

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Mariana Toledo Clemente Campos**

**Espectroscopia Raman aplicada ao estudo de pigmentos de vegetais (legumes e  
frutas)**

Juiz de Fora

2024

**Mariana Toledo Clemente Campos**

**Espectroscopia Raman aplicada ao estudo de pigmentos de vegetais  
(legumes e frutas)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Química. Área de concentração: Química.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Cappa de Oliveira

Coorientadora: Dra. Lenize Fernandes Maia

Juiz de Fora

2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Campos, Mariana Toledo Clemente .

Espectroscopia Raman aplicada ao estudo de pigmentos de vegetais (legumes e frutas) / Mariana Toledo Clemente Campos. -- 2024.

147 f.

Orientador: Luiz Fernando Cappa de Oliveira

Coorientadora: Lenize Fernandes Maia

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química, 2024.

1. Espectroscopia Raman. 2. Pigmentos vegetais. 3. Carotenoides. 4. Flavonoides. I. Oliveira, Luiz Fernando Cappa de, orient. II. Maia, Lenize Fernandes, coorient. III. Título.

**Mariana Toledo Clemente Campos**

**Espectroscopia Raman aplicada ao estudo de pigmentos de vegetais (legumes e frutas)**

Tese apresentada ao  
Programa de Pós-  
Graduação em  
Química  
da Universidade  
Federal de Juiz de  
Fora como requisito  
parcial à obtenção do  
título de Doutora em  
Química. Área de  
concentração: Química.

Aprovada em 18 de outubro de 2024.

BANCA EXAMINADORA

**Prof. Dr. Luiz Fernando Cappa de Oliveira** - Orientador  
Universidade Federal de Juiz de Fora

**Dra. Lenize Fernandes Maia** - Coorientadora  
Universidade Federal de Juiz de Fora

**Prof. Dr. Rômulo Augusto Ando**  
Universidade de São Paulo

**Prof. Dr. Claudio Luis Donnici**  
Universidade Federal de Minas Gerais

**Profa. Dra. Renata Diniz**  
Universidade Federal de Minas Gerais

**Profa. Dra. Mara Rubia Costa Couri**  
Universidade Federal de Juiz de Fora

Juiz de Fora, 10/09/2024.



Documento assinado eletronicamente por **CLAUDIO LUIS DONNICI, Usuário Externo**, em 18/10/2024, às 18:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Mara Rubia Costa Couri, Professor(a)**, em 18/10/2024, às 18:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lenize Fernandes Maia, Usuário Externo**, em 18/10/2024, às 18:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Fernando Cappa de Oliveira, Professor(a)**, em 18/10/2024, às 18:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Diniz, Usuário Externo**, em 18/10/2024, às 18:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rômulo Augusto Ando, Usuário Externo**, em 18/10/2024, às 18:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf ([www2.ufjf.br/SEI](http://www2.ufjf.br/SEI)) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1978231** e o código CRC **77A58CA5**.

Dedico este trabalho a todos que estiveram ao meu lado durante esta árdua jornada, em especial à minha mãe, meu pai (*in memoriam*) e ao meu companheiro, José Rodolfo.

## AGRADECIMENTOS

Inicio agradecendo à Deus, que me deu forças e capacitou durante estes anos desafiadores, de muito estudo, esforço e dedicação. Tudo que tenho e que sou eu devo à Ti.

Agradeço à minha família, em especial à minha mãe, Rosely, e ao meu namorado, José Rodolfo, por me incentivar, apoiar e ser meu refúgio durante todos estes anos. Obrigada por toda paciência e amor.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Fernando Cappa de Oliveira, e à minha coorientadora, Dra. Lenize Fernandes Maia, por todos estes anos de convívio. Obrigada pela disponibilidade, apoio, por todo conhecimento compartilhado e por não me deixarem desistir. Vocês sempre serão meus exemplos de profissionais.

Aos que colaboraram de alguma forma para a realização deste trabalho, em especial, à Prof. Dra. Jelena Popović-Djordjević, Prof. Dr. Howell G.M. Edwards e ao M.Sc. Rafael de Oliveira, pela ajuda com as sínteses das nanopartículas. Obrigada pela disponibilidade e conhecimento transmitido.

Agradeço ao Laboratório de Espectroscopia Molecular, LEM, do Instituto de Química da USP, em especial ao prof. Dr. Rômulo Augusto Ando, por me receber e pela infraestrutura cedida.

Agradeço aos meus amigos, em especial aos companheiros do laboratório NEEM, por todos esses anos de parceria e de muitos cafés compartilhados. Obrigada pela amizade e por tornarem esta jornada mais leve.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química, obrigada por toda atenção e ajuda durante estes anos. Agradeço também aos professores Dr. Luiz Antônio Sodré Costa, Dra. Mara Rubia Costa Couri, Dra. Priscila de Faria Pinto, Dra. Renata Diniz, Dr. Claudio Luis Donicci e Dr. Rômulo Augusto Ando, membros da banca de Qualificação e Defesa, pelos conselhos, sugestões e interesse em contribuir para o desenvolvimento desta tese.

Agradeço as agências de fomento, CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo financiamento que possibilitou a realização deste trabalho e a Universidade Federal de Juiz de Fora, onde cursei toda minha trajetória acadêmica.

Finalizo com uma frase que certo dia ouvi, “tão certo quanto dizer que pessoas precisam de Deus, é dizer que pessoas precisam de pessoas”. Obrigada, mais uma vez, a todos vocês que ajudaram a tornar esse sonho realidade.



"Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais evidente fica nossa ignorância". (Kennedy, 1962)

## RESUMO

Neste trabalho, a espectroscopia Raman foi utilizada para identificar compostos presentes em diferentes estágios de maturação do exocarpo de jiló, de dois cultivares de banana ('prata' e 'nanica'), de pimentões, de diversas variedades de pimentas da família Solanaceae, de pimenta rosa (Anacardiceae) e de pimenta-do-reino branca e preta (Piperaceae). Também foram caracterizadas por espectroscopia Raman as substâncias presentes em brácteas de *Euphorbia pulcherrima*. As análises espectrais Raman dos exocarpos de jiló e bananas mostraram bandas atribuídas a ácidos fenólicos, flavonoides, carotenoides e ácidos graxos. Durante a maturação do jiló, alterações no perfil espectral foram observadas principalmente no conteúdo de carotenoides. A chalcona naringenina e o  $\beta$ -caroteno foram sugeridos como responsáveis pela cor vermelho-alaranjada do jiló maduro. Na banana, variações na composição química foram mais evidentes no cultivar 'prata', principalmente quanto ao conteúdo de flavonoides e ácidos fenólicos. A análise *in situ* de pimentas da família Solanaceae revelou bandas características de compostos fenólicos, carotenoides, ácidos graxos e alcaloides, como a capsaicina. Nas pimentas malagueta, habanero, biquinho e karneval vermelha, foi observado deslocamento das bandas de estiramento  $\nu(\text{C}=\text{C})$  dos carotenoides para menores números de onda e intensificação das bandas durante o amadurecimento. Nos pimentões, o estágio de maturação impactou significativamente o perfil espectral, independentemente do método de cultivo. Na pimenta rosa, as análises das cascas e sementes em diferentes estágios de maturação não mostraram mudanças significativas. No entanto, foram observadas bandas atribuídas às antocianinas, como a pelargonidina, sugerindo que esses flavonoides são responsáveis pela coloração das cascas. As análises da pimenta-do-reino preta e branca revelaram bandas características principalmente atribuídas à piperina. O assinalamento das bandas Raman foi proposto através de comparação com dados da literatura e com os espectros obtidos pelo método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT). A soma dos espectros teóricos foi utilizada para simular o perfil espectral e a contribuição de cada substância nos espectros experimentais. Nas brácteas de *Euphorbia pulcherrima*, foram identificadas bandas características de polifenóis, carotenoides e ácidos graxos. As brácteas verdes apresentaram maior intensidade das bandas atribuídas aos carotenoides, enquanto as brácteas vermelhas, rosas e amarelas apresentaram bandas de polifenóis mais intensas. As brácteas brancas mostraram ausência de bandas características dos

carotenoides. As cianidinas e pelargonidinas foram identificadas como as principais antocianinas, responsáveis pela variação na coloração das brácteas. Além disso, a composição química dos extratos brutos das brácteas verdes e vermelhas interferiu na eficácia das nanopartículas de prata (AgNP) sintetizadas, destacando a importância da espectroscopia Raman na detecção de compostos bioativos para o desenvolvimento de metodologias sustentáveis e inovadoras na nanotecnologia.

**Palavras-chave:** espectroscopia Raman; pigmentos vegetais; carotenoides; flavonoides.

## ABSTRACT

In this work, Raman spectroscopy was used to identify compounds present in different stages of ripening of the exocarp of scarlet eggplant, two banana cultivars ('prata' and 'nanica'), bell peppers, various varieties of peppers from the Solanaceae family, pink pepper (Anacardiaceae), and white and black pepper (Piperaceae). Raman spectroscopy was also used to characterize the substances present in bracts of *Euphorbia pulcherrima*. Raman spectral analyses of j scarlet eggplant and banana exocarps showed bands attributed to phenolic acids, flavonoids, carotenoids, and fatty acids. scarlet eggplant ripening, changes in the spectral profile were observed mainly in the carotenoid content. Naringenin chalcone and  $\beta$ -carotene were suggested to be responsible for the red-orange color of ripe scarlet eggplant. In bananas, variations in chemical composition were more evident in the 'prata' cultivar, mainly regarding the content of flavonoids and phenolic acids. In situ analysis of peppers from the Solanaceae family revealed characteristic bands of phenolic compounds, carotenoids, fatty acids, and alkaloids such as capsaicin. In malagueta, habanero, biquinho, and red karneval peppers, a shift of the  $\nu(\text{C}=\text{C})$  stretching bands of carotenoids to lower wavenumbers and band intensification was observed during ripening. In bell peppers, the ripening stage significantly impacted the spectral profile, regardless of the cultivation method. In pink pepper, analyses of the peel and seeds at different ripening stages did not show significant changes. However, bands attributed to anthocyanins, such as pelargonidin, were observed, suggesting that these flavonoids are responsible for the color of the peel. Analyses of black and white pepper revealed characteristic bands mainly attributed to piperine. The assignment of Raman bands was proposed by comparison with literature data and with spectra obtained by the Density Functional Theory (DFT) method. The sum of the theoretical spectra was used to simulate the spectral profile and the contribution of each substance in the experimental spectra. In *Euphorbia pulcherrima* bracts, characteristic bands of polyphenols, carotenoids, and fatty acids were identified. Green bracts showed a higher intensity of bands attributed to carotenoids, while red, pink, and yellow bracts showed more intense polyphenol bands. White bracts showed the absence of characteristic bands of carotenoids. Cyanidins and pelargonidins were identified as the main anthocyanins, responsible for the variation in bract color. Furthermore, the chemical composition of the crude extracts of green and red bracts interfered with the efficacy of synthesized silver

nanoparticles (AgNP), highlighting the importance of Raman spectroscopy in the detection of bioactive compounds for the development of sustainable and innovative methodologies in nanotechnology.

**Keywords:** Raman spectroscopy; plant pigments; carotenoids; flavonoids.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1- Estruturas químicas dos carotenos, licopeno e $\beta$ - caroteno, e xantofilas, zeaxantina e violaxantina.....	22
Figura 1.2- Designação e numeração dos grupos finais. ....	22
Quadro 1.1- Nomes triviais e sistemáticos de alguns carotenoides.....	23
Figura 1.3- Principais vias do metabolismo secundário e suas interligações.....	24
Figura 1.4- Subgrupos de compostos fenólicos e algumas substâncias representativas. 26	
Figura 1.5- Estrutura geral dos flavonoides e suas principais subclasses. ....	27
Figura 1.6- Modos de vibração molecular. Os sinais + e - indicam movimentos para dentro e para fora do plano da figura, respectivamente. ....	29
Figura 1.7 Ilustração dos espalhamentos (A) Rayleigh e Raman (B) Stokes e (C) anti-Stokes. ....	33
Figura 2.1- Estruturas de alguns dos carotenoides, ácidos fenólicos e flavonoides biossintetizados em jilós e bananas. ....	41
Figura 2.2- Jiló em cada um dos quatro estágios de maturação, analisados em (A) 1064 nm e (B) 532 nm; bananas analisadas em 1064 nm (C) 'prata', (D) 'nanica' e 532 nm (E) 'prata' e (F) 'nanica'. ....	42
Figura 2.3- Espectros Raman médio de cada um dos quatro estágios de maturação do jiló (E1 a E4), obtidos com linha de excitação em (A) 1064 nm e (B) 532 nm.....	46
Figura 2.4- Espectros Raman médios dos extratos etanólicos, dos quatro estágios de maturação (E1 a E4) do jiló, obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	48
Figura 2.5- Espectro eletrônico dos extratos etanólicos dos quatro estágios de maturação (E1 a E4) do jiló. ....	50
Figura 2.6- Espectros Raman médios dos dois estágios de maturação da banana: (A) 'prata'- verde (E-VP) e madura (E-MP), e (B) 'nanica'- verde (E-VN) e madura (E-MN), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.....	52
Figura 2.7- Espectros Raman médios dos dois estágios de maturação da banana: (A) 'prata'- verde (E-VP) e madura (E-MP), e (B) 'nanica'- verde (E-VN) e madura (E-MN), obtidos com linha de excitação em 532 nm.....	54
Figura 2.8- Espectros Raman médios dos extratos etanólicos nos dois estágios de maturação da banana: (A) 'prata'- verde (E-VP) e madura (E-MP), e (B) 'nanica'- verde (E-VN) e madura (E-MN), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.....	56

Figura 2.9- Espectro eletrônico dos extratos etanólicos dos dois estágios de maturação da banana: (A) ‘prata’- verde (E-VP) e madura (E-MP), e (B) ‘nanica’- verde (E-VN) e madura (E-MN). .....	57
Figura 3.1- Estruturas químicas dos carotenoides (capsantina e capsorubina) e alcaloides (capsaicina e piperina) presentes em pimentas. ....	63
Figura 3.2- Pimentas em dois estágios de maturação (A) malagueta, (B) habanero, (C) “biquinho”, karneval (D) vermelha, (E) laranja, (F) amarela e pimentões (G) convencional e (H) orgânico, analisados com linha de excitação em 1064 nm. ....	65
Figura 3.3- Pimentas (A) Rosa em dois estágios de maturação, (B) preta e (C) branca, analisadas com linha de excitação em 1064 nm. ....	66
Figura 3.4- Estruturas químicas otimizadas dos compostos fenólicos (quercetina, ácido clorogênico e pelargonidina), alcaloides (capsaicina e piperina), carotenoide (capsantina) e ácido graxo (ácido linoleico). ....	67
Figura 3.5- Exemplo da posição dos pontos analisados in situ na pimenta karneval amarela (Solanaceae). ....	69
Figura 3.6- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta malagueta (E1-Ml e E2-Ml), obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	71
Figura 3.7- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta habanero (E1-Hb e E2-Hb), obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	72
Figura 3.8- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta biquinho (E1-Bq, E2-Bq e E2-BqP), obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	73
Figura 3.9- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta Karneval vermelha (E1-KrV e E2-KrV), laranja (E1-KrL e E2-KrL) e amarela (E1-KrA e E2-KrA), obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	74
Figura 3.10- Espectros Raman dos pimentões em diferentes estágios de maturação de cultivo (A) convencional e (B) orgânico, obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	78
Figura 3.11- Espectros Raman (A) calculados de alguns compostos presentes nas pimentas da família Solanaceae e duas diferentes somas dos espectros e (B) dois estágios de maturação da pimenta malagueta (E1-Ml e E2-Ml), obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	80
Figura 3.12- Espectros Raman das (A) cascas (E1-CRs, E2-CRs E2-CRsP) e (B) sementes (E1-SRs, E2-SRs E2-SRsP) da pimenta rosa em dois estágios de maturação, obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	84

Figura 3.13- Espectros Raman dos extratos brutos dos frutos de pimenta rosa, etanólico (Et-(E2-RsP)) e acetônico (Ac-(E2-RsP)), obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	86
Figura 3.14- Espectro eletrônico dos extratos brutos dos frutos de pimenta rosa, etanólico (Et-(E2-RsP)) e acetônico (Ac-(E2-RsP)). ....	86
Figura 3.15- Espectros Raman (A) calculados de alguns compostos presentes na pimenta rosa e a soma dos espectros e das (B) cascas (E1-CRs, E2-CRs E2-CRsP) da pimenta rosa em dois estágios de maturação, obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	88
Figura 3.16- Espectros Raman da pimenta-do-reino preta (PRP) e branca (PRB), obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	91
Figura 3.17- Espectros Raman (A) calculados de alguns compostos presentes na pimenta-do-reino e a soma dos espectros, (B) da pimenta-do-reino preta (PRP) e branca (PRB), obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	92
Figura 4.1- Brácteas de <i>E. pulcherrima</i> analisadas <i>in situ</i> . ....	97
Figura 4.2- Espectros Raman <i>in situ</i> das brácteas de <i>E. pulcherrima</i> em diferentes cores (verde, vermelha, rosa, amarela e branca), obtidos com linha de excitação em (A) 1064 nm e (B) 532 nm. ....	102
Figura 4.3- Espectros Raman dos extratos das brácteas de <i>E. pulcherrima</i> (verdes-Vd, vermelhas-V e amarelas-A), com diferentes solventes (A) acetona (Ac) e (B) etanol/metanol/água (1:1:1 v/v) (EtMeH <sub>2</sub> O), obtidas com linha de excitação em 1064 nm. ....	104
Figura 4.4- Espectros na região do UV-Vis dos extratos das brácteas de <i>E. pulcherrima</i> (verdes, vermelhas e amarelas), com diferentes solventes, acetona (Ac) e etanol/metanol/água (1:1:1 v/v) (EtMeH <sub>2</sub> O). ....	107
Figura 4.5- Espectros de absorção/extinção das tentativas de sínteses verdes de AgNPs com os extratos de <i>E. pulcherrima</i> . ....	108
Figura 4.6- Espectros SERS das tentativas de sínteses verdes de AgNPs com os extratos de <i>E. pulcherrima</i> , obtidos com linha de excitação em 633 nm. ....	109
Figura 4.7- Espectro Raman ressonante intensificado por superfície SERRS do cristal violeta. ....	110
Figura A.1- Espectros Raman de duas réplicas de jiló nos quatro estágios de maturação (E1 a E4), obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	131



Figura A.2- Espectros Raman de duas réplicas da banana em dois estágios de maturação: (A) ‘prata’- verde (E-VP) e madura (E-MP), e (B) ‘nanica’- verde (E-VN) e madura (E-MN), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.....	132
Figura B.1- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta malagueta (E1-MI e E2-MI), obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	133
Figura B.2- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta habanero (E1-Hb e E2-Hb), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.....	133
Figura B.3- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta biquinho (E1-Bq, E2-Bq e E2-BqP), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.....	134
Figura B.4- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta Karneval vermelha (E1-KrV e E2-KrV), laranja (E1-KrL e E2-KrL) e amarela (E1-KrA e E2-KrA), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.....	134
Figura B.5- Espectros Raman dos pimentões em diferentes estágios de maturação de cultivo (A) convencional e (B) orgânico, obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	135
Figura B.6- Espectros Raman das (A) cascas (E1-CRs, E2-CRs E2-CRsP) e (B) sementes (E1-SRs, E2-SRs E2-SRsP) da pimenta rosa em dois estágios de maturação, obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	135
Figura B.7- Espectros Raman da pimenta-do-reino preta (PRP) e branca (PRB), obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	136
Figura B.8- Espectro Raman do padrão de ácido linoleico, obtido com linha de excitação em 1064 nm. ....	136

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nos quatro estágios de maturação do jiló, obtidas linha de excitação em 1064 nm e 532 nm.....	47
Tabela 2-Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nos extratos etanólicos de jiló, obtidos com linha de excitação em 1064 nm.....	48
Tabela 3- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nos espectros das cascas de banana 'prata' e 'nanica', obtidos com linha de excitação em 1064 e 532 nm.....	53
Tabela 4- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nos extratos etanólicos das cascas de bananas 'prata' e 'nanica', obtidos com linha de excitação em 1064 nm.	57
Tabela 5- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nos estágios de maturação dos diferentes tipos de pimentas da família Solanaceae, obtidas com linha de excitação em 1064 nm. ....	76
Tabela 6- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nos pimentões em diferentes estágios de maturação de cultivo convencional e orgânico, obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	79
Tabela 7- Tentativa de atribuição das bandas Raman dos espectros calculados de alguns compostos presentes nas pimentas da família Solanaceae, duas diferentes somas dos espectros e bandas Raman experimentais da pimenta malagueta em dois estágios de maturação, E1-M1 e E2-M1.....	81
Tabela 8- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nas cascas (E1-CRs, E2-CRs E2-CRsP), sementes (E1-SRs, E2-SRs E2-SRsP) e extratos etanólico (Et-(E2-RsP)) e acetônico (Ac-(E2-RsP)) de pimenta rosa, obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	87
Tabela 9- Tentativa de atribuição das bandas Raman dos espectros calculados de alguns compostos presentes na pimenta rosa, soma dos espectros e bandas Raman experimentais da casca e semente da pimenta rosa no estágio de maturação maduro.....	89
Tabela 10- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nas pimenta-do-reino preta (PRP) e branca (PRB), obtidos com linha de excitação em 1064 nm. ....	91
Tabela 11- Tentativa de atribuição das bandas Raman dos espectros calculados de alguns compostos presentes na pimenta-do-reino, soma dos espectros e banda Raman experimental da pimenta-do-reino preta.....	93

Tabela 12- Tentativa de atribuição das bandas Raman das brácteas de <i>E. pulcherrima</i> , obtidos com linha de excitação em 1064 nm.....	103
Tabela 13- Tentativa de atribuição das bandas Raman das brácteas de <i>E. pulcherrima</i> , obtidos com linha de excitação em 1064 nm.....	105
Tabela 14- Tentativa de atribuição das bandas SERRS do cristal violeta.....	110
Tabela 15- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada do ácido clorogênico. ....	137
Tabela 16- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada da quercetina.....	138
Tabela 17- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada do ácido linoleico. ....	138
Tabela 18- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada da capsaicina.....	140
Tabela 19- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada da capsantina. ....	141
Tabela 20- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada da pelargonidina. ....	143
Tabela 21- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada da piperina. ....	144

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>20</b>
1.1	AMARUDECIMENTO DOS VEGETAIS .....	20
1.2	CAROTENÓIDES.....	21
1.3	COMPOSTOS FENÓLICOS .....	24
1.3.1	Flavonoides .....	26
1.4	ESPECTROSCOPIA RAMAN .....	27
1.5	PIGMENTOS NATURAIS E A ESPECTROSCOPIA RAMAN.....	36
1.6	OBJETIVOS .....	38
<b>2</b>	<b>PROCESSO DE AMADURECIMENTO EM EXOCARPOS DE JILÓ (<i>Solanum aethiopicum</i>) E BANANA (<i>Musa spp.</i>) INVESTIGADOS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN .....</b>	<b>39</b>
2.1	MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
2.1.1	Preparo das amostras e desenho experimental.....	42
2.1.2	Extração.....	43
2.1.3	Análises espectroscópicas.....	43
2.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
2.2.1	Análise Raman <i>in situ</i> do exocarpo de jiló em diferentes estágios de maturação.....	45
2.2.2	Análises espectrais vibracionais e eletrônicos de extratos etanólicos de jiló .....	47
2.2.3	Análises Raman <i>in situ</i> do exocarpo da banana em diferentes estágios de maturação.....	51
2.2.4	Análises espectrais vibracionais e eletrônicos de extratos etanólicos de banana .....	55
2.3	CONCLUSÕES .....	59
<b>3</b>	<b>CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA RAMAN DE PIMENTAS E PIMENTÕES.....</b>	<b>61</b>
3.1	MATERIAIS E MÉTODOS.....	64
3.1.1	Preparo das amostras e desenho experimental.....	64

3.1.2	Extração da pimenta rosa.....	66
3.1.3	Metodologia teórica .....	66
3.1.4	Análises espectroscópicas.....	68
3.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	69
3.2.1	Análise Raman <i>in situ</i> das pimentas e pimentões da família Solanaceae.....	69
3.2.2	Análise Raman <i>in situ</i> e extratos brutos da pimenta rosa (Anacardiceae).....	82
3.2.3	Análise Raman <i>in situ</i> da pimenta-do-reino branca e preta (Piperaceae).....	90
3.3	CONCLUSÕES .....	94
<b>4</b>	<b>ANÁLISE DE <i>Euphorbia pulcherrima</i> POR ESPECTROSCOPIA RAMAN</b> .....	<b>96</b>
4.1	MATERIAIS E MÉTODOS.....	97
4.1.1	Análise <i>in situ</i> das amostras de <i>E. pulcherrima</i> .....	97
4.1.2	Métodos de extração .....	97
4.1.3	Síntese de AgNP com extrato de <i>E. pulcherrima</i> .....	98
4.1.4	Análises espectroscópicas.....	98
4.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	100
4.2.1	Análise Raman <i>in situ</i> das brácteas de <i>E. pulcherrima</i> .....	100
4.2.2	Análise espectrais vibracionais e eletrônicas dos extratos brutos de <i>E. pulcherrima</i> .....	104
4.2.3	Utilização dos extratos brutos de <i>E. pulcherrima</i> para síntese verde de AgNP	107
4.3	CONCLUSÕES .....	111
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>113</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>115</b>
	<b>APÊNDICE A – Capítulo 2.....</b>	<b>131</b>
	<b>APÊNDICE B – Capítulo 3 .....</b>	<b>133</b>
	<b>APÊNDICE C – Súmula curricular .....</b>	<b>146</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Esta tese é dividida em cinco capítulos, e após um breve capítulo introdutório sobre os carotenoides, polifenóis, em especial os flavonoides, e sobre a espectroscopia Raman, técnica utilizada em todo o trabalho, os demais capítulos descrevem estudos particulares com diferentes amostras de vegetais, e englobam, portanto, artigos científicos já publicados em periódicos ou em fase de finalização e submissão.

Desse modo, o Capítulo 2 descreve a investigação por espectroscopia Raman dos compostos presentes em diferentes estágios de maturação do exocarpo de jiló e de dois cultivares de banana ('prata' e 'nanica'). No Capítulo 3, tem-se o estudo dos compostos presentes em pimentões e diversas variedades de pimentas da família Solanaceae, pimenta rosa e pimenta-do-reino preta e branca. O Capítulo 4 envolve a caracterização por espectroscopia Raman das substâncias presentes em brácteas de diferentes colorações de *Euphorbia pulcherrima* e a utilização do extrato bruto das brácteas para síntese verde de nanopartículas de prata.

Ao final destes capítulos, conclusões gerais sobre estes trabalhos são abordadas, e após é listado o conjunto de referências usado para suportar esta tese. Nos apêndices A e B estão contidas as informações suplementares dos Capítulos 2 e 3, respectivamente.

### 1.1 AMARUDECIMENTO DOS VEGETAIS

A Organização Mundial da Saúde (OMS) aponta o consumo de vegetais como um fator importante de proteção e prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (OMS, 2003, 2014). Tal fator pode ser atribuído a compostos bioativos presentes nos vegetais, como por exemplo, ácido ascórbico, ácidos graxos poli-insaturados, terpenos, compostos fenólicos, carotenoides, além de serem fontes de minerais, fibras e macronutrientes (Adefegha et al., 2022; Hallmann & Rembial kowska, 2012; Rodriguez, 2001).

O amadurecimento de vegetais é um fenômeno altamente coordenado, geneticamente programado e irreversível, que envolve diversas alterações, como na textura, sabor, aroma e aparência e está relacionado a uma série de processos bioquímicos, estruturais e fisiológicos (Prasanna et al., 2007). Um exemplo é a modificação na cor do vegetal durante o amadurecimento, que ocorre devido ao aumento ou diminuição na síntese de pigmentos, como clorofila, betalaínas, carotenoides e flavonoides (Martin &

Li, 2017). A cor é a parte mais atraente dos alimentos, pois indica frescor e segurança, além disso, representa índices de valores sensoriais e aumenta a aceitabilidade do alimento pelo consumidor. A principal fonte de cores são os pigmentos, encontrados principalmente nas plantas, mas também em outros organismos (Nabi et al., 2023).

## 1.2 CAROTENÓIDES

Os carotenoides são os pigmentos naturais mais difundidos e geralmente são responsáveis pelas cores amarela, laranja e vermelha de diversos vegetais, como frutos, raízes, tubérculos, caules e hortaliças (Rodriguez, 2001; Saini et al., 2015, 2022).

A biossíntese dessas moléculas é realizada por algumas bactérias não fotossintéticas, diversos fungos e todos os organismos fotossintéticos, entretanto os animais apenas os acumulam e/ou convertem precursores ingeridos através dos alimentos que os contenham (Saini et al., 2022). Nas plantas, os carotenoides são sintetizados nos plastídios por mediação enzimática, por duas vias, do ácido mevalônico ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (3-PGA) (Peres, 2009). São formados pela condensação de duas moléculas de geranylgeranyl difosfato  $C_{20}$  (GGPP-Geranylgeranyl diphosphate), precursor biossintético de diversos terpenos (Milani et al., 2017). A combinação de duas moléculas de GGPP, formam o fitoeno (3 insaturações conjugadas), o primeiro carotenoide da via biossintética, seguindo até a formação do licopeno (11 ligações insaturadas), que se torna o precursor de outros carotenoides (Nagarajan et al., 2017).

Os terpenos são classificados de acordo com número de unidades  $C_5$ , sendo os carotenoides classificados como tetraterpenos ( $C_{40}$ ), constituídos de 40 átomos de carbono. (Adefegha et al., 2022; Saini et al., 2022). Além disso, quimicamente, esta classe de substâncias pode ser dividida em dois grandes grupos: os carotenos, que são hidrocarbonetos lineares ou ciclizados, como licopeno e  $\beta$ -caroteno (Figura 1.1), e as xantofilas, que são os derivados oxigenados de carotenos (grupos epóxi, hidroxí, metoxi, aldeídicos, cetônicos e carboxílicos), como por exemplo, zeaxantina e violaxantina (Figura 1.1). As diferentes modificações na estrutura básica, que podem ocorrer através de processos como, hidrogenação, desidrogenação, ciclização, isomerização, rearranjo, migração de dupla ligação, faz com que este grupo de compostos tenham uma diversidade enorme em suas estruturas. Estima-se que 1117 carotenoides tenham sido identificados em fontes naturais (Saini et al., 2022; Yabuzaki, 2017).





Quadro 1.1 - Nomes triviais e sistemáticos de alguns carotenoides..

<b>Nomes triviais</b>	<b>Nomes sistemáticos</b>
$\alpha$ -caroteno	$\beta,\epsilon$ -caroteno
$\beta$ -caroteno	$\beta,\beta$ -caroteno
Licopeno	$\psi,\psi$ -caroteno
Zeaxantina	$\beta,\beta$ -caroteno-3,3'diol

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Nutricionalmente, os carotenoides podem ser classificados como provitamina A, como  $\beta$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina, e não provitamina A, como licopeno e luteína (Saini et al., 2022). Além disso, desempenham outro papel importante na dieta humana devido à sua atividade antioxidante, protegendo as células de danos oxidativos provocados por radicais livres e espécies reativas de oxigênio. Desse modo, previnem doenças associadas ao processo de estresse oxidativo, como por exemplo, câncer, catarata e diabetes (Milani et al., 2017; Saini et al., 2015, 2022). Em um estudo de revisão, verificou-se que o consumo de tomate, rico em licopeno e outros carotenoides, foi inversamente associado à mortalidade por doença coronariana, cerebrovascular e câncer gástrico e de próstata (Campos et al., 2022; N. Li et al., 2021). Outro estudo investigou os efeitos de alguns carotenoides em parâmetros inflamatórios selecionados, como PCR (proteína C reativa) e IL-6 (interleucina-6). Os resultados indicaram que os carotenoides individuais, astaxantina, luteína, zeaxantina e  $\beta$ -criptoxantina diminuíram significativamente os níveis de PCR, e apenas o licopeno levou a uma diminuição significativa na IL-6 (Hajizadeh-Sharafabad et al., 2022). Uma dieta rica em carotenoides também foi avaliada com relação a incidência de diabetes tipo 2, e constatou-se que a ingestão de  $\beta$ -caroteno ou  $\alpha$ -caroteno é favorável à redução de diabetes tipo 2 em homens e mulheres (Sluijs et al., 2015).

A principal atividade antioxidante dos carotenoides é a de desativação do oxigênio singleto, que é uma espécie altamente reativa do oxigênio molecular, o qual apresenta dois elétrons de spins opostos ocupando orbitais diferentes ou não. A variação na capacidade de reação dos diferentes tipos de carotenoides com o oxigênio singleto está correlacionada, principalmente, ao número de ligações duplas conjugadas que varia entre 3 a 15 ligações (Rodriguez, 2001; Valduga et al., 2009) e, em menor grau de importância, ao tipo de grupos substituintes nas posições terminais da molécula (Mortensen et al., 2001).

As cores, características notáveis dessas moléculas, são provenientes das ligações duplas conjugadas, responsáveis pela absorção da luz na região do visível. A variação no número de insaturações conjugadas, faz com que o carotenoide absorva em regiões diferentes, resultando em pigmentos com colorações distintas, sendo que apenas carotenoides com 7 insaturações ou mais, apresentam cor. Os precursores, fitoeno e fitoflueno, com 3 e 5 insaturações conjugadas, respectivamente, são incolores (Campos et al., 2022; Rodriguez, 2001).

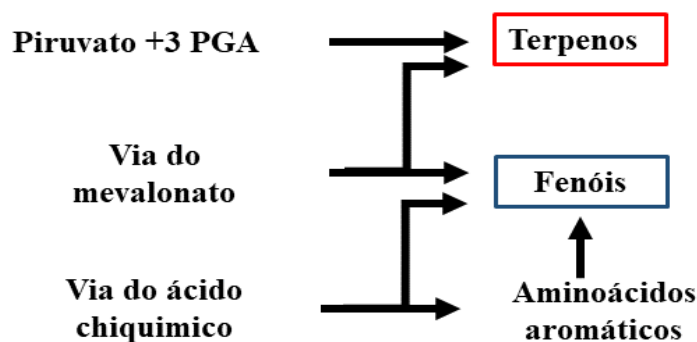
Os carotenoides possuem um alto e crescente potencial de mercado (Saini et al., 2022). São utilizados, por exemplo, como aditivos na alimentação de peixes, como o salmão e aves, com a finalidade de prover coloração à sua carne e às gemas dos ovos, respectivamente. Os mais usados são as xantofilas, pois são absorvidos e acumulados no organismo. A indústria de cosméticos tem usado o  $\beta$ -caroteno como intensificador e prolongador do bronzeado, devido ao seu acúmulo no tecido hipodérmico, o que confere coloração dourada bronzeada à pele (Mesquita et al., 2017).

