), que ao estudarem a composição de fenólicos totais em folhas de três espécies de passifloras, obtiveram em extrações metanólicas o valor de 23,70 mg Eq AG/g MS para *P. edulis*, 21,70 mg Eq AG/g MS para *P. quadrangularis* e 33,20 mg Eq AG/g MS para *P. maliformis*.

Estudando outras espécies de plantas, Kuti & Konuro (2004) obtiveram 2,90 mg Eq ácido clorogênico/g MS, através da extração metanólica de folhas de espinafre (*Cnidoscolus aconitifolius*). Já Al-Rimawi *et al.* (2014) estudando a quantidade de fenólicos em folhas de oliveiras coletadas em diferentes estações do ano obteve através de extrações aquosas o valor de 47,52 mg Eq AG/g MS durante o verão e 26,14 mg Eq AG/g MS durante o inverno, concluindo que as variações das condições abióticas entre as estações influenciam na quantidade total de fenólicos.

No presente estudo, os maiores valores mensurados para fenólicos totais foram encontrados nos extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila*, crescidas em condições naturais e nas sementes de ambas as espécies, em que poderiam desempenhar o alto potencial antioxidante e antimicrobiano característicos dessas substâncias. Segundo Taiz

& Zeiger (2013), os metabólitos secundários oferecem defesa contra radiações UV, infecções de fungos e bactérias, além de apresentarem propriedades antioxidantes, o que reforçaria a defesa das folhas e das sementes, no momento da dispersão. Podem, portanto, atuar, assegurando a germinação e o estabelecimento das plântulas, que, uma vez no solo, estão expostas a grandes quantidades e diversidade de microrganismos, que podem degradar as substâncias de reserva das sementes, causando a deterioração, impedindo a germinação e reduzindo o vigor das plântulas.

O fato de, no presente estudo, os teores médios de fenólicos totais observados nas folhas das plantas de ambas as espécies de passifloras, crescidas em casa de vegetação, terem sido menores do que os citados por Pineli *et al.* (2014), Sesan *et al.* (2016) e Ramaiya *et al.* (2014), pode ter sido devido, não apenas à exposição a uma intensidade luminosa menor mas também à menor interação com pragas e patógenos, que pode fazer com que as plantas crescidas em casa de vegetação, talvez não sintetizem tantos compostos fenólicos como as plantas crescidas em ambiente natural. A maioria dos compostos fenólicos produzidos pelas plantas são derivados da molécula de fenilalanina, através da eliminação de uma molécula de amônia, formando assim o ácido cinâmico, reação essa que é catalisada pela molécula de fenilalanina amônia-liase (PAL). A atividade da enzima PAL é aumentada pela ação de fatores ambientais como a intensidade luminosa, baixos níveis de nutrientes ou infecções por organismos patógenos (TAIZ & ZEIGER, 2013), fatores esses que estiveram presentes em condições naturais, mas que, certamente foram amenizados no ambiente da casa de vegetação. No entanto, o crescimento das plantas nessa condição protegida poderia garantir uma produção de biomassa consistente, para um possível aproveitamento da parte aérea como fontes de compostos de interesse, daí a necessidade de otimização do crescimento das plantas em condições controladas.

7.2 Flavonoides

Poucos estudos quantificaram flavonoides em sementes de *Passiflora*. O presente estudo detectou valores baixos para flavonoides em extratos de sementes de *P. tenuiflora* e *P. setacea*, quando comparados com os extratos de folhas.

Grandes variações entre as quantidades de flavonoides foram observadas em sementes de diferentes espécies. Tabasum *et al.* (2016) realizaram por sete dias uma extração

metanólica, em sementes de *Abrus precatorius* e obtiveram 73,33 mg RU/g ES. Já Rahman e colaboradores (2016), obtiveram o valor de 47,38 mg Eq Q/g de ES, quando quantificaram o conteúdo de flavonoides, em sementes de *Swietenia mahagoni*, utilizando para a extração o solvente de acetato de etila, porém no mesmo estudo, utilizando benzina como solvente o resultado para flavonoides foi inferior (33,34 mg Eq Q/g de ES). Gurnani *et al.* (2016), utilizando uma curva padrão de rutina, obtiveram 12,84 mg RU/g ES de flavonoides totais, através de uma extração feita com n-hexano, no entanto, quando o solvente foi clorofórmio o valor decaiu para apenas 4,64 mg RU/g ES, demonstrando que o tipo de solvente utilizado durante a extrações das substâncias influenciam no valor obtido durante as análises.

Fatores tais como o nível de exposição das sementes à radiação solar e a carga genética, podem influir no nível de flavonoides apresentados pelas sementes. Por exemplo, os frutos de *Abrus precatorius* e de *Swietenia mahagoni*, utilizados nos estudos de quantificação de flavonoides descritos anteriormente e que apresentaram altas concentrações desses compostos, eram frutos secos (legume e cápsula respectivamente) que, quando maduros se abrem, expondo a semente diretamente à radiação solar, podendo induzir o metabolismo desses tecidos a priorizar a produção de flavonoides para sua autodefesa.

Os tecidos de pericarpo também apresentaram os menores teores de flavonoides. No presente estudo o pericarpo de *P. setacea* apresentou valor mais de quatro vezes inferior ao apresentado pelo pericarpo de *P. tenuifila*, o que indica um maior potencial de aproveitamento de resíduos de pericarpos de *P. tenuifila*. Simirgiotis *et al.* (2013), estudando flavonoides em pericarpos de *P. tripartita*, obtiveram valor 1,8 vezes maior de flavonoides em pericarpos do que na polpa e suco da mesma espécie (1,40 *versus* 0,77 mg Eq Q/g MS), evidenciando a qualidade nutricional de resíduos de pericarpos de passifloras. Zeraik (2010), estudando extratos metanólicos de pericarpos de *P. edulis* encontrou 1,23 mg Eq IS/g MS. Ainda no mesmo estudo foi concluído que a infecção causada por vírus em espécies de *Passiflora edulis* causaram a diminuição da quantidade total de flavonoides concentrado nos pericarpos dos frutos.

Sousa e colaboradores (2014) obtiveram valores entre 0,40 e 0,79 mg Eq IS/g MS, enquanto Marques e colaboradores (2015) obtiveram variações entre 0,16 a 0,90 mg Eq IS/g MS, para flavonoides em extratos de pericarpo de *P. edulis*, valores muito inferiores aos observados no pericarpo de *P. tenuifila*, apesar de terem utilizado técnicas de extração

diferentes das realizadas no presente estudo. Apesar dos extratos de pericarpo terem apresentado baixas concentrações de flavonoides, quando comparado às sementes e folhas, o pericarpo de *P. tenuifila* demonstrou apresentar maior potencial de aproveitamento para enriquecimento nutricional, por apresentar maior quantidade de fenólicos totais do que o pericarpo de *P. setacea*.