### 1.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

Assim como os terpenos, os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário das plantas. São substâncias abundantes em nosso cotidiano, que conferem sabor, odor e coloração a diversos vegetais (Peres, 2009).

Do mesmo modo que os carotenoides, essas moléculas não são biossintetizadas por animais, sendo adquiridas através da alimentação (K. Jash, 2023; S. Kumar & Pandey, 2013). São sintetizados a partir de duas rotas metabólicas principais: a via do ácido chiquímico e a menos significativa, do ácido mevalônico, a qual também é compartilhada com os terpenos (Figura 1.3) (Peres, 2009).

Figura 1.3- Principais vias do metabolismo secundário e suas interligações.



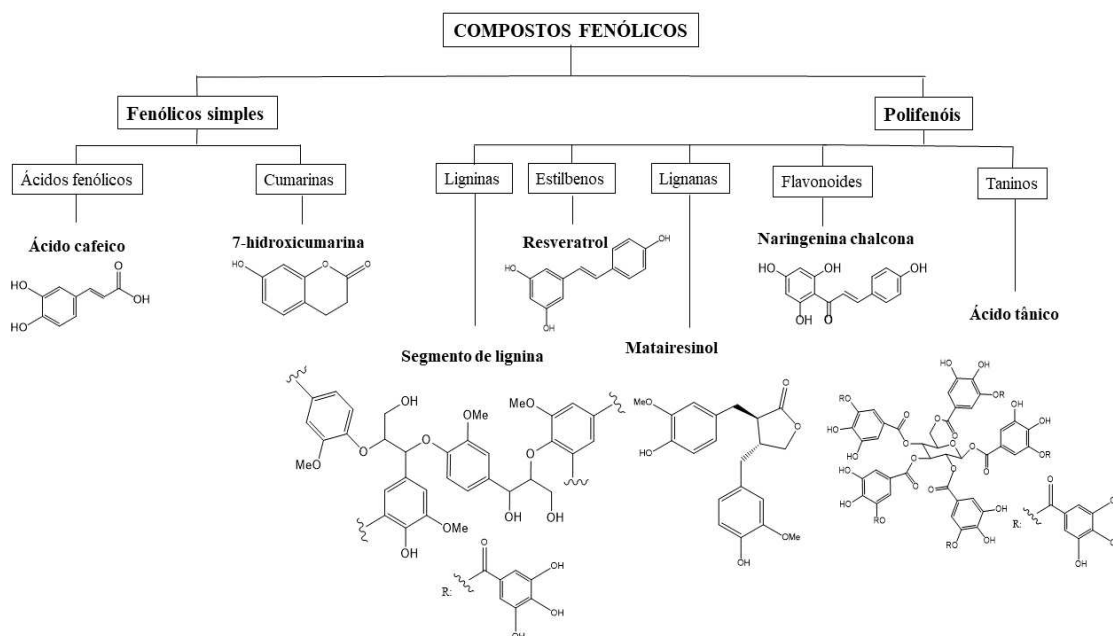
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Do ponto de vista químico, possuem em sua estrutura um anel aromático com uma ou mais hidroxilas, englobando diversas substâncias com características estruturais químicas heterogêneas. Além da importância desses compostos na proteção das plantas contra fatores ambientais e bióticos adversos, a grande maioria dos fenólicos apresentam uma grande diversidade de atividades biológicas, como ações antioxidantes, anti-inflamatórias e anticancerígenas (M'rabet et al., 2017; Mwamatope et al., 2020; Peres, 2009; Ruiz-Ruiz et al., 2017). A capacidade antioxidante dessas moléculas está relacionada sobretudo ao número e arranjo dos grupos hidroxila presentes em suas estruturas. Atuam doando átomos de hidrogênio ou elétrons aos radicais livres, produzindo radicais intermediários estáveis e menos disponíveis para promover a auto oxidação. Nos alimentos, impedem a oxidação de vários ingredientes, particularmente de lipídios (Hu et al., 2021; Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

Com base em sua estrutura, os compostos fenólicos podem ser divididos em diferentes subgrupos, de acordo com o número de anéis fenólicos e os elementos estruturais que ligam esses anéis uns aos outros. Tem-se os ácidos fenólicos e cumarinas, que contém uma unidade fenólica, e as ligninas, lignanas, estilbenos taninos e flavonoides, considerados “polifenóis” por conterem mais de uma unidade fenólica (Gan et al., 2019; H. Al Mamari, 2022). Na Figura 1.4 observam-se alguns subgrupos dos compostos fenólicos e algumas substâncias representativas.

Diante da diversidade estrutural, os compostos fenólicos também podem ser subdivididos simplesmente em não flavonoides e flavonoides (Bié et al., 2023; Di Lorenzo et al., 2021; Singla et al., 2019). Os principais representantes dos não flavonoides são os ácidos fenólicos, predominantemente os derivados do ácido hidroxibenzoico, como os ácidos vanílico e gálico, e do ácido hidroxicinânico, como ácido ferúlico e cafeico (Di Lorenzo et al., 2021; Singla et al., 2019).

Figura 1.4- Subgrupos de compostos fenólicos e algumas substâncias representativas.



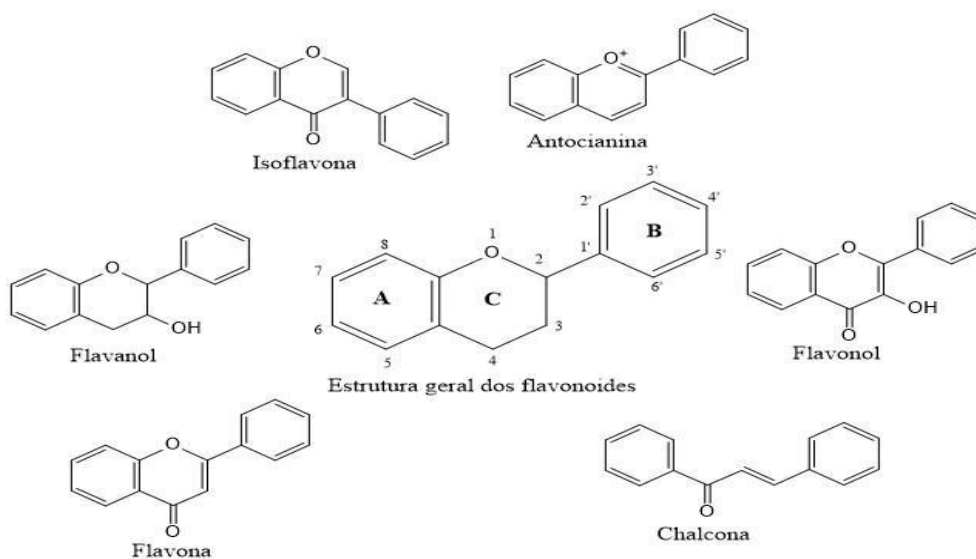
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Os flavonoides serão tratados com mais detalhes na seção seguinte, devido ao interesse deste trabalho em pigmentos naturais.

### 1.3.1 Flavonoides

Os flavonoides são responsáveis pela maior parte da coloração laranja, roxa e azul dos tecidos vegetais, flores e sementes (Paauw et al., 2019). A estrutura básica dos flavonoides, conhecida também como núcleo flavilium, consiste em um anel heterocíclico com átomo de oxigênio (anel C), que contém dois anéis benzênicos (anéis A e B) (Figura 1.5). A classe dos flavonoides se divide em outras subclasses, dependendo da variação em sua estrutura, sendo as principais: chalconas, antocianinas, flavonóis, flavonas, flavanóis e isoflavonas (Figura 1.5) (Ekalu & Habila, 2020; Falcone Ferreyra et al., 2012; K. Jash, 2023).

Figura 1.5- Estrutura geral dos flavonoides e suas principais subclasses.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

A atividade biológica, o metabolismo e a biodisponibilidade dos flavonoides dependem da sua configuração estrutural, ou seja, dos grupos funcionais presentes em sua estrutura (Krysa et al., 2022; S. Kumar & Pandey, 2013). O grande interesse por essas substâncias também se dá pelos seus potenciais benefícios a saúde, como por exemplo, a atividade antioxidante desses compostos. As hidroxilas funcionais presentes em suas estruturas, atuam eliminando radicais livres e quelando íons metálicos. A atividade redutora de colesterol, anticâncer, antidiabética, antidepressiva e antitumoral de alguns flavonoides, como a miricetina, apigenina, luteolina, quercetina e naringenina, já foi amplamente descrita (Ekalu & Habila, 2020; R. Kumar et al., 2017; NK, 2017; Rao & Kiran, 2017).

#### 1.4 ESPECTROSCOPIA RAMAN

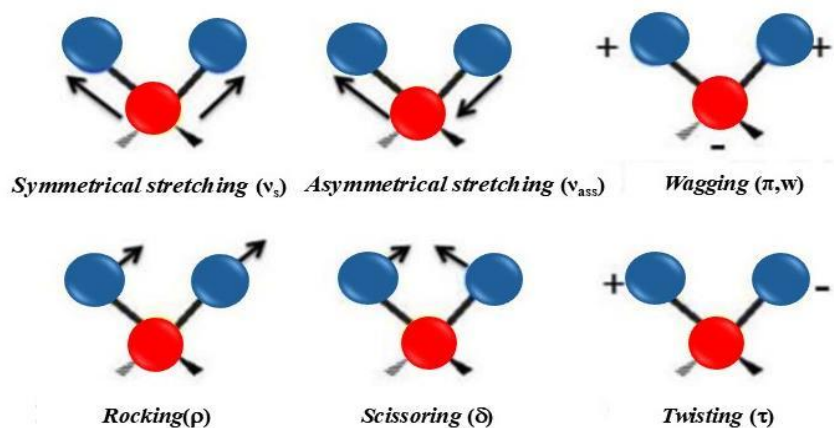
A espectroscopia estuda a interação entre a radiação eletromagnética e a matéria, sendo a determinação dos níveis de energia de átomos ou moléculas sua finalidade principal. Nos espectros observamos a diferença entre os níveis, ou seja, as transições. A região espectral onde são observadas as transições, no caso de moléculas, depende da energia dos níveis envolvidos: eletrônico, vibracional ou rotacional. Diversas técnicas permitem a obtenção de informações sobre estrutura molecular, ligações químicas, caracterização de compostos, entre outras propriedades (Sala, 2008).

Na espectroscopia vibracional, informações sobre as ligações químicas são adquiridas compreendendo o movimento vibracional através da aproximação do oscilador harmônico, obtendo então as constantes de força e os valores das frequências vibracionais. Para isso, é necessário o entendimento sobre o conceito de coordenadas normais, onde uma molécula é pensada como um conjunto de osciladores acoplados, e o que se faz é desacoplar esses osciladores em modos normais e tratá-los como osciladores harmônicos simples. Além disso, consideram-se as propriedades de simetria e teoria de grupo para a atribuição de modos normais de vibração correspondentes à molécula (Sala, 2008).

Para a identificação de uma molécula com  $N$  átomos no espaço, é necessário  $3N$  coordenadas, ou seja, três coordenadas cartesianas para cada átomo ou três graus de liberdade. Das  $3N$  coordenadas, três são usadas para descrever o centro de massa do sistema, e o movimento ao longo destas três coordenadas caracteriza a translação do centro de massa da molécula, ou seja, os graus de liberdade translacionais. Além do mais, uma molécula linear necessita de duas coordenadas para descrever a rotação sobre seu centro de massa e três coordenadas para uma molécula não linear, caracterizando assim, os graus de liberdade rotacionais. As coordenadas restantes,  $3N-5$  para moléculas lineares e  $3N-6$  para moléculas não lineares, representam os graus de liberdade resultantes do movimento vibracional (Sala, 2008). Logo, para uma molécula não linear, com 3 átomos, como a molécula de água, por exemplo, tem-se 3 movimentos vibracionais.

Na Figura 1.6 são exemplificados alguns dos possíveis modos de vibração em moléculas poliatômicas, onde tem-se vibrações de estiramento (*stretching*), que ocorrem quando os átomos se movem ao longo do eixo da ligação química, alterando a distância internuclear, e de deformação angular (*bending*), que envolvem mudanças dos ângulos entre as ligações ou, como nos modos de deformação fora do plano, alterações do ângulo entre o plano que contém as ligações e um plano de referência (Castro, 2015).

Figura 1.6- Modos de vibração molecular. Os sinais + e - indicam movimentos para dentro e para fora do plano da figura, respectivamente.



Elaborado pela autora (2024).

Para a análise das transições vibracionais, a espectroscopia Raman, técnica principal usada neste trabalho, se destaca, sendo a sua natureza não destrutiva e não invasiva, algumas das principais vantagens, especialmente para materiais biológicos (Maia, L. F.; Oliveira, V. E. de; Oliveira, 2017; Sala, 2008).

Na espectroscopia Raman, ocorre o espalhamento inelástico da radiação eletromagnética que interage com as moléculas. A interação do campo elétrico da radiação incidente com a distribuição da nuvem eletrônica molecular, gera uma polarização induzida na molécula. A atividade do efeito Raman, está diretamente relacionada a essa variação da polarização induzida, onde a intensidade do momento de dipolo induzido ( $\vec{P}$ ), é um produto vetorial do campo elétrico incidente ( $\vec{E}$ ) e uma propriedade intrínseca da molécula, a polarizabilidade ( $\alpha$ ). Portanto:

$$\vec{P} = \alpha \vec{E} \quad (1)$$

A polarizabilidade ( $\alpha$ ) pode ser compreendida como a facilidade com que a molécula tem sua nuvem eletrônica distorcida na interação com um campo elétrico ( $\vec{E}$ ). Considerando as vibrações das moléculas, os movimentos nucleares induzem modificações na polarizabilidade, com frequências correspondentes aos modos normais de vibração. Isto é, na presença da radiação eletromagnética, a polarizabilidade terá seu valor modulado pela frequência da radiação e pelas frequências das vibrações moleculares.

Temos então, para moléculas diatômicas, que a polarizabilidade pode ser desenvolvida por série de Taylor em função da coordenada interna  $q$ , que descreve os deslocamentos das ligações ou dos ângulos entre as ligações de uma molécula:

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_0 q + \dots \quad (2)$$

O primeiro termo da equação (2) se refere à polarizabilidade na posição de equilíbrio e o segundo termo, a variação da polarizabilidade com a coordenada  $q$  em relação a posição de equilíbrio. Além disso, a coordenada  $q$  e o vetor campo elétrico  $\vec{E}$  podem ser descritos por:

$$q = q_0 \cos(2\pi\nu_\nu t); \vec{E} = \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (3)$$

Onde  $\nu_0$  se refere a frequência da radiação incidente e  $\nu_\nu$  corresponde a uma das 3N-6 frequências vibracionais de uma molécula.

Substituindo as equações (2) e (3) na equação (1), temos que o momento de dipolo induzido será:

$$\vec{P} = \alpha_0 \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_0 q_0 \vec{E}_0 \{ \cos[2\pi(\nu_0 + \nu_\nu)t] + \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_\nu)t] \} \quad (4)$$

De acordo com a previsão clássica, temos, portanto, três componentes do momento de dipolo induzido. O primeiro termo contém apenas a frequência da radiação incidente e magnitude proporcional à polarizabilidade inerente da molécula ( $\alpha_0$ ), chamado espalhamento Rayleigh (elástico). No segundo termo observa-se radiações com frequência  $\nu_0 + \nu_\nu$  (espalhamento anti-Stokes) e  $\nu_0 - \nu_\nu$  (espalhamento Stokes). Embora a equação (4) tenha sido obtida classicamente, são fornecidas informações importantes a partir dela. Para que ocorra contribuição dos dois últimos termos, ou seja, o espalhamento Raman, é necessário que  $(d\alpha/dq) \neq 0$ , em outras palavras, que aconteça uma variação da polarizabilidade com o pequeno deslocamento da coordenada  $q$  em torno da posição de equilíbrio. Além disso,  $(d\alpha/dq)$  pode variar significativamente para diferentes moléculas, gerando amplas variações na intensidade do espalhamento Raman.



No espectro Raman então, temos simetricamente em relação a linha Rayleigh, uma banda do lado de frequências mais baixas, a Stokes, e uma de frequências mais altas, a anti-Stokes. De acordo com o modelo clássico, as duas deveriam ter a mesma intensidade, no entanto, o que se observa é que a Stokes é mais intensa que a anti-Stokes, uma vez que, a população dos estados excitados que originam as bandas anti-Stokes, são menores que a população do estado fundamental. Tal relação pode ser confirmada pela relação de distribuição da população de estados de Boltzmann, onde, para condições de temperaturas medianas, tem-se que à medida que o nível de energia aumenta, sua população correspondente diminui (Sala, 2008).

Para explicar este comportamento das intensidades das bandas Raman é necessário recorrer ao modelo quântico, onde, nas transições entre os estados vibracionais  $m$  e  $n$  devem ser considerados as integrais dos componentes do tensor polarizabilidade  $(\alpha_{ij})_{mn}$ , sendo  $i$  e  $j$  correspondente as coordenadas  $x$ ,  $y$  e  $z$ . Para que transição vibracional Raman seja permitida, uma das seis componentes do momento de transição precisa ser diferente de zero:

$$(\alpha_{ij})_{mn} = \int \Psi_m \alpha_{ij} \Psi_n d\tau \quad (5)$$

Combinando as equações (2) e (5), obtém-se:

$$(\alpha_{ij})_{mn} = (\alpha_{ij})_0 \int \Psi_m \Psi_n d\tau + \left( \frac{d\alpha_{ij}}{dq} \right)_0 \int \Psi_m q \Psi_n d\tau \quad (6)$$

Para se observar o espalhamento Raman, pelo menos uma das integrais da equação (6) deve ser diferente de zero. O primeiro termo é igual a zero devido à ortogonalidade entre  $\Psi_m$  e  $\Psi_n$ . Logo, para o segundo termo ser diferente de zero é preciso atender a duas condições. A primeira já foi discutida anteriormente, onde,  $(\delta\alpha/\delta q)_0 \neq 0$ , deve ocorrer uma variação da polarizabilidade com o pequeno deslocamento da coordenada  $q$  em torno da posição de equilíbrio. Já a segunda condição:

$$\int \Psi_m q \Psi_n d\tau \neq 0 \quad (7)$$

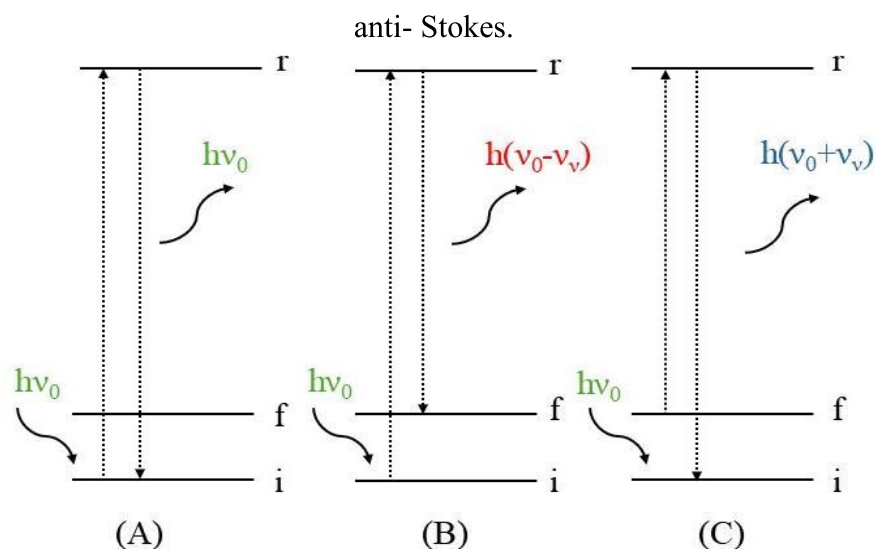
O produto  $\Psi_m q \Psi_n$  deve ser uma função par, e como  $q$  é uma função ímpar, as duas funções de onda devem ter paridades distintas. Além disso, isto implica em uma regra de seleção importante, válida dentro da aproximação harmônica, onde a variação do número quântico vibracional deve ser igual a  $\Delta v = \pm 1$ . Assim sendo, o modo vibracional será ativo no espectro Raman (Sala, 2008).

A intensidade das bandas Raman depende então da probabilidade de transição, que é dado pelo quadrado do tensor polarizabilidade e depende da quarta potência da frequência da radiação de excitação:

$$I_{mn} = \left( \frac{16\pi^2}{9c^4} \right) I_0 \nu^4 \sum_i \sum_j |\alpha_{i,j}|^2 \quad (8)$$

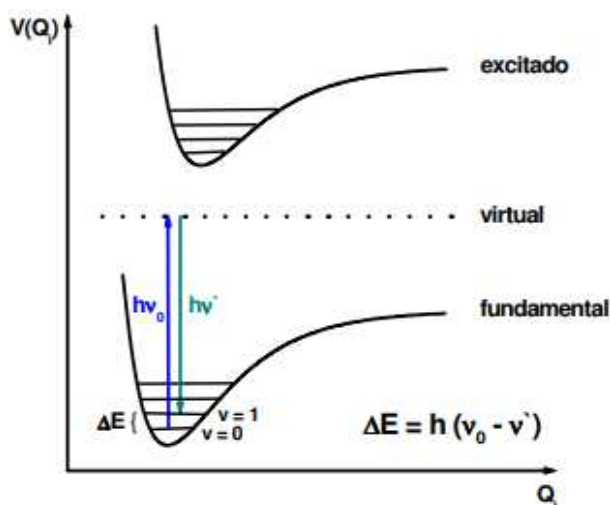
Na Figura 1.7 estão ilustrados esquematicamente o espalhamento elástico (Rayleigh) e os espalhamentos inelásticos (Stokes e anti-Stokes). No espalhamento Rayleigh (espalhamento elástico), ocorre a interação do fóton com a molécula, e após, ela volta ao mesmo nível de energia inicial e o fóton é espalhado sem modificação de frequência. No espalhamento Raman, a molécula é excitada pelo fóton incidente, ocorrendo assim a perturbação de todos os níveis de energia, como se houvesse um estado intermediário (virtual) de energia. Em seguida, no espalhamento Stokes, a molécula decai para um estado vibracional excitado e o fóton espalhado tem menor energia que o incidente. Já no anti-Stokes, o fóton encontra a molécula já num estado excitado e após a interação, a molécula decai para o estado fundamental, onde a diferença de energia é cedida ao fóton, que é espalhado com energia maior que a incidente (Sala, 2008).

Figura 1.7 Ilustração dos espalhamentos (A) Rayleigh e Raman (B) Stokes e (C) anti-Stokes.



Na espectroscopia Raman, deve-se considerar a participação de dois fótons, sendo que a diferença entre ambos (fóton incidente e fóton espalhado), de acordo com a conservação de energia, deve ser igual à diferença de energia de dois autoestados moleculares. Assim, a energia individual do fóton incidente e do fóton espalhado, não corresponde à diferença de energia entre quaisquer autoestados da molécula. As transições que nos é de interesse são as vibracionais, no entanto, elas podem ser também entre estados rotacionais, eletrônicos, entre outros (Ando, 2009). Na Figura 1.8 observa-se uma representação de uma transição vibracional Raman.

Figura 1.8- Representação de uma transição vibracional Raman.



Vale ressaltar que o espalhamento não pode ser considerado como um processo sequencial de absorção e emissão, como é a fluorescência, por isso o fóton incidente ( $h\nu_0$ ) e o fóton espalhado ( $h\nu'$ ) não devem ser considerados separadamente (Ando, 2009). Como a escala de tempo envolvida no espalhamento Raman é da ordem de femtossegundos ( $10^{-15}$  s), a energia do estado virtual (ou intermediário) não precisa satisfazer o princípio de conservação de energia, de acordo com a relação de incerteza  $\Delta E \cdot \Delta t \geq \hbar/2$ . Justamente por este motivo, este estado recebe este nome, por não corresponder a nenhum dos estados estacionários da molécula e sim a um autoestado do sistema molécula + radiação (Ando, 2009).

O efeito Raman envolve então, como foi discutido, a transição entre estados vibracionais inicial e final, e um conjunto de estados virtuais, cujas energias não possuem valor limite, o que representa uma dificuldade para se calcular as intensidades Raman, já que necessitaríamos levar em consideração a contribuição de infinitos estados virtuais para a polarizabilidade eletrônica. A teoria da polarizabilidade do efeito Raman foi publicada em 1934, por G. Placzek (Placzek, 1934), com o intuito de contornar essa situação. Em seu desenvolvimento, a intensidade Raman depende apenas da polarizabilidade do estado eletrônico fundamental, e nessa aproximação a energia do fóton de excitação é muito menor que a energia mínima para a transição eletrônica mais baixa da molécula. Tal condição pode ser satisfeita, utilizando excitação no infravermelho próximo ou visível, por exemplo, se a transição da molécula está na região do ultravioleta. Assim sendo, a intensidade do efeito Raman passa a ser uma propriedade apenas do estado eletrônico fundamental, correspondendo ao também chamado efeito Raman normal ou ordinário (de Oliveira, 1991). Essa denominação é utilizada para fazer a diferenciação do efeito Raman ressonante ou pré-ressonante, onde a energia do fóton de excitação é comparável, ou até mesmo coincidente, com a energia de transição eletrônica, o que invalida a aproximação de Placzek.

Por fim, no efeito Raman normal a expressão para a polarizabilidade de transição  $[\alpha]_{mn}$ , pode ser expressa do seguinte modo (Ando, 2005; de Oliveira, 1991; Placzek, 1934):

$$\alpha_{mn} = \frac{1}{\hbar} \sum_r \left[ \frac{\mu_{nr} + \mu_{rm}}{\nu_{rm} - \nu_0} + \frac{\mu_{nr} + \mu_{rm}}{\nu_{rn} + \nu_0} \right] \quad (9)$$

Onde  $h$  é a constante de Planck,  $\nu_{rm}$  e  $\nu_{rn}$  correspondem as frequências dos estados denotados por  $m$  e  $n$ ,  $\nu_0$  é a frequência da radiação incidente,  $r$  descreve um conjunto de estados que pertence a molécula não perturbada, e  $\mu_{rn}$  e  $\mu_{rm}$  são os momentos de transição.

Quando a energia do fóton de excitação é próxima da energia de uma transição permitida, o denominador do primeiro termo diminui e o termo aumenta, causando grande aumento de  $\alpha_{mn}$ , e conseqüentemente, produz uma intensificação do sinal Raman, gerando condições de ressonância ou pré-ressonância. Para o entendimento dessas mudanças torna-se necessário a utilização do formalismo vibrônico para o efeito Raman introduzido por A. C. Albrecht (Tang & Albrecht, 1970), onde uma transição Raman entre dois estados inicial (i) e final (f) em um sistema espalhador, a intensidade da luz ( $I_{fi}$ ) pode ser expressa da seguinte maneira (Clark & Dines, 1986):

$$I_{fi} \propto \frac{\pi^2}{\epsilon_0^2} (\nu_0 \pm \nu_{fi})^4 E_0 [\alpha]_{fi} [\alpha]_{fi}^* \quad (10)$$

Onde,  $E_0$  é amplitude do campo elétrico da radiação incidente,  $\nu_0$  o número de onda da radiação incidente,  $\nu_{fi}$ : número de onda da transição Raman final e inicial,  $\epsilon_0$  permissividade no vácuo e  $[\alpha]_{fi}$  é o momento de polarizabilidade de transição.

Por fim, a expressão para  $[\alpha]_{fi}$  é obtida através da teoria da perturbação de segunda ordem e é conhecida como equação de dispersão de Kramers-Heisenberg-Dirac (de Oliveira, 1991), podendo ser expressa do seguinte modo:

$$[\alpha_{\rho\sigma}]_{fi} = \frac{1}{hc} \sum_r \frac{[\mu_\rho]_{fr} + [\mu_\sigma]_{ri}}{\nu_{ri} - \nu_0 + i\sqrt{r}} + \frac{[\mu_\sigma]_{fr} + [\mu_\rho]_{ri}}{\nu_{ri} - \nu_0 + i\sqrt{r}} \quad (11)$$

Onde  $h$  é a constante de Planck,  $c$  é a velocidade da luz,  $\nu_0$  é a frequência da radiação incidente,  $r$  descreve um conjunto de estados que pertence a molécula não perturbada,  $\nu_{ri}$  e  $\nu_{rf}$  correspondem as frequência dos estados  $i$  e  $f$ , e  $i\sqrt{r}$  é o fator de amortecimento, introduzido por Dirac, para prevenir que a expressão se tornasse infinita quando  $\nu_{ri}$  se aproximasse ou se igualasse a  $\nu_0$ . O numerador do primeiro termo entre colchetes corresponde à passagem do estado inicial  $i$  para um estado intermediário  $r$ , e deste para o estado final  $f$ . Em condições de ressonância, ou seja, quando se utiliza uma

radiação excitante  $\nu_0$  próxima de uma transição eletrônica  $\nu_{ri}$ , os momentos de transição  $\mu_{rm}$  e  $\mu_{rn}$  são descritos utilizando a aproximação de Born-Oppenheimer, onde é feita a separação das funções de onda em vibracionais e eletrônicas. A contribuição dos estados excitados é representada pela soma de vários termos, conhecidos como A, B, C e D. A polarizabilidade de transição pode ser representada pela soma de cada um destes termos (Clark & Dines, 1986):

$$[\alpha_{\rho\sigma}]_{gn,gm} = A + B + C + D \quad (12)$$

Onde o termo A é o termo mais importante, contendo o termo de Franck-Condon e a participação de estados vibracionais totalmente simétricos (Clark & Dines, 1986).

Outro efeito de intensificação do sinal Raman é o espalhamento Raman intensificado por superfície ou efeito SERS (do inglês, *Surface-enhanced Raman scattering*), que é um fenômeno onde ocorre a intensificação do sinal Raman de analitos que estão próximos a nanoestruturas metálicas em várias ordens de grandeza (M. Fan et al., 2020). Para explicar essa intensificação, são aceitos dois modelos, o químico e o eletromagnético. O mecanismo químico está relacionado com a interação da molécula com a nanoestrutura plasmônica, formando um complexo de superfície, o que gera a alteração de energia dos estados da molécula, ocasionando em transferência de carga e mudança de polarizabilidade e dos modos vibracionais (Langer et al., 2020). Já o eletromagnético este relacionado com um fenômeno denominado ressonância de *plasmon* de superfície localizado- LSPR (do inglês, *Localized Surface Plasmon Resonance*) e a intensificação do campo eletromagnético próximo à superfície das nanopartículas plasmônicas quando excitadas por uma fonte de radiação com frequência adequada (Langer et al., 2020; Moskovits, 2005). Trabalhos de revisão podem ser encontrados em M. Fan et al., 2020, Langer et al., 2020 e Moskovits, 2005.

## 1.5 PIGMENTOS NATURAIS E A ESPECTROSCOPIA RAMAN

O papel dos flavonoides e carotenoides na natureza é essencial, pois possuem importantes funções ecológicas e fisiológicas, como proteção contra foto-oxidação, sinalização sexual, defesa química, além de serem precursoras de fitormônios (Cazzonelli & Pogson, 2010; Falcone Ferreyra et al., 2012).

Do ponto de vista estrutural, carotenoides e flavonoides possuem uma cadeia de carbono contendo ligações insaturadas conjugadas, com elétrons  $\pi$  altamente polarizáveis. Devido à essa característica, a espectroscopia Raman, uma técnica baseada no espalhamento inelástico da luz, é uma ótima ferramenta para análise dessas substâncias (Maia et al., 2021).

O espectro vibracional dos carotenoides é característico e pode ser utilizado para distinguir polienos de acordo com o comprimento de suas cadeias insaturadas conjugadas. Suas principais bandas vibracionais ocorrem entre 1570-1500  $\text{cm}^{-1}$  devido ao modo vibracional de estiramento  $\nu(\text{C}=\text{C})$  e entre 1170-1150  $\text{cm}^{-1}$  relacionado ao modo de estiramento  $\nu(\text{C}-\text{C})$  (Baranski et al., 2005; Maia et al., 2021). Com o aumento do número de insaturações conjugadas, a banda referente ao modo vibracional  $\nu(\text{C}=\text{C})$  se desloca para menores número de onda. Tal característica está correlacionada com o forte efeito de deslocalização eletrônica presente nos carotenoides. Portanto, com o aumento do número de conjugações, ocorre uma diminuição da diferença de energia da transição eletrônica. Além disso, os grupos metílicos que caracterizam unidades isoprênicas fornecem bandas adicionais na região de 1000-1020  $\text{cm}^{-1}$ , que são referentes ao modo vibracional de deformação angular do grupo  $\text{CH}_3$   $\rho(\text{C}-\text{CH}_3)$  ligado ao polieno (Schulz & Baranska, 2007). As bandas relacionadas a compostos fenólicos, como os flavonoides, são aquelas atribuídas ao estiramento  $\nu(\text{C}=\text{C})$  do anel fenila na faixa entre 1630-1550  $\text{cm}^{-1}$  e aos modos de deformação angular  $\delta(\text{C}-\text{OH})$  do grupo fenol em torno de 1360-1300  $\text{cm}^{-1}$  (Aguilar-Hernández et al., 2017; C.-H. Wang et al., 2020), que são diferentes dos carotenoides e podem ser identificados concomitantemente em matrizes complexas.

Como já mencionado, uma das principais vantagens da técnica, especialmente para materiais biológicos, é sua natureza não destrutiva e não invasiva, o que significa que as amostras não são danificadas durante a análise. Além disso, o tempo de análise é relativamente curto e não requer tratamento prévio da amostra, permitindo a análise *in situ* (Maia et al., 2021; Sala, 2008). Dadas essas vantagens, muitos estudos têm utilizado a espectroscopia Raman para monitorar diferentes estágios de maturação de frutos, como tomate, manga e pimentão (Campos et al., 2022; Kolašinac et al., 2021; Qin et al., 2011; Ullah et al., 2019).

A procura por alimentos que contenham estas substâncias tem aumentado, devido aos seus possíveis benefícios para a saúde, uma vez que existem evidências de que o consumo de alimentos de origem vegetal, especialmente frutas e outros legumes frescos, está inversamente relacionado com o risco de doenças crônicas, tais como como

obesidade, doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 e alguns tipos de câncer (Martin & Li, 2017). Portanto, estudos que visam ampliar o conhecimento a cerca dessas substâncias nos alimentos contribuem para o desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento natural e produção de nutracêuticos. Além disso, a identificação de metabólitos envolvidos no processo de amadurecimento pode fornecer algum *feedback* bioquímico sobre a biossíntese e revelar qual estágio é mais adequado para a obtenção de um metabólito de interesse.

Neste contexto, o presente trabalho utilizou a espectroscopia Raman para caracterizar os principais pigmentos, como carotenoides e flavonoides, presentes em diferentes vegetais, e em diferentes estágios de maturação, como bananas, jiló, pimentas e pimentões e em vegetais que não produzem frutos, como a *Euphorbia pulcherrima*.

## 1.6 OBJETIVOS

Este estudo tem como objetivo principal a caracterização por espectroscopia Raman de pigmentos presentes nos diferentes estágios de maturação de diversas fontes vegetais. Além disto, tem-se como objetivos específicos:

- Caracterizar por espectroscopia Raman moléculas marcadoras em diferentes estágios de maturação presentes nos exocarpos dos frutos de banana, jiló, pimentas e pimentões provenientes de cultivo orgânico e convencional;
- Caracterizar por espectroscopia Raman os pigmentos responsáveis pela coloração de brácteas (folhas modificadas) de vegetais que não produzem frutos, como a *Euphorbia pulcherrima*;
- Obter cálculos de frequência vibracional dos principais constituintes das pimentas, utilizando o método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT), com o intuito de propor as atribuições vibracionais das bandas Raman experimentais.



## 2 PROCESSO DE AMADURECIMENTO EM EXOCARPOS DE JILÓ (*SOLANUM AETHIOPICUM*) E BANANA (*MUSA SPP.*) INVESTIGADOS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN

Um grande número de frutas e vegetais coloridos biossintetizam pigmentos bioativos e uma vasta gama de outros compostos, como fenólicos, polifenóis, alcaloides, sacarídeos, fibras alimentares, vitaminas e enzimas, tanto na polpa comestível (endocarpo), quanto na casca não comestível (exocarpo) (Hussain et al., 2022; A. Kumar et al., 2023). Além do valor nutricional, a coloração do exocarpo ou casca ao longo dos diferentes estágios de maturação é um importante atributo sensorial que aumenta a aceitabilidade pelo consumidor e está associado à qualidade. A mudança de cor do exocarpo ocorre progressivamente entre o estágio verde e o estágio totalmente maduro (Gonzali & Perata, 2021) devido ao aumento ou diminuição na síntese de pigmentos, como clorofila, carotenoides e flavonoides (Martin & Li, 2017).

Como já mencionado, na dieta humana, sabe-se que os carotenoides e flavonoides promovem benefícios à saúde, uma vez que há evidências de que o consumo de alimentos de origem vegetal, especialmente frutas e vegetais frescos, está inversamente relacionado ao risco de doenças crônicas, como obesidade, doenças cardiovasculares doença, diabetes tipo 2 e alguns tipos de câncer (Martin & Li, 2017). No entanto, uma parcela significativa desses compostos é perdida quando sementes e cascas de frutas e vegetais são descartadas durante o preparo e processamento, resultando em resíduos, ou seja, subprodutos (Hussain et al., 2022).

Os resíduos alimentares provenientes da agricultura, como os exocarpos, são uma fonte de fitonutrientes, com potencial de aplicação nas indústrias cosmética, farmacêutica, alimentar e de bebidas, como no desenvolvimento de filmes comestíveis, probióticos, nanopartículas, pontos de carbono, meios microbianos, biocarvão e biossorventes (Ben-Othman et al., 2020; H. Kumar et al., 2020). Por outro lado, as perdas e resíduos provenientes das cozinhas domésticas e do processamento nas indústrias estão a tornar-se graves problemas nutricionais, econômicos e ambientais (Sagar et al., 2018). No cenário atual, uma solução sustentável para a gestão de resíduos de frutas e vegetais tornou-se uma tarefa importante nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Por exemplo, a banana é a quarta cultura básica mais importante a nível mundial (Voora et al., 2020), conseqüentemente, a plantação gera enormes quantidades de resíduos após cada época de colheita e durante o processamento para obter polpas de banana. O uso

potencial de cascas de banana tem sido sugerido na literatura (Mohd Zaini et al., 2022), mas cascas de culturas menos lucrativas, como o jiló, têm sido negligenciadas (Plazas et al., 2014; Sánchez-Mata et al., 2010). O jiló é amplamente cultivado na África, no Brasil e no sul da Itália (Sunseri et al., 2010). O crescente interesse por esta espécie está relacionado à diversificação de culturas, sustentabilidade agrícola, melhoramento genético e benefícios nutricionais e medicinais (Aguessy et al., 2021; Han et al., 2021).

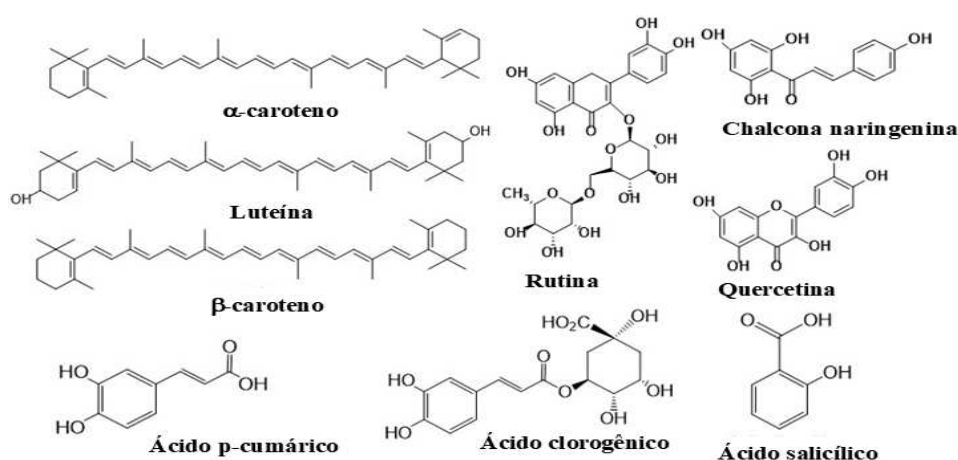
Ambos possuem hábitos de consumo distintos associados aos estágios de maturação e ao seu sabor. O jiló (*Solanum aethiopicum*) também conhecido como berinjela africana, ovo de jardim e tomate amargo (Han et al., 2021), é uma fruta colhida com coloração verde intensa e sabor amargo e geralmente perde valor comercial à medida que amadurece, tornando-se laranja avermelhado (Mendes, 2013). Por outro lado, a banana (*Musa* spp.) é colhida com coloração verde, mas ganha valor comercial quando amadurece, atingindo coloração amarela e sabor adocicado (Maduwanthi & Marapana, 2021). Embora o jiló (eudicotiledôneas) tenha divergido morfológicamente das bananas (monocotiledôneas) bem no início da evolução das angiospermas, ambos compartilham um conjunto biossintético semelhante na produção de carotenoides e flavonoides (Zhang et al., 2021).

Independentemente do estágio de maturação, a celulose é particularmente valiosa para consumo e aplicação industrial, no entanto, as cascas são descartadas como resíduos (H. Kumar et al., 2020). Um exemplo clássico é a casca de banana, a porção não comestível da fruta que representa cerca de 35% do peso total da fruta, que tem sido tradicionalmente usada como remédio para tratar doenças comuns como tosse, queimaduras e inflamações, bem como para controlar anemia e diabetes (Ben-Othman et al., 2020). Em relação ao jiló, o teor de resíduos tem sido pouco explorado (Ben-Othman et al., 2020), apesar da atividade anti-inflamatória (Anosike et al., 2012), e das propriedades inibidoras do óxido nítrico (NO) (Plazas et al., 2014). Recentemente, o aproveitamento desses resíduos hortícolas de baixo custo tem ganhado atenção, uma vez que muitos dos compostos bioativos encontrados na casca podem ser aproveitados pelas indústrias alimentícia, têxtil, cosmética e farmacêutica (Dorta & Lobo, 2022; Khawas & Deka, 2016; H. Kumar et al., 2020).

A espectroscopia Raman já foi utilizada em diversas amostras de frutas e vegetais para a análise *in situ* de diferentes carotenoides e flavonoides, já que a análise pode ser feita de forma rápida e não destrutiva, uma vantagem essencial para compostos naturais. Dadas essas vantagens, muitos estudos têm utilizado a espectroscopia Raman para

monitorar diferentes estágios de maturação de frutos, como tomate, manga e pimentão (Campos et al., 2022; Kolašinac et al., 2021; Qin et al., 2011; Ullah et al., 2019). Assim, estudos que monitoram compostos ao longo do amadurecimento do fruto podem revelar qual estágio é mais adequado para extrair um metabólito selecionado. Neste sentido, os carotenoides e polifenóis (flavonoides e não flavonoides) presentes em jilós e bananas (Figura 2.1) são compostos alvo, devido à sua notável atividade antioxidante que estão presentes em diferentes concentrações nas cascas ao longo do processo de maturação.

Figura 2.1- Estruturas de alguns dos carotenoides, ácidos fenólicos e flavonoides biossintetizados em jilós e bananas.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Neste trabalho utilizamos a espectroscopia Raman, uma técnica rápida e confiável que detecta compostos *in situ* e em uma única etapa para investigar a composição química dos exocarpos ao longo do amadurecimento do jiló (*Solanum aethiopicum*) e de dois cultivares de banana (*Musa spp*), 'prata' e 'nanica'.

As análises foram realizadas *in situ* e com extratos brutos que monitoraram ácidos fenólicos/flavonoides e carotenoides ao longo do processo de maturação de cada fruto. Além disso, a análise *in situ* demonstrou ser útil como guia na seleção de compostos bioativos sob demanda. A caracterização *in situ* de moléculas bioativas presentes em partes não comestíveis de frutas, como cascas de jiló e banana, é um tema de pesquisa emergente. A valorização dos resíduos e subprodutos alimentares pode ser uma solução para melhorar a sustentabilidade econômica e ambiental. Além disso, compreender o mecanismo de maturação dos frutos é crucial para melhorar a vida útil e a duração do armazenamento (Wee et al., 2023).

## 2.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Todas as amostras utilizadas neste trabalho foram adquiridas no mercado local, na cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais (MG), Brasil.

### 2.1.1 Preparo das amostras e desenho experimental

As amostras de jiló (*Solanum aethiopicum*), adquiridas em julho de 2021 e 2022, foram selecionadas em diferentes estágios de maturação, por inspeção visual do grau de maturação, sendo E1 a mais verde e E4 a mais madura, para análise dos compostos produzidos em cada estágio de maturação. Os exocarpos das amostras de jiló foram analisados em duas linhas de excitação diferentes, com três réplicas em 1064 nm (Figura 2.2A; Apêndice A) e uma em 532 nm (Figura 2.2B). Os dois cultivares de bananeira (*Musa spp.*), 'prata' e 'nanica', foram adquiridas em junho de 2023, e os exocarpos foram analisados em dois estágios de maturação diferentes, verdes e maduros. Os exocarpos de quatro réplicas de banana 'prata' e quatro de 'nanica', em seus respectivos estágios de maturação, também foram analisados em duas linhas de excitação distintas, com três replicadas de cada cultivar em 1064 nm (Figura 2.2C; Figura 2.2D; Apêndice A), e uma réplica de cada cultivar em 532 nm (Figura 2.2E; Figura 2.2F).

Figura 2.2- Jiló em cada um dos quatro estágios de maturação, analisados em (A) 1064 nm e (B) 532 nm; bananas analisadas em 1064 nm (C) 'prata', (D) 'nanica' e 532 nm (E) 'prata' e (F) 'nanica'.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

### 2.1.2 Extração

Os exocarpos das amostras de jiló e bananas foram submetidos à extração com etanol para obtenção de carotenoides e flavonoides. Para o jiló, foram obtidos três extratos diferentes de acordo com os estágios de maturação (E1-Et, E2-Et, E3/E4-Et), para as bananas, dois extratos para cada variedade ('prata' e 'nanica') de acordo com o estágio de maturação: verde (verde) e maduro (amarelo). As amostras foram higienizadas e os exocarpos removidos. Em seguida, 100 ml de etanol a 25°C foram adicionados aos exocarpos (aproximadamente 100g) e triturados com auxílio de um triturador por cerca de 10 minutos. Este processo foi repetido mais duas vezes (Miamoto et al., 2020). A solução foi filtrada e o solvente foi removido sob pressão reduzida e analisados posteriormente com linha de excitação a 1064 nm.

### 2.1.3 Análises espectroscópicas

Nesta seção serão apresentados os parâmetros instrumentais utilizados nas análises de espectroscopia Raman e na região ultravioleta/ visível.

#### 2.1.3.1 Espectroscopia Raman

As análises realizadas diretamente nos exocarpos das amostras de jiló e de banana (*in situ*) e nos respectivos extratos brutos, foram registradas em instrumento FT-Raman Bruker RFS 100, com laser Nd:YAG operando a 1064 nm, com resolução espectral de 4  $\text{cm}^{-1}$ , com número de onda que varia de 4000 a 50  $\text{cm}^{-1}$ . Para as amostras de banana, foram utilizadas potência de laser de 300 mW e 1024 varreduras, enquanto para as amostras de jiló foram utilizadas 250 mW e 512 varreduras, e para os extratos brutos 80 mW e 512 varreduras.

A análise Raman *in situ* das amostras de jiló usando comprimento de onda de excitação a 532 nm foi registrada em um Renishaw in Via Reflex equipado com uma câmera CCD resfriada por Peltier e acoplada a um microscópio Leica (DM2500 M), com objetiva de trabalho 20x. Uma boa relação sinal-ruído foi obtida com o tempo de aquisição de 10s e 2 adições.

A análise Raman *in situ* das bananas usando comprimento de onda de excitação a 532 nm foi registrada em um instrumento de microscópio dispersivo Raman Bruker SENTERRA equipado com um detector CCD, com o feixe de laser incidente focado na amostra usando um microscópio com uma objetiva de trabalho de longa distância 50x. Uma boa relação sinal-ruído foi obtida utilizando uma potência de laser de 10 mW, com tempo de aquisição de 2s e 5 condições.

Os espectros foram obtidos em duplicata para confirmar a integridade da amostra com base na posição e intensidade das bandas observadas. Os espectros Raman foram processados pelo pacote de software Bruker Opus versão 6.0, e a correção da linha de base Raman e o ajuste da curva foram realizados usando o programa Origin 2018 (OriginLab Corporation, n.d.). A deconvolução de bandas largas foi realizada usando o software PeakFIT e Origin 2018 para identificar sinais sobrepostos, usando uma função de resposta gaussiana com um algoritmo de deconvolução/filtragem de Fourier.

### 2.1.3.2 Espectroscopia UV/Visível (Uv/Vis)

Os extratos obtidos foram analisados em espectrômetro Ocean Optics, entre 200 e 1100 nm. As amostras foram diluídas em etanol e adicionadas a uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm para obtenção dos espectros eletrônicos. Os espectros foram processados pelo pacote de software Ocean View, e o ajuste da curva foi realizado usando o programa Origin 2018. A deconvolução de bandas largas foi realizada usando o software PeakFIT e Origin 2018 para separar sinais sobrepostos, usando uma função de resposta gaussiana com um algoritmo de deconvolução/filtragem de Fourier.

## 2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados e discutidos os resultados obtidos das análises dos exocarpos das amostras de jiló e bananas, que fazem parte do artigo publicado: “Ripening process in exocarps of scarlet eggplant (*Solanum aethiopicum*) and banana (*Musa* spp.) investigated by Raman spectroscopy”. Mais detalhes sobre o artigo podem ser encontrados no “Apêndice C- Súmula curricular”.

### 2.2.1 Análise Raman *in situ* do exocarpo de jiló em diferentes estágios de maturação

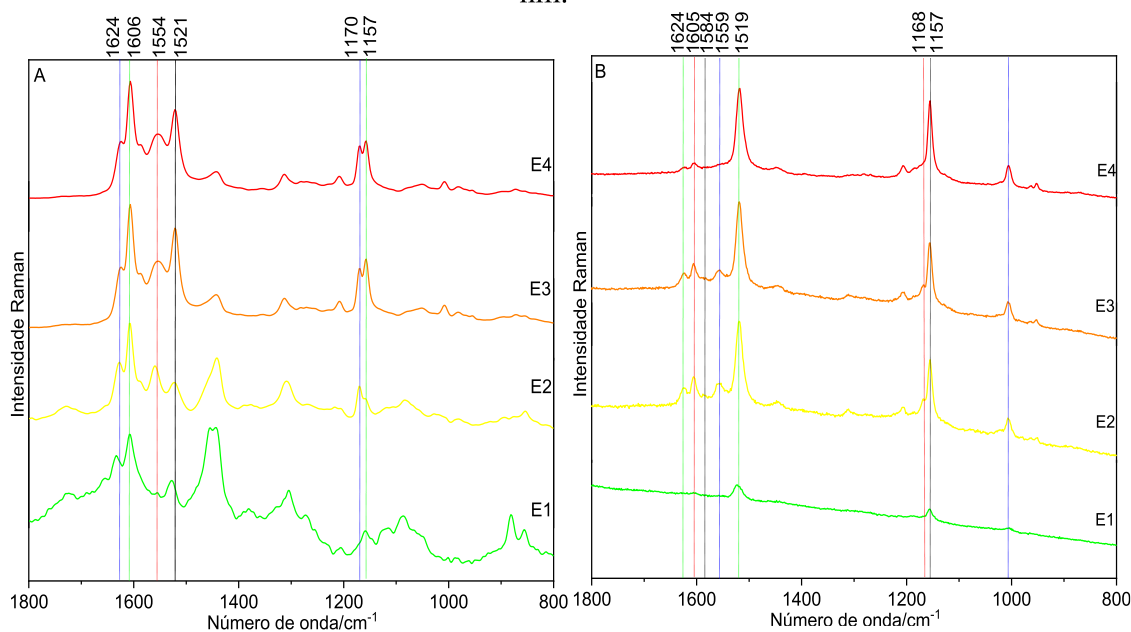
Analisando os espectros Raman *in situ* dos quatro estágios de maturação das amostras de jiló (Figura 2.2A) obtidos com linha de excitação em 1064 nm, pode-se observar bandas principais características de polifenóis e carotenoides (Figura 2.3A; Apêndice A). Bandas de polifenóis observadas em torno de 1630-1554  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas a  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1370-1340  $\text{cm}^{-1}$  a  $\nu(\text{C}-\text{O})$ , 1360-1300  $\text{cm}^{-1}$  a  $\delta(\text{COH})$  e 1270-1250  $\text{cm}^{-1}$  a  $\delta(\text{OH})/\nu(\text{C}-\text{O})$  (Tabela 1) (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020). As bandas atribuídas aos carotenoides estão na faixa de 1527-1521  $\text{cm}^{-1}$  atribuída a  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1159-1155  $\text{cm}^{-1}$  a  $\nu(\text{C}-\text{C})$  e 1008  $\text{cm}^{-1}$  atribuída a  $\rho(\text{C}-\text{CH}_3)$  (Tabela 1) (V. E. de Oliveira et al., 2009; Koyama, Kanaji, et al., 1988; Maia et al., 2021; Saito & Tasumi, 1983). Bandas de ácidos graxos também são observadas, principalmente nos estágios E1 e E2, como aquelas em 1656  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1444  $\delta(\text{CH}_2)$ , 1305  $\delta(\text{CH}_2)$ , 1274  $\delta(=\text{CH})$ , e 1065  $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}-\text{C})$  (Beattie et al., 2004; Popović-Djordjević et al., 2023; Windarsih et al., 2023).

Os quatro diferentes estágios de maturação do jiló apresentaram algumas diferenças no perfil espectral para as bandas atribuídas aos compostos fenólicos e carotenoides. O espectro Raman obtido em 1064 nm da amostra no estágio E1 sugeriu a presença de flavonoides/fenólicos devido às bandas em 1633, 1608, 1580, 1556 e 1170  $\text{cm}^{-1}$ , e carotenoides devido às bandas em 1527, 1158 e 1000  $\text{cm}^{-1}$ . Do estágio de maturação E2 (amarelo) ao E4 (laranja), foi observado um deslocamento Raman para menores números de onda da banda  $\nu(\text{C}=\text{C})$  em ambas as classes de compostos (Figura 2.3A, Apêndice A e Tabela 1). Bandas em 1627, 1608, 1560  $\nu(\text{C}=\text{C})$  e 1170  $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}-\text{C})$  foram atribuídas ao flavonoide chalcona naringenina, previamente identificado em tomate (Campos et al., 2022); e a banda larga na faixa de 1523-1521  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1158  $\nu(\text{C}-\text{C})$  e 1008  $\text{cm}^{-1}$   $\rho(\text{C}-\text{CH}_3)$  para carotenoides com 9 insaturações conjugadas (Campos et al., 2022; V. E. de Oliveira et al., 2009). As bandas atribuídas aos fenólicos apresentaram diferenças na intensidade e posição apenas dos estágios E1 a E2 (Figura 2.3A; Tabela 1). Por outro lado, os carotenoides apresentaram deslocamento Raman de  $\nu(\text{C}=\text{C})$  (1527 a 1521  $\text{cm}^{-1}$ ) ao longo de todos os estágios (E1 a E4) sugerindo variação estrutural. No estágio E2, quando o fruto é amarelo, as bandas atribuídas à chalcona naringenina são mais intensas que as bandas dos carotenoides, indicando que este flavonoide contribui para a pigmentação (Figura 2.3A; Apêndice A). Comparando-se as razões de intensidade da

banda de  $\nu(\text{C}=\text{C})$  carotenoides/flavonoides ( $I_{\nu:1527-1521}/I_{\nu:1608-1606}$ ) nos estágios E1 ( $I_{\nu:1527-1521}/I_{\nu:1608-1606} = 0,35$ ), E2 ( $I_{\nu:1527-1521}/I_{\nu:1608-1606} = 0,33$ ), E3 ( $I_{\nu:1527-1521}/I_{\nu:1608-1606} = 0,79$ ) e E4 ( $I_{\nu:1527-1521}/I_{\nu:1608-1606} = 0,74$ ) verificou-se que os fenólicos predominam sobre os carotenoides. Considerando as bandas correspondentes aos carotenoides, observa-se o aumento na intensidade da banda centrada em  $1518 \text{ cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}=\text{C})$ , o que sugere um aumento do seu conteúdo nas cascas ao longo do amadurecimento do fruto.

A Figura 2.3B mostra espectros Raman obtidos em linha de laser de 532 nm de outro conjunto de amostras de jiló em quatro estágios de maturação (Figura 2.2B) para avaliar a influência da linha *laser* na caracterização do fruto. No estágio E1, apenas bandas atribuídas aos carotenoides são observadas em  $1523 \nu(\text{C}=\text{C})$  e  $1156 \nu(\text{C}-\text{C}) \text{ cm}^{-1}$  (Figura 2.3B; Tabela 1). Nos estágios subsequentes (E2, E3 e E4) também são observadas bandas de flavonoides, porém a intensidade das bandas de carotenoides predomina sobre os flavonoides, devido à pré-ressonância com as transições eletrônicas dos carotenos (entre 270 e 550 nm) (Figura 2.3B; Tabela 1) (Campos et al., 2022; Rodriguez, 2001). Conforme relatado anteriormente por Campos et al. (2022), as análises realizadas com linha *laser* em 1064 nm são mais adequadas para caracterizar tanto os pigmentos carotenoides, quanto os flavonoides produzidos nas diferentes fases de maturação dos frutos (Campos et al., 2022).

Figura 2.3- Espectros Raman médio de cada um dos quatro estágios de maturação do jiló (E1 a E4), obtidos com linha de excitação em (A) 1064 nm e (B) 532 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).



Tabela 1- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nos quatro estágios de maturação do jiló, obtidas linha de excitação em 1064 nm e 532 nm.

Bandas (cm <sup>-1</sup> )								Tentativa de atribuição
1064 nm				532 nm				
E1	E2	E3	E4	E1	E2	E3	E4	
1724f	1726f							$\nu(\text{C}=\text{O})^a$
1633f	1627f	1624f	1624f		1625f	1620f	1625f	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
1608i	1608i	1607i	1606i		1606f	1606f	1603f	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
	1589f	1587f	1587f		1588f	1583f		$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
1554f	1560m	1554f	1554f		1556f	1556f		$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
1527f	1523f	1521m	1521m	1523f	1519i	1519i	1518i	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{car}}^c$
1440i	1442i	1442f	1442f		1445f	1445f	1449f	$\rho(\text{C}-\text{H})_{\text{flav/car}}^{b,c}$
1305f	1309f	1313f	1313f		1311f	1311f		$\rho(\text{C}-\text{H})^a$
	1170m	1169f	1169f		1168f	1168f		$\nu(\text{C}-\text{C})_{\text{flav}}^b$
1159f	1159f	1157m	1157m	1156f	1155i	1155i	1155i	$\nu(\text{C}-\text{C})_{\text{car}}^c$
		1008f	1008f		1007f	1007f	1005f	$\rho(\text{C}-\text{CH}_3)_{\text{car}}^c$

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

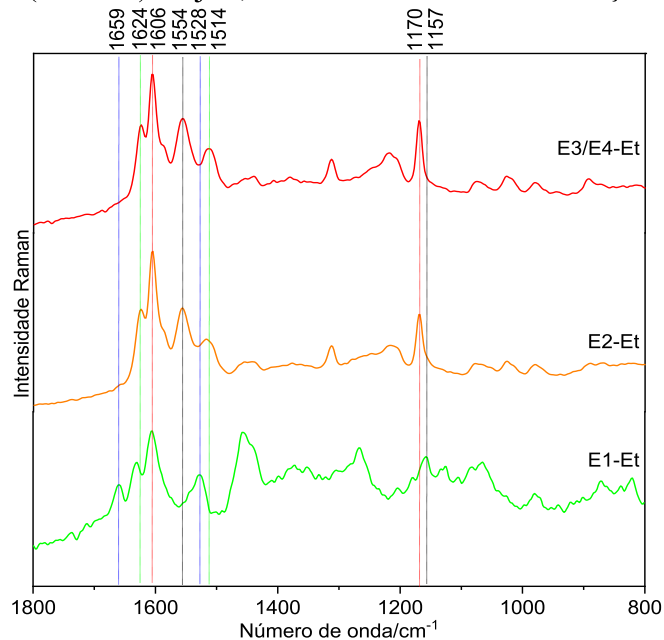
Intensidades Raman: i- intensa, m- media, f-fracas, l-larga. flav: Flavonoides; car: Carotenoides. Referências: a: (Beattie et al., 2004; Popović Djordjević et al., 2023); b: (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020); c: (Koyama, Takatsuka, et al., 1988; Saito & Tasumi, 1983).

## 2.2.2 Análises espectrais vibracionais e eletrônicos de extratos etanólicos de jiló

O extrato bruto das cascas de jiló no estágio E1 (E1-Et) apresentou perfil espectral Raman semelhante ao obtido na análise *in situ* (Figura 2.3A e Figura 2.4; Tabela 2). Bandas vibracionais atribuídas a fenólicos/flavonoides podem ser observadas em torno de 1630, 1607, 1574, 1167 cm<sup>-1</sup>; carotenoides foram identificados devido a uma banda larga na faixa de 1540-1516  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , e em 1157 cm<sup>-1</sup>  $\nu(\text{C}-\text{C})$  (Figura 2.4). Bandas adicionais em 1659, 1446, 1306, 1268, 1065 cm<sup>-1</sup> podem ser atribuídas a ácidos graxos (Figura 2.4; Tabela 2). O extrato bruto E2-Et apresentou espectro Raman semelhante aos estágios E3/E4, onde as bandas dos flavonoides ocorreram em 1624, 1607, 1597, 1557 e 1170 cm<sup>-1</sup>, e a banda larga dos carotenoides centrada em 1518, 1170 e 1018. cm<sup>-1</sup>. Assim como na análise *in situ* foram observadas diferenças na composição química durante o processo de maturação devido ao deslocamento Raman da banda  $\nu(\text{C}=\text{C})$  de 1630 cm<sup>-1</sup> (E1-Et) para 1624 cm<sup>-1</sup> (E2-Et, E3-Et/E4-Et) juntamente com o aumento de intensidade

das bandas em torno de 1557 e 1170  $\text{cm}^{-1}$ , que são algumas das bandas marcadoras da chalcona naringenina.

Figura 2.4- Espectros Raman médios dos extratos etanólicos, dos quatro estágios de maturação (E1 a E4) do jiló, obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 2-Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nos extratos etanólicos de jiló, obtidos com linha de excitação em 1064 nm.

Bandas ( $\text{cm}^{-1}$ )			Tentativa de atribuição
E1-Et	E2-Et	E3/E4-Et	
1659f			$\nu(\text{C}=\text{C})^a$
1630m	1624m	1624m	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
1607i	1606i	1607i	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
	1597f		$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
1574f			$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
	1554m	1557m	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
1540f			$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{car}}^c$
1527m	1518f	1514f	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{car}}^c$
1446i	1443f	1441f	$\rho(\text{C}-\text{H})_{\text{flav/car}}^{b,c}$
1306f	1314f	1314f	$\rho(\text{C}-\text{H})^a$
1167f	1170m	1170m	$\nu(\text{C}-\text{C})_{\text{flav}}^b$
1157f			$\nu(\text{C}-\text{C})_{\text{car}}^c$

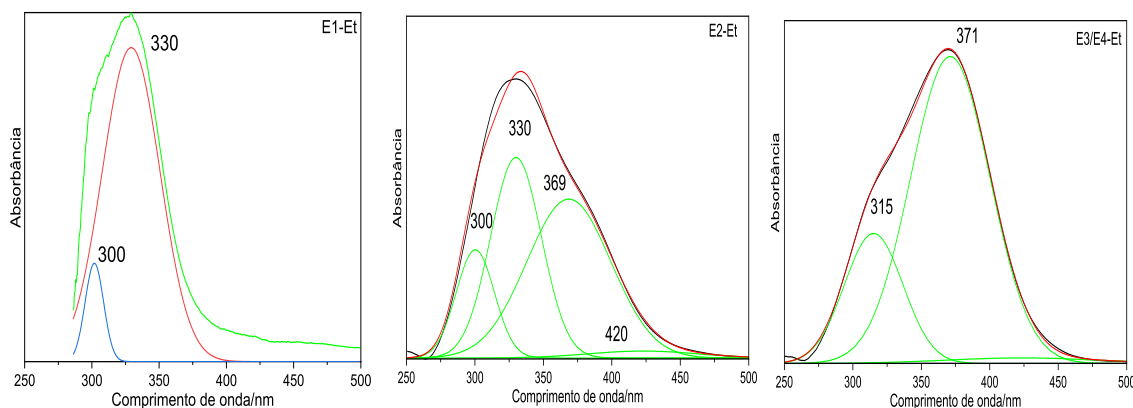
	1018f	1018f	$\rho(\text{C-CH}_3)_{\text{car}}^c$
--	-------	-------	--------------------------------------

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Intensidades Raman: i- intensa, m- media, f-fracas, l-larga. flav: Flavonoides; car: Carotenoides. Referências: a: (Beattie et al., 2004; Popović Djordjević et al., 2023); b: (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020); c: (Koyama, Takatsuka, et al., 1988; Saito & Tasumi, 1983).

A análise UV-Vis foi utilizada como técnica complementar para monitorar os principais pigmentos presentes nos diferentes estágios de maturação, com base na faixa de absorção dos extratos brutos em comparação com amostras padrão da literatura. Os espectros eletrônicos dos diferentes extratos brutos confirmaram as alterações na composição química observadas nas análises Raman; o estágio E1-Et mostrou uma banda larga com absorção máxima em 330 nm e um ombro em 300 nm (Figura 2.5 2.5), que são característicos de ácidos fenólicos (Kowalski & Kowalska, 2005; Martin et al., 2017), mas também são típicos de alguns flavonoides (K. Jash, 2023; Tsimogiannis et al., 2007). Bandas muito fracas em 420 e 667 nm podem ser atribuídas às clorofilas (Matti Linnanto, 2022). No entanto, o estágio E2-Et apresentou uma banda larga com absorção máxima em 330 nm, um ombro em 300 nm e em 369 nm; este último foi atribuído ao flavonoide chalcona naringenina (Figura 2.5) (González Moreno et al., 2021). Por outro lado, os estágios E3/E4 apresentaram um ombro em torno de 315 nm e uma banda larga centrada em 371 nm (Figura 2.5). A banda crescente atribuída à chalcona naringenina observada nos espectros eletrônico e Raman sugere a contribuição de flavonoides na coloração da casca. Embora os espectros Raman tenham mostrado bandas de carotenoides em todos os estágios (Figura 2.4; Figura 2.5), os espectros eletrônicos (UV-Vis) mostraram uma banda muito fraca em torno de 422 nm revelada pela deconvolução das bandas de absorção no UV-Vis (Figura 2.5), que poderiam ser atribuídas a carotenoides (Rodriguez, 2001).

Figura 2.5- Espectro eletrônico dos extratos etanólicos dos quatro estágios de maturação (E1 a E4) do jiló.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

O jiló é um fruto pertencente à família Solanaceae, assim como o tomate, a batata, o pimentão e outros. O jiló compartilha o mesmo gênero das espécies *Solanum melongena* e *Solanum macrocarpon* (Han et al., 2021). O valor comercial do jiló se dá pela sua cor verde e sabor amargo; portanto, os frutos são colhidos com coloração verde intensa (Mendes, 2013). Os dados espectrais Raman obtidos em 1064 e 532 nm mostraram que o conteúdo de carotenoides aumenta à medida que o fruto amadurece, mas os fenólicos/flavonoides não parecem mudar muito (Figura 2.4; Figura 2.5). Ambas as classes de compostos atuam como antioxidantes, no entanto, os flavonoides também são de alta relevância para o mecanismo de defesa das plantas (Mierziak et al., 2014) e podem transmitir amargor desagradável (Danton et al., 2018; Roland et al., 2013) como relatado para compostos derivados da chalcona naringenina (Danton et al., 2018; Mierziak et al., 2014; Peterson et al., 2006; Roland et al., 2013). Entre os tecidos dos frutos testados por Faraone et al. (2022), o extrato da casca de *S. aethiopicum* demonstrou a melhor atividade antioxidante (Faraone et al., 2022), além disso *S. aethiopicum* demonstrou baixa suscetibilidade a pragas e doenças (Han et al., 2021).