A alta concentração de flavonoides totais mensurados nos extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila*, crescidas em casa de vegetação, cerca de dezenove vezes superior aos teores mensurados em sementes e pericarpo e aproximadamente cinco vezes maior que o valor encontrado em folhas de *P. setacea*, indicam o maior potencial das folhas de *P. tenuifila* como fontes dessa classe de compostos. Além disso, o fato dos flavonoides em folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em condições naturais terem sido quase o dobro da concentração detectada nas folhas da casa de vegetação, indica a influência da intensidade luminosa no processo de biossíntese e a importância da otimização desse parâmetro para aumentar a produção. Karimi *et al.* (2013) estudando o impacto de diferentes intensidades luminosas na produção de flavonoides em folhas de três variedades de *Lobisia pumila*, observaram que os valores cresciam da intensidade luminosa de $310 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (2,51 mg RU/g MS; 2,82 mg RU/g MS; 2,43 mg RU/g MS) para, respectivamente, 2,73 mg RU/g MS, 2,94 mg RU/g MS e 2,54 mg RU/g MS, quando expostas à intensidade luminosa de $630 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Pineli *et al.* (2014), analisando os teores de flavonoides em extratos hidroalcoólicos de folhas de diferentes espécies de passifloras obtiveram valores de flavonoides na ordem de 2,93 mg Eq Q/g MS para *P. tenuifila* e 3,08 mg Eq Q/g MS em *P. setacea*, valores menores do que os detectados no presente trabalho, para *P. tenuifila* e *P. setacea*, mesmo quando comparados aos teores observados nas folhas de plantas crescidas em casa de vegetação. Também detectaram 3,07 mg Eq Q/g MS em *P. nitida*, 2,93 mg Eq Q/g MS em *P. alata* e valores entre 2,28 e 2,61 mg Eq Q/g MS, em diferentes variedades de *P. edulis*. Já Sesan *et al.* (2016) obtiveram, através de extração etanólica, valor de 12,82 mg Eq Q/g MS estudando flavonoides em folhas de *P. caerulea*, valor aproximadamente três vezes menor do que o verificado em folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em condições naturais. Nos trabalhos citados na literatura foram observados valores muito distintos para flavonoides totais em folhas de diferentes espécies de passifloras, de acordo com os tipos de solventes utilizados durante a extração, portanto, é pertinente a realização

de um estudo posterior para relacionar a variação na quantificação desse composto com os diferentes métodos de extração utilizados.

No presente estudo as folhas de *P. tenuifila* crescidas em condições naturais foram as melhores fontes de flavonoides do que as sementes e pericarpos, mesmo quando produzidas em casa de vegetação, superando os teores de várias outras espécies de passifloras estudadas até o presente momento. Os flavonoides são reconhecidos como substâncias que atuam na proteção contra raios UV-B em células vegetais, absorvendo comprimentos de onda curtos (280-320 nm), portanto além de fatores genéticos, fatores ambientais também podem influenciar a quantidade de flavonoides produzida por determinado tecido vegetal (TAIZ & ZEIGER, 2013), desse modo, a presença de maior quantidade de flavonoides nas folhas, quando comparado com o pericarpo dos frutos e com sementes, pode significar uma espécie de proteção da própria planta contra os efeitos nocivos da radiação ultravioleta proveniente do sol. Já as sementes das espécies *P. tenuifila* e *P. setacea* não sofreram exposição à radiação solar direta, por estarem protegidas no interior do fruto, o que poderia explicar, parcialmente, as baixas quantidades de flavonoides encontrados.

O fato das folhas crescidas em ambiente natural apresentarem maior teor de flavonoides já era esperado além da maior exposição ao sol, já que as moléculas de flavonoides possuem propriedades antimicrobianas e que também inibem ataques por herbivoria (TAIZ & ZEIGER, 2013), portanto as plantas submetidas a um ambiente controlado, como uma casa de vegetação, estiveram expostas a menos patógenos e pragas do que aquelas crescidas em ambiente natural, o que pode explicar a menor concentração de flavonoides em folhas da casa de vegetação.

7.3 Clorofila total

Os baixos valores encontrados para clorofila total em sementes de *P. tenuifila* e *P. setacea* podem ter sido devidos ao estágio de desenvolvimento das mesmas, no interior dos frutos maduros, pois segundo Sozo (2014), a clorofila presente nas sementes dessas duas espécies é apenas um resquício da clorofila presente na peça floral que se desenvolveu e veio a formar o fruto maduro. Cenkowski e colaboradores (1989) avaliaram a quantidade total de clorofila em sementes de *Brassica campestris*, em vários períodos de tempo, após a colheita dessas sementes e observaram que os valores totais

para clorofila decaíram, com o decorrer do tempo, sendo o nível de redução igualmente proporcional ao nível de desidratação do tecido. Portanto, quanto mais tempo se passar entre a retirada da semente dos frutos e a realização da extração de clorofilas, menor deverá ser o valor final desse composto, presente nas análises.

Em outro estudo realizado por Cenkowski & Jayas (1993), com sementes de canola (*Brassica napus*), foram obtidos valores para clorofila total entre 0,49 e 0,36 mg/ g MS, no período de até dois dias após a colheita das sementes, porém após 90 dias de estocagem, os valores encontrados para clorofila nas mesmas sementes decaíram para 0,07 mg/ g MS. Como as sementes utilizadas no presente estudo, com as espécies de passifloras, foram retiradas do fruto e armazenadas em nitrogênio líquido até a realização das análises, pode ser que o valor final para clorofilas tenha sido menor do que quando as sementes se encontravam no fruto fresco. Futuros estudos deverão ser realizados com frutos frescos para elucidar essa questão.

O fato dos extratos de pericarpos maduros de *P. setacea* terem apresentado valor de clorofila total, quase três vezes maior do que a concentração presente em *P. tenuifila* indica uma diferença entre as espécies durante o processo de maturação dos frutos, pois em *P. tenuifila* a alteração da coloração do fruto de verde para amarelo é marcante. Existem poucos estudos que quantificam clorofilas totais em pericarpos de passifloras, porém segundo Sozo (2014), os valores para clorofila total decaem em frutos de *P. tenuifila* e *P. setacea*, de acordo com o nível de maturação dos frutos, fenômeno também descrito por Maranhão (2010), que observou a diminuição significativa dos níveis de clorofila durante o amadurecimento de frutos de acerola (*Malpighia emarginata*).

Pelayo e colaboradores (2014) estudaram a quantidade de clorofila total em diversas variedades de maçãs e concluíram que a coloração externa do fruto está relacionada, entre outros, com a quantidade total de clorofilas presentes. No estudo em questão, variedades de maçãs com o epicarpo em tom amarelo apresentaram valores de clorofilas totais entre 0,024 a 0,090 mg/g MS, enquanto as de tons vermelhos apresentaram concentração maior entre 0,043 a 0,27 mg/g MS e as com epicarpo verde apresentaram a maior concentração de clorofilas variando entre 0,16 a 1,36 mg/g MS.

O valor quase quatro vezes maior de clorofila total detectado em extratos de folhas de *P. tenuifila* em relação a *P. setacea*, em plantas crescidas nas mesmas condições, em casa de vegetação, indica diferenças entre essas as espécies quanto aos mecanismos de adaptação a ambientes com menor intensidade luminosa. Cavalcante e colaboradores

(2011) detectaram valores de clorofila total entre 1,47 e 1,66 mg/g MS, em folhas de *P. edulis*, valores menores do que os obtidos nas espécies estudadas no presente trabalho.

O valor, ligeiramente superior, obtido para clorofila total em folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação em relação às crescidas em condições naturais, pode ter sido devido à menor intensidade luminosa incidente no interior da casa de vegetação. Dessa forma, Zanella e colaboradores (2006) estudando mudas de *P. edulis* obtiveram valores de 6,30 mg/g MS, para plantas com 0% de sombreamento e um valor significativamente maior, de 8,97 mg/g MS, para plantas submetidas a 80% de sombreamento. Resultado similar, também foi obtido por Freitas (2010) que, ao quantificar clorofila total em folhas de *P. alata* observou um aumento gradual de clorofila de acordo com o grau de sombreamento das plantas. Souza *et al.* (2011) submeteram plantas de *Mikania laevigata* a diferentes filtros solares e obtiveram menor concentração de clorofila total em plantas expostas a pleno sol (2,29 mg/g MF) do que nas plantas submetidas a filtros solares azuis (5,02 mg/g MF) e vermelhos (3,32 mg/g MF). Lichtenthaler & Buschmann (2001) obtiveram 6,29 mg/g MS, em folhas expostas ao sol de *Fagus sylvatica* e 12,01 mg/g MS, em folhas expostas à sombra. Já na espécie *Carpinus betulus* a diferença foi ainda maior, 8,15 mg/g MS, em folhas expostas ao sol e 19,05 mg/g MS, em folhas mantidas na sombra.