O jiló contém quantidades substanciais de flavonoides (Chinedu et al., 2011; Eletta et al., 2017). Faraone et al., 2022 relataram a ocorrência de nove compostos fenólicos (3 ácidos hidroxicinâmicos, 4 flavanonas e 3 flavanóis), que foram identificados a partir do extrato etanólico da sua casca utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detector de arranjo linear de diodos (em inglês, HPLC-DAD) (Faraone et al., 2022). Observou-se um teor significativamente maior de fenólicos totais na casca em comparação ao endocarpo (Faraone et al., 2022). Além disso, outros

flavonoides e ácidos fenólicos já foram identificados em amostras de jiló, como rutina, catequina, kaempferol, ácidos clorogênico, siríngico, sinápico, ferúlico, *p*-cumárico, elágico e salicílico (Faraone et al., 2022; Seal et al., 2016). A chalcona naringenina, como pigmento amarelo das frutas, desempenha um papel importante nas mudanças de coloração nos estágios de maturação da berinjela roxa (*Solanum melongena*) (X. Wang et al., 2022), tomate (*Lycopersicon esculentum*) (Ballester et al., 2009; Campos et al., 2022) e pimentão (*Capsicum baccatum* L.) (Zhang et al., 2022).

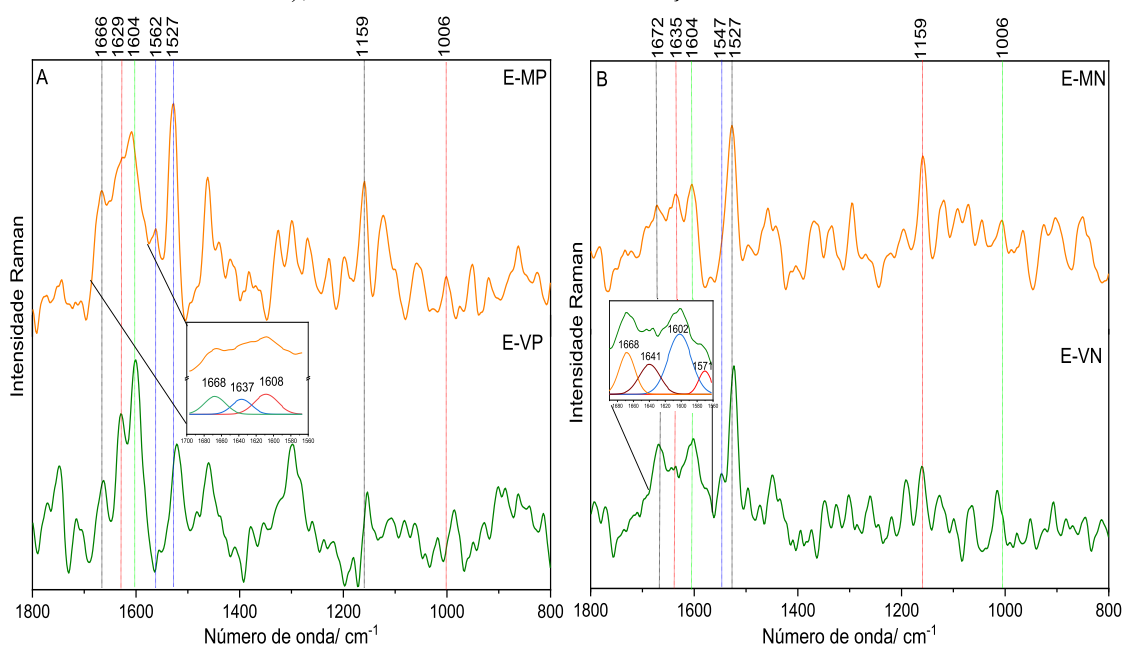
O conteúdo de carotenoides dos extratos de jiló (casca, polpa e fruto inteiro) relatado por Faraone et al. (2022), apontou que eles estão concentrados na casca e o mais abundante é o  $\beta$ -caroteno, seguido pelo  $\alpha$ -caroteno, luteína e licopeno, porém, outros estudos mostraram que a composição dos carotenoides pode variar entre variedades de *S. aethiopicum*, bem como estágios de maturação (Msogoya et al., 2014). Na maioria dos vegetais, a composição e concentração de carotenoides determinam a intensidade e o tipo de cor. Fatores como genótipo, fase de maturação, cultivo e condições climáticas, bem como práticas pós-colheita e de processamento influenciam o conteúdo e os tipos de carotenoides em frutas e outros vegetais. A composição dos carotenoides em fontes ricas em carotenoides é uma característica determinada pela espécie (Kolašinac et al., 2021; Msogoya et al., 2014). O  $\beta$ -caroteno, além do  $\alpha$ -caroteno e das xantofilas, é responsável pela cor amarelo-laranja, enquanto a cor dos frutos laranja pode ser atribuída à criptoxantina e à zeaxantina (Kolašinac et al., 2021; Saini et al., 2015), no entanto, não parece ser o caso do jiló. Os resultados obtidos, juntamente com dados da literatura (Ballester et al., 2009; Mutalib et al., 2016), sugerem que o principal flavonoide encontrado no jiló é a chalcona naringenina, que pode ser responsável pela cor amarela do fruto e, juntamente com  $\beta$ -caroteno, principal caroteno do jiló, determinam a cor laranja escura da fruta (Faraone et al., 2022; Seal et al., 2016).

### **2.2.3 Análises Raman *in situ* do exocarpo da banana em diferentes estágios de maturação**

Os espectros Raman obtidos com linha de excitação em 1064 nm a partir das cascas de dois diferentes estágios de maturação de banana ‘prata’ (Figura 2.2C) e ‘nanica’ (Figura 2.2D) são apresentados nas Figuras 2.6A, 2.6B e Apêndice A, respectivamente. Nos estágios verdes e maduros podem ser observadas bandas em torno de 1740  $\nu(\text{C}=\text{O})$ , 1672-1662  $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1462  $\text{cm}^{-1}$   $\delta(\text{CH}_2)$ , 1300  $\delta(\text{CH}_2)$  1270  $\delta(=\text{CH})$  e 1060  $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}-$

C), que podem ser atribuídos aos modos vibracionais dos ácidos graxos (Beattie et al., 2004). Bandas em 1630 e 1600  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1350  $\nu(\text{C}-\text{O})$ , 1325  $\delta(\text{COH})$  e 1270-1250  $\text{cm}^{-1}$   $\delta(\text{OH})/\nu(\text{C}-\text{O})$  foram atribuídas a modos vibracionais de compostos fenólicos (Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020). Bandas referentes a carotenoides na faixa de 1527-1521  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1159  $\nu(\text{C}-\text{C})$  e 1006  $\text{cm}^{-1}$   $\rho(\text{C}-\text{CH}_3)$ , são típicas de modos vibracionais de polienos conjugados, como carotenos C9 (V. E. de Oliveira et al., 2009; Koyama, Takatsuka, et al., 1988; Maia et al., 2021; Saito & Tasumi, 1983). A tentativa de atribuição para as principais bandas Raman observadas nos espectros das bananas 'prata' e 'nanica', respectivamente, pode ser vista na Tabela 3.

Figura 2.6- Espectros Raman médios dos dois estágios de maturação da banana: (A) 'prata' - verde (E-VP) e madura (E-MP), e (B) 'nanica' - verde (E-VN) e madura (E-MN), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 3- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nos espectros das cascas de banana 'prata' e 'nanica', obtidos com linha de excitação em 1064 e 532 nm.

Bandas (cm <sup>-1</sup> )								Tentativa de atribuição
1064 nm				532 nm				
'Prata'		'Nanica'		'Prata'		'Nanica'		
E-VP	E-MP	E-VN	E-MN	E-VP	E-MP	E-VN	E-MN	
1662f	1668m	1668m	1672f					v(C=C) <sup>a</sup>
1630m	1637o	1641f	1635f		1632m			v(C=C) <sub>flav</sub> <sup>b</sup>
1600i	1608m	1602m	1604m	1612f	1604m			v(C=C) <sub>flav</sub> <sup>b</sup>
	1562f	1571o	1570f	1570f				v(C=C) <sub>flav</sub> <sup>b</sup>
1556f		1547f						v(C=C) <sub>car</sub> <sup>c</sup>
1521m	1527i	1523i	1527i	1525i	1525i	1525i	1525i	v(C=C) <sub>car</sub> <sup>c</sup>
1460m	1462m		1458f		1462m			δ(C-H <sub>2</sub> ) <sup>a</sup>
		1448f		1440f	1440m	1442f	1442f	ρ(C-H) <sub>flav/car</sub> <sup>b,c</sup>
1298m	1300f	1302f	1296f		1296i			ρ(C-H) <sup>a</sup>
1180f	1194f	1192m	1196f					v(C-C) <sup>a</sup>
1154m	1159m	1160m	1159i	1158i	1158i	1158i	1158i	v(C-C) <sub>car</sub> <sup>c</sup>
	1006f	1014f	1006f	1006f	1006f	1006f	1006f	ρ(C-CH <sub>3</sub> ) <sub>car</sub> <sup>c</sup>

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

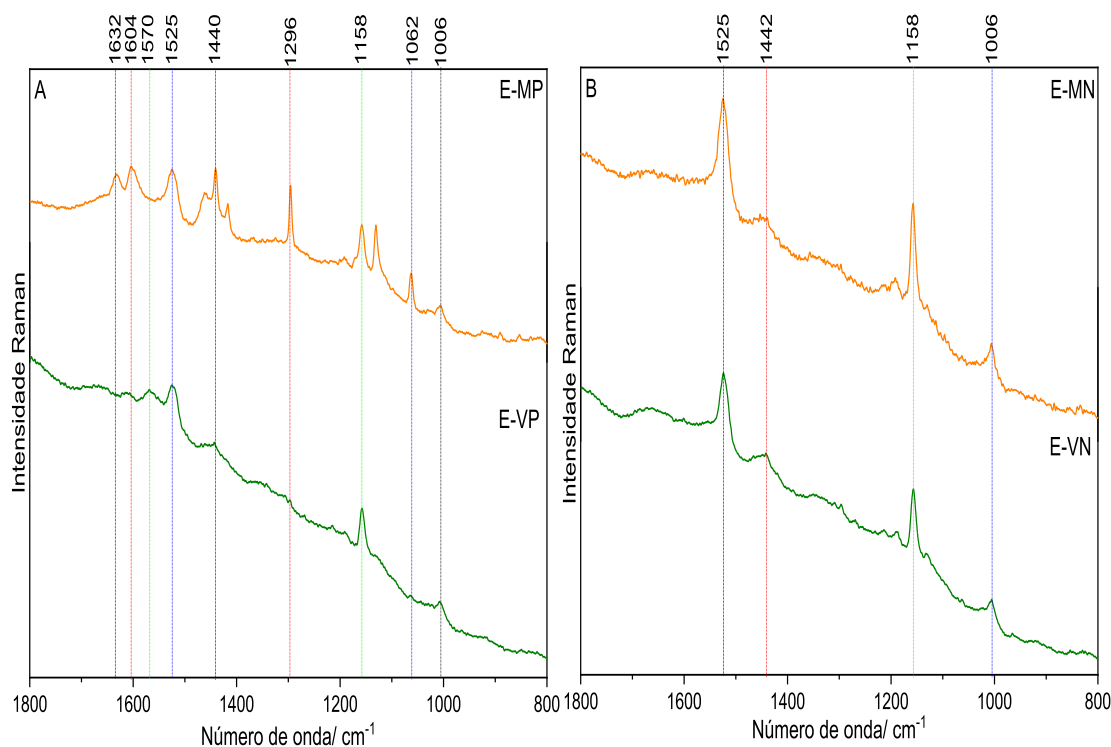
Intensidades Raman: i- intensa, m- media, f-frac, l-larga, o-ombro. flav: Flavonoides; car: Carotenoides. Referências: a: (Beattie et al., 2004; Popović Djordjević et al., 2023); b: (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020); c: (Koyama, Takatsuka, et al., 1988; Saito & Tasumi, 1983).

Os espectros dos dois estágios de maturação das bananas 'prata' (E-VP, E-MP) e 'nanica' (E-VN, E-MN) apresentaram perfis espectrais semelhantes. Durante o processo de maturação foi observado um pequeno aumento nas intensidades das bandas de carotenoides em relação aos ácidos fenólicos apenas na variedade 'prata'. No estágio de maturação verde, onde as bananas apresentavam coloração verde, as principais bandas da 'prata' foram observadas em 1747, 1714, 1706, 1662, 1630, 1600, 1556, 1521, 1460, 1379, 1298 e 1154 cm<sup>-1</sup> e para 'nanica' em 1710, 1668, 1635, 1602, 1571, 1547, 1523, 1448, 1347, 1302, 1160, 1064 e 1014 cm<sup>-1</sup> (Figura 2.6A, Figura 2.6B e Apêndice A; Tabela 3). No estágio maduro, com as bananas quase totalmente amareladas, as bandas ocorreram em 1743, 1705; 1668, 1637, 1608, 1562, 1527, 1462, 1383, 1300, 1159 e 1006 cm<sup>-1</sup> para 'prata' e 1751, 1693, 1672, 1635, 1604, 1570, 1527, 1458, 1369, 1296, 1159 e 1006 cm<sup>-1</sup> para 'nanica' (Figura 2.6A, Figura 2.6B e Apêndice A; Tabela 3). Comparando o estágio de maturação verde com o maduro da 'prata', pode-se observar um aumento na intensidade das bandas características dos carotenoides em torno de 1527 e 1159 cm<sup>-1</sup>,

enquanto as bandas dos ácidos fenólicos não apresentaram aumento perceptível. Do estágio de maturação verde ao maduro da 'nanica', não foram observadas diferenças significativas na intensidade dos ácidos fenólicos e das bandas de carotenoides.

Espectros Raman de outro conjunto de E-VP, E-MP (Figura 2.2E) e E-VN, E-MN (Figura 2.2F) na linha de excitação de 532 nm também foram apresentados (Figura 2.7A, Figura 2.7B; Tabela 3). A análise dos espectros Raman da 'prata' mostrou um aumento na intensidade das bandas atribuídas tanto aos fenólicos quanto aos carotenoides, à medida que as bananas mudam dos estágios verdes para os maduros (Figura 2.7A). Ao mesmo tempo, para 'nanica' foi observada uma intensificação de bandas atribuídas apenas aos carotenoides (1525, 1158 e 1006  $\text{cm}^{-1}$ ) (Figura 2.7B; Tabela 3).

Figura 2.7- Espectros Raman médios dos dois estágios de maturação da banana: (A) 'prata'- verde (E-VP) e madura (E-MP), e (B) 'nanica'- verde (E-VN) e madura (E-MN), obtidos com linha de excitação em 532 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).



#### 2.2.4 Análises espectrais vibracionais e eletrônicos de extratos etanólicos de banana

Os espectros Raman dos extratos etanólicos das cascas verdes e maduras da 'prata' (Et-VP, Et-MP) e 'nanica' (Et-VN, Et-MN) também apresentaram as principais bandas vibracionais atribuídas a fenólicos e carotenoides. Para Et-VP foram observadas bandas em 1618, 1529, 1456, 1155 e 1008  $\text{cm}^{-1}$  e para Et-MP bandas em 1645, 1608, 1529, 1456, 1155 e 1014  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 2.8A; Tabela 4). Durante o processo de maturação, observou-se diferenças nos espectros Raman e eletrônico principalmente no teor de ácidos fenólicos, sugerindo alterações na composição química desses compostos (Figura 2.8A e Figura 2.9A). Uma banda Raman larga centrada em 1618  $\text{cm}^{-1}$  em Et-VP aparece como um ombro no Et-MP, juntamente com bandas médias em 1608  $\text{cm}^{-1}$  e 1645  $\text{cm}^{-1}$ . Do estágio verde para o maduro, pode-se observar uma diminuição na intensidade das bandas Raman atribuídas aos ácidos fenólicos quando comparados aos carotenoides, mas nenhum deslocamento Raman foi observado na banda centrada em 1529  $\text{cm}^{-1}$ , tanto nos estágios verdes quanto nos maduros (Figura 2.8A).

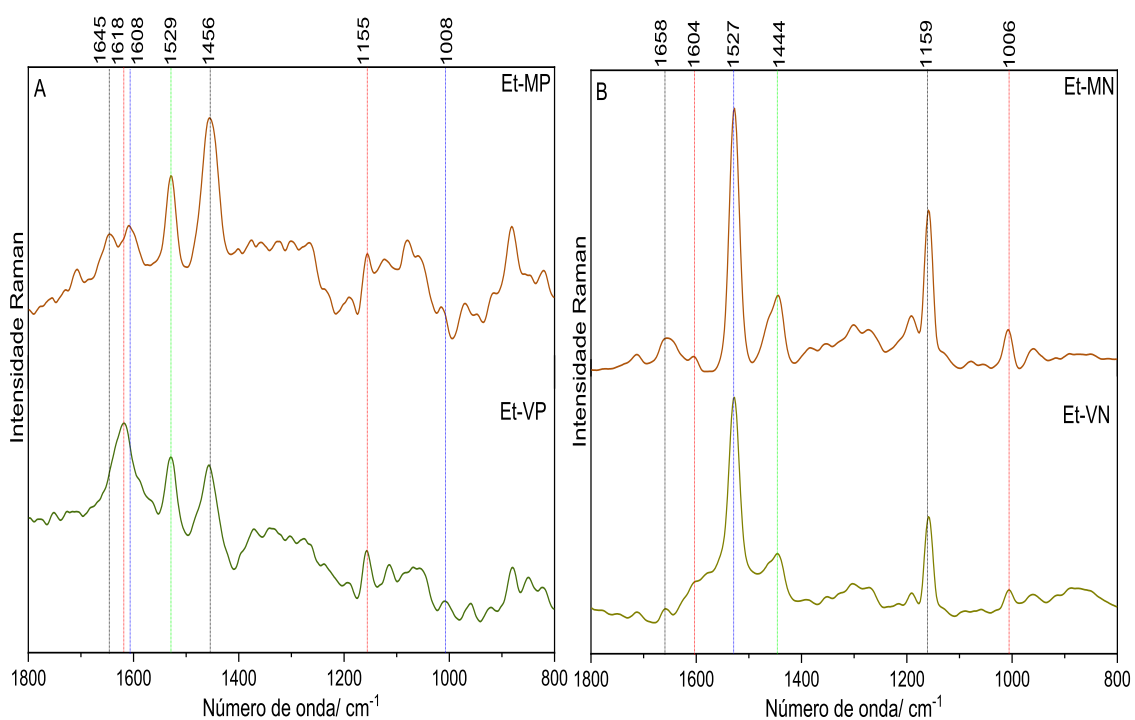
O espectro eletrônico de Et-VP mostrou uma banda com  $\lambda_{\text{max}}$  em 233, 265 nm e ombros em 301 e 357 nm que podem ser atribuídas a ácidos fenólicos e flavonoides (Figura 2.9A) (Kowalski & Kowalska, 2005; Martin et al., 2017; Tsimogiannis et al., 2007). Bandas fracas em 427, 470 e 660 nm podem ser atribuídas a carotenoides (427 e 470 nm) (Rodriguez, 2001) e clorofilas (427 e 660 nm) (Matti Linnanto, 2022). No entanto, alterações no perfil espectral eletrônico do estágio verde para o maduro indicaram diferenças na composição química dos flavonoides/ ácidos fenólicos e um aumento no conteúdo de carotenoides devido às bandas em 421, 442, 470 nm (Figura 2.9 A).

Por outro lado, uma comparação entre Et-VN e Et-MN mostrou grandes diferenças espectrais nos espectros eletrônicos, uma vez que os espectros Raman não mostraram qualquer mudança na posição das bandas. No fruto verde, as bandas principais ocorrem em 1658, 1604, 1558, 1527, 1444, 1303, 1270, 1159, 1005  $\text{cm}^{-1}$ , e no fruto maduro em 1654, 1604, 1527, 1444, 1302, 1273, 1159 e 1006  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 2.8B, Tabela 4).

Os espectros eletrônicos de Et-VN mostraram uma mistura complexa que pode ser atribuída a ácidos fenólicos e flavonoides devido às bandas com  $\lambda_{\text{max}}$  em 282, 312, 332 nm e um ombro em torno de 380 nm. Bandas em 433 e 467 nm podem ser atribuídas

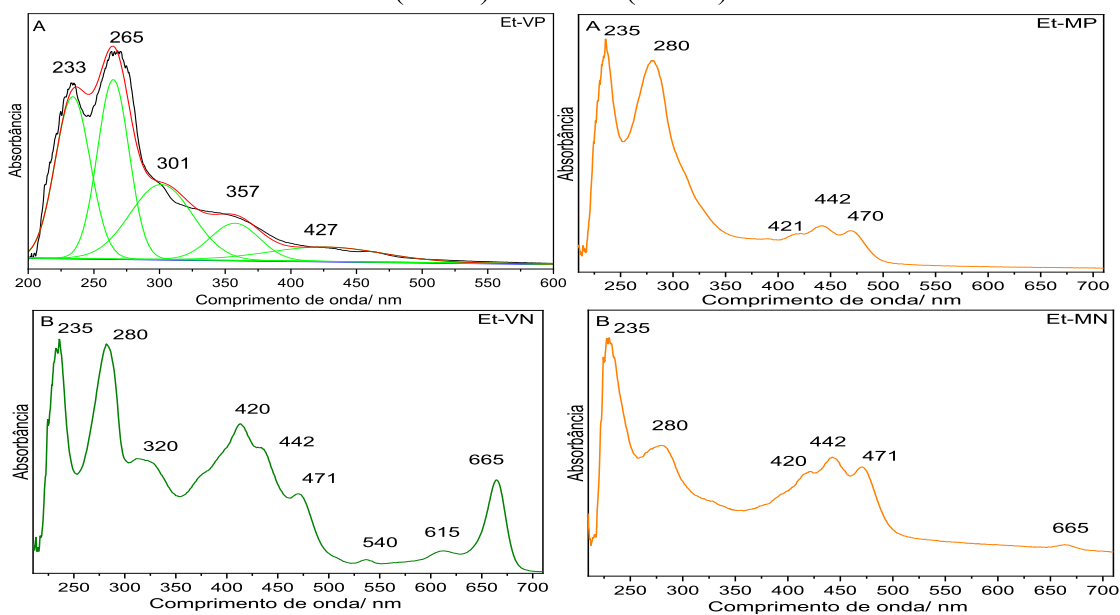
a carotenoides (Figura 2.9B) (Rodriguez, 2001) e bandas em 665 nm a clorofilas (Matti Linnanto, 2022). À medida que o fruto amadurece, são observadas mudanças na maioria das bandas, especialmente nas bandas de absorção em 422, 442 e 470 nm, que são típicas da luteína. (Figura 2.9B).

Figura 2.8- Espectros Raman médios dos extratos etanólicos nos dois estágios de maturação da banana: (A) ‘prata’- verde (E-VP) e madura (E-MP), e (B) ‘nanica’- verde (E-VN) e madura (E-MN), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura 2.9- Espectro eletrônico dos extratos etanólicos dos dois estágios de maturação da banana: (A) ‘prata’- verde (E-VP) e madura (E-MP), e (B) ‘nanica’- verde (E-VN) e madura (E-MN).



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 4- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nos extratos etanólicos das cascas de bananas ‘prata’ e ‘nanica’, obtidos com linha de excitação em 1064 nm.

Bandas (cm <sup>-1</sup> )				Tentativa de atribuição
Prata		Nanica		
Et-VP	Et-MP	Et-VN	Et-MN	
		1658f	1654f	$\nu(\text{C}=\text{C})^a$
	1645f			$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
1618i				$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
	1608f	1604f	1604f	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
1529m	1529m	1527i	1527i	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{car}}^c$
1456m	1456i			$\delta(\text{C}-\text{H}_2)^a$
		1444f	1444f	$\rho(\text{C}-\text{H})_{\text{flav/car}}^{b,c}$
1155f	1155f	1159m	1159m	$\nu(\text{C}-\text{C})_{\text{car}}^c$
1008f	1014f	1005f	1006f	$\rho(\text{C}-\text{CH}_3)_{\text{car}}^c$

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Intensidades Raman: i- intensa, m- media, f-frac. flav: Flavonoides; car: Carotenoides. Referências: a: (Beattie et al., 2004; Popović Djordjević et al., 2023); b: (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020); c: (Koyama, Takatsuka, et al., 1988; Saito & Tasumi, 1983).

A casca da banana é uma fonte abundante de fibra alimentar, proteínas, lipídios, pectina, aminoácidos essenciais, ácidos graxos poli-insaturados e micronutrientes, além de outros compostos bioativos (Ibiyinka et al., 2021; Khawas & Deka, 2016; Naksing et al., 2021). Independentemente do tipo de fruto (climatérico, que continua a amadurecer após ser colhido, ou não climatérico, para de amadurecer após ser colhido), o amadurecimento dos frutos acaba levando a transformações como amolecimento da parede celular, acúmulo de açúcares e compostos fenólicos, alterações de cor (acúmulo de antocianinas e carotenoides) e formação de aroma e compostos voláteis. Durante o amadurecimento pós-colheita da banana ocorre degradação da clorofila e acúmulo de carotenoides na casca da fruta. A casca madura da banana é mais rica em carotenoides totais em comparação com outras partes da banana, independentemente do estágio de maturação (Aquino et al., 2018). Os carotenoides contribuem para a cor da banana em maior grau em comparação com os flavonoides, o que é atribuído às suas propriedades e distribuição nas células da casca (Fu et al., 2018).

A composição fenólica da banana é dependente de vários fatores, como região de produção, método de cultivo (orgânico e não orgânico), variedade (Sidhu & Zafar, 2018; Vu et al., 2019), mas entre os principais flavonoides encontrados nas bananas estão quercetina, miricetina, kaempferol e cianidina (Kevers et al., 2007). Em um estudo onde investigou-se os perfis fenólicos de nove cultivares de banana nas polpas e cascas, constatou-se que os ácidos hidroxicinâmicos são dominantes nas polpas e, nas cascas, predominam os glicosídeos flavonol, sendo a rutina a mais abundante (Passo Tsamo et al., 2015). Vu et al. (2019) relataram que o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante aumentaram durante a maturação dos frutos de banana, o que está de acordo com os resultados do presente estudo sobre a ocorrência tanto do teor de fenólicos quanto de carotenoides.

Os principais carotenoides relatados na casca da 'prata' e da 'nanica' são o  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno e a luteína como o mais abundante (Aquino et al., 2018), o que está de acordo com outras frutas que possuem casca amarela quando madura, como maracujá e melão (dos Reis et al., 2018; Tuan et al., 2019). Foi relatado que a luteína constitui 58,6-74,2% do conteúdo de carotenoides no tecido da casca de diferentes variedades de banana (Fu et al., 2018). Porém, sabe-se que a concentração desses metabólitos varia de acordo com a cultura e o estágio de maturação (Aquino et al., 2018; Fu et al., 2018; Sidhu & Zafar, 2018; Vu et al., 2019). Vu et al. (2019) relataram uma diminuição no teor de clorofila em cerca de 90% e um aumento no teor de carotenoides e flavonoides em até

50% e 27%, respectivamente, durante a maturação da banana. A luteína foi o carotenoide dominante na casca verde e madura de 15 cultivares brasileiras (incluindo ‘prata’ e ‘nanica’), e seu conteúdo não diferiu muito entre os dois estágios na maioria das cultivares. Além disso, foi observada uma pequena diminuição do  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno na casca durante a maturação dos frutos. O teor de  $\alpha$ -caroteno variou notavelmente entre cultivares, enquanto em ‘prata’ e ‘nanica’ foi observado maior teor de  $\beta$ -caroteno em comparação com  $\alpha$ -caroteno (Aquino et al., 2018).

Na espectroscopia Raman, a concentração e a intensidade são lineares, no entanto, é importante ressaltar que a intensidade absoluta para cada um dos constituintes de uma matriz complexa, como um vegetal, não é tão simples e depende também de uma característica intrínseca da molécula, a polarizabilidade. Nesse sentido, mesmo que a concentração de carotenos em algumas amostras seja baixa, como o jiló e banana, a intensidade do sinal Raman é muito alta, como está bem estabelecido na literatura de investigações Raman de carotenos (V. E. de Oliveira et al., 2009). Além disso, também deve-se levar em consideração a linha de excitação, pois a intensidade das bandas Raman devido à ressonância ou pré-ressonância com as transições eletrônicas pode variar em cada um dos constituintes, como flavonoides (entre 240 e 400 nm) e carotenoides (entre 270 e 550 nm).

### 2.3 CONCLUSÕES

A espectroscopia Raman foi utilizada pela primeira vez para caracterizar os processos de amadurecimento de amostras de jiló e de duas variedades de banana, ‘prata’ e ‘nanica’. Os dados Raman indicaram que a coloração amarela em cada tipo de fruta tem uma origem distinta, apesar de ambas as espécies serem ricas fontes das mesmas classes de compostos, tais como ácidos fenólicos, flavonoides e carotenoides. Diferenças na composição de carotenoides e ácidos fenólicos/flavonoides entre as duas espécies foram demonstradas por análises espectrais Raman e eletrônica. Uma combinação de flavonoides e carotenoides pode ser responsável pela coloração do jiló e da banana. Baseado em dados Raman e na região do ultravioleta-visível, o pigmento laranja do jiló maduro é a chalcona naringenina associada ao  $\beta$ -caroteno, que foi previamente relatado como o principal carotenoide na casca. Sabe-se que a cor amarela das bananas maduras é devida ao carotenoide luteína e aqui, os espectros eletrônicos dos extratos brutos de ambas as variedades corroboram com a literatura.

Os resultados ressaltam que a espectroscopia Raman *in situ* pode identificar e rastrear os principais componentes presentes durante o processo de maturação de ambas as espécies. A comparação entre os estágios verdes e maduros de ambas as espécies indica que o jiló seja mais rico em ácidos fenólicos/flavonoides do que a banana. Embora a espectroscopia Raman tenha demonstrado bandas intensas de carotenoides na casca de ambas as espécies, ela não pode ser correlacionada com a concentração. Porém, a vantagem da técnica é a detecção de pequenas quantidades dos carotenoides e flavonoides bioativos em matrizes complexas, sob diferentes linhas de excitação e em estágios de maturação selecionados. As análises dos espectros eletrônicos bem como dos dados Raman dos extratos brutos ao longo do processo de maturação de ambas as espécies, mostraram quão complexos são os perfis metabólicos biossintetizados a partir de diversos *pools* enzimáticos para produzir diferentes pigmentos, que conjuntamente são responsáveis pelas cores dos frutos.

Vale ressaltar que as cascas são subprodutos agroalimentares que têm sido reconhecidas como uma fonte boa e barata de compostos fenólicos e carotenoides. A identificação e caracterização de moléculas bioativas presentes na casca fomentam as pesquisas em andamento em todo o mundo no desenvolvimento de produtos de valor agregado. Além disso, a valorização de resíduos/subprodutos pode impactar positivamente os setores econômico, social e ambiental.

### 3 CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA RAMAN DE PIMENTAS E PIMENTÕES

A pimenta é um ingrediente amplamente utilizado em várias cozinhas ao redor do mundo devido aos seus sabores únicos, que podem ser picantes, doces ou azedos. Também são tradicionalmente utilizadas como alimentos funcionais, que promovem saúde, devido ao seu alto teor de compostos bioativos, como carotenoides e polifenóis (Ghasemnezhad et al., 2011; G. P. Gomes et al., 2019; J. E. Oney-Montalvo et al., 2020).

As pimentas classificadas sob o gênero *Capsicum*, da família Solanaceae, são nativas de zonas tropicais e úmidas das Américas Central e do Sul (Salgaço, 2019). O *Capsicum* é conhecido por suas cinco principais espécies domesticadas, *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* e *C. pubescens*. Sua diversidade genética fornece frutos com diferentes morfologias e perfis de metabólitos, como carotenoides, polifenóis e capsaicinóides, que aumentam o valor da pimenta do ponto de vista nutricional. Os carotenoides das pimentas pertencentes ao gênero *Capsicum* compreendem, principalmente, a capsantina e capsorubina (Figura 3.1), juntamente com  $\beta$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, luteína, zeaxantina, anteraxantina e violaxantina (Salgaço, 2019). Já os flavonoides mais comuns são glicosídeos de miricetina, quercetina, luteolina, kaempferol e apigenina (Nascimento, 2012). A pungência ou ardência das pimentas desse gênero é devido a presença dos capsaicinóides, entres os quais se destaca a capsaicina (Figura 3.1), que é um alcaloide (Nascimento, 2012; Salgaço, 2019). Estudos já evidenciaram o potencial antidiabético, anti-inflamatório e cardioprotetor (Hernández-Ortega et al., 2012; Tundis et al., 2011, 2013; Voutilainen et al., 2006) das pimentas do gênero *Capsicum*.

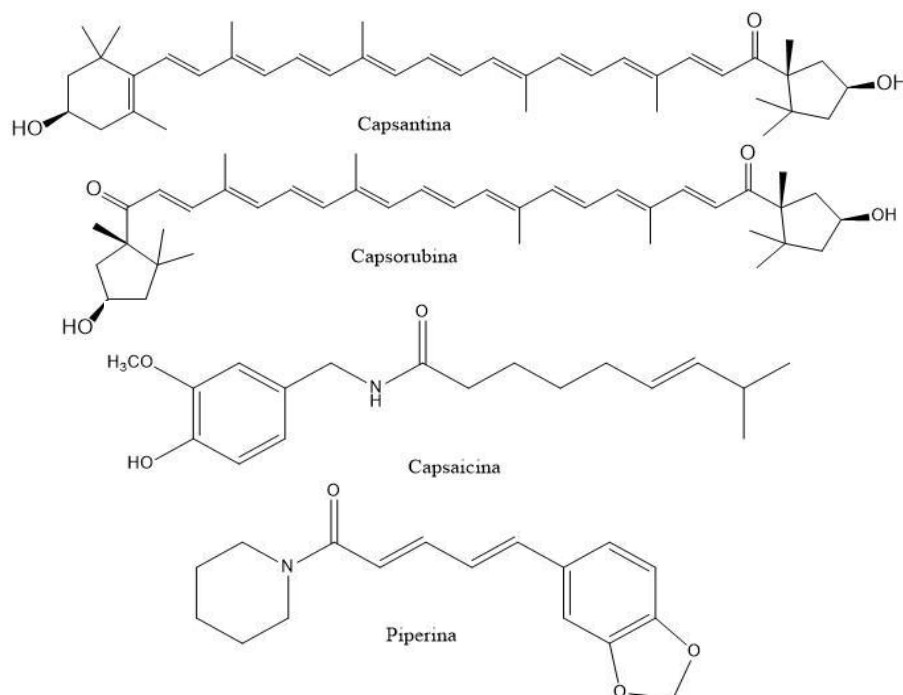
Alguns dos tipos mais cultivados no Brasil são as pimentas “dedo-de-moça” (*C. baccatum*), “malagueta” (*C. frutescens*) e “biquinho” (*C. chinense*) (Salgaço, 2019). A pimenta BRS Moema (*Capsicum chinense*), conhecido como “biquinho”, tem destaque no mercado nacional, e tem como principal característica frutos aromáticos, crocantes, sabor adocicado e ardência considerada fraca, além disso, quando madura possui coloração avermelhada (Santos, 2018). Outra pimenta pertencente a espécie *C. chinense*, é a habanero (*Capsicum Chinense* Jacq.), que diferentemente da pimenta “biquinho”, pode apresentar frutos extremamente picantes, além de variabilidade de formatos, tamanhos e coloração (Oboh et al., 2011). A pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*), possui frutos com coloração vermelha quando maduros, pouco aromáticos e com

pungência que varia de média a alta, sendo muito utilizada em molhos, condimentos, conservas e pastas (Reifschneider et al., 2015). O pimentão (*Capsicum annuum* L.), também pertencente ao mesmo gênero, ocupa uma posição de destaque entre os vegetais comercializados no Brasil, com uma produção de 350.000 toneladas no ano de 2016 (Antoniali et al., 2012; Kist et al., 2019), sendo de cores amarela, laranja e vermelha (Ghasemnezhad et al., 2011; Legner et al., 2021). A espécie *C. annuum* também é uma das mais utilizadas como pimenteiras ornamentais, devido ao seu porte reduzido, frutos de diferentes colorações, durabilidade, além de poderem ser consumidas in natura, conserva, entre outros. Entre elas, tem-se a pimenta karneval (*Capsicum annuum*), que também possui coloração amarela, laranja e vermelha (Rêgo et al., 2015).

Outra pimenta de destaque é a pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), da família das Piperaceae, nativa da Índia, sendo este o principal produtor, juntamente com Brasil, Indonésia, Malásia, Vietnã e Sri Lanka (Dosoky et al., 2019; Salehi, Zakaria, et al., 2019). A *Piper nigrum* é conhecida por suas ações farmacológicas, como antioxidante, antitumoral, analgésico, anti-inflamatório, entre outros, além de ser umas das especiarias mais utilizadas (Dosoky et al., 2019; R. Fan et al., 2020; Meghwal, Murlidhar; Goswami, 2012; Salehi, Zakaria, et al., 2019). A pimenta-do-reino é encontrada em diferentes cores, mas as mais conhecidas são a pimenta branca e preta. A pimenta preta é produzida a partir do fruto imaturo, secando-o até formar uma casca enrugada, ou seja, a pimenta preta é a polpa e semente do fruto. Já a pimenta branca é processada a partir do fruto maduro, que são submersos em água durante alguns dias, resultando no amolecimento da polpa do fruto, levando à sua decomposição. A pele é então removida e as sementes são secas (Y. Li et al., 2020; Salehi, Zakaria, et al., 2019). Entre os compostos bioativos encontrados em sua composição, podemos citar os flavonoides catequina, quercetina, miricetina, e os carotenoides, luteína e  $\beta$ -caroteno (Ashokkumar et al., 2020, 2021), além da piperina (Figura 3.1), que é o principal alcaloide encontrado na pimenta-do-reino e que contribui para o seu aroma característico e sabor picante (Milenković & Stanojević, 2021).



Figura 3.1- Estruturas químicas dos carotenoides (capsantina e capsorubina) e alcaloides (capsaicina e piperina) presentes em pimentas.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

A pimenta rosa, também chamada de pimenta brasileira, é o fruto de uma árvore conhecida popularmente como aroeira-vermelha ou aroeira-da-praia (*Schinus terebinthifolius* Raddi), da família Anacardiaceae, a mesma da manga e do caju. A *Schinus terebinthifolius* R., originária da América do Sul, nativa do Brasil, Paraguai, Uruguai e leste da Argentina (Lorenzi, 1998; Piccolotto et al., 2020), é conhecida como uma planta medicinal. Cascas secas do caule, folhas, frutos e raízes são utilizados em remédios na medicina popular (Brasil, 2014; Macedo, 2018). Diversos estudos já descreveram atividades farmacológicas como, atividade antimicrobiana contra diferentes cepas de microrganismos, anti-inflamatória e atividade antioxidante, possivelmente ligada aos constituintes químicos dessa espécie, como compostos fenólicos e carotenoides (Degáspari et al., 2005; dos Santos da Rocha et al., 2019; dos Santos Júnior et al., 2010; Heringer, 2009). Além disso, os frutos da pimenta rosa estão listados na Relação Nacional de Plantas Mediciniais de interesse ao Sistema Único de Saúde (ReniSUS, nº 60), pois é uma das espécies de vegetais com potencial de gerar produtos de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS) (Pinto et al., 2023). Entre seus constituintes, podemos citar, os flavonoides quercetina, miricetina, catequina, naringenina, os ácidos fenólicos, ácido

cafeico, ácido siríngico, ácido *p*-cumárico, ácido elágico, ácido gálico, carotenoides, como  $\beta$ -caroteno, e a capsaicina (L. J. Gomes et al., 2013; Macedo, 2018).

Embora a espectroscopia Raman seja muito utilizada para caracterização de diferentes metabólitos presentes nos mais diversos tipos de organismos, estudos com pimentas são escassos. Baranski e colaboradores (2005) mostraram a composição de carotenoides em pimentões vermelhos (*C. annuum* L.) presentes em três estágios de maturação (Baranski et al., 2005). Zamora-Peredo e colaboradores (2018) analisaram pericarpo imaturo e maduro de algumas variedades de pimentas habanero (*C. Chinense* Jacq.) (Zamora-Peredo et al., 2018).

Assim, neste capítulo a espectroscopia Raman foi utilizada para identificar os principais constituintes, como carotenoides, flavonoides e alcaloides, presentes em diferentes estágios de maturação, de três famílias de pimentas: a rosa (Anacardiaceae), pimentas e pimentões do gênero *Capsicum* (Solanaceae) e pimenta-do-reino branca e preta (Piperaceae). Além disso, cálculos de frequência vibracional dos principais constituintes foram realizados utilizando o método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT), com o intuito de propor as atribuições vibracionais das bandas Raman experimentais observadas durante o amadurecimento das diferentes amostras analisadas.

### 3.1 MATERIAIS E MÉTODOS

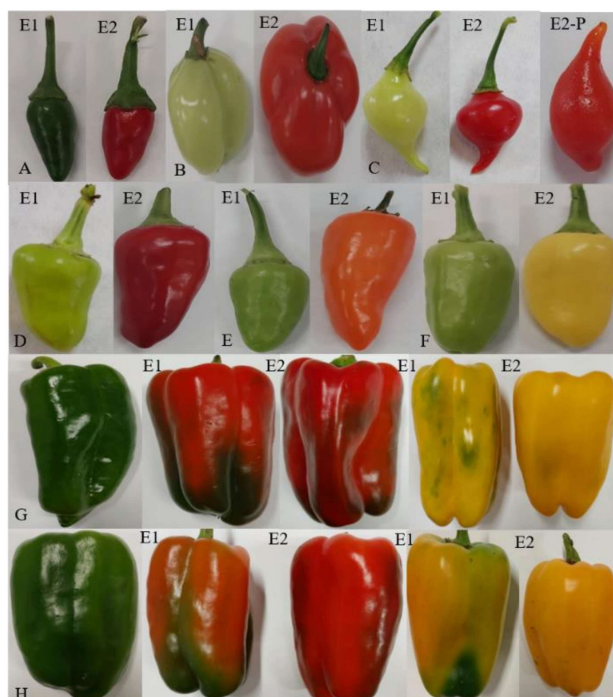
Todas as amostras utilizadas neste trabalho foram adquiridas no mercado local, na cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais (MG), Brasil.

#### 3.1.1 Preparo das amostras e desenho experimental

As pimentas frescas da família Solanaceae, adquiridas em janeiro de 2024, foram selecionadas em dois estágios de maturação, por inspeção visual do grau de maturação, para análise dos compostos produzidos em cada estágio de maturação, sendo E1 a mais verde e E2 a mais madura. Além disso, a pimenta “biquinho” madura também foi analisada após processamento, em conserva, em outubro de 2023. Os exocarpos das pimentas malagueta (E1-M1 e E2-M1), habanero (E1-Hb e E2-Hb), “biquinho” (E1-Bq, E2-Bq e E2-BqP) e karneval vermelha (E1-KrV e E2-KrV), laranja (E1-KrL e E2-KrL) e amarela (E1-KrA e E2-KrA), foram analisados em duplicata e com linha de excitação em 1064 nm (Figura 3.2; Apêndice B).

Os pimentões, provenientes de cultivo convencional (Figura 3.2G; Apêndice B) e orgânico (Figura 3.2H; Apêndice B), foram adquiridos em março de 2023. Os pimentões vermelhos e amarelos foram selecionados em dois estágios de maturação, através da inspeção visual do grau de maturação, sendo o estágio E1 o menos maduro, com coloração menos intensa e com mais pontos com coloração verde, e o estágio E2 o mais maduro, com coloração mais intensa e menos pontos verdes. Os exocarpos de pimentão verdes, vermelho (E1-Ver, OE1-Ver, E2-Ver e OE2-Ver) e amarelos (E1-Am, OE1-Am, E2-Am e OE2-Am) foram analisados com a linha de excitação em 1064 nm.

Figura 3.2- Pimentas em dois estágios de maturação (A) malagueta, (B) habanero, (C) “biquinho”, karneval (D) vermelha, (E) laranja, (F) amarela e pimentões (G) convencional e (H) orgânico, analisados com linha de excitação em 1064 nm.

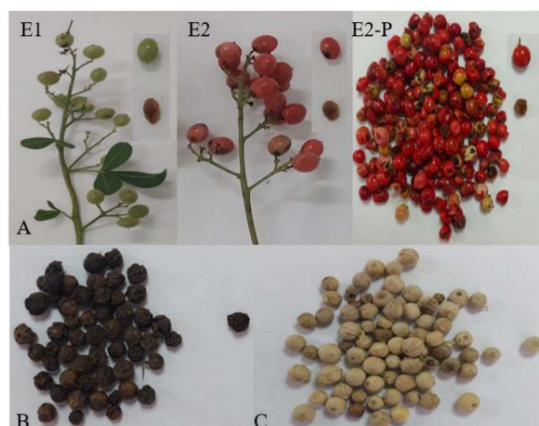


Fonte: Elaborado pela autora (2024).

As amostras frescas de pimenta rosa, adquiridas em abril de 2024, também foram selecionadas em dois estágios de maturação, sendo E1 a mais verde e E2 a mais madura. A pimenta rosa no estágio E2 também foi analisada após processamento (frutos secos), em outubro de 2023. As análises foram feitas nos exocarpos do fruto (E1-Rs, E2-Rs e E2-RsP) e nas sementes (E1-SRs, E2-SRs e E2-SRsP), em duplicata e com linha de excitação em 1064 nm (Figura 3.3- Apêndice B).

Por fim, as análises da pimenta-do-reino processadas, preta (PRB) (Figura 3.3B; Apêndice B) e branca (PRB) (Figura 3.3C; Apêndice B), adquiridas em outubro de 2023, foram realizadas nas sementes, com a linha de excitação em 1064 nm.

Figura 3.3- Pimentas (A) Rosa em dois estágios de maturação, (B) preta e (C) branca, analisadas com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

### 3.1.2 Extração da pimenta rosa

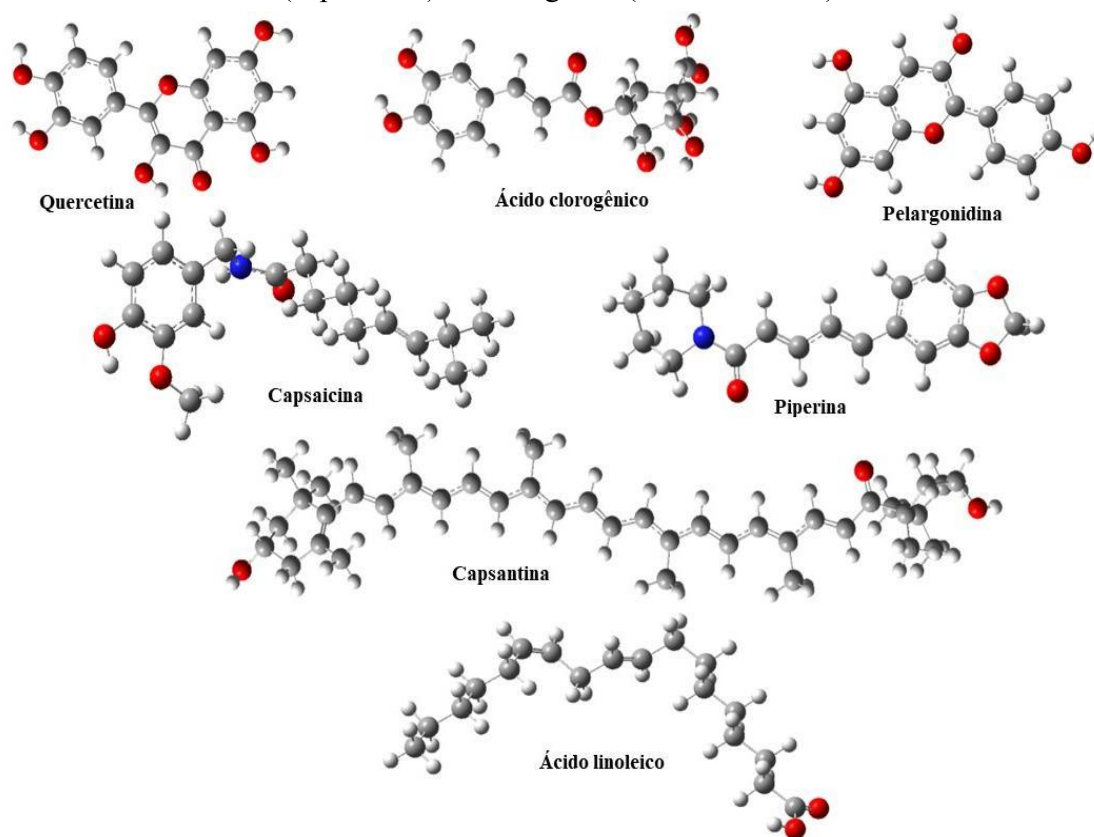
Os frutos inteiros de pimenta rosa processada, cascas e sementes, foram submetidas à extração com etanol e acetona. A extração com etanol teve como finalidade a obtenção de um extrato com os dois pigmentos, carotenoides e flavonoides (Miamoto et al., 2020), enquanto com acetona, a obtenção de um extrato enriquecido apenas em carotenoides (L. J. Gomes et al., 2013; Rodriguez, 2001). As amostras foram higienizadas, em seguida, os frutos inteiros (aproximadamente 100g) foram umedecidos com 100 ml de etanol/ acetona a 25°C e triturados com auxílio de um triturador por cerca de 10 minutos. Este processo foi repetido mais duas vezes (L. J. Gomes et al., 2013; Miamoto et al., 2020). A solução foi filtrada e o solvente foi removido sob pressão reduzida. Os extratos foram analisados com linha de excitação a 1064 nm.

### 3.1.3 Metodologia teórica

Com o objetivo de atribuir as principais bandas Raman dos espectros teóricos de alguns dos constituintes presentes nas pimentas analisadas, cálculos de frequência

vibracional foram realizados. Os espectros vibracionais teóricos foram obtidos utilizando o software Gaussian09, revisão D.01 e A.02. (Frisch, M. J., 2009). A otimização dos pontos estacionários nas superfícies de energia potencial e os cálculos de frequência vibracional foram realizados utilizando o método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT), com o funcional híbrido PBEPBE e função de base 6-311G(2d, p) (McLean & Chandler, 1980; Perdew et al., 1996). Na Figura 3.4 pode-se observar as estruturas otimizadas dos compostos fenólicos (quercetina, ácido clorogênico e pelargonidina), alcaloides (capsaicina e piperina), carotenoide (capsantina) e ácido graxo (ácido linoleico).

Figura 3.4- Estruturas químicas otimizadas dos compostos fenólicos (quercetina, ácido clorogênico e pelargonidina), alcaloides (capsaicina e piperina), carotenoide (capsantina) e ácido graxo (ácido linoleico).



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Após os cálculos das frequências vibracionais ( $\bar{\nu}_i$ ), suas atividades Raman ( $A_i$ ) foram usadas para calcular a intensidade de cada ponto normal de vibração ( $I_i$ ), através da equação 13 (Collier et al., 1999; R. de Oliveira & Sant'Ana, 2023):

$$I_i = \frac{A_i a (\bar{\nu}_0 - \bar{\nu}_i)^4}{\bar{\nu}_i \left(1 - e^{-hc\bar{\nu}_i/k_B T}\right)} \quad (13)$$

onde  $a = 10^{-12}$ ,  $\bar{\nu}_0$  é o número de onda/ frequência do *laser* (em  $\text{cm}^{-1}$ ),  $h$  é a constante de Planck,  $c$  é a velocidade da luz no vácuo,  $k_B$  é a constante de Boltzmann e  $T$  é a temperatura termodinâmica. A largura a meia altura das bandas Raman nos espectros teóricos foi ajustada para  $10 \text{ cm}^{-1}$ . Por fim, com as intensidades calculadas, foi possível obter os espectros teóricos das bandas Raman pelo programa Origin (OriginLab Corporation, n.d.). As atribuições vibracionais foram realizadas utilizando o *software* VEDA 4 (*Vibrational Energy Distribution Analysis 4*) (Jamróz, 2013), e quando necessário, com observação dos modos normais de vibração no *software* GaussView 05. As atribuições do *software* VEDA 4 são divididas em estiramento ( $\nu$ ), deformação no plano ( $\delta$ ) e deformação fora do plano ( $\tau$ ). Por fim, foi realizada uma comparação com os dados experimentais obtidos.

### 3.1.4 Análises espectroscópicas

Nesta seção serão apresentados os parâmetros instrumentais utilizados nas análises de espectroscopia Raman e na região ultravioleta/ visível.

#### 3.1.4.1 Espectroscopia Raman

As análises realizadas diretamente no exocarpo (*in situ*) das amostras de pimentas, pimentões e extratos brutos de pimenta rosa, foram registradas em instrumento FT-Raman Bruker RFS 100, com laser Nd:YAG operando a 1064 nm, com resolução espectral de  $4 \text{ cm}^{-1}$ , com número de onda que varia de 4000 a  $50 \text{ cm}^{-1}$  e potência de *laser* que variou entre 150 e 400 mw. O número de varreduras variou entre 256, 512 e 1024 varreduras. Todos os espectros *in situ* foram obtidos em duplicada e em três pontos (Figura 3.5), para confirmar a integridade da amostra com base na posição e intensidade das bandas observadas.

Figura 3.5- Exemplo da posição dos pontos analisados *in situ* na pimenta karneval amarela (Solanaceae).



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Os espectros Raman foram processados pelo pacote de software Bruker Opus versão 6.0, e a correção da linha de base Raman e o ajuste da curva foram realizados usando o programa Origin (OriginLab Corporation, n.d.).

#### 3.1.4.2 Espectroscopia UV/Visível (UV/Vis)

Os extratos obtidos da pimenta rosa foram analisados em espectrômetro Ocean Optics, entre 200 e 1100 nm. As amostras foram diluídas em etanol/ acetona e adicionadas a uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm para obtenção dos espectros eletrônicos. Os espectros foram processados pelo pacote de software Ocean View, e o ajuste da curva foi realizado usando o software Origin 2018.

### 3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados e discutidos os resultados obtidos das análises das amostras de pimentas agrupadas por famílias, tais como Solanaceae (malagueta, habanero, biquinho e karneval), Anacardiaceae (pimenta rosa) e Piperaceae (pimenta-do-reino branca e preta).

#### 3.2.1 Análise Raman *in situ* das pimentas e pimentões da família Solanaceae

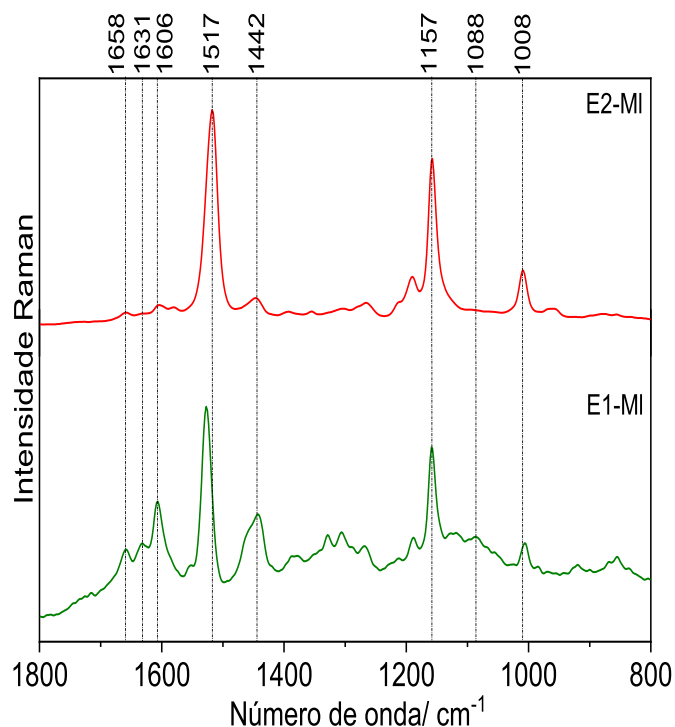
A análise dos espectros Raman *in situ* de dois estágios de maturação das amostras de pimentas da família Solanaceae, obtidos com linha de excitação em 1064 nm, demonstrou bandas principais características de diferentes classes de compostos, como

os fenólicos, carotenoides, ácidos graxos e também alcaloides, como a capsaicina (Figura 3.6 a 3.9; Apêndice B; Tabela 5). No geral, as bandas atribuídas aos ácidos graxos podem ser observadas em torno de  $1656 \nu(\text{C}=\text{C})$ ,  $1440\text{-}1460 \delta(\text{CH}_2)$ ,  $1303 \delta(\text{CH}_2)$ ,  $1265 \delta(=\text{CH})$ , e  $1090\text{cm}^{-1} \nu(\text{C}-\text{C})$  (Tabela 5) (Beattie et al., 2004; Popović-Djordjević et al., 2023; Windarsih et al., 2023). Além disso, bandas em torno de  $1660$  e  $1610 \text{cm}^{-1}$  também podem ser atribuídas ao estiramento do anel  $\nu(\text{C}=\text{C})$  da capsaicina (Tian et al., 2018). Bandas dos compostos fenólicos são observadas em torno de  $1630\text{-}1554 \text{cm}^{-1} \nu(\text{C}=\text{C})$ ,  $1380\text{-}1340 \text{cm}^{-1} \nu(\text{C}-\text{O})$ ,  $1360\text{-}1300 \text{cm}^{-1}$  a  $\delta(\text{COH})$  e  $1270\text{-}1250 \text{cm}^{-1}$  a  $\delta(\text{OH})/\nu(\text{C}-\text{O})$  (Tabela 5) (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020). Por fim, as bandas características dos carotenoides estão na faixa de  $1527\text{-}1516 \text{cm}^{-1}$  atribuída a  $\nu(\text{C}=\text{C})$ ,  $1163\text{-}1155 \text{cm}^{-1}$  a  $\nu(\text{C}-\text{C})$  e  $1008 \text{cm}^{-1}$  atribuída a  $\rho(\text{C}-\text{CH}_3)$  (Tabela 6) (V. E. de Oliveira et al., 2009; Koyama, Kanaji, et al., 1988; Maia et al., 2021; Saito & Tasumi, 1983).

Na Figura 3.6 (Apêndice B; Tabela 5) observam-se os espectros Raman *in situ* dos dois estágios de maturação da pimenta malagueta (*C. frutescens*) (E1-MI e E2-MI). Comparando os dois estágios, é possível notar diferenças no perfil espectral. No estágio E1-MI, as bandas atribuídas aos fenólicos/flavonoides ( $1631$  e  $1606 \text{cm}^{-1}$ ) e de ácidos graxos ( $1658, 1458\text{-}1442$  e  $1269 \text{cm}^{-1}$ ) são mais intensas que no estágio E2-MI. Além disso, observa-se um deslocamento da banda de estiramento  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , características dos carotenoides, para menores números de onda, de  $1527 \text{cm}^{-1}$  (E1-MI) para  $1517 \text{cm}^{-1}$  (E2-MI), sugerindo uma variação estrutural dessa classe de substâncias durante o amadurecimento (Campos et al., 2022).



Figura 3.6- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta malagueta (E1-MI e E2-MI), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.

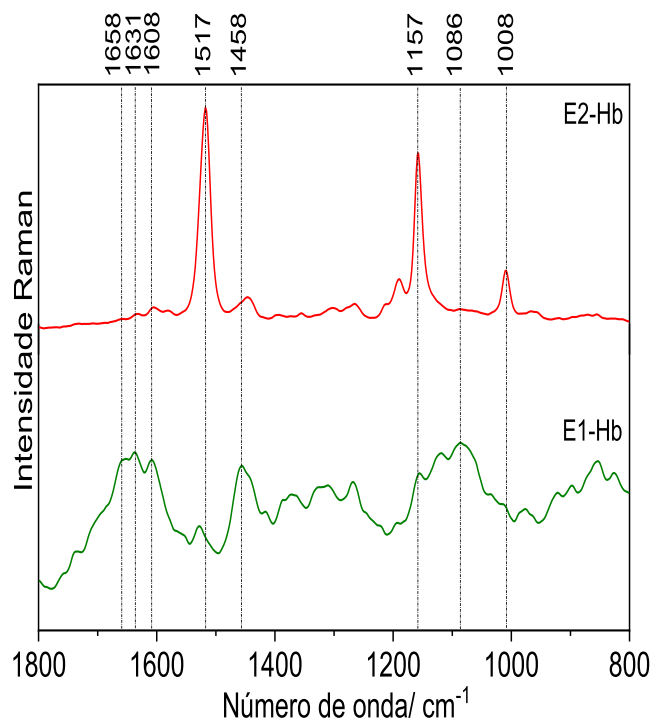


Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Os espectros *in situ* dos dois estágios de maturação da pimenta habanero (*C. chinense* Jacq.) podem ser observados na Figura 3.7 (Apêndice B; Tabela 5). Assim como na pimenta malagueta, nota-se diferenças entre os estágios de maturação, onde as bandas referentes aos fenólicos/flavonoides ( $1635$  e  $1610\text{ cm}^{-1}$ ) e ácidos graxos ( $1662, 1458$  e  $1269\text{ cm}^{-1}$ ) são mais intensas no estágio E1-Hb. Estudos que avaliaram a composição de ácidos graxos em variedades de pimentas do gênero *Capsicum*, incluindo a habanero, utilizando Cromatografia Gasosa (CG) com Detector por Ionização de Chama (em inglês, GC-FID), constataram-se que o ácido graxo majoritário foi o linoleico (Silva, 2017; Sora et al., 2015). Além das bandas em  $1662, 1458$  e  $1269\text{ cm}^{-1}$ , características dos ácidos graxos, também observa-se uma banda mais intensa em torno de  $1086\text{ cm}^{-1}$  em E1-Hb, que em conjunto com as demais, é característica do ácido linoleico (Martini et al., 2017) (Apêndice B). Com relação as bandas dos carotenoides, além do deslocamento da banda de estiramento  $\nu(\text{C}=\text{C})$  para menores de número de onda ( $1525$  para  $1517\text{ cm}^{-1}$ ), também se observa um aumento da intensidade das bandas características desta classe de substâncias ( $1517\text{ cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}=\text{C})$ ,  $1157\text{ cm}^{-1}$  a  $\nu(\text{C}-\text{C})$  e  $1008\text{ cm}^{-1}$   $\rho(\text{C}-\text{CH}_3)$ ), sugerindo o

aumento dos carotenoides totais com o amadurecimento (Campos et al., 2022; Gómez-García & Ochoa-Alejo, 2013; Zhuang et al., 2012).

Figura 3.7- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta habanero (E1-Hb e E2-Hb), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.

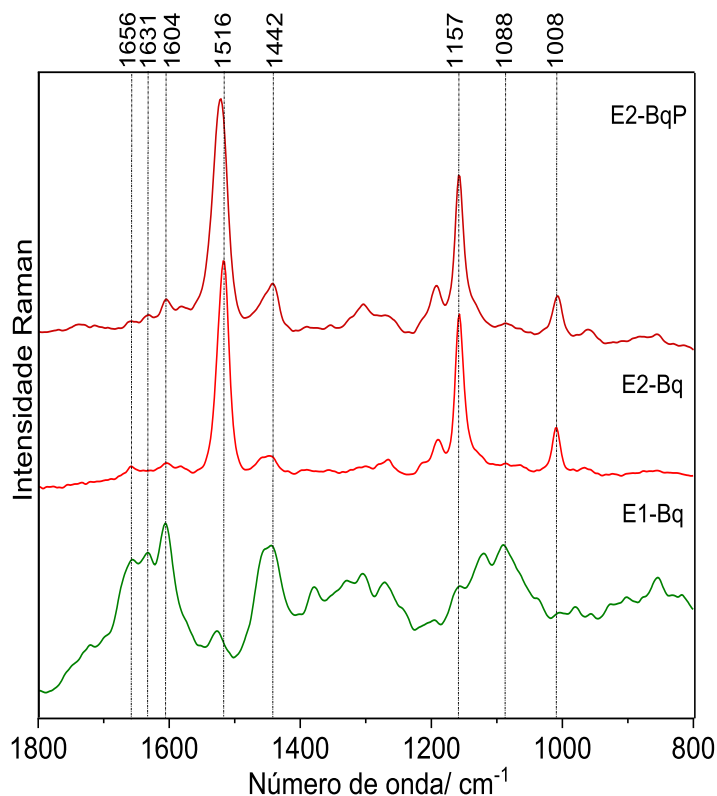


Fonte: Elaborado pela autora (2024).

A pimenta biquinho, outra variedade da espécie *C. chinense*, foi analisada em dois estágios de maturação (E1-Bq e E2-Bq) e também processada como conserva (E2-BqP), devido ao seu consumo ser bastante apreciado desta maneira (Santos, 2018). Os espectros das análises *in situ* podem ser observados na Figura 3.8 (Apêndice B; Tabela 5). O estágio E1-Bq apresentou perfil espectral distinto dos demais, pode-se observar as bandas características dos carotenoides com menor intensidade ( $1527$ ,  $1160$  e  $1007$   $\text{cm}^{-1}$ ) quando se comparada as bandas dos fenólicos, como as em torno de  $1631$  e  $1604$   $\text{cm}^{-1}$ , e em  $1656$  e  $1458$   $\text{cm}^{-1}$  de ácidos graxos. O estágio E2-Bq apresentou bandas predominantes dos carotenoides ( $1516$ ,  $1159$  e  $1008$   $\text{cm}^{-1}$ ), além de um deslocamento da banda em  $1516$   $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}=\text{C})$  para menor número de onda quando se comparada ao estágio verde (E1-Bq). O perfil espectral da pimenta biquinho processada como conserva (E2-BqP) é semelhante ao estágio E2-Bq, no entanto, as bandas atribuídas ao fenólicos em  $1631$ ,  $1604$ ,  $1442$   $\text{cm}^{-1}$  e dos ácidos graxos em  $1656$ ,  $1308$  e  $1192$   $\text{cm}^{-1}$  são um pouco mais intensas. Em um estudo onde se avaliaram-se, por espectroscopia eletrônica, compostos fenólicos e

carotenoides em pimentas do gênero *Capsicum* spp. após tratamentos térmicos, verificou-se que a pimenta biquinho cozida possuía mais compostos fenólicos totais quando se comparado in natura, no entanto, o inverso foi observado para os carotenoides totais (Salgaço, 2019).

Figura 3.8- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta biquinho (E1-Bq, E2-Bq e E2-BqP), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.

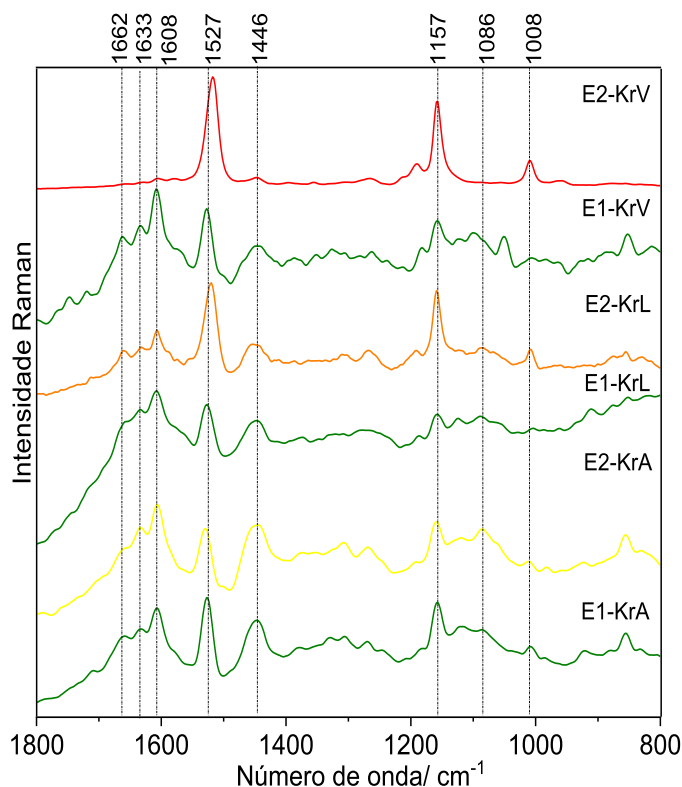


Fonte: Elaborado pela autora (2024).