Portanto, é bem descrito na literatura que folhas de sombra ou submetidas ao sombreamento sofrem alterações morfofisiológicas para se adaptar ao déficit de luz. Segundo Taiz & Zeiger (2013), folhas de sombra apresentam mais clorofila por centro de reação, maior razão clorofila *b*/clorofila *a* e geralmente são folhas mais finas do que aquelas expostas a pleno sol. Entretanto, a maior concentração clorofila, nas plantas de *P. tenuifila*, não resultou em maior fotossíntese e maior produção de esqueletos de carbono, que poderiam ser alocados para a biossíntese de compostos fenólicos e flavonoides. Porém, as altas concentrações de clorofila em folhas de plantas crescidas em casa de vegetação pode ser um importante parâmetro a ser explorado quando se considera as propriedades das clorofilas para o possível aproveitamento da biomassa de folhas em alimentos funcionais.

Estudos revelam também que, os níveis de nutrientes no solo podem influenciar a quantidade total de clorofila em folhas de espécies de passifloras. Freitas (2010) observou que os níveis de nitrogênio do solo apresentaram alta correlação positiva com os teores totais de clorofila, fato também constatado por Freire *et al.* (2013), que observaram um

aumento nos teores de clorofila de 1,41 mg/g MF para 1,78 mg/g MF, quando as mudas de *P. edulis* foram tratadas com biofertilizante bovino. Portanto, a otimização da produção de clorofila pelas folhas pode requerer a manipulação de diferentes tipos de substratos, para o crescimento das plantas.

7.4 Açúcares solúveis totais

Os teores mais baixos de açúcares solúveis totais em sementes de *P. tenuifila* e *P. setacea*, em relação aos apresentados pelos pericarpos dos frutos e folhas, podem ser explicados pelo fato de que a maior quantidade de carboidratos armazenados pelas sementes deve estar em forma de amido, que apenas será hidrolisado para liberar os açúcares solúveis totais, após a hidratação das mesmas, no processo germinativo. Porém, as concentrações de açúcares solúveis totais nessas sementes foram superiores às observadas em vários estudos realizados, não apenas com passifloras, mas também com outras espécies de outros gêneros, o que é uma indicação da ocorrência de atividades metabólicas que levam à produção de açúcares solúveis totais, mesmo não tendo sido colocadas para germinar.

Existem poucos estudos que quantificaram açúcares solúveis totais em espécies de passifloras, porém Vieira (2013), através de uma metodologia utilizando cromatografia líquida, obteve 3,80 mg/g MS de açúcares solúveis totais em *P. tenuifila* e 0,79 mg/g MS em *P. setacea*, valores muito abaixo dos obtidos no presente estudo com as mesmas espécies, demonstrando que o tipo de metodologia adotado na quantificação de açúcares solúveis totais pode influenciar no valor final desse metabólito. Valores inferiores de açúcares solúveis totais em sementes de outras espécies, também foram observados por Cruz (2011), que obteve 21,90 mg/g MS de açúcares solúveis totais em seu estudo de caracterização da semente do fruto de atemoia, fruto híbrido derivado do cruzamento de fruta-do-conde (*Annona squamosa*) com cherimoia (*Annona cherimola*), enquanto que Mantovani (2013) obteve pouco mais de 5 mg/g MS de açúcares solúveis totais em sementes de Ipê-Amarelo (*Tabebuia chrysotricha*).

A presença das maiores concentrações de açúcares solúveis totais nos pericarpos de *P. tenuifila* e *P. setacea* é decorrente do processo de maturação dos frutos, resultante da degradação do amido. Essas concentrações também foram superiores às observada nos poucos estudos em que esses compostos foram quantificados, como o conduzido por Cruz

(2011), com o pericarpo de atemoia, que obteve 129,20 mg/g MS de açúcares solúveis totais. Já Damiani *et al.* (2011) obtiveram, valores menores ainda, de 84,5 mg/g MF no pericarpo de araçá (*Psidium guineensis*). Como os níveis de açúcares solúveis totais nos frutos podem variar com o estágio de maturação, como demonstrado por Sinclair (1972), que constatou que os níveis desses compostos aumentaram no último estágio de maturação do fruto da toranja (*Citrus paradisi*), obtendo valor de 374,20 mg/g MS, é possível que, os altos níveis detectados nos pericarpos de ambas as espécies de passifloras estudadas estejam relacionados com o fato dos frutos utilizados serem frutos maduros.

O fato dos extratos de folhas de plantas de *P. setacea*, crescidas em casa de vegetação, apresentarem o maior teor de açúcares solúveis totais, valor aproximadamente 30% maior do que o observado em folhas de *P. tenuifila* indica diferenças entre essas espécies quanto ao metabolismo primário. Porém, essa diferença não reverteu em maior produção de metabólitos secundários e atividade antioxidante. Ao contrário, as folhas de *P. tenuifila*, que apresentaram os menores níveis de açúcares solúveis totais, produziram maiores níveis de fenólicos totais e flavonoides, o que é uma demonstração de que, mesmo com níveis menores de açúcares solúveis totais, foi priorizada, nessa espécie, a maior alocação de átomos de carbono para a biossíntese de fenólicos totais e flavonoides nas folhas.

A concentração de açúcares solúveis totais, aproximadamente quatro vezes maior, detectada em folhas de plantas de *P. tenuifila* crescidas em ambiente natural, em relação às folhas coletadas de plantas da casa de vegetação, é decorrência da maior fotossíntese realizada em condições naturais e pode responder pela maior produção de metabólitos secundários e atividade antioxidante observadas no presente trabalho. Liu *et al.* (2011) estudando os impactos do sombreamento e do enriquecimento da intensidade luminosa em folhas de soja (*Glycine max*), não encontraram diferença significativa na concentração de açúcares solúveis totais em folhas que foram submetidas à maior intensidade luminosa, quando comparadas àquelas crescidas em condições naturais. Já quando comparado com folhas submetidas ao sombreamento, os valores obtidos nas folhas crescidas em ambiente natural foram de 20% a 31% maiores, indicando que a intensidade luminosa tem papel fundamental na fotossíntese e, conseqüentemente, na produção de açúcares nos tecidos da planta.

Segundo Taiz & Zeiger (2013), existe uma relação entre a intensidade luminosa e as taxas de assimilação de CO₂ em açúcares nas plantas. No escuro essa taxa é negativa e de acordo com o aumento da intensidade luminosa esse valor vai aumentando até um ponto

ótimo, onde a assimilação de CO₂ é máxima. As folhas crescidas em casa de vegetação estavam sob uma condição de baixa luminosidade, por não haver incidência direta de raios solares, o que acarretou uma menor assimilação de CO₂ e, conseqüentemente, menos açúcares solúveis totais disponíveis para o metabolismo primário e, portanto, menos átomos de carbono alocados para a biossíntese das moléculas do metabolismo secundário. Já as folhas de *P. tenuifila* crescidas em condições naturais realizaram uma fotossíntese ótima, que elevou as concentrações de açúcares solúveis totais e o acúmulo de maiores concentrações de fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante.