A análise das pimentas karneval (*C. annuum*) foi realizada em três diferentes colorações, vermelha, laranja e amarela, e em dois estágios de maturação. Os espectros podem ser observados na Figura 3.9 (Apêndice B; Tabela 5). Assim como nas demais pimentas analisadas, pode-se observar que nos estágios verdes das variedades vermelha e laranja (E1-KrV, E1-KrL), as bandas características dos fenólicos/ flavonoides, em torno de 1633 e 1608 cm<sup>-1</sup> são mais intensas do que as dos carotenoides. Com o amadurecimento, percebe-se que o perfil espectral da variedade vermelha (E2-KrV) é o que mais se modifica, com bandas predominantes dos carotenoides, além do deslocamento da banda de estiramento  $\nu(\text{C}=\text{C})$  para menor de número de onda, de 1525 cm<sup>-1</sup> para 1518 cm<sup>-1</sup>. Para a variedade laranja, observa-se um aumento da intensidade das bandas características dos carotenoides e um deslocamento de 1527 cm<sup>-1</sup> para 1519 cm<sup>-1</sup>.

No entanto, para a variedade amarela, o inverso é observado, no estágio E2-KrA, tem-se a diminuição da intensidade das bandas atribuídas aos carotenoides ( $1527\text{ cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}=\text{C})$ ,  $1157\text{ cm}^{-1}$  a  $\nu(\text{C}-\text{C})$  e  $1008\text{ cm}^{-1}$   $\rho(\text{C}-\text{CH}_3)$ ).

Figura 3.9- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta Karneval vermelha (E1-KrV e E2-KrV), laranja (E1-KrL e E2-KrL) e amarela (E1-KrA e E2-KrA), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Durante o amadurecimento, assim como a maioria dos vegetais, os frutos das pimentas do gênero *Capsicum* sofrem diversas modificações morfológicas, fisiológicas e metabólicas, em especial, no conteúdo e composição dos pigmentos. Os tipos e concentrações dos carotenoides nos frutos durante o amadurecimento são determinados por dois processos metabólicos, a transformação dos pigmentos já existentes e a biossíntese de novos carotenoides, podendo aumentar de 2 a 60 vezes nos frutos maduros quando se comparado aos imaturos (Gómez-García & Ochoa-Alejo, 2013; Zhuang et al., 2012). Geralmente a luteína é mais abundante nos estágios verde, enquanto o  $\beta$ -caroteno tem sua concentração constante durante o amadurecimento. As cores amarelas e alaranjadas normalmente são atribuídas ao acúmulo dos carotenoides  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno,

zeaxantina e  $\beta$ -criptoxantina, enquanto a capsantina e capsorubina são responsáveis pelas cores vermelhas (Gómez-García & Ochoa-Alejo, 2013).

O perfil e conteúdo de polifenóis em pimentas está principalmente relacionado com o genótipo da planta, mas o grau de maturidade também desempenha um papel importante. A quercetina, catequina, luteolina e ácido clorogênico, parecem contribuir mais para o conteúdo total de fenólicos tanto nos estágios imaturos, quanto nos maduros (Nascimento, 2012; J. Oney-Montalvo et al., 2020; Ribes-Moya et al., 2020).

Tabela 5- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nos estágios de maturação dos diferentes tipos de pimentas da família Solanaceae, obtidas com linha de excitação em 1064 nm.

Bandas (cm <sup>-1</sup> )													Tentativa de atribuição
E1-MI	E2-MI	E1-Hb	E2-Hb	E1-Bq	E2-Bq	E2-BqP	E1-KrA	E2-KrA	E1-KrL	E2-KrL	E1-KrV	E2-KrA	
1658f	1658f	1662o	1661f	1656f		1656f	1658o	1656f	1656f	1656f			$\nu(\text{C}=\text{C})^{\text{a,d}}$
1631f		1635i	1631f	1631m		1631f	1633f	1627o	1635f	1627f	1637f	1629f	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^{\text{b}}$
1606m	1604f	1610i	1604f	1604i	1604f	1604f	1606m	1606i	1608i	1606m	1608i	1604f	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^{\text{b}}$
1527i	1517i	1525f	1517i	1527f	1516i	1521i	1527m	1529i	1527i	1519i	1525i	1518i	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{car}}^{\text{c}}$
1458o		1458i	1461f	1458o			1459o			1458m			$\delta(\text{C}-\text{H}_2)^{\text{a}}$
1442m	1446f	1440o	1444f	1442i	1448f	1442m	1444m	1442i	1446m	1440m	1446m	1446f	$\rho(\text{C}-\text{H})_{\text{flav/car}}^{\text{b,c}}$
1386f		1380f	1390f	1375f			1381f		1381f		1381f	1392f	$\nu(\text{C}-\text{O})_{\text{flav}}^{\text{b}}$
1305f	1303f	1303f	1304f	1304f	1300f	1305f	1305f	1307f	1303f	1304f	1298f		$\delta(\text{C}-\text{H})^{\text{a}}$
1269f	1265f	1269m	1265f	1273f	1265f	1272f		1265f	1267f	1263f	1255f	1265f	$\delta(=\text{CH})^{\text{a}}$ ;
1187f	1190f		1187f		1190f	1192f		1196f	1186f	1192f	1186f	1189f	$\nu(\text{C}-\text{C})^{\text{a}}$
1159i	1157i	1155f	1157i	1163f	1157i	1157i	1157f	1159m	1157i	1157i	1157i	1157i	$\nu(\text{C}-\text{C})_{\text{car}}^{\text{c}}$
1087f		1086i	1081f	1088i			1087i	1086i	1089f	1088i	1093f	1087f	$\nu(\text{C}-\text{C})^{\text{a}}$
1007f	1008f	1022f	1008f	1007f	1008f	1008f	1005f	1007f	1007f	1008f	1005f	1008f	$\rho(\text{C}-\text{CH}_3)_{\text{car}}^{\text{c}}$

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Intensidades Raman: i- intensa, m- media, f-frac.a, o-ombro. flav: Flavonoides; car: Carotenoides. Referências: a: (Beattie et al., 2004; Popović Djordjević et al., 2023); b: (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020); c: (Koyama, Takatsuka, et al., 1988; Saito & Tasumi, 1983); d: (Tian et al., 2018).

O intuito de se analisar pimentões de diferentes cultivos (convencional e orgânico), é verificar possíveis diferenças espectrais, visto que produções orgânicas são caracterizadas por um maior teor de compostos biologicamente ativos, além de não conterem resíduos de pesticidas (Hallmann & Rembial kowska, 2012).

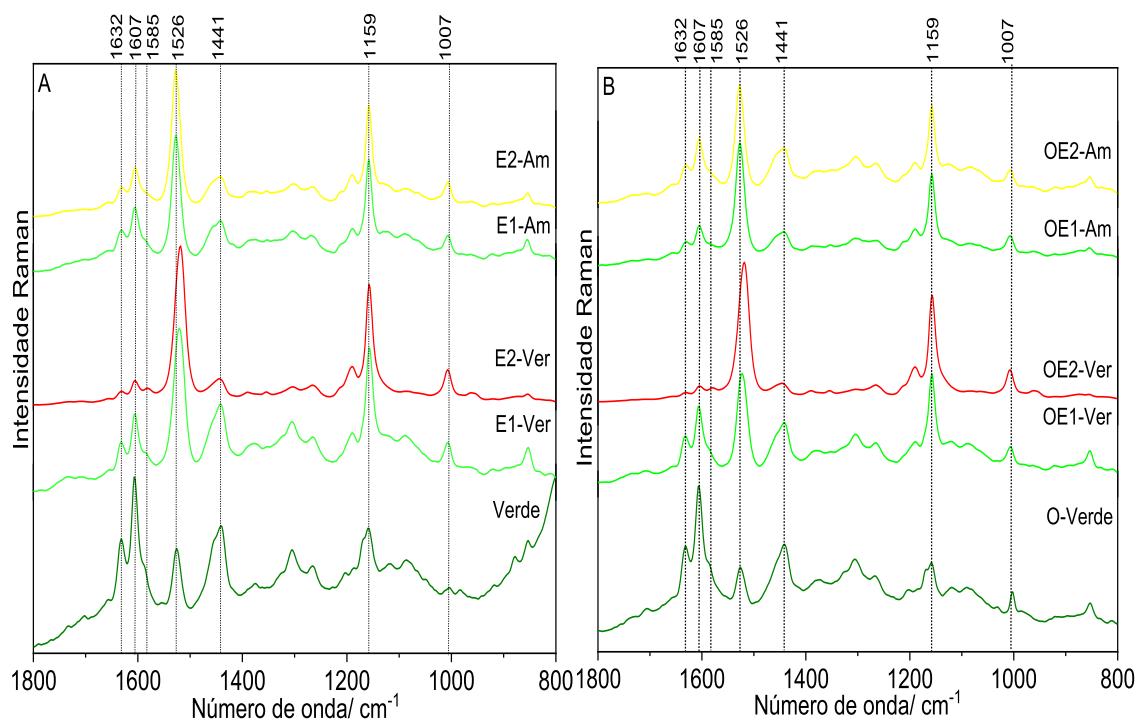
As análises Raman *in situ* realizadas com linha de excitação em 1064 nm, a partir dos exocarpos de pimentão convencional (Figura 3.2G) e orgânico (Figura 3.2H), em diferentes estágios de maturação, podem ser observadas nas Figuras 3.10A e 3.10B, respectivamente. Em ambos os cultivos e estágios, tem-se bandas atribuídas aos polifenóis na faixa de 1632-1578  $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1370-1340  $\text{cm}^{-1}$  a  $\nu(\text{C}-\text{O})$ , 1360-1300  $\text{cm}^{-1}$  a  $\delta(\text{COH})$  e 1270-1250  $\text{cm}^{-1}$  a  $\delta(\text{OH})/\nu(\text{C}-\text{O})$  (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020), e aos carotenoides nas faixas 1528-1518  $\text{cm}^{-1}$  atribuída a  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1159-1157  $\text{cm}^{-1}$  a  $\nu(\text{C}-\text{C})$  e 1007-1003  $\text{cm}^{-1}$  atribuída a  $\rho(\text{C}-\text{CH}_3)$  (V. E. de Oliveira et al., 2009; Koyama, Kanaji, et al., 1988; Maia et al., 2021; Saito & Tasumi, 1983). A tentativa de atribuição das principais bandas está na Tabela 6.

Comparando-se o perfil espectral dos dois tipos de cultivo, para os mesmos estágios de maturação, verde (verde e O-verde), vermelho (E1-Ver, OE1-Ver e E2-Ver, OE2-Ver) e amarelo (E1-Am, OE1-Am e E2-Am, OE2-Am), percebe-se que não há muitas variações (Figura 3.10A; Figura 3.10B; Tabela 6). Análise do conteúdo de flavonoides de 14 variedades de pimentas orgânicas e não orgânicas, utilizando-se CLAE, em dois estágios de maturação (verdes e maduras), verificou-se que a contribuição do genótipo e do estágio de maturação foram mais significantes, enquanto o sistema de cultivo teve menor influência no conteúdo dessa classe de substâncias (Ribes-Moya et al., 2020).

Analisando os espectros Raman dos pimentões em diferentes estágios de maturação, nos dois tipos de cultivo, observa-se alteração do perfil espectral (Figura 3.10A; Figura 3.10B; Tabela 6). Nos pimentões verdes, tem-se uma maior intensidade das bandas atribuídas aos fenólicos quando comparado com as bandas dos carotenoides. Nos pimentões vermelhos, percebe-se que à medida que o pimentão amadurece (E1 para E2), as bandas dos carotenoides se intensificam, enquanto nos amarelos, parece não ocorrer mudanças significativas com o amadurecimento (E1 para E2). Além disso, nos pimentões verdes e amarelos, a banda de estiramento  $\nu(\text{C}=\text{C})$  atribuída aos carotenoides está na faixa entre 1528-1526  $\text{cm}^{-1}$ , enquanto nos pimentões vermelhos esta banda ocorre na faixa de 1520-1518  $\text{cm}^{-1}$  (Baranski et al., 2005; Campos et al., 2022; Maia et al., 2021).

Em um estudo, realizado por Baranski *et al.* (2005), com pimentões verdes e vermelhos, a banda Raman em  $1526\text{ cm}^{-1}$  é atribuída a luteína presente em pimentões verdes, enquanto em  $1518\text{ cm}^{-1}$  a capsantina nos pimentões vermelhos, que é biossintetizada à medida que o fruto amadurece (Baranski *et al.*, 2005).

Figura 3.10- Espectros Raman dos pimentões em diferentes estágios de maturação de cultivo (A) convencional e (B) orgânico, obtidos com linha de excitação em  $1064\text{ nm}$ .



Fonte: Elaborado pela autora (2024).



Tabela 6- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nos pimentões em diferentes estágios de maturação de cultivo convencional e orgânico, obtidos com linha de excitação em 1064 nm.

Verde	Bandas (cm <sup>-1</sup> )									Tentativa de atribuição
	E1-Ver	E2-Ver	E1-Am	E2-Am	O-Verde	OE1-Ver	OE2-Ver	OE1-Am	OE2-Am	
1632m	1632f	1632f	1632f	1630f	1632m	1632f	1630f	1630f	1630f	v(C=C) <sub>flav</sub> <sup>b</sup>
1607i	1605f	1605f	1605f	1605f	1607i	1607m	1605f	1605f	1605f	v(C=C) <sub>flav</sub> <sup>b</sup>
1585o	1585o	1582f			1585o	1585o	1578f			v(C=C) <sub>flav</sub> <sup>b</sup>
1526m	1520i	1518i	1528i	1528i	1526f	1522i	1518i	1528i	1528i	v(C=C) <sub>car</sub> <sup>c</sup>
1441m	1441m	1443f	1443f	1441f	1441m	1441m	1443f	1443f	1441f	ρ(C-H) <sub>flav/car</sub> <sup>b,c</sup>
1304f	1306f	1304f	1304f	1302f	1306f	1306f	1304f	1304f	1304f	δ(C-H) <sup>a</sup>
1159m	1158i	1158i	1158i	1158i	1157f	1158i	1158i	1158i	1158i	v(C-C) <sub>car</sub> <sup>c</sup>
1003f	1007f	1007f	1007f	1007f	1003f	1007f	1007f	1007f	1007f	ρ(C-CH <sub>3</sub> ) <sub>car</sub> <sup>c</sup>

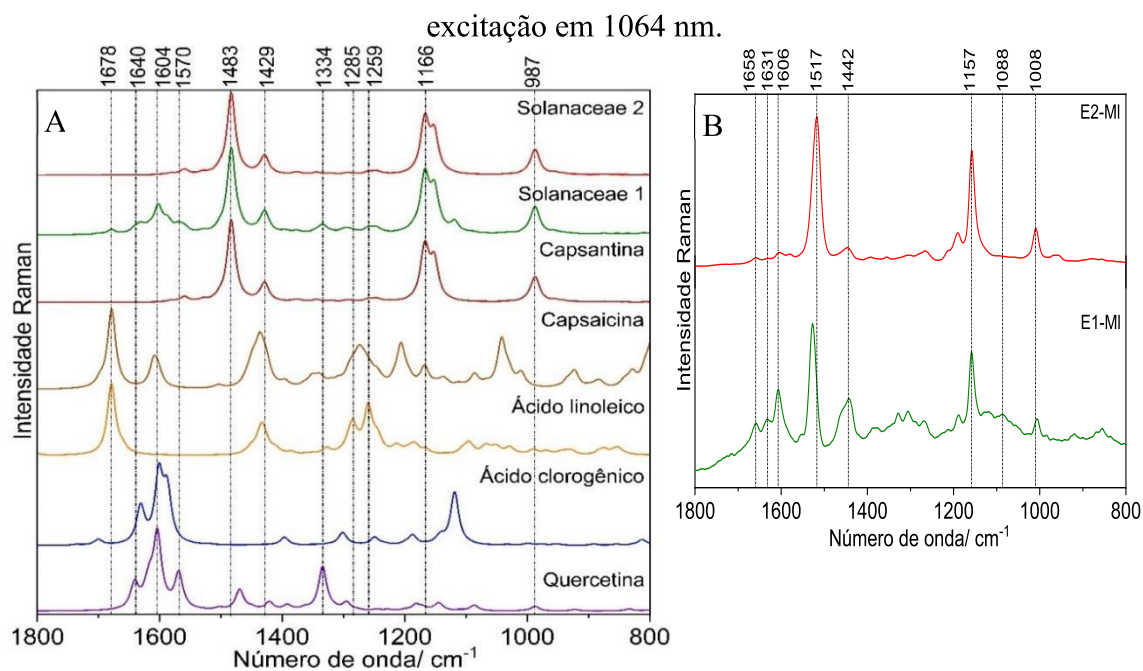
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Intensidades Raman: i- intensa, m- media, f-frac, o-ombro. flav: Flavonoides; car: Carotenoides. Referências: a: (Beattie et al., 2004; Popović Djordjević et al., 2023); b: (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020); c: (Koyama, Takatsuka, et al., 1988; Saito & Tasumi, 1983).

Os espectros Raman calculados de alguns compostos presentes nas pimentas da família Solanaceae (quercetina, ácido clorogênico, ácido linoleico, capsaicina e capsatina), estão apresentados na Figura 3.11A, além disso, foi realizado a soma dos espectros teóricos com o intuito de simular os espectros *in situ* das pimentas. Em “Solanaceae 1”, a soma foi realizada multiplicando-se a intensidade Raman do espectro teórico do carotenoide capsantina por 0,1, do ácido linoleico por 20, e os demais (quercetina, ácido clorogênico e capsaicina) por 10, na tentativa de simular o espectro *in situ* de uma pimenta no estágio de maturação verde. Em “Solanaceae 2” foi realizada simplesmente a soma da intensidade Raman de todos os espectros teóricos, com o objetivo de simular o espectro *in situ* de uma pimenta no estágio de maturação maduro. A tentativa de atribuição dos espectros calculados pode ser observada na Tabela 7 e as bandas Raman experimentais da pimenta malagueta em dois estágios de maturação (Figura 3.6 e Figura 3.11B), E1-MI e E2-MI, também foram atribuídas a partir dos espectros calculados, como forma de comparação. As atribuições realizadas pelo programa VEDA (Jamróz, 2013) são divididas em estiramento (ν), deformação no plano (δ) e deformação fora do plano (τ).

Comparando-se a soma dos espectros calculados “Solanaeeae 1” (Figura 3.11A; Tabela 7) com o espectro experimental das pimentas da família Solanaceae no estágio de maturação verde, em especial o da pimenta malagueta E1-MI (Figura 3.6 e Figura 3.11B), percebe-se que o perfil espectral é semelhante, com bandas atribuídas a diferentes compostos. Para isso, foi necessário diminuir significativamente a contribuição da intensidade Raman do espectro do carotenoide capsantina. Entretanto, em “Solanaeeae 2” (Figura 3.11A; Tabela 7), onde cada intensidade Raman foi simplesmente somada, percebe-se que o perfil espectral se assemelha ao de uma pimenta da família Solanaceae no estágio maduro, como a pimenta malagueta E2-MI (Figura 3.6 e Figura 3.11B). Tal observação demonstra como os carotenoides são altamente polarizáveis e conseqüentemente, bons espalhadores de luz, e sugere que durante o amadurecimento dos frutos ocorre o aumento significativo de tais metabolitos. Além disso, como só temos a contribuição do espectro teórico de um carotenoide, ou seja, não existe uma variação estrutural de tais moléculas como se tem em uma amostra vegetal, não é observado o deslocamento da banda de  $\nu\text{C}=\text{C}$  ( $1483\text{ cm}^{-1}$ ), como ocorre de E1-MI para E2-MI ( $1527\text{-}1517\text{ cm}^{-1}$ ) (Campos et al., 2022; Gómez-García & Ochoa-Alejo, 2013; Maia, L. F.; Oliveira, V. E. de; Oliveira, 2017; Zhuang et al., 2012).

Figura 3.11- Espectros Raman (A) calculados de alguns compostos presentes nas pimentas da família Solanaceae e duas diferentes somas dos espectros e (B) dois estágios de maturação da pimenta malagueta (E1-MI e E2-MI), obtidos com linha de



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 7- Tentativa de atribuição das bandas Raman dos espectros calculados de alguns compostos presentes nas pimentas da família Solanaceae, duas diferentes somas dos espectros e bandas Raman experimentais da pimenta malagueta em dois estágios de maturação, E1-MI e E2-MI.

Bandas (cm <sup>-1</sup> )									Atribuição
Qr	Ac	Ln	Cap	Cp	SI1	SI2	E1-MI	E2-MI	
	1700								vC=O
		1679	1678		1678		1658f	1658f	vC=C
1640									vC=O; vC=C; δHOC
	1631				1631		1631f		vC=C
			1608						vC=C
1604					1602		1606m	1604f	vC=O; vC=C;
	1587				1588				vC=C;
1569					1568				vC=O; vC=C;
				1559		1559			vC=C;
				1483	1483	1483	1527i	1517i	vC=C;
1469									δHOC; δHCC; δCCC
			1436						δHCH; τHCO
		1433					1458o		δHCH
				1429	1429	1429	1442m	1446f	δHCH
1421									δHOC; δHCCO
	1396								vC=C; δHOC
1391							1386f		vC-O; vC=C;
				1376					δHCC
				1344					δHCC
1334					1334				vC-C; δHOC; δCCO
		1326					1329f		δHCO; τHCCC
	1300								δHCO
1295					1294				vC-C;
		1285					1305f	1303f	δHCC

			1273						$\delta$ HCC; $\tau$ HCCN
		1260			1261		1269f	1265f	$\delta$ HCC
	1249				1248				$\nu$ C-O; $\delta$ HCC; $\delta$ HCC
		1213							$\delta$ HOC; $\delta$ HCC $\tau$ HCCC
			1206						$\delta$ HCN; $\tau$ HCCC
	1187						1187f	1190f	$\nu$ C-C; $\delta$ HOC
1180									$\nu$ C-O; $\delta$ HOC; $\delta$ HCC
			1167	1166	1166	1166	1159i	1157i	$\nu$ C-C
				1153	1153	1153			$\nu$ C-C
1144	1141								$\delta$ HOC; $\delta$ HCC
	1118				1119				$\nu$ C-C; $\nu$ C- O; $\delta$ HCC; $\delta$ OCO
		1096					1087f		$\nu$ C-C; $\tau$ HCCC
1087									$\delta$ CCC; $\delta$ HCC; $\delta$ CCC
		1067							$\nu$ C-C
		1052	1041						$\nu$ C-C
		990							$\nu$ C-C
				987	987	987	1007f	1008f	$\delta$ HCH

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Intensidades Raman: i- intensa, m- media, f-frac. Qr: quercetina; Ac: ácido clorogênico; Ln: ácido linoleico; Cap: capsaicina; Cp: capsantina; S11: Solanaceae 1; S12: Solanaceae 2.

### 3.2.2 Análise Raman *in situ* e extratos brutos da pimenta rosa (Anacardiceae)

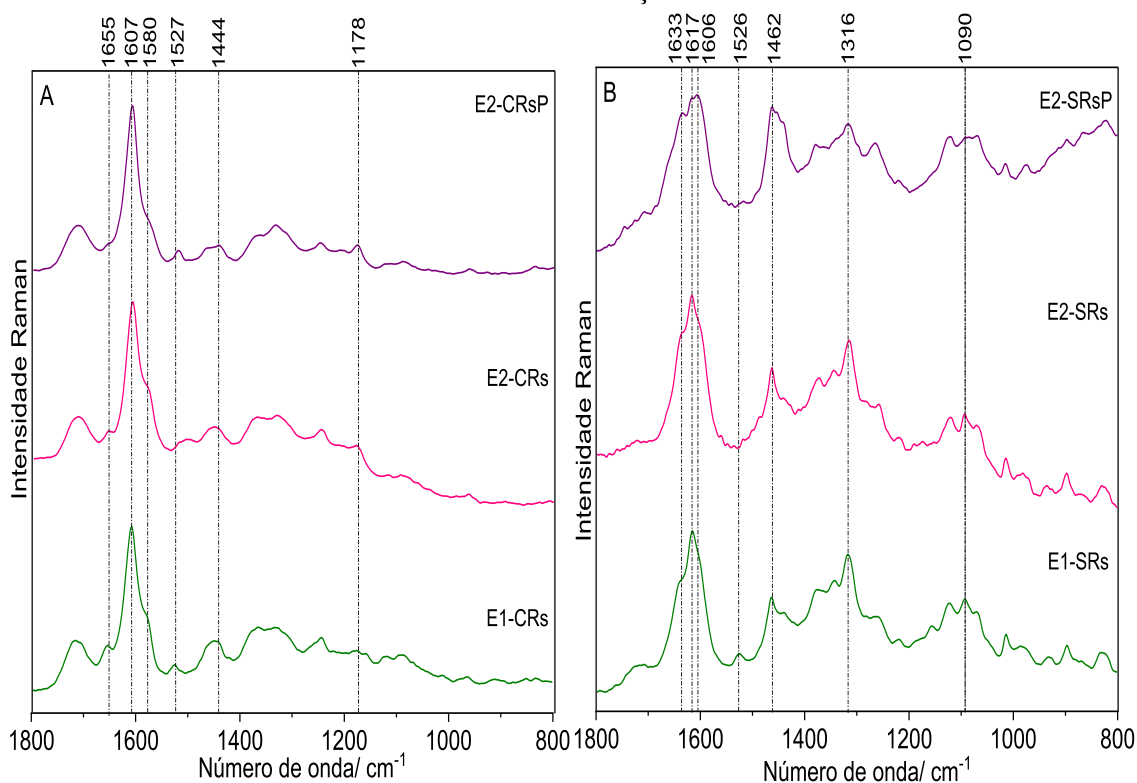
As análises Raman *in situ* obtidas com linha de excitação em 1064 nm, a partir das cascas da pimenta rosa (Figura 3.3A), em dois estágios de maturação (E1-CRs e E2-CRs) e após processamento (E2-CRsP), e as respectivas sementes (E1-SRs, E2-SRs e E2-SRsP), são apresentadas na Figura 3.12 (Apêndice B) e a tentativa de atribuição das principais bandas pode ser vista na Tabela 8.

Nas cascas (Figura 3.12A; Tabela 8; Apêndice B), podemos observar bandas principais em torno de 1710, 1610, 1575, 1521, 1442, 1334, 1250 e 1176  $\text{cm}^{-1}$ , que poderiam ser atribuídas a uma mistura de substâncias, como compostos fenólicos e a capsaicina (Tabela 8) (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; Tian et al., 2018; C.-H. Wang et al., 2020). Percebe-se que o perfil espectral das cascas em diferentes estágios de maturação e processada é semelhante. Não se observam bandas características dos carotenoides, no entanto, podemos observar bandas de menor intensidade em torno de 1521  $\nu(\text{C}=\text{C})$  e 1176  $\nu(\text{C}-\text{C})$   $\text{cm}^{-1}$ , que podem ser atribuídas as antocianinas, como a pelargonidina (C.-H. Wang et al., 2020), identificada anteriormente em frutos da pimenta rosa por CLAE acoplada a Espectrometria de Massas (MS) (em inglês, HPLC-MS) (V. S. de Oliveira et al., 2020; Siebeneichler et al., 2022).

As sementes (Figura 3.12B; Tabela 8; Apêndice B) apresentaram perfil espectral diferente das cascas, com bandas principais características de polifenóis em torno de 1633-1606  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas a  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1360-1300  $\text{cm}^{-1}$  a  $\delta(\text{COH})$  e 1270-1250  $\text{cm}^{-1}$  a  $\delta(\text{OH})/\nu(\text{C}-\text{O})$ . Algumas bandas relacionadas a ácidos graxos também são observadas, como na faixa 1460-1444  $\text{cm}^{-1}$   $\delta(\text{CH}_2)$ , 1316  $\delta(\text{C}-\text{H})$  e 1090  $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}-\text{C})$ , sendo os ácidos linoleico, oleico, palmítico e palmitoleico os principais identificados em frutos de pimenta rosa por V. S. de Oliveira *et al.* (2020), utilizando-se CG (Beattie et al., 2004; V. S. de Oliveira et al., 2020; Martini et al., 2017; Popović-Djordjević et al., 2023; Windarsih et al., 2023).

Diversos flavonoides já foram identificados nas cascas de pimenta rosa, como a naringenina, hesperidina, quercetina, kaempferol, rutina, além de ácidos fenólicos como o ácido gálico e clorogênico (Carneiro, 2022; V. S. de Oliveira et al., 2020; Kim et al., 2021; Siebeneichler et al., 2022). Em um estudo sobre compostos fenólicos nas cascas, sementes e óleos de pimenta rosa, verificou-se que a casca possui maiores valores de ácidos fenólicos, flavonóis, flavanois e antocianinas, bem como maior capacidade antioxidante (Carneiro, 2022).

Figura 3.12- Espectros Raman das (A) cascas (E1-CRs, E2-CRs E2-CRsP) e (B) sementes (E1-SRs, E2-SRs E2-SRsP) da pimenta rosa em dois estágios de maturação, obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

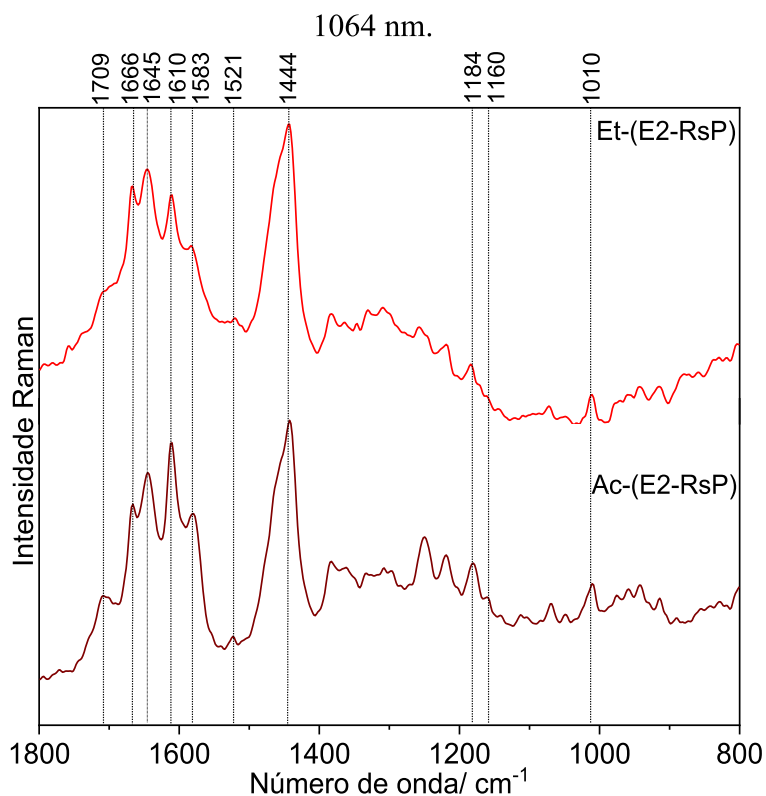
Os extratos brutos realizados com acetona e etanol das amostras de pimenta rosa processada (Figura 3.13; Tabela 8) apresentaram perfil espectral semelhante entre si. Podem ser observadas bandas vibracionais atribuídas aos fenólicos em 1645, 1610, 1583  $\text{cm}^{-1}$  e também bandas atribuídas aos ácidos graxos em 1666, 1444, 1307, 1250 e 1068  $\text{cm}^{-1}$  (Aguilar-Hernández et al., 2017; Beattie et al., 2004; Machado et al., 2013; Martini et al., 2017; Popović-Djordjević et al., 2023; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020). As bandas em 1666 e 1610  $\text{cm}^{-1}$  também poderiam ser atribuídas ao  $\nu(\text{C}=\text{C})$  do anel aromático, presente na capsaicina (Tian et al., 2018).

A extração com etanol foi realizada com o intuito de se obter um extrato com as duas classes de pigmentos, carotenoides e flavonoides (Miamoto et al., 2020), enquanto com acetona, um solvente mais apolar, a obtenção de um extrato com substâncias mais apolares como os carotenoides (L. J. Gomes et al., 2013; Rodriguez, 2001). Analisando os espectros Raman dos dois extratos, observa-se que no extrato acetônico (Ac-(E2RsP)) há bandas de baixa intensidade em 1521  $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1160  $\nu(\text{C}-\text{C})$  e 1010  $\text{cm}^{-1}$   $\rho(\text{C}-\text{CH}_3)$ , características dos carotenoides (V. E. de Oliveira et al., 2009; Koyama, Kanaji, et

al., 1988; Maia et al., 2021; Saito & Tasumi, 1983), entretanto não foi conclusivo, apesar de tais substâncias já terem sido caracterizadas anteriormente em frutos de pimenta rosa por espectroscopia na região do UV-Vis (V. S. de Oliveira et al., 2020; L. J. Gomes et al., 2013; Pagani et al., 2014). Tal observação sugere que os pigmentos majoritários na pimenta rosa e conseqüentemente responsáveis pela coloração das cascas, são flavonoides, como as antocianinas (Carneiro, 2022; V. S. de Oliveira et al., 2020; Siebeneichler et al., 2022).

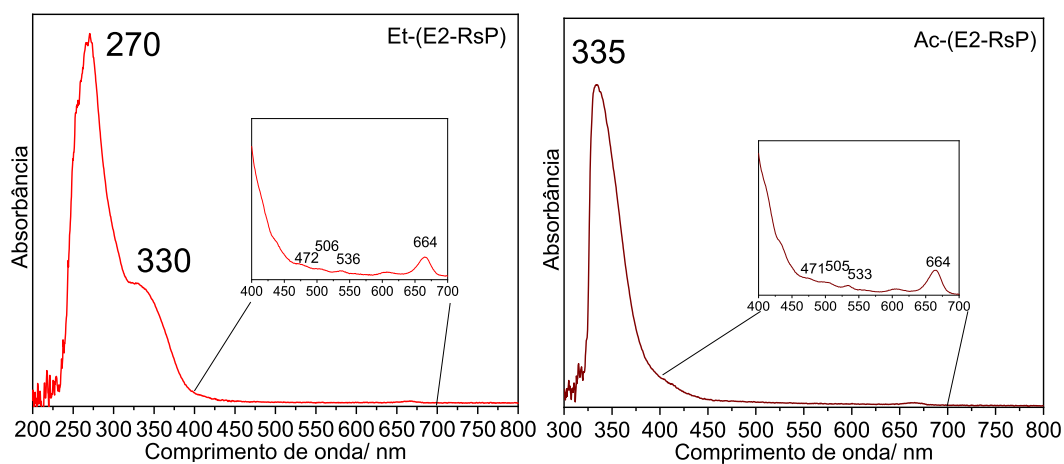
A análise dos espectros eletrônicos na região do UV-Vis foi utilizada como análise complementar. Apesar dos extratos apresentarem o perfil espectral Raman semelhante (Figura 3.13), os espectros eletrônicos (Figura 3.14) demonstraram alterações na composição de cada extrato. O extrato acetônico (Figura 3.14) apresenta apenas uma banda com intensidade máxima em 335 nm, atribuídas a ácidos fenólicos e flavonoides (Kowalski & Kowalska, 2005; Martin et al., 2017; Tsimogiannis et al., 2007). No extrato etanólico, além de um ombro em torno de 330 nm, observa-se uma banda com absorção máxima em 270 nm, características de ácidos fenólicos (Kowalski & Kowalska, 2005; Martin et al., 2017) e da capsaicina (Çınar et al., 2023; Koleva Gudeva et al., 2013). Além disso, bandas com baixa intensidade são observadas em 476, 506, 536, e 664 nm, em ambos os extratos, que podem ser atribuídas a carotenoides (476 e 506 nm) (Rodriguez, 2001) e clorofilas (664 nm) (Matti Linnanto, 2022).

Figura 3.13- Espectros Raman dos extratos brutos dos frutos de pimenta rosa, etanólico (Et-(E2-RsP)) e acetônico (Ac-(E2-RsP)), obtidos com linha de excitação em



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura 3.14- Espectro eletrônico dos extratos brutos dos frutos de pimenta rosa, etanólico (Et-(E2-RsP)) e acetônico (Ac-(E2-RsP)).



Fonte: Elaborado pela autora (2024).



Tabela 8- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nas cascas (E1-CRs, E2-CRs E2-CRsP), sementes (E1-SRs, E2-SRs E2-SRsP) e extratos etanólico (Et-(E2-RsP)) e acetônico (Ac-(E2-RsP)) de pimenta rosa, obtidos com linha de excitação em 1064 nm.

Bandas (cm <sup>-1</sup> )								Tentativa de atribuição
E1-CRs	E2-CRs	E2-CRsP	E1-SRs	E2-SRs	E2-SRsP	Et-(E2-Rs)	Ac-(E2-Rs)	
						1666i	1666i	$\nu(\text{C}=\text{C})^{\text{a,d}}$
1655f	1650f	1650f				1645i	1645i	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^{\text{b}}$
			1636o	1634o	1633i			$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^{\text{b}}$
1607i	1607i	1608i	1615i	1617i	1616o	1610i	1610i	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^{\text{b,d}}$
					1606i			$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^{\text{b}}$
1580o	1580o	1575o				1583m	1579m	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^{\text{b}}$
1524f	1519o	1521f	1526f			1520f	1523f	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav/car}}^{\text{b,c}}$
			1462m	1462m	1462i			$\delta(\text{C}-\text{H}_2)^{\text{a}}$
1455f	1445f	1442f	1441m	1441f	1444o	1444i	1442i	$\rho(\text{C}-\text{H})_{\text{flav/car}}^{\text{b,c}}$
1366f	1368f	1368f	1374m	1372m	1378m	1382f	1382f	$\nu(\text{C}-\text{O})_{\text{flav}}^{\text{b}}$
			1316i	1314i	1317i			$\delta(\text{C}-\text{H})^{\text{a}}$
1243f	1243f	1243f				1257f	1250m	$\delta(=\text{CH})^{\text{a,d}}$
1175f	1180f	1178f				1180f	1184f	$\nu(\text{C}-\text{C})^{\text{a}}$
			1156f				1160f	$\nu(\text{C}-\text{C})_{\text{car}}^{\text{c}}$
			1013f			1010f	1010f	$\rho(\text{C}-\text{CH}_3)_{\text{car}}^{\text{c}}$

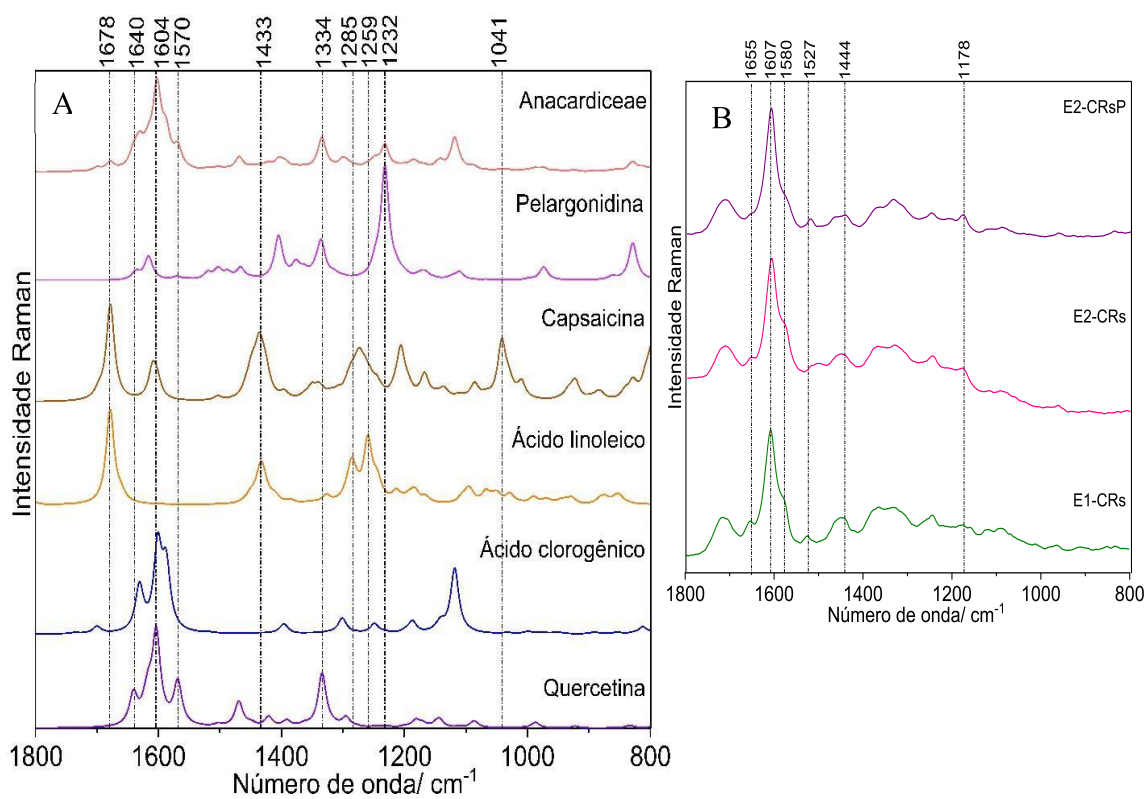
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Intensidades Raman: i- intensa, m- media, f-frac. flav: Flavonoides; car: Carotenoides. Referências: a: (Beattie et al., 2004; Popović Djordjević et al., 2023); b: (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020); c: (Koyama, Takatsuka, et al., 1988; Saito & Tasumi, 1983); d: (Tian et al., 2018).

Na Figura 3.15A observa-se os espectros de alguns dos compostos presentes na pimenta rosa (quercetina, ácido clorogênico, ácido linoleico, capsaicina e pelargonidina), e a soma de todas as intensidades Raman, denominada de “Anacardiceae”. O perfil espectral da soma dos espectros calculados (Figura 3.12A) é semelhante ao espectro Raman experimental das sementes e, em especial das cascas, de pimenta rosa (Figura 3.12A e Figura 3.15B). A tentativa de atribuição das bandas Raman pode ser observada na Tabela 9, assim como as bandas Raman experimentais da casca e semente da pimenta rosa no estágio de maturação maduro (E2-CRs e E2-SRs). Pode-se notar que a única diferença entre os espectros “Solanaceae 1”/ “Solanaceae 2” e “Anacardiceae” é a

ausência do espectro teórico do carotenoide capsantina e a adição do espectro teórico do flavonoide pelargonidina. O que corrobora com o observado em outros estudos, e também neste, que os pigmentos que mais contribuem para a coloração da casca da pimenta rosa são os flavonoides (Carneiro, 2022; V. S. de Oliveira et al., 2020; Siebeneichler et al., 2022).

Figura 3.15- Espectros Raman (A) calculados de alguns compostos presentes na pimenta rosa e a soma dos espectros e das (B) cascas (E1-CRs, E2-CRs E2-CRsP) da pimenta rosa em dois estágios de maturação, obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 9- Tentativa de atribuição das bandas Raman dos espectros calculados de alguns compostos presentes na pimenta rosa, soma dos espectros e bandas Raman experimentais da casca e semente da pimenta rosa no estágio de maturação maduro.

Bandas (cm <sup>-1</sup> )								Atribuição
Qr	Ac	Ln	Cap	Pl	An	E2-CRs	E2-SRs	
	1700				1700			vC=O
		1679	1678		1678			vC=C
1640						1650f		vC=O; vC=C; δHOC
	1631			1635	1630		1634o	vC=C
			1608	1616		1607i	1617i	vC=C
1604					1602			vC=O; vC=C;
	1587			1570	1570	1580o		vC=C;
1569								vC=O; vC=C;
				1519		1519o		vC=C;
				1503				δHCC
1469					1469		1462m	δHOC; δHCC; δCCC
				1467				vC=C; δHCC
			1436					δHCH; τHCO
		1433				1445f	1441f	δHCH
1421								δHOC; δHCCO
	1396			1405	1404			vC=C; δHOC
1391						1368f	1372m	vC=O; vC=C;
				1376				vC=C; δHOC
1334				1336	1334	1332f	1343m	vC-C; δHOC; δCCO
		1326					1314i	δHCO; τHCCC
	1300				1299			δHCO
1295								vC-C;
		1285						δHCC
			1273			1243f		δHCC; τHCCN
		1260						δHCC
	1249			1232	1232			vC-O; δHCC
		1213						δHOC; δHCC τHCCC
			1206					δHCN; τHCCC
	1187				1185	1180f		vC-C; δHOC
1180								vC-O; δHOC; δHCC
				1169				vC-C; δHCC; δHOC
			1167					vC-C

1144	1141				1141			$\delta$ HOC; $\delta$ HCC
	1118				1118			$\nu$ C-C; $\nu$ C-O; $\delta$ HCC; $\delta$ OCO
		1096						$\nu$ C-C; $\tau$ HCCC
1087								$\delta$ CCC; $\delta$ HCC; $\delta$ CCC
		1067						$\nu$ C-C
		1052	1041					$\nu$ C-C
		990						$\nu$ C-C
				974				$\nu$ C-C; $\nu$ C-O; $\delta$ CCC

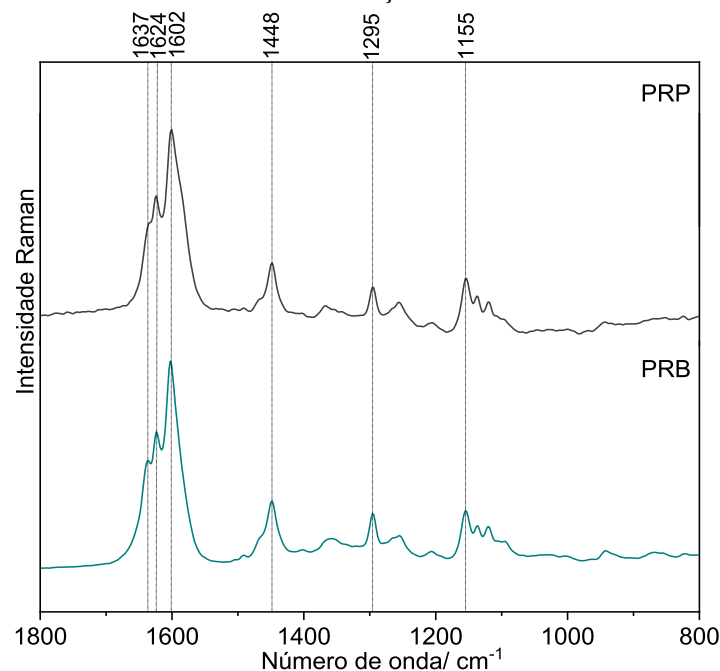
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Intensidades Raman: i- intensa, m- media, f-frac. Qr: quercetina; Ac: ácido clorogênico; Ln: ácido linoleico; Cap: capsaicina; Pl: pelargonidina; An: Anacardiceae.

### 3.2.3 Análise Raman *in situ* da pimenta-do-reino branca e preta (Piperaceae)

Os espectros *in situ* das pimenta-do-reino preta (PRP) (Figura 3.3B) e branca (PRB) (Figura 3.3C) estão apresentados na Figura 3.16 (Tabela 10; Apêndice B). Apesar da pimenta preta e branca serem processadas de modo distinto, o perfil espectral de ambas é semelhante. Analisando os espectros, podemos observar bandas em 1637, 1624, 1601  $\nu$ (C=C) e  $\nu$ (N-C=O), 1448, 1295, 1255  $\delta$ (CH<sub>2</sub>), 1155  $\nu$ (C-C), 1135 e 1120  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas a piperina, anteriormente descrita na literatura (Schulz et al., 2005). As bandas na faixa de 1637-1601  $\nu$ (C=C), 1448  $\rho$ (C-H<sub>2</sub>) e 1360  $\nu$ (C-O)  $\text{cm}^{-1}$  também podem ser atribuídas aos polifenóis e flavonoides, como ácido clorogênico, gálico, cafeico e quercetina, kaempferol, apigenina, luteolina, anteriormente identificados por técnicas cromatográficas nos frutos da pimenta-do-reino (Al-Khayri et al., 2022; Milenković & Stanojević, 2021). Bandas adicionais de ácidos graxos, como linoleico, palmítico, mirístico e oleico, são observadas em 1448  $\rho$ (C-H), 1295  $\delta$ (C-H) e 1255  $\delta$ (=CH) (Liu et al., 2018; Milenković & Stanojević, 2021).

Figura 3.16- Espectros Raman da pimenta-do-reino preta (PRP) e branca (PRB), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 10- Tentativa de atribuição das bandas Raman observadas nas pimenta-do-reino preta (PRP) e branca (PRB), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.

Bandas (cm <sup>-1</sup> )		Tentativa de Atribuição
PRP	PRB	
1635m	1637m	$\nu(\text{C}=\text{C})^{\text{b,c}}$ ; $\nu(\text{N}-\text{C}=\text{O})^{\text{c}}$
1624m	1624m	$\nu(\text{C}=\text{C})^{\text{b,c}}$ ; $\nu(\text{N}-\text{C}=\text{O})^{\text{c}}$
1601i	1602i	$\nu(\text{C}=\text{C})^{\text{b,c}}$ ; $\nu(\text{N}-\text{C}=\text{O})^{\text{c}}$
1448f	1448f	$\rho(\text{C}-\text{H})^{\text{a,b,c}}$
1367f	1360f	$\nu(\text{C}-\text{O})^{\text{b}}$
1296f	1296f	$\delta(\text{C}-\text{H})^{\text{a}}$ ; $\delta(\text{CH}_2)^{\text{c}}$
1255f	1255f	$\delta(=\text{CH})^{\text{a}}$ ; $\delta(\text{CH}_2)^{\text{c}}$
1153f	1159m	$\nu(\text{C}-\text{C})^{\text{c}}$

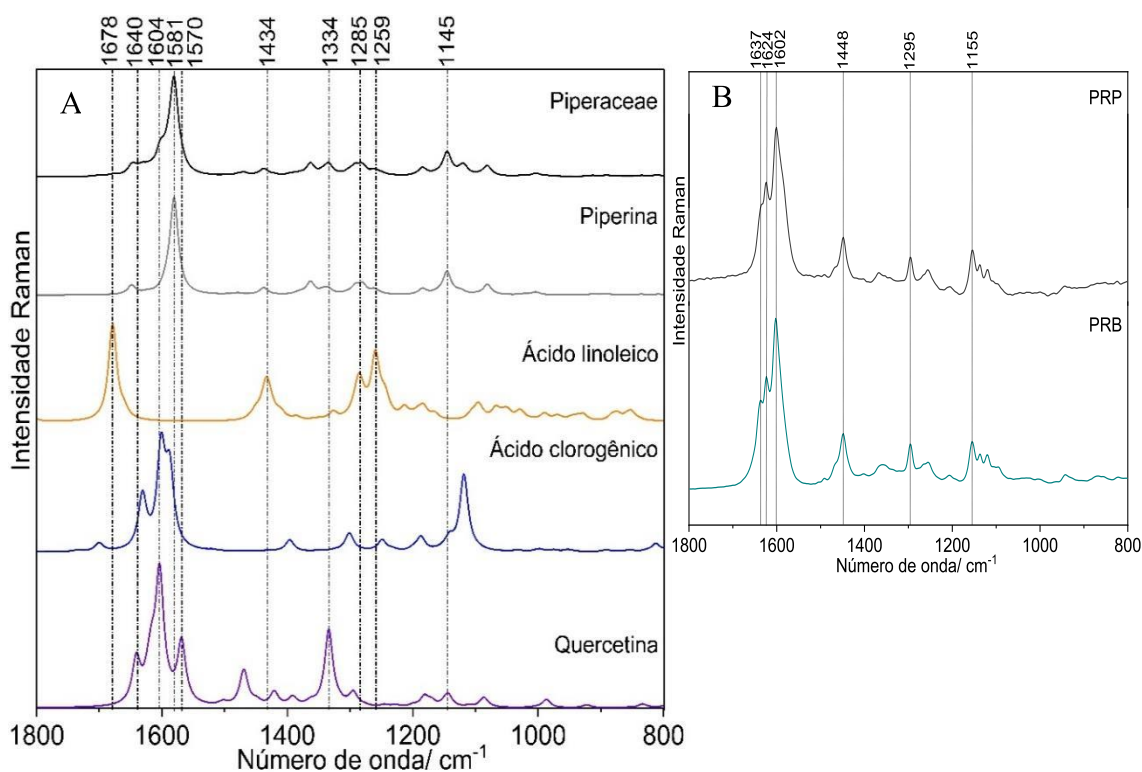
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Intensidades Raman: i- intensa, m- media, f-frac. flav: Flavonoides; Referências: a: (Beattie et al., 2004; Popović Djordjević et al., 2023); b: (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020); c: (Schulz et al., 2005).

Os espectros calculados de alguns dos compostos presentes na pimenta-do-reino (quercetina, ácido clorogênico, ácido linoleico e piperina) e a soma dos espectros,

denominada “Piperaceae”, estão apresentados na Figura 3.17A e a tentativa de atribuição e comparação com as bandas Raman experimentais da pimenta-do-reino preta (PRP) (Figura 3.16 e Figura 3.17B) podem ser observadas na Tabela 11. Assim como nos espectros experimentais (Figura 3.16), pode-se observar que o perfil espectral da soma dos espectros calculados (“Piperaceae”) é semelhante ao do alcaloide piperina, com menores contribuições dos demais constituintes (Schulz et al., 2005).

Figura 3.17- Espectros Raman (A) calculados de alguns compostos presentes na pimenta-do-reino e a soma dos espectros, (B) da pimenta-do-reino preta (PRP) e branca (PRB), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 11- Tentativa de atribuição das bandas Raman dos espectros calculados de alguns compostos presentes na pimenta-do-reino, soma dos espectros e banda Raman experimental da pimenta-do-reino preta.

Bandas (cm <sup>-1</sup> )						Atribuição
Qr	Ac	Ln	Pp	Pip	PRP	
	1700					vC=O
		1679				vC=C
			1648	1646	1635m	vO=C-N; vC=C
1640						vC=O; vC=C; δHOC
	1631					vC=C
1604				1600	1624m	vC=O; vC=C;
	1587					vC=C;
			1581	1581	1601i	vC=O-N; vC=C
1569						vC=O; vC=C;
1469				1470		δHOC; δHCC; δCCC
			1438	1437	1448f	vC=C; δHCC
		1433				δHCH
1421						δHOC; δHCCO
	1396					vC=C; δHOC
1391					1367f	vC-O; vC=C;
			1363	1363		vC=C
1334				1335		vC-C; δHOC; δCCO
		1326				δHCO; τHCCC
	1300					δHCO
1295						vC-C;
		1285			1296f	δHCC
			1282	1282		vC=C; δHCC
		1260			1255f	δHCC
	1249					vC-O; δHCC
		1213				δHOC; δHCC τHCCC
	1187			1184		vC-C; δHOC
1180						vC-O; δHOC; δHCC
			1145	1145	1153f	vC-C
1144	1141					δHOC; δHCC
	1118			1120		vC-C; vC-O; δHCC; δOCO
		1096				vC-C; τHCCC
1087						δCCC; δHCC; δCCC
			1081	1081		δCCC

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Intensidades Raman: i- intensa, m- media, f-frac. Qr: quercetina; Ac: ácido clorogênico; Ln: ácido linoleico; Cap: capsaicina; Pp: piperina; Pip: Piperaceae.

### 3.3 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos a partir da análise dos espectros Raman *in situ* das amostras de pimentas da família Solanaceae, em diferentes estágios de maturação, revelaram informações sobre a composição química e suas variações ao longo do amadurecimento. As análises demonstraram a presença de bandas características de compostos fenólicos, carotenoides, ácidos graxos e alcaloides, como a capsaicina. Nos espectros Raman das pimentas malagueta, habanero, biquinho e karneval vermelha foi possível observar deslocamento das bandas de estiramento  $\nu(\text{C}=\text{C})$  atribuídas aos carotenoides para menores números de onda, além da intensificação, evidenciando a variação estrutural e um aumento significativo no conteúdo de carotenoides durante o amadurecimento. As pimentas karneval apresentaram perfis espectrais distintos entre as diferentes colorações e estágios de maturação, reforçando a diversidade química entre as variedades e as mudanças químicas associadas ao processo de amadurecimento. Além disso, a predominância das bandas Raman dos fenólicos nos estágios verdes e o aumento da intensidade das bandas Raman de carotenoides nas fases maduras indicam uma transformação na composição dos pigmentos ao longo do tempo. Os espectros dos pimentões convencionais e orgânicos mostraram que, embora não haja muitas variações entre os métodos de cultivo, o estágio de maturação impacta significativamente o perfil espectral.

A análise Raman *in situ* das cascas e sementes de pimenta rosa em diferentes estágios de maturação e após processamento revelou informações sobre a composição química, embora não tenha se observado mudanças significativas ao longo do amadurecimento. Os espectros das cascas mostraram bandas principais atribuídas a compostos fenólicos e à capsaicina, enquanto as bandas características dos carotenoides não foram observadas. No entanto, a presença de bandas atribuídas às antocianinas, como a pelargonidina, sugere que esses flavonoides são os principais responsáveis pela coloração das cascas da pimenta rosa. Nas sementes, os espectros revelaram um perfil distinto das cascas, com bandas características de polifenóis e ácidos graxos.

A análise espectroscópica Raman *in situ* da pimenta-do-reino preta (PRP) e branca (PRB) revelou perfis espectrais semelhantes, apesar das diferenças nos processos de obtenção das duas variedades. Ambos os espectros exibem bandas características



atribuídas principalmente à piperina, um alcaloide bioativo predominante na pimenta-do-reino, além de conterem uma variedade de polifenóis, flavonoides e ácidos graxos.

Os espectros Raman calculados dos compostos presentes nas pimentas, realizados pelo método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT), forneceram informações sobre a contribuição de cada composto para os perfis espectrais observados experimentalmente. Os carotenoides são os pigmentos predominantes nas pimentas e pimentões da família Solanaceae, enquanto os flavonoides são responsáveis pela coloração da pimenta rosa, já as pimentas-do-reino, tem como principal constituinte piperina.

Por fim, as análises das diferentes pimentas e pimentões por espectroscopia Raman indicam que a técnica pode ser usada para identificar compostos químicos importantes, como os carotenoides, flavonoides, ácidos graxos e alcaloides, presentes nessas amostras, além de apontar possíveis marcadores que podem ser usados para identificar e diferenciar cada variedade de pimenta e pimentões. Os resultados mostram que os compostos responsáveis pela coloração variam significativamente entre as espécies e a composição química é fortemente influenciada pelo estágio de maturação e pelo processamento. Estas informações são fundamentais para a caracterização dos componentes bioativos das pimentas e podem contribuir significativamente para estudos sobre qualidade nutricional, processos de maturação e desenvolvimento de produtos derivados, reforçando a relevância da espectroscopia Raman como uma ferramenta poderosa para a análise de alimentos.

#### 4 ANÁLISE DE *Euphorbia pulcherrima* POR ESPECTROSCOPIA RAMAN

A família Euphorbiaceae destaca-se como uma das mais extensas entre as plantas superiores, abrangendo mais de 300 gêneros, dentre eles, o *Euphorbia* é o terceiro maior entre os de plantas com flores e caracteriza-se pela produção de látex branco leitoso (Vasas & Hohmann, 2014). Diversas espécies desse gênero são conhecidas e estudadas por suas propriedades biológicas e manutenção da saúde. Tais propriedades são atribuídas a metabólitos secundários bioativos presente nessas plantas, como esteroides, compostos fenólicos e terpenos (Aljohani et al., 2022; Benjamaa et al., 2022; Mahomoodally et al., 2020; Salehi, Iriti, et al., 2019; Shi et al., 2008; Vasas & Hohmann, 2014). Além disso, a presença destes compostos bioativos nas plantas do gênero *Euphorbia*, fez com que diversos estudos as utilizassem, com sucesso, para a síntese verde de nanopartículas (Nasrollahzadeh et al., 2015; Sajjadi et al., 2017; Sameena & Thoppil, 2022). As nanopartículas possuem diversas aplicações em variados campos, como na indústria alimentícia, farmacêutica, na agricultura. Por isso, a síntese verde, onde se utiliza extratos de plantas, por exemplo, são importantes, devido ao apelo ecológico, pois normalmente geram menos resíduos químicos, são de baixo custo, além de biocompatibilidade com aplicações biomédicas e farmacêuticas (Almatroudi, 2020; Nasrollahzadeh et al., 2015; Sameena & Thoppil, 2022; Soares et al., 2018).

A *Euphorbia pulcherrima*, também conhecida como Poinsetia e flor de Natal, teve seu uso medicinal já descrito (Aljohani et al., 2022; Dai et al., 2019; Yu et al., 2019) Contudo, é comumente utilizada como flor ornamental (Rehman et al., 2014). A variação da cor das brácteas da planta é um processo intrigante e pouco explorado por estudos, especialmente por métodos não destrutivos, como a espectroscopia Raman. Envolve a degradação e síntese de diversos metabólitos, como clorofila, antocianinas e carotenoides (González-García et al., 2022; Radotić et al., 2023). Embora a maioria das variedades apresentem coloração vermelha intensa das brácteas, outras cores se tornaram populares nos últimos tempos, como rosa, branco, amarelo, ou até variedades bicolors, marmorizados (Ninarska et al., 2018).

Assim, tendo em vista a relevância das propriedades biológicas dos pigmentos, utilizou-se a espectroscopia Raman como técnica principal para a caracterização dos compostos químicos envolvidos no padrão de coloração das brácteas de *Euphorbia pulcherrima*, que se inicia com a cor verde e gradativamente vai alterando para outras

cores. Além disso, buscou-se uma aplicabilidade para os extratos brutos obtidos das brácteas, utilizando-os para a síntese verde de nanopartículas de prata (AgNP).

#### 4.1 MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras analisadas foram adquiridas entre junho e dezembro de 2023, na cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais (MG), Brasil.

##### 4.1.1 Análise *in situ* das amostras de *E. pulcherrima*

As amostras foram adquiridas entre junho e dezembro de 2023, na cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais (MG), Brasil. As análises foram realizadas nas brácteas com coloração verde, vermelha, rosa, amarela e branca (Figura 4.1), em no mínimo duas brácteas e em dois pontos, de cada coloração. Além disso, utilizaram-se duas linhas de excitação, com comprimento de onda em 1064 nm e 532 nm.

Figura 4.1- Brácteas de *E. pulcherrima* analisadas *in situ*.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

##### 4.1.2 Métodos de extração

As brácteas verdes, vermelhas e amarelas de *E. pulcherrima* foram submetidos à extração com diferentes solventes. Com o intuito de favorecer a extração dos carotenoides, utilizou-se acetona (Rodriguez, 2001) e para um extrato mais abundante em compostos fenólicos, como as antocianinas, utilizou-se a mistura de etanol/metanol/água (1:1:1 v/v), com a adição de 1 ml de ácido acético para a estabilização do cátion flavilium (Paludo et al., 2019; Tena & Asuero, 2022). Cerca de 5g de brácteas foram misturados

com 50 ml da mistura de solventes a 25°C e trituradas com o auxílio de um mixer por aproximadamente 10 minutos. Esse processo foi reproduzido por mais duas vezes. A solução foi filtrada e os solventes removidos sob pressão reduzida (Miyamoto et al., 2020).

Os extratos acetônicos foram denominados de Ac-Vd (bráctea verde), Ac-V (bráctea vermelha) e Ac-A (bráctea amarela). Os extratos obtidos com a mistura de solventes etanol/metanol/água (1:1:1 v/v) foram denominados de EtMeH<sub>2</sub>O-Vd (bráctea verde), EtMeH<sub>2</sub>O-V (bráctea vermelha) e EtMeH<sub>2</sub>O-A (bráctea amarela).

#### 4.1.3 Síntese de AgNP com extrato de *E. pulcherrima*

Para a síntese verde de AgNPs foram utilizados os extratos secos das brácteas de *E. pulcherrima* verdes (Ac-Vd e EtMeH<sub>2</sub>O-Vd) e vermelhas (Ac-V e EtMeH<sub>2</sub>O-V). As soluções estoques dos extratos de *E. pulcherrima* foram preparadas utilizando 10 mg dos extratos secos em 10 ml de etanol 70% (v/v) e depois colocada no ultrassom por 10 minutos. Para síntese de AgNPs por síntese verde, 10 µl de solução estoque de *E. pulcherrima* foram adicionadas a 990 µl de solução de nitrato de prata ( $3 \times 10^{-3}$  mol/L), em temperatura ambiente e em seguida, levadas ao ultrassom por 10 minutos (Soares et al., 2018). As soluções mudaram de coloração verde/ vermelha para amarela. Para confirmar a formação das AgNPs, medições de extinção dos coloides resultantes foram realizadas imediatamente após a mistura.

#### 4.1.4 Análises espectroscópicas

Nesta seção será apresentado os parâmetros instrumentais utilizados nas análises de espectroscopia Raman e na região ultravioleta/ visível.

##### 4.1.4.1 Espectroscopia Raman

As análises Raman *in situ* das brácteas de diferentes colorações de *E. pulcherrima* e dos extratos brutos das brácteas verdes, vermelhas e amarelas, foram realizadas em um instrumento FT-Raman Bruker RFS 100, com laser Nd:YAG operando em 1064 nm, com resolução espectral de 4 cm<sup>-1</sup> e número de onda variando de 4000 a 50 cm<sup>-1</sup>. Os espectros foram obtidos com 1024 e 512 varreduras. As análises Raman *in situ* das brácteas em

diferentes colorações também foram realizadas com comprimento de onda de excitação em 532 nm, em um instrumento de microscópio dispersivo Raman Bruker SENTERRA equipado com um detector CCD, com o feixe de laser incidente focado na amostra usando um microscópio com uma objetiva de trabalho de longa distância 50x. Uma boa relação sinal-ruído foi obtida utilizando uma potência de laser de 2 mW, com tempo de aquisição de 5 segundos e 5 coadições, com resolução espectral de  $3 \text{ cm}^{-1}$  e número de onda variando de 1700 a  $300 \text{ cm}^{-1}$ .

Todos os espectros foram obtidos no mínimo em duplicata para confirmar a integridade da amostra com base na posição e intensidade das bandas observadas. Os espectros Raman foram processados pelo pacote de software Bruker Opus versão 6.0 e ajuste da curva foi realizado usando o software Origin 2018.

#### 4.1.4.2 Espectroscopia SERS

Para a obtenção dos espectros SERS das AgNP, sintetizadas a partir dos extratos de *E. pulcherrima* (Ac-Vd, EtMeH<sub>2</sub>O-Vd, Ac-V e EtMeH<sub>2</sub>O-V), 200  $\mu\text{L}$  do coloide fresco foi adicionado em porta amostra e analisado em seguida. A atividade SERS da AgNP fabricada com o extrato de *E. pulcherrima* que se mostrou mais eficiente nesta síntese (Ac-V), foi avaliada através da análise SERS de cristal violeta (CV). Nesta etapa, 190  $\mu\text{l}$  do coloide de AgNP foi adicionado a 10  $\mu\text{l}$  de solução aquosa  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  de CV (concentração final de CV =  $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ ), e a mistura foi então deixada em repouso por 3h para maior adsorção do corante, já que a superfície das nanopartículas de prata está majoritariamente recoberta com moléculas provenientes dos extratos. Após este tempo, o volume total da mistura foi adicionado em porta amostra e em seguida analisada.

Nas análises SERS das AgNP puras foram utilizados tempos de integração de 20 segundos, e 20 a 25 coadições. Já nas análises SERS do CV, tempo de integração de 15 segundos e 20 acumulações. Ambas as análises foram realizadas no microscópio dispersivo Raman Bruker SENTERRA equipado com um detector CCD, e o *laser* de He-Ne com comprimento de onda de excitação de 632,8 nm foi utilizado, operando com potência nominal de 20 mW.

#### 4.1.4.3 Espectroscopia Uv/Visível (UV/Vis)

Os extratos brutos obtidos e os coloides resultantes da síntese verde foram analisados em espectrômetro Ocean Optics, entre 200 e 1100 nm. As amostras foram diluídas nos respectivos solventes e adicionadas a uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm para obtenção dos espectros eletrônicos.