Além da intensidade luminosa, Luo & Huang (2010) observaram que a concentração de açúcares solúveis totais em folhas de outras espécies, como a mandioca (*Manihot esculenta*) variou, também, de acordo com a época do ano, obtendo valores entre 30 e 120 mg/g MS, em diferentes meses do ano e esses autores afirmam que a concentração desse metabólito primário nas folhas não depende apenas da intensidade luminosa e da taxa de fotossíntese, mas também da taxa de transporte de solutos, que acontece entre as folhas e as estruturas de reservas ou frutos da planta. No caso, as plantas de *P. tenuifila*, estudadas no presente trabalho e mantidas em casa de vegetação, estavam produzindo considerável quantidade de frutos, no momento da coleta das folhas para a análise, enquanto que as plantas de *P. setacea*, mantidas na mesma condição, estavam em estado vegetativo. Esse fato poderia explicar a menor concentração de açúcares solúveis totais nas folhas de *P. tenuifila*, em que, a taxa de transporte de açúcares das folhas para os frutos e sementes, com certeza estava intensificada em relação às plantas de *P. setacea*, devido à alta demanda metabólica.

Os níveis de açúcares solúveis totais, além de influenciarem a produção de moléculas do metabolismo secundário das plantas, podem determinar o nível de crescimento das mesmas, como demonstrado por Ahmad *et al.* (2008), que observaram que, espécies de plantas, que acumulam maiores concentrações de açúcares solúveis totais em suas folhas, apresentam proporcionalmente uma maior taxa de crescimento. Já Zielinski e colaboradores (2010), estudando a concentração de açúcares solúveis totais em diferentes variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) obtiveram valores entre 20 e 45 mg/g MF em folhas e concluíram que as variações genótípicas, dentro da mesma espécie, permitem que as mesmas apresentem maior capacidade fotossintética e/ou melhores adaptações ao meio, influenciando a produção de açúcares nas folhas da planta.

7.5. Atividade antioxidante dos extratos avaliada através da inibição do DPPH

A alta atividade antioxidante das sementes de *P. tenuifila* e *P. setacea* analisadas no presente estudo, também foi demonstrada por Sozo (2014), porém com valor consideravelmente menor para *Passiflora setacea*, o que pode ter sido devido a variações entre os lotes de sementes analisadas. Esses valores, entretanto, foram considerados altos quando comparados a outras espécies de plantas, como observado por Luzia & Jorge (2010), em extratos metanólicos de sementes de limão galego (*Citrus limon*), que apresentaram inibição de 70,58% do radical DPPH, valor muito parecido com o obtido por Gill *et al.* (2009) estudando sementes de melancia (*Citrullus lanatus*). Já, extrações metanólicas, realizadas por Benites *et al.* (2015) em sementes de fruta-do-conde (*Annona coriacea*) e cortiça amarela (*Annona sylvatica*), apresentaram inibição baixa do DPPH (31,53%; 16,70%, respectivamente). Awika e colaboradores (2003) estudaram a correlação entre a quantidade total de fenólicos em relação à atividade antioxidante do farelo das sementes de sorgo (*Sorghum bicolor*) e obtiveram uma correlação linear alta de $r = 0,96$ entre fenólicos totais e atividade antioxidante através da inibição do DPPH.

O extrato de pericarpo de *P. tenuifila* apresentou maior potencial antioxidante do que o extrato de pericarpo de *P. setacea*. O valor observado para *P. tenuifila* foi alto, também quando comparado com os valores detectados em pericarpos de *P. edulis*, como demonstrado por Zeraik (2010). Esse autor, utilizando um extrato metanólico do pericarpo de *P. edulis* na concentração de 1 mg/ml, obteve uma inibição de 9,10% de DPPH, enquanto que, Cazarin e colaboradores (2014), também realizando uma extração metanólica do pericarpo de *P. edulis*, obtiveram inibição de 32,5% do DPPH. No mesmo estudo, através de uma extração aquosa, o resultado foi superior, inibindo 46,35% do radical DPPH.

Apesar dos níveis de inibição do DPPH de extratos de folhas de plantas de *P. tenuifila* e de *P. setacea*, crescidas em casa de vegetação, terem sido estatisticamente semelhantes, as folhas de *P. tenuifila* apresentaram aproximadamente, o dobro da concentração de compostos fenólicos e quase cinco vezes mais flavonoides, quando comparadas com as folhas de *P. setacea*, o que indica que a atividade antioxidante não foi diretamente proporcional às altas concentrações dessas classes de metabólitos secundários, talvez por não estarem sendo produzidas, nessas condições de cultivo, moléculas antioxidantes eficientes. Já, em condições naturais, as folhas de *P. tenuifila* produziram concentrações de compostos fenólicos, aproximadamente quatro vezes superiores e concentrações de

flavonoides, quase o dobro dos valores observados nas folhas das plantas crescidas em casa de vegetação, o que pode indicar a síntese de diferentes moléculas antioxidantes mais eficientes, podendo explicar assim a maior atividade antioxidante do extrato.

A alta porcentagem de redução do DPPH detectada nos extratos de folhas de *P. tenuifila* crescidas em condições naturais foi superior aos valores obtidos para folhas de *P. edulis*, como demonstrado por Sunitha & Devaki (2009) que, utilizando um extrato metanólico de folhas dessa espécie, na concentração de 500 µg/ml obteve inibição de 35,01% do radical DPPH. No entanto, utilizando a mesma concentração de 500 µg/ml, porém com um extrato etanólico, Martins *et al.* (2015) obtiveram inibição de DPPH de aproximadamente 55%, enquanto que Osma e colaboradores (2013), obtiveram valor superior a 85%. Ambos os estudos foram conduzidos com folhas de *P. edulis*, o que também demonstra a influência do tipo de solvente utilizado na extração, no potencial de inibição do DPPH.

Valores muitos distintos de atividade antioxidante, avaliada através da redução radical DPPH em folhas de espécies de passifloras, são relatados na literatura, no entanto, na grande maioria dos estudos, os elevados valores de inibição do DPPH estão sempre altamente correlacionados com a presença de compostos fenólicos. Rudnicki (2005) também encontrou alta correlação entre atividade antioxidante e fenólicos totais ($r = 0,997$ para *P. alata* e $r = 0,996$ para *P. edulis*), resultado similar ao obtido para *P. setacea*, mas não para *P. tenuifila* ($r = 0,643$). Portanto, é possível supor que a baixa atividade antioxidante dos extratos de folhas de *P. tenuifila* e *P. setacea*, crescidas em casa de vegetação, poderia ser explicada pelas baixas concentrações de compostos fenólicos detectadas em ambas as espécies, em relação às sementes. Em muitos estudos os valores de fenólicos em folhas de espécies de passifloras foram superiores ao encontrados em sementes, porém o valor de atividade antioxidante das folhas sempre foi inferior, levando a crer também que a atividade antioxidante poderia estar relacionada, não apenas à quantidade, mas sim aos tipos de moléculas de compostos fenólicos acumulados.

No presente estudo, as sementes de *P. tenuifila* e *P. setacea* apresentaram as maiores capacidades de redução do DPPH em relação às folhas e pericarpos, apesar de apresentarem concentrações de flavonoides inferiores às encontradas nas folhas de plantas crescidas em casa de vegetação. E no caso de *P. tenuifila* a capacidade de redução do DPPH das sementes foi superior à das folhas de plantas crescidas em condições naturais ($p < 0,01$), mesmo apresentando concentrações mais baixas de compostos

fenólicos e, em especial de flavonoides. Esses resultados, além de indicarem o potencial das sementes como fontes de antioxidantes e para produção de medicamentos ou enriquecimento alimentar, indicam também que a atividade antioxidante, nas sementes, não dependeu de altas concentrações de flavonoides presentes. Já, o fato do pericarpo de *P. tenuifila* ter apresentado alta porcentagem de redução do DPPH, valor seis vezes maior do que em *P. setacea*, poderia ser explicado pelo maior teor de fenólicos, que foi sete vezes maior do que em *P. setacea*.

Um outro fato interessante que parece indicar o baixo nível de envolvimento dos flavonoides na atividade antioxidante foram as porcentagens baixas de redução do DPPH por extratos de folhas das plantas crescidas em casa de vegetação, apesar da alta concentração de flavonoides, em especial nas folhas de *P. tenuifila*, ficando bastante evidente pelas análises de correlação linear entre atividade antioxidante e concentrações de flavonoides em *P. tenuifila* e *P. setacea*, que apresentaram valor negativo ($r = -0,936$) e positivo, mas baixo ($r = 0,321$), respectivamente.

A alta atividade antioxidante do pericarpo de *P. tenuifila* pode estar associada à presença de outros compostos não analisados nesse estudo, que não os compostos fenólicos, como por exemplo, à quantidade de ácido ascórbico presente nos tecidos, que poderia estar desempenhando um papel protetor antioxidante. Portanto, é possível que a atividade antioxidante poderia ser devida a outros grupos de compostos, que não os fenólicos e flavonoides, ou à presença de tipos de moléculas de compostos fenólicos e flavonoides específicas, estando atrelada não apenas à quantidade de compostos fenólicos, mas também ao tipo e à eficiência no mecanismo antioxidativo. É possível, portanto, que os tipos de fenólicos totais e flavonoides acumulados pelas sementes e pelo pericarpo de *P. tenuifila* sejam diferentes, de forma que mesmo tendo teores de flavonoides menores do que as folhas, as sementes e o pericarpo poderiam ter tipos de moléculas mais eficientes como antioxidantes. O mesmo poderia estar acontecendo com as sementes de *P. setacea* em relação às folhas.

Apenas análises mais detalhadas dos tipos de moléculas presentes nos extratos dos diferentes materiais vegetais e dos outros possíveis mecanismos antioxidativos enzimáticos envolvidos poderiam elucidar a natureza dos altos valores de redução do DPPH, nos casos em que não estiveram relacionados com os maiores valores quantitativos de fenólicos totais e flavonoides.

8. CONCLUSÕES

- As espécies de passifloras estudadas apresentaram diferenças nos teores de compostos fenólicos, flavonoides, açúcares solúveis, clorofilas e atividade antioxidante.
- Os níveis mais elevados de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foram encontrados em sementes de ambas as espécies e em folhas de *P. tenuifila* crescidas em condições naturais.
- As sementes de *P. setacea* foram melhores fontes de compostos fenólicos, flavonoides e de atividade antioxidante em relação a sementes de *P. tenuifila*.
- O pericarpo de *P. tenuifila* foi uma melhor fonte de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante, em relação ao pericarpo de *P. setacea*.
- As folhas de *P. tenuifila* crescidas em casa de vegetação foram melhores fontes de flavonoides do que as folhas de *P. setacea* crescidas nas mesmas condições.
- As folhas de *P. tenuifila* crescidas em condições naturais foram as melhores fontes de flavonoides.
- Pericarpos de *P. tenuifila* e *P. setacea* apresentaram os maiores níveis de açúcares solúveis totais em relação as outras estruturas analisadas.
- A quantidade de clorofilas totais em folhas crescidas em casa de vegetação foi maior do que naquelas crescidas em ambiente natural.
- A atividade antioxidante das passifloras mostrou-se altamente relacionada com a presença de compostos fenólicos.
- As espécies de passifloras estudadas são excelentes fontes de compostos bioativos antioxidantes, apresentando grande potencial de exploração dos rejeitos industriais, como os pericarpos e as sementes, pela indústria farmacêutica ou através da produção de alimentos funcionais.

9. REFERÊNCIAS

- AHMAD, K.; KHAN, Z. I.; SHAH, Z. A.; IBRAHIM, M.; MUSTAFA, I.; VALEEM, E. **E. Evaluation of available sugars in plant species indigenous to soone valley (Punjab) Pakistan.** Pak. J. Bot., v. 40, n. 5, p. 1877-1883, 2008.
- AKANBI, B. O.; BODUNRIN, O.D.; OLAYANJU, S. **Phytochemical screening and antibacterial activity of *Passiflora edulis*.** Researcher, v. 3, n. 5, p. 9-12, 2011.
- AL-RIMAWI, F.; ODEH, I.; BISHAR, A.; ABBADI, J.; QABBAJEH, M. **Effect of geographical region and harvesting date on antioxidant activity, phenolic and flavonoid content of olive leaves.** Journal of Food and Nutrition Research, v. 2, n. 12, p. 925-930, 2014.
- ALVES, C. Q.; BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. M.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; LIMA, L. S. **A valiação da atividade antioxidante de flavonóides.** Diálogos e ciência. Revista da rede ensino, v. 5, n. 12, p. 7- 8, 2007.
- ANDERSON, D. **Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage.** Mutation Research v. 350, n. 1, p. 103-108, 1996.
- ARNON, D. I. **Copper enzyme in isolated chloroplast.** Plant Physiology, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.
- AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W.; WU, X.; PRIOR, R. L.; ZAVALLOS, L. C. **Screening methods to measure antioxidante activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products.** J. Agric. Food Chem, v. 51, p. 6657-6662, 2003.
- BENITES, R. S. R.; FORMAGIO, A. S. N.; ARGANDOÑA, E. J. S.; VOLOBUFF, C. R. F.; TREVISAN, L. N. F.; VIEIRA, M. C.; SILVA, M. S. **Contents of constituents and antioxidant activity of seed and pulp extracts of *Annona coriacea* and *Annona sylvatica*.** Braz. J. Biol., v. 75, n. 3, p. 685-691, 2015.
- BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L. M. G. **Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta.** Rev. Nutr., Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- BORSATO, D.; MAIA, E. C. R.; DALL'ANTONIA, L. H.; SILVA, H. C. D.; PEREIRA, J. L. **Kinetics of oxidation of biodiesel from soybean oil mixed with TBHQ: determination of storage time.** Química Nova, v. 35, n. 4, p. 733-737, 2012.
- BRAGA, M. F.; BATISTA, A. D.; JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P.;

- SANTOS, E. C. S.; SANTOS F. C. **Características agronômicas, físicas e químicas de maracujá-alho (*Passiflora tenuiflora* Killip) cultivado no Distrito Federal.** Reunião técnica de pesquisa em maracujazeiro. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 230, 2005.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira.** Brasília: Anvisa, p. 45-48, 88-90, 2011.
- CANTERI, M. H.; SCHEER, A.; PETKOWICZ, C.; GINIES, C.; RENARD, C.; WOSIACKI, G. **Physicochemical composition of the yellow passion fruit pericarp fractions and respective pectic substances.** Journal of Food & Nutrition Research, v. 49, n. 3, 2010.
- CAVALCANTE, L. F.; DIAS, T. J.; NASCIMENTO, R.; FREIRE, J. L. O. **Clorofila e carotenoides em maracujazeiro-amarelo irrigado com águas salinas no solo com biofertilizante bovino.** Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal SP, Volume Especial, p. 699-705, 2011.
- CAZARIN, C. B. B.; SILVA, J. K.; COLOMEU, T. C.; ZOLLNER, R. L.; JUNIOR, M. R. M. **Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*).** Ciência Rural, Santa Maria, v. 44, n. 9, p. 1699-1704, 2014.
- CENKOWSKI, S.; JAYAS, D. S. **Potential of in-field and low temperature drying for reducing chlorophyll contents in canola (*Brassica napus* L).** J. Sci. Food Agric., v. 63, p. 377-383, 1993.
- CENKOWSKI, S.; SOKHANSANJ, S.; SOSULSKI, F. W. **Effect of harvest date and swathing on moisture content and chlorophyll content of canola seed.** Canadian Journal of Plant Science, v. 69, p. 925-928, 1989.
- CERVI, A. C. **Passifloraceae do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*.** Madrid: Fontqueria, XLV, p. 92, 1997.
- CETIN, E. S. **Induction of secondary metabolite production by UV-C radiation in *Vitis vinifera* L. Öküzgözü callus cultures.** Biological Research, p. 37-47, 2014.
- CHERNORMORSKY, S.; SEGELMAN, A.; PORETZ, R.D. **Effect of dietary chlorophyll derivatives on mutagenesis and tumor cell growth.** Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis v. 19, n. 1, p. 313-322, 1999.
- CIGANDA, V.; GITELSON, A.; SCHEPERS, J. **Vertical profile and temporal variation of chlorophyll in maize canopy: quantitative “crop vigor” indicator by**

means of reflectance-based techniques. *Agronomy Journal* v. 100, n. 1, p. 1409-1417, 2008.

CONTRERAS-CALDERÓN, J.; CALDERÓN-JAIMES, L., GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; GARCÍA-VILLANOVA, B. **Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia.** *Food Research International* v. 44 p. 2047–2053, 2011.

COSTA, A. F. S.; COSTA, A. N. C.; VENTURA, J. A.; FANTON, C. J.; LIMA, I. M.; CATEANO, L. C. S., SANTANA, E. N. **Recomendações técnicas para o cultivo do maracujazeiro.** Vitória, ES: Incaper, (Incaper. Documentos, 162), p. 56, 2008.

COSTA, A. M.; CELESTINO, S. M. C.; TEIXEIRA, L. P. **Rede Passitec: desenvolvimento tecnológico para uso funcional das passifloras silvestres.** Planaltina DF, Embrapa Cerrados, 2010.

CRUZ, L. S. **Caracterização física e química da casca, polpa e semente de atemoia ‘Gefner’.** Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Lavras, 2011.

CUNHA, M. A. P.; BARBOSA, L. V.; JUNQUEIRA, N. T. V. Espécies de maracujazeiro. In: LIMA, A. A. (Ed.). **Maracujá, Produção, Aspectos Técnicos.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, (Frutas do Brasil; 15), p. 104, 2002.

DAMIANI, C.; BOAS, E. V. B. V.; ASQUIERI, E. R.; LAGE, M. E.; OLIVEIRA, R. A.; SILVA, F. A.; PINTO, D. M.; RODRIGUES, L. J.; SILVA, E. P.; PAULA, N. R. F. **Characterization of fruits from the savanna: Araça (*Psidium guinnensis* Sw.) and Marolo (*Annona crassiflora* Mart.).** *Ciência e tecnologia de alimentos, Campinas*, v. 31, n. 3, p. 723-729, 2011.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. **Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos.** *Visão Acadêmica* v. 5, n.1, p. 33-40, 2004.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. **Review Passiflora: a review update.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 94, p. 1-23, 2004.

DURIGAN, J. F.; YAMANAKA, L. H. **Aproveitamento de subprodutos da fabricação do suco de maracujá.** In: RUGGIERO, C. *Cultura do maracujazeiro*, Ribeirão Preto: Legis Summa, p. 250, 1987.

FERRARI, R. A.; COLUSSI, F.; AYUB, R. A. **Characterization of by-products of passion fruit industrialization utilization of seeds.** *Revista Brasileira de Fruticultura*,

v. 26, n. 1, p. 101-102, 2004.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. **Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo.** Revista da Associação Médica Brasileira, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FERRERES, F.; SOUSA, C.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; GIL-IZQUIERDO, A. **New C-deoxyhexosyl flavones and antioxidante properties of *Passiflora edulis* leaf extract.** Journal of agricultural and food chemistry, v. 55, p. 10187-93, 2007.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. *Passifloraceae*. In: **Flowering Plants Eudicots.** Springer Berlin Heidelberg, p. 270-281. 2007.

FLORA DO BRASIL. *Passiflora* in: **Flora do Brasil 2020 em construção.** Jardim botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12506>>. Acesso em: 19 Mar. 2017.

FLORA DO BRASIL. *Passiflora setacea* in: **Flora do Brasil 2020 em construção.** Jardim botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12560>>. Acesso em: 16 Abr. 2017.

FLORA DO BRASIL. *Passiflora tenuifila* in: **Flora do Brasil 2020 em construção.** Jardim botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12566>>. Acesso em: 19 Abr. 2017.

FOLKARD, R. **Plant lore, legends and lyrics: Embracing the myths, traditions, superstitions, and folk-lore of the plant kingdom.** London: Sampson low, Marston, Searle, and Rivington, p. 40-63, 1884.

FREIRE, J. L. O.; CAVALCANTE, L. F.; NASCIMENTO, R.; REBEQUI, A. M. **Teores de clorofila e composição mineral foliar do maracujazeiro irrigado com águas salinas e biofertilizante.** Revista de Ciências Agrárias, v. 36, n. 1, p. 57-70, 2013.

FREITAS, J. C. O. **Alterações morfofisiológicas em plantas clonais de *Passiflora alata* submetidas a doses de nitrogênio e níveis de sombreamento.** Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Santa Cruz, 2010.

GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z. E.; RAHMAT, A.; WAHAB, P. E. M.; HALIM, M. R. A. **Effect of Different Light Intensities on Total Phenolics and Flavonoids Synthesis and Anti-oxidant Activities in Young Ginger Varieties (*Zingiber officinale* Roscoe)**. International Journal of Molecular Sciences, v. 11, p. 3885-3897, 2010.

GILL, N.; BANSAL, R.; GARG, M.; SOOD, S.; MUTHURAMAN, A.; BALI, M. **Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and analgesic potential of *Citrullus lanatus* seed extract in rodent model**. The Internet Journal of Nutrition and Wellness. v. 9, n. 2, 2009.

GURNANI, N.; GUPTA, M.; MEHTA, D.; MEHTA, B. K. **Chemical composition, total phenolic and flavonoid contents, and *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of crude extracts from red chilli seeds (*Capsicum frutescens* L.)**. Journal of Taibah University for Science v. 10, p. 462-470, 2016.

HARBORNE J. B.; WILLIAMS, C. A. **Advances in flavonoid research since 1992**. Phytochemistry, v. 55, p. 481–504, 2000.

HEIM, E. K.; TAGLIAFERRO, R. A.; BOBILYA, J. D. **Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships**. Journal of Nutritional Biochemistry v. 13, n. 1, p. 572-584, 2002.

HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. **A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration**. Canadian Journal Botany, v. 57, p. 1332-1334, 1979.

HOEHNE, F. C. **Botânica e agricultura no Brasil (Século XVI)**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, Brasileira v. 71, 5ª Série, p. 410, 1937.

IBGE. **Produção agrícola municipal. Culturas temporárias e permanentes 2015**. Rio de Janeiro. v. 42 p. 1-57, 2015.

JÚNIOR, J. E. L.; COSTA, J. M. C.; NEIVA, J. N. M.; RODRIGUEZ, N. M. **Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal**. Revista Ciência Agronômica, v. 37, n. 1, p. 70-76, 2006.

JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; FALEIRO, F.G.; PEIXOTO, J.R.; BERNACCI, L.C. **Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças**. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 81-106,

2005.

KARIMI, E.; JAAFAR, H. Z. E.; GHASEMZADEH, A.; IBRAHIM, M. H. **Light intensity effects on production and antioxidant activity of flavonoids and phenolic compounds in leaves, stems and roots of three varieties of *Labisia pumila* Benth.** Australian Journal of Crop Science. v. 7, n. 7, p. 1016-1023, 2013.

KILLIP, E. P. **The american species of Passifloraceae.** Publication Field Museum of Natural History - Botanical Series 19 n. 1-2, p. 1-613, 1938.

KIM, D.; LEE, K. W.; LEE, H. J.; LEE, C. Y. **Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals.** J. Agric. Food Chem. v. 50, n. 13, p. 3713-3717, 2002

KUTI, J. O.; KONURU, H. B. **Antioxidant Capacity and Phenolic Content in Leaf Extracts of Tree Spinach (*Cnidioscolus* spp.).** J. Agric. Food Chem. v. 52, p. 117–121, 2004.

LARA, F. M.; JUNIOR, A. L. B; BARBOSA, J. C. **Preferência alimentar de Dione juno juno (Cramer) por genótipos de maracujazeiro e avaliação do uso de extratos aquosos.** Sci. agric., Piracicaba, v. 56, n. 3, p. 665-671, 1999.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. **Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy.** Current Protocols in Food Analytical Chemistry, F4.3.1-F4.3.8, 2001.

LIMA, A. A. Introdução. In: **Maracujá, Produção, Aspectos técnicos.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 09. 2002.

LIU, B.; LI, Y.; LIU, X.; WANG, C.; JIN, J.; HERBERT, S. J. **Lower total soluble sugar in vegetative parts of soybean plants are responsible for reduced pod number under shading conditions.** Australian Journal of Crop Science, v. 5, n. 13, p. 1852-1857, 2011.

LUO, X.; HUANG, Q. **Relationships between leaf and stem soluble sugar content and tuberous root starch accumulation in Cassava.** Journal of Agricultural Science, v. 3, n. 2, p. 64-72, 2010.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. **Potencial antioxidante de extratos de sementes de limão (*Citrus limon*).** Ciência e tecnologia de alimentos, Campinas, v. 30, n. 2, p. 489-493, 2010.

- MADOGLIO, F. A. **Investigação fitoquímica das partes aéreas de *Passiflora alata* Curtis**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. 2011.
- MAGINA, M. D. A. **Estudo fitoquímico e biológico de espécies do gênero *Eugenia***. Tese de doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina. 2008.
- MANTOVANI, J. H. **Efeito do armazenamento em diferentes condições sobre a germinação de sementes de Ipê-amarelo (*Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex DC.) Standl. Bignoniaceae)**. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.
- MARANHÃO, C. M. C. **Caracterização física, físico-química e química do fruto da aceroleira (*Malpighia emarginata* DC), variedade Okinawa, durante o seu desenvolvimento**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal da Paraíba, 2010.
- MARQUES, I. X.; SAMPAIO, L. R. V.; SILVA, B.A.S.; SOUSA, J. R.; SOUZA, M.C.M.; GONÇALVES, L.R.B. **Estudo da extração e acilação enzimática de flavonoides obtidos a partir da casca de *Passiflora edulis***. XI congresso brasileiro de engenharia química em iniciação científica, Campinas, Unicamp, 2015.
- MARTINS, C. F. R.; SALLES, B. C. C.; BRIGAGÃO, M. R. P. L.; RODRIGUES, M. R.; FERREIRA, E. B.; DUARTE, S. M. S.; PAULA, F. B. A. **Ethanollic extract of *Passiflora edulis* Sims leaves inhibits protein glycation and restores the oxidative burst in diabetic rat macrophages after *Candida albicans* exposure**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 51, n. 4, p. 869-878, 2015.
- MASTRO-DURÁN, R.; BORJA-PADILLA, R. **Antioxidant activity of natural sterols and organic acids**. Grasas y Aceites, v. 44, n. 3, p. 208-212, 1993.
- MELO, E.; MACIEL, M.; LIMA, V.; LEAL, F.; CAETANO, A.; NASCIMENTO, R. **Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas**. Ciênc. Tecnol. Aliment., v. 26, n. 3, p. 639-644, 2006.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção**. Diário Oficial. Portaria nº443, de 17 de dezembro de 2014.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 02 DE 13 DE MAIO DE 2014**. Brasília, 2014.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **MONOGRAFIA DA ESPÉCIE *Passiflora alata* (MARACUJÁ-DOCE)**. Brasília, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **MONOGRAFIA DA ESPÉCIE *Passiflora incarnata* LINNAEUS (MARACUJÁ-VERMELHO)**. Brasília, 2015.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção**. Diário Oficial. Portaria nº443, de 17 de dezembro de 2014.

OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônômico. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 143–158, 2005.

OSMA, J. A.; MALDONADO, M. E.; CHAMORRO, N. L.; VARELA, S. S. A.; LANDÁZURI, P. **Antioxidant and proliferative activity of ethanolic and aqueous extracts from leaves and fruits juice *Passiflora edulis***. *Perspectivas en nutrición humana*, v. 15, n. 1, p. 13-25, 2013.

OZAROWSKI, M.; PASZEL-JAWORSKA, A.; ROMANIUK, A.; RYBCZYNSKA, M.; KEDZIA, B.; HOLDERNA-KEDZIA, E.; GRYSZCZYNSKA, A.; THIEM, B. **Evaluation of cytotoxic activity of leaf and callus culture of *Passiflora sp.* extracts in human acute lymphoblastic leukemia cell lines and antibacterial properties against *Staphylococcus aureus***. XXV Polish-German Anniversary Symposium Poznan-Halle” Perspectives and Challenges in Medicine, 2013.

PAIVA, R. **Leite com Maracujá**. Revista Globo Rural, Viçosa, p. 9-15, 1998.

PELAYO, R. D.; GUERRERO, L. G.; MÉNDEZ, D. H. **Chlorophyll and carotenoid pigments in the peel and flesh of comercial apple fruit varieties**. *Food research international*, v. 65, p. 272-281, 2014.

PAULA, M. S. **Diversidade genética e reação de *Passiflora sp.* a *Meloidogyne incognita* e a *Meloidogyne javanica***. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília. 2006.

PERDOMO, I. C. **Produção de fenólicos, flavonoides e potencial antioxidante de extrato de calos de *Passiflora setacea* e *Passiflora tenuifila* (Passifloraceae) cultivados *in vitro***. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

PEREIRA, C. A. M.; YARIWAKE, J. H.; MCCULLAGH, M. **Distinction of the C-glycosylflavone isomer pairs orientin/isoorientin and vitexin/isovitexin using HPLC-MS exact mass measurement and in- source CID**. *Phytochemical Analysis*, v. 16, p.

295-301, 2005.

PINELI, L. L. O.; RODRIGUES, J. S. Q.; COSTA, A. M.; LIMA, H. C.; CHIARELLO, M. D.; MELO, L. **Antioxidants and sensory properties of the infusions of wild passiflora from Brazilian savannah: potential as functional beverages.** J. Sci. Food Agric., 2014.

RAHMAN, I.; BISWAS, S. K.; KIRKHAM, P. A. **Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols.** Biochemical pharmacology, v. 72, n. 11, p. 1439-1452, 2006.

RAHMAN, T.; KARIM, S.; LABU, Z. K. **Quantification of total tannin, flavonoid contents and pharmacognostic study of the seeds of *Swietenia mahagoni* (Linn.).** Journal of Coastal Life Medicine, v. 4, n. 12, p. 961-964, 2016.

RAMAIYA, S. D.; BUJANG, P. S.; ZAKARIA, M. H. **Assessment of Total Phenolic, Antioxidant, and Antibacterial Activities of *Passiflora* Species.** The Scientific World Journal, 2014.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. **Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos.** Química Nova, p. 755-760, 2006.

RATNAM, D. V.; ANKOLA, D. D.; BHARDWAJ, V. SAHANA, D. K.; KUMAR, M. N. **Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective.** Journal of controlled release, v. 113, n. 3, p. 189-207, 2006.

RAUHA, J. P.; REMES, S.; HEINONEN, M.; HOPIA, A.; KAHKONEN, M.; KUJALA, T.; PIHLAJA, K.; VUORELA, H.; VUORELA, P. **Antimicrobial effects of finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds.** International Journal of Food Microbiology, v. 56, n. 1, p. 3-12, 2000.

RAZIA, M.; KARITHGA, V.; BERNALA, W.; SHAVISHA, L. P. E.; BANU, S. S. **In vitro antioxidant and antibacterial activity of leaf extract of *Passiflora ligularis*.** World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v. 3, n. 3, p. 1124-1129, 2014.

REISCHE, D. W.; LILLARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. **Antioxidants.** In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. **Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology,** Nova Iorque, Ed. 2, p. 489-516, 2002.

RUDNICKI, M. **Propriedades antioxidantes de extratos de *Passiflora alata* Dryander e de *Passiflora edulis* Sims.** Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio

grande do Sul. 2005.

SAKATA, K.; YAMAMOTO, K.; ISHIKAWA, H.; YAGI, A.; ETOH, H.; INA, K. **Chlorophyllone-A, a new pheophorbide-A related compound isolated from *Ruditapes philippinarum* as an antioxidative compound.** Tetrahedron Letters v. 31, n. 8, p. 1165-1168, 1990.

SANTOS, F. C.; RAMOS, J. D.; SANTOS, F. C.; LIMA, L. C. O.; JUNQUEIRA, K. P.; REZENDE, J. C. **Características físico-químicas do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea*.** Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro, v. 4, p. 143-146, 2005.

SARAVANAN, S.; PARIMELAZHAGAN, T. **Total phenolic content, free radical scavenging and antimicrobial activities of *Passiflora subpeltata* seeds.** Journal of Applied Pharmaceutical Science, v. 3, p. 67-72, 2013.

SCHIAVON, M.; MORO, I.; PILON-SMITS, E. A. H.; MATOZZO, V.; MALAGOLI, M.; VECCHIA, F. D. **Accumulation of selenium in *Ulva* sp. And effects on morphology, ultrastructure and antioxidante enzymes and metabolites.** Aquatic toxicology, p. 222-231, 2012.

SESAN, T. E.; SÂRBU, A.; SMARANDACHE, D.; OANCEA, F.; OANCEA, A.; SAVIN, S.; TOMA, A.; STEFAN, L.; NEGRU, G.; BIRA, A. F.; VLASCEANU, G.; CHIUREA, M.; JECU, L.; VASILESCU, G.; POMOHACI, C. M. **Botanical and phytochemical approach on *Passiflora* spp. – New nutraceutical crop in Romania.** J. Plant Develop. Romênia v. 23, p. 97-126, 2016.

SIDDIQUI, Z.; MUJIB, A.; MAHMOODUZZADAR, A. ***In vitro* Production of Secondary Metabolites Using Elicitor in *Catharanthus roseus*: A Case Study.** Crop Improvement, p. 401-419, 2013.

SIES, H., STAHL, W. **Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants.** American Journal of Clinical Nutrition, Bethesda, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.

SIES, H. **Strategies of antioxidant defence. Review.** European Journal of Biochemistry, Berlin, v. 215, n. 2, p. 213- 219, 1993.

SIMIRGIOTIS, M. J.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; BÓSQUEZ, J.; KENNELLY, E. J. **The *Passiflora tripartita* (Banana Passion) Fruit: A Source of Bioactive**

Flavonoid C-Glycosides Isolated by HSCCC and Characterized by HPLC–DAD–ESI/M. *Molecules*, v. 18, p. 1672-1692, 2013.

SINCLAIR, W. B. **The grapefruit. Its composition, physiology and products.** University of California p. 202-206, 1972.

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

SOONG, Y-Y.; BARLOW, P. J.; **Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds.** *Food chemistry*, v. 88, p. 411-417. 2004.

SOUSA, J. R.; FARIAS, M. Y. V.; LEMOS, C. M. G. F.; SILVA, J. A.; SOUZA, M. C. M.; GONÇALVES, L. R. B. **Avaliação da casca de *Passiflora edulis* como fonte de flavonoides.** XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Florianópolis, 2014.

SOUZA, J. S. I.; MELETTI, L. M. M. **Maracujá: Espécies, variedades, cultivo.** Piracicaba, FEALQ, p. 179, 1997.

SOUZA, G. S.; SANTOS, A. R.; SILVA, J. S.; FERREIRA, D. R. **Teores de pigmentos fotossintéticos, taxa de fotossíntese e estrutura de cloroplastos de plantas jovens de *Mikania laevigata* Schultz bip. ex baker (guaco) cultivadas sob malhas coloridas.** *Enciclopédia Biosfera, Goiânia*, v. 7, n. 12, p. 1, 2011.

SOZO, J. S. **Perfis de metabólitos secundários e atividade antioxidante de frutos, sementes e calos cultivados in vitro de *Passiflora setacea* e *Passiflora tenuifila* (Passifloraceae).** Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

STREIT, M. N.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HEEKTHEUER, L. H. H. **As clorofilas.** *Ciência Rural* v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

SUNITHA, M.; DEVAKI, K. **Antioxidant activity of *Passiflora edulis* Sims leaves.** *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 71, p. 310-311, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 5a ed. Porto Alegre, Artmed. p. 918, 2013.

TABASUM, S.; KHARE, S.; JAIN, K. **Spectrophotometric quantification of total phenolic, flavonoid, and alkaloid contents of *Abrus precatorius* L. seeds.** *Asian J Pharm Clin Res*, v. 9, Issue 2, p. 371-374, 2016.

TIVERON, A. P.; MELO, P. S.; BERGAMASCHI, K. B.; VIEIRA, T. M.; REGITANO-

- D'ARCE, M. A.; ALENCAR, S. M. **Antioxidant activity of Brazilian vegetables and its relation with phenolic composition**. International Journal of Molecular Sciences, v.13, n.7, p. 8943-8957, 2012.
- ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. **Passiflora: passionflowers of the world**. Portland, Timber Press, p. 432, 2004.
- VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic compound biochemistry**. Springer, p. 1400, 2009.
- VIEIRA, G. P.; **Compostos fenólicos, capacidade antioxidante e alcaloides em folhas e frutos (pericarpo, polpa e sementes) de passifloras spp**. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo. 2013.
- WOLFALT, M. R. **Calos de passifloras silvestres: indução, caracterização morfo-histológica, metabólica e ultraestrutural**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.
- WONDRACEK, D. C. **Caracterização e diversidade genética de acessos de maracujá do cerrado com base no perfil de carotenóides**. Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília, 2008.
- ZACARIAS, A. A.; MORESCO, H. H.; HORST, H.; BRIGHENTE, I. M. C.; MARQUES, M. C. A.; PIZZOLLATI, M. G. **Determinação do teor de fenólicos e flavonóides no extrato e frações de *Tabebuia heptaphylla***. In: 30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2007.
- ZANELLA, F.; SONCELA, R.; LIMA, A. L. S. **Formação de mudas de maracujazeiro “amarelo” sob níveis de sombreamento em Ji-Paraná/RO**. Ciênc. Agrotec., Lavras, v. 30, n. 5, p. 880-884, 2006.
- ZERAIK, M. L. **Estudo analítico dos flavonóides dos frutos do maracujá (*Passiflora edulis Sims f. Flavicarpa Degener*)**. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, 2010.
- ZERAIK, M. L.; PEREIRA, C. A.; ZUIN, V. G.; YARIWAKE, J. H. **Maracujá: um alimento funcional**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 20, n. 3, p. 459-471, 2010.
- ZIBADI, S.; FARID, R.; MORIGUCHI, S.; LU, Y.; FOO, L.; TEHRANI, P. **Oral administration of purple passion fruit peel extract attenuates blood pressure in female spontaneously hypertensive rats and humans**. Nutrition Research v. 27, p. 408–

416, 2007.

ZIELINSKI, R. P.; REFATTI, R.; BORGES, G. D. S.; ZANELLA, J.; WACLAWOVSKY, A. J. **Relação entre açúcares totais e redutores em folhas e entrenós em cana-de-açúcar.** Sistemas de produção agropecuária, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2010.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (org). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed UFRGS/Ed. UFSC, p. 576-614, 2003.