## 4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados e discutidos os resultados obtidos das análises das brácteas de *E. pulcherrima*.

### 4.2.1 Análise Raman *in situ* das brácteas de *E. pulcherrima*

Na Figura 4.2 observamos os espectros Raman *in situ* das brácteas de *E. pulcherrima* em diferentes colorações. Nos espectros obtidos com linha de excitação em 1064 nm (Figura 4.2A), podemos observar bandas principais que são características de duas classes de substâncias: polifenóis nas faixas em torno de 1610-1500  $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1370-1340  $\text{cm}^{-1}$  a  $\nu(\text{C}-\text{O})$ , 1360-1300  $\text{cm}^{-1}$  a  $\delta(\text{COH})$  e 1270-1250  $\text{cm}^{-1}$  a  $\delta(\text{OH})/\nu(\text{C}-\text{O})$  (Tabela 12) (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020), e aos carotenoides na faixa de 1527-1513  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1158-1157  $\text{cm}^{-1}$  a  $\nu(\text{C}-\text{C})$  e 1005  $\text{cm}^{-1}$  atribuída a  $\rho(\text{C}-\text{CH}_3)$  (Tabela 12) (V. E. de Oliveira et al., 2009; Koyama, Kanaji, et al., 1988; Maia et al., 2021; Saito & Tasumi, 1983). Bandas de ácidos graxos também estão presentes, na faixa de 1655-1646  $\nu(\text{C}=\text{C})$  e 1315-1307  $\delta(\text{C}-\text{H}_2)$  (Beattie et al., 2004; Popović Djordjević et al., 2023).

Analisando o perfil espectral de cada bráctea, nota-se que ocorrem variações com a mudança da coloração. Nas brácteas verdes, observa-se uma maior intensidade das bandas atribuídas aos carotenoides (1527, 1157 e 1005  $\text{cm}^{-1}$ ) em comparação com as atribuídas aos polifenóis (1610 e 1570  $\text{cm}^{-1}$ ). Já nas demais colorações de brácteas, o inverso é observado, sendo as bandas dos polifenóis mais intensas. Além disso, também se observa que a intensidade das bandas dos carotenoides é maior para as brácteas amarelas, seguido da vermelha e rosa, respectivamente. Diferente do observado durante o amadurecimento da maioria dos frutos, onde ocorre o aumento dos carotenoides totais e uma diminuição simultânea da clorofila (Baranski et al., 2005; Campos et al., 2022; Fu

et al., 2018; Ullah et al., 2019). Estudos anteriores realizados com brácteas de poinsettia revelaram que durante a senescência foliar de algumas espécies, a perda de clorofila é acompanhada por uma diminuição dos carotenoides (Ayala-Arreola et al., 2008). Para a bráctea branca, no entanto, não se observa as três bandas características dos carotenoides, apenas bandas pouco intensas em  $1513\text{ cm}^{-1}$  e em  $1000\text{ cm}^{-1}$ . Medições de fluorescência *in situ* foram usadas para investigar quantidades relativas de pigmentos e suas distribuições em brácteas brancas e verdes de *E. pulcherrima*, e verificou-se que as concentrações de clorofila e carotenoides nas brácteas brancas são cerca de 20 vezes menores do que em brácteas totalmente verdes (Radotić et al., 2023).

Embora a banda em torno de  $1527\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{C}=\text{C})$ ), em conjunto com as demais bandas características ( $1157\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{C}-\text{C})$ ) e  $1005\text{ cm}^{-1}$  ( $\rho(\text{C}-\text{CH}_3)$ )), seja normalmente atribuída a carotenoides com 9 insaturações conjugadas, o conjunto de bandas em torno de  $1570$  e  $1527\text{ cm}^{-1}$ , observadas nos espectros Raman das brácteas vermelhas, rosas e amarelas, também podem ser atribuídas a cianidina e pelargonidina (Campos et al., 2022; C.-H. Wang et al., 2020). Sabe-se que as antocianinas podem conferir diversas colorações às brácteas da poinsettia. Além disso, muitas plantas tendem a acumular mais de um tipo de antocianina ou mesmo uma mistura com outros pigmentos, como flavonas e flavonóis, originando combinações que proporcionam uma maior variação de cor (Lozoya-Gloria et al., 2023).

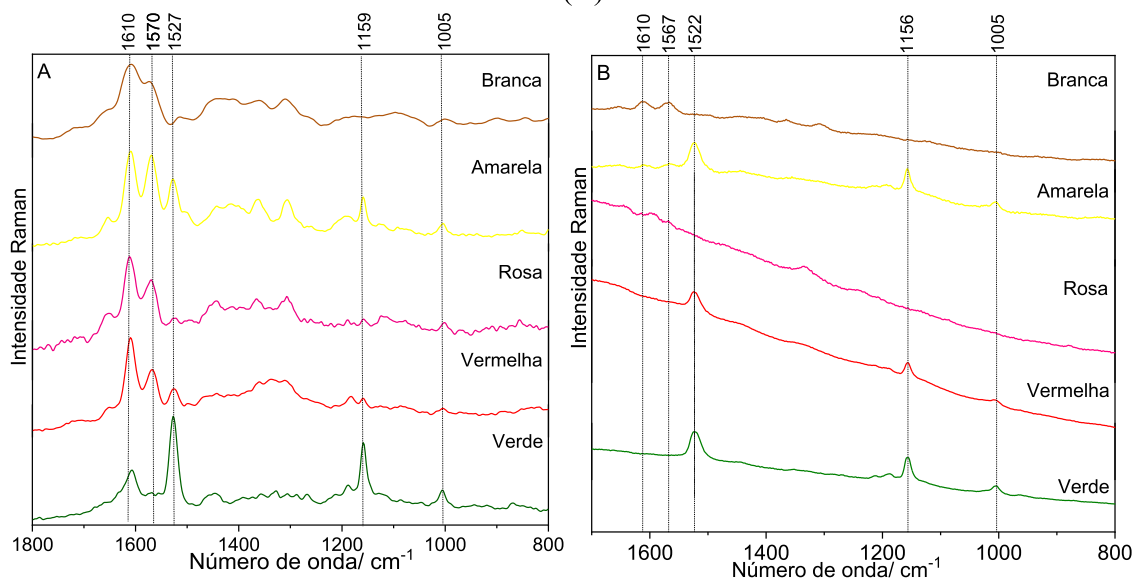
Estudo sobre síntese de pigmentos por CLAE, feitos com quatro cultivares de *E. pulcherrima*, revelou que em brácteas com tons de vermelho, a antocianina do tipo cianidina, com dois grupos hidroxilas no anel B, é mais dominante. Entretanto, as antocianinas do tipo pelargonidina, com um grupo hidroxila no anel B, também estão presentes. Em brácteas com cores laranja- avermelhada a pelargonidina é majoritária. Traços de delphinidina, com três grupos hidroxilas no anel B, também foram encontrados nas cultivares (Nitarska et al., 2018). Em resumo, o padrão de hidroxilação do anel B dos precursores das antocianinas, parece determinar o tipo de antocianina que será acumulado pela planta, sendo os diidroflavonóis, com um grupo hidroxila (diidrokaempferol), os precursores dos pigmentos laranja-avermelhados (tipo pelargonidina), com dois grupos hidroxila (diidroquercetina), pigmentos vermelhos e rosa (tipo cianidina) e, com três grupos hidroxila (diidromiricetina), pigmentos roxos a azuis (tipo delphinidina) (Nitarska et al., 2018).

O conteúdo de antocianina e clorofila durante o desenvolvimento das brácteas de três cultivares de poinsettia em cores distintas, branca, rosa e vermelha, foi determinado

utilizando HPLC-MS e espectroscopia na região do UV-Vis, respectivamente (Slatnar et al., 2013). Foram identificados onze pigmentos derivados das antocianinas, como as cianidinas, pelargonidinas e delphinidinas. Na variedade rosa foram detectadas as mesmas antocianinas encontradas na variedade vermelha, mas, em menor quantidade, aproximadamente três vezes menos que a vermelha. Curiosamente, a variedade branca continha as mesmas, embora em concentrações muito baixas, aproximadamente 150 vezes menos. Por fim, verificou-se que os níveis de conteúdo de antocianina aumentaram expressivamente com a transição das brácteas parcialmente para totalmente pigmentadas em todas as cultivares analisadas, e sua acumulação coincidiu com o fim da síntese dos pigmentos fotossintéticos (Slatnar et al., 2013).

Na Figura 4.2B (Tabela 12) tem-se os espectros Raman *in situ* das brácteas, obtidos com linha de excitação em 532 nm. Analisando-os, percebe-se a predominância das bandas principais atribuídas aos carotenoides ( $1522$ ,  $1156$  e  $1005$   $\text{cm}^{-1}$ ) para as brácteas verdes, vermelhas e amarelas. Isso se deve a condição de pré-ressonância das transições eletrônicas dos carotenoides (entre 270 e 550 nm) com a linha de excitação (532 nm) (Campos et al., 2022; Rodriguez, 2001). Para a bráctea branca e rosa, observam-se apenas as bandas que podem ser atribuídas aos polifenóis ( $1610$  e  $1567$   $\text{cm}^{-1}$ ).

Figura 4.2- Espectros Raman *in situ* das brácteas de *E. pulcherrima* em diferentes cores (verde, vermelha, rosa, amarela e branca), obtidos com linha de excitação em (A) 1064 nm e (B) 532 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).



Tabela 12- Tentativa de atribuição das bandas Raman das brácteas de *E. pulcherrima*, obtidos com linha de excitação em 1064 nm.

Bandas (cm <sup>-1</sup> )										Tentativa de atribuição
Verde		Vermelha		Rosa		Amarela		Branca		
1064	532	1064	532	1064	532	1064	532	1064	532	
		1648f		1651f	1646f	1651f		1654f	1655f	$\nu(\text{C}=\text{C})^a$
1606f		1610i		1612i	1601f	1614i	1610f	1610i	1610i	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
		1568m		1570m	1569f	1568m	1567f	1569m	1567i	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
1527i	1525i	1523f	1525i	1527f		1525f	1523i	1513f		$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{car}}^c$
		1498f		1496f		1500f				$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
1440f		1442f		1440f		1442f		1446f		$\rho(\text{C}-\text{H})_{\text{flav/car}}^{b,c}$
		1359f		1365f		1363m		1365f	1365f	$\nu(\text{C}-\text{O})_{\text{flav}}^b$
		1315f		1307f		1307f		1309f	1310f	$\delta(\text{C}-\text{H})^a$
1190f	1188f	1182f		1176f		1182f	1193f			$\nu(\text{C}-\text{C})_{\text{flav}}^{a,b}$
1157m	1157m	1158f	1157m	1157f		1158f	1157i	1157f		$\nu(\text{C}-\text{C})_{\text{car}}^c$
1005f	1004f	1005f	1008f	1004f		1005f	1006f	1004f		$\rho(\text{C}-\text{CH}_3)_{\text{car}}^c$

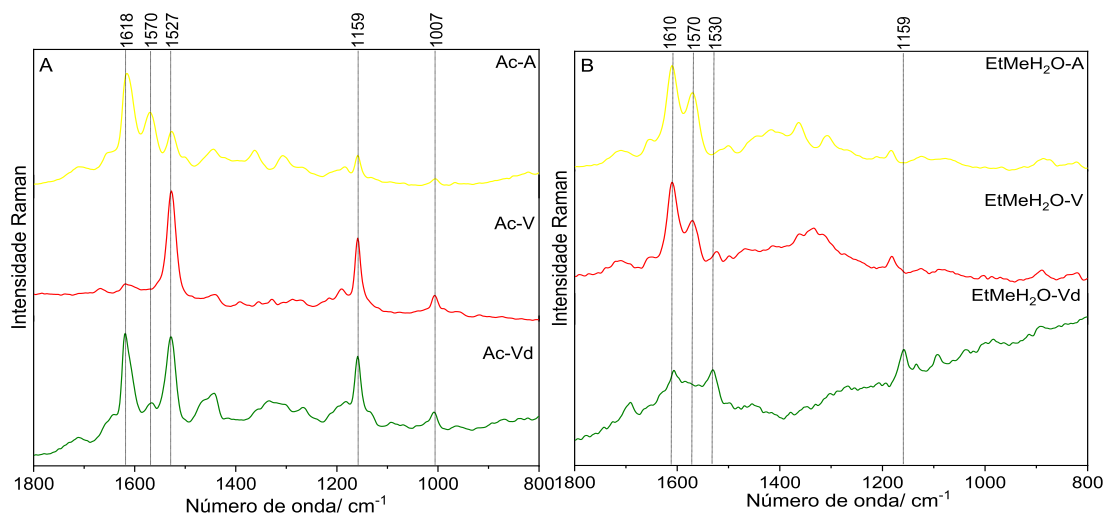
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Intensidades Raman: i- intensa, m- media, f-frac. flav: Flavonoides; car: Carotenoides. Referências: a: (Beattie et al., 2004; Popović Djordjević et al., 2023); b: (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020); c: (Koyama, Takatsuka, et al., 1988; Saito & Tasumi, 1983); d: (Tian et al., 2018).

#### 4.2.2 Análise espectrais vibracionais e eletrônicas dos extratos brutos de *E. pulcherrima*

As brácteas verdes, vermelhas e amarelas de *E. pulcherrima* foram submetidas a duas extrações com diferentes solventes, com o intuito de se extrair e identificar as diferentes classes de pigmentos naturais presentes em cada coloração. Os extratos brutos realizados com acetona podem ser observados na Figura 4.3A, e com a mistura de solventes (etanol/ metanol/ H<sub>2</sub>O) na Figura 4.3B, e a tentativa de atribuição das bandas Raman pode ser observada na Tabela 13. Os extratos brutos das brácteas verdes (Ac-Vd e EtMeH<sub>2</sub>O-Vd) apresentaram perfil espectral semelhante, com bandas principais atribuídas a polifenóis (1616-1606 e 1570 cm<sup>-1</sup>) e a carotenoides (1527, 1159 e 1006 cm<sup>-1</sup>). As brácteas de coloração vermelha (Ac-V e EtMeH<sub>2</sub>O-V) e amarela (Ac-A e EtMeH<sub>2</sub>O-A), apresentaram extratos brutos com perfil espectral distintos. Para os extratos acetônicos, as brácteas vermelhas (Ac-V) apresentaram bandas majoritárias atribuídas aos carotenoides (1527, 1159 e 1007 cm<sup>-1</sup>), enquanto nas brácteas amarelas (Ac-A), tais bandas são de menor intensidade, além disso, observa-se também bandas mais intensas dos polifenóis (1618, 1570 cm<sup>-1</sup>). Para os extratos feitos com etanol/ metanol/ H<sub>2</sub>O, o perfil espectral das brácteas vermelhas (EtMeH<sub>2</sub>O-V) e amarelas (EtMeH<sub>2</sub>O-A) são semelhantes entre si, com bandas principais atribuídas aos polifenóis (1610, 1570 cm<sup>-1</sup>).

Figura 4.3- Espectros Raman dos extratos das brácteas de *E. pulcherrima* (verdes-Vd, vermelhas-V e amarelas-A), com diferentes solventes (A) acetona (Ac) e (B) etanol/metanol/água (1:1:1 v/v) (EtMeH<sub>2</sub>O), obtidas com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 13- Tentativa de atribuição das bandas Raman das brácteas de *E. pulcherrima*, obtidos com linha de excitação em 1064 nm.

Ac			EtMeH <sub>2</sub> O			Tentativa de atribuição
Verde	Vermelha	Amarela	Verde	Vermelha	Amarela	
1669vw						$\nu(\text{C}=\text{C})^a$
	1641w	1652w		1649w	1652w	$\nu(\text{C}=\text{C})^a$
1616vw	1616s	1616s	1606w	1610s	1610s	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
	1570w	1569m		1570m	1569m	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
1527s	1529s	1527w	1531w	1523w	1513vw	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{car}}^c$
		1500vw		1498w	1500w	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{flav}}^b$
	1462w			1467w		$\delta(\text{C}-\text{H}_2)^a$
1442w	1442	1444w			1442w	$\rho(\text{C}-\text{H})_{\text{flav/car}}^{b,c}$
		1363w			1363w	$\nu(\text{C}-\text{O})_{\text{flav}}^b$
		1307w			1307w	$\delta(\text{C}-\text{H})^a$
1189w	1182w	1184w		1182w	1182w	$\nu(\text{C}-\text{C})_{\text{flav}}^{a,b}$
1159m	1158m	1159w	1159w			$\nu(\text{C}-\text{C})_{\text{car}}^c$
1006w	1005w	1005w	1003vw			$\rho(\text{C}-\text{CH}_3)_{\text{car}}^c$

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Intensidades Raman: i- intensa, m- media, f-frac. flav: Flavonoides; car: Carotenoides. Referências: a: (Beattie et al., 2004; Popović Djordjević et al., 2023); b: (Aguilar-Hernández et al., 2017; González Moreno et al., 2021; Machado et al., 2013; Teslova et al., 2007; C.-H. Wang et al., 2020); c: (Koyama, Takatsuka, et al., 1988; Saito & Tasumi, 1983); d: (Tian et al., 2018).

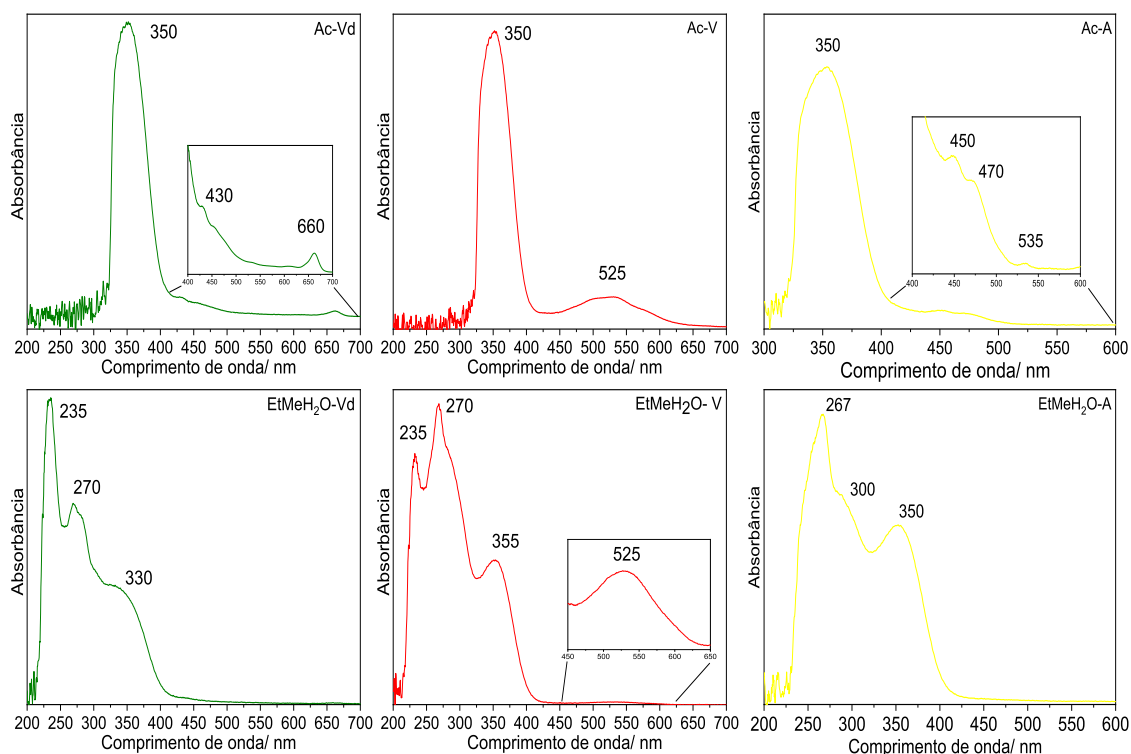
A análise UV-Vis foi utilizada como técnica complementar para monitorar os principais pigmentos presentes nas brácteas verdes, vermelhas e amarelas de *E. pulcherrima*.

Os espectros eletrônicos dos extratos acetônicos (Ac) das brácteas verdes, vermelhas e amarelas apresentaram uma banda com absorção máxima em  $\lambda_{\text{max}} = 350$  nm (Figura 4.4), que pode ser atribuída a ácidos fenólicos (Kowalski & Kowalska, 2005; Martin et al., 2017), mas também a alguns flavonoides (K. Jash, 2023; Tsimogiannis et al., 2007). Além disso, o extrato acetônico das brácteas verdes (Ac-Vd), bandas de menor absorção em 430 e 660 nm podem ser atribuídas às clorofilas (Matti Linnanto, 2022). Nos extratos acetônicos das brácteas vermelhas (Ac-V) e amarelas (Ac-A), podemos observar bandas de menor intensidade (450, 470, 525 e 535 nm) que podem ser atribuídas tanto para carotenoides (Rodriguez, 2001) quanto para antocianinas (K. Jash, 2023).

Os extratos EtMeH<sub>2</sub>O apresentaram bandas em  $\lambda_{\text{max}} = 235, 270$  e  $330$  nm para as brácteas verdes e em torno de  $235, \lambda_{\text{max}} = 270$  e  $350$  nm para as vermelhas e amarelas, que são bandas características de ácidos fenólicos e alguns flavonoides (K. Jash, 2023; Kowalski & Kowalska, 2005; Martin et al., 2017; Tsimogiannis et al., 2007).

Em um estudo onde analisaram-se os polifenóis dos extratos (metanol/ água, 80:20 v/v) de cinco variedades de *E. pulcherrima*, por CLAE, verificou-se que entre os ácidos fenólicos analisados, a concentração do ácido gálico e siríngico foram as mais altas, também se quantificou os ácidos cafeico, clorogênico, *p*-cumárico e ferúlico (González-García et al., 2022). Entre os flavonoides quantificados, a rutina apresentou a maior concentração para três variedades, enquanto a floridzina para as outras duas. Miricetina, galangina e floretina também foram quantificados (González-García et al., 2022). Em outro estudo, a capacidade de inibição de radicais livres e o conteúdo total de polifenóis dos extratos etanólicos das brácteas verdes e vermelhas de *E. pulcherrima* foram avaliados, e constatou-se que as brácteas vermelhas possuem cerca de três vezes mais conteúdo total de polifenóis e maior capacidade de eliminação de radicais livres, sugerindo que a coloração das brácteas afetam seu conteúdo fenólico e conseqüentemente sua capacidade antioxidante (Mulasari et al., 2023). Moustaka (2020) observou o mesmo, onde as brácteas de poinsétia vermelhas possuíram maior atividade antioxidante e mecanismos de eliminação de espécies reativas de oxigênio e fotoprotetores mais eficazes, comparado às brácteas verdes (Moustaka et al., 2020).

Figura 4.4- Espectros na região do UV-Vis dos extratos das brácteas de *E. pulcherrima* (verdes, vermelhas e amarelas), com diferentes solventes, acetona (Ac) e etanol/metanol/água (1:1:1 v/v) (EtMeH<sub>2</sub>O).



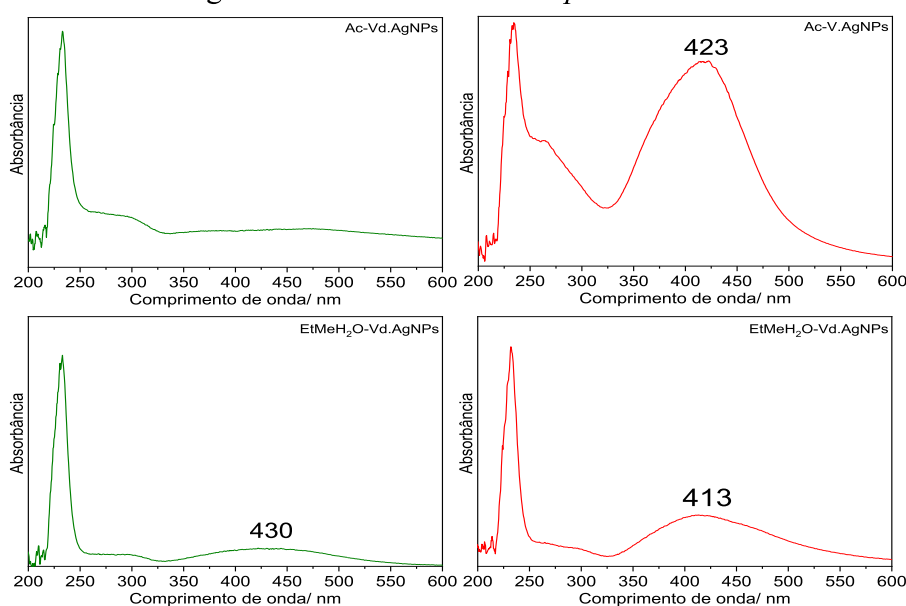
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

#### 4.2.3 Utilização dos extratos brutos de *E. pulcherrima* para síntese verde de AgNP

A Figura 4.5 apresenta os espectros de absorção/extinção das tentativas de sínteses verdes de AgNP com os extratos de *E. pulcherrima*, confirmado através do aparecimento de banda de LSPR característica de nanoestruturas de prata. Como observado nos espectros, as sínteses utilizando extratos EtMeH<sub>2</sub>O se mostraram eficientes na formação de AgNP, mas provavelmente em menor quantidade devido à baixa intensidade da banda LSPR verificada (430 e 413 nm). O extrato acetônico das brácteas vermelhas mostrou-se muito eficiente na formação de AgNP, visto a grande intensidade da banda LSPR (423 nm) (Figura 4.5), no entanto extrato em acetona das brácteas verdes não favoreceu a formação de nanopartículas. De acordo com os resultados sugere-se que AgNP formadas, sejam partículas pequenas, devido ao máximo das bandas LSPR se apresentarem na faixa de 410 a 420 nm. Os dados obtidos são semelhante aos das sínteses de AgNP onde se usou íons citrato como agente redutor (Wan et al., 2013). Adicionalmente, grande distribuição de tamanhos de partícula é observado para as três sínteses que se mostraram

eficiente (Ac-V, EtMeH<sub>2</sub>O-V e EtMeH<sub>2</sub>O-Vd), dado o perfil alargado da banda LSPR e extensão da extinção até comprimentos de onda acima de 500 nm (Lu et al., 2009). A maior eficiência de formação de AgNP dos extratos com as brácteas vermelhas, em especial o em meio de acetona, possivelmente dá-se pelo seu maior conteúdo de fitoquímicos, como os carotenoides e compostos fenólicos, e consequentemente maior ação redutora dos extratos, em comparação aos extratos com as brácteas verdes (Moustaka et al., 2020; Muliastari et al., 2023; Sameena & Thoppil, 2022). Sajjadi et al. (2017) ao produzir AgNP com extratos de *Euphorbia peplus*, apontou os flavonoides e outros polifenóis como os principais responsáveis pela redução do íon de prata (Sajjadi et al., 2017).

Figura 4.5- Espectros de absorção/extinção das tentativas de sínteses verdes de AgNPs com os extratos de *E. pulcherrima*.

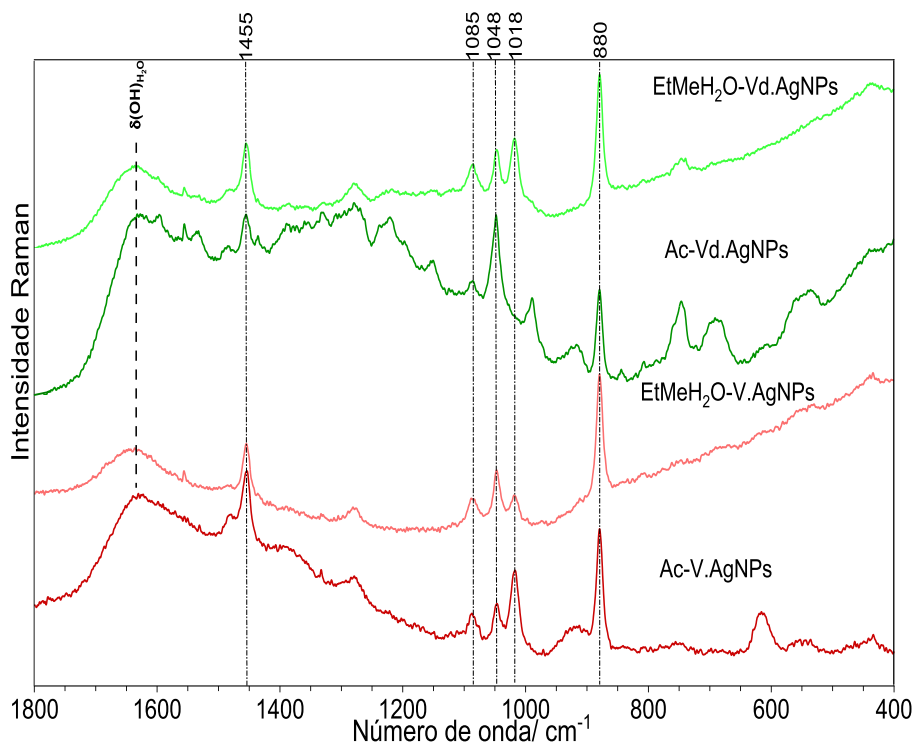


Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Na Figura 4.6 observam-se os espectros SERS das tentativas de sínteses verdes de AgNP com os extratos de *E. pulcherrima*, sem nenhuma etapa de purificação, realizados com linha de excitação em 633 nm. Pode-se notar que o perfil espectral das três sínteses que se mostraram eficiente (Ac-V, EtMeH<sub>2</sub>O-V e EtMeH<sub>2</sub>O-Vd) é semelhante, com bandas principais em 1455  $\delta$ (C-H<sub>2</sub>), 1085  $\nu$ (C-C), 1048  $\nu$ (C-C), 1018  $\nu$ (C-C) e 880  $\rho$ (C-H<sub>2</sub>)  $\text{cm}^{-1}$ , que podem ser atribuídos a presença de ácidos graxos (Beattie et al., 2004; De Gelder et al., 2007). Comparando os espectros Raman (Figura 4.3) e SERS (Figura 4.6) dos extratos, percebe-se que a intensificação das bandas atribuídas aos ácidos graxos é

favorecida frente aos compostos fenólicos e carotenoides, que são observados no Raman, evidenciando a ação desses compostos como agentes redutores. Para a síntese mais eficiente (Ac-V) verifica-se banda adicional em torno de  $616\text{ cm}^{-1}$ , sem atribuição definida. Para síntese que não se mostrou eficiente (Ac-Vd), percebe-se um perfil espectral diferente das demais, com bandas principais em  $1455\ \delta(\text{C-H}_2)$ ,  $1085\ \nu(\text{C-C})$ ,  $1048\ \nu(\text{C-C})$ ,  $990\ \rho(\text{C-H}_2)$  e  $880\ \rho(\text{C-H}_2)\text{ cm}^{-1}$ , que também são atribuídas aos ácidos graxos (Beattie et al., 2004; De Gelder et al., 2007).

Figura 4.6- Espectros SERS das tentativas de sínteses verdes de AgNPs com os extratos de *E. pulcherrima*, obtidos com linha de excitação em 633 nm.

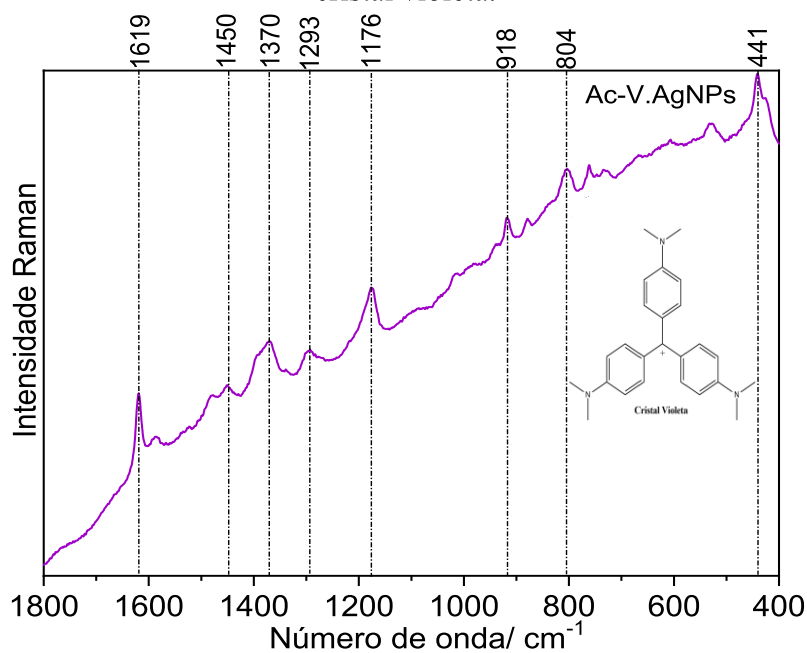


Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Com a finalidade de averiguar a aplicação da AgNP sintetizada na espectroscopia SERS, foi realizada a análise da solução de CV, corante com intensa atividade Raman e SERS reportada na literatura (Kneipp et al., 1997). Nesta análise foi utilizada somente a síntese que se mostrou mais eficiente na formação das nanopartículas de prata (Ac-V), conforme observado pela banda LSPR mais estreita e intensa (Figura 4.5). Na Figura 4.7 observa-se o espectro Raman ressonante intensificado por superfície SERRS (do inglês, *Surface-enhanced resonance Raman scattering*) característico do CV em coloides de AgNP, obtido com linha de excitação em 633 nm. Observam-se bandas principais em

1619, 1450, 1370, 1293, 1176, 918, 804 e 441  $\text{cm}^{-1}$ . A tentativa de atribuição pode ser observada na Tabela 14. Não se observa ainda a presença de nenhuma banda das moléculas provenientes da extração das brácteas, quando se compara com os espectros Raman e SERS (Figura 4.3; Figura 4.6), indicando que a síntese realizada é eficiente na intensificação do CV.

Figura 4.7- Espectro Raman ressonante intensificado por superfície SERRS do cristal violeta.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 14- Tentativa de atribuição das bandas SERRS do cristal violeta.

<b>Bandas (<math>\text{cm}^{-1}</math>)</b>	<b>Tentativa de atribuição<sup>a</sup></b>
1619	$\nu(\text{CC})_{\text{anel}}$
1450	$\nu(\text{C}_{\text{anel}}\text{N}) + \delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$
1370	$\nu_{\text{as}}(\text{C}_{\text{anel}}\text{CC}_{\text{anel}}) + \delta(\text{CC})_{\text{anel}} + \delta(\text{CH}) + \nu(\text{C}_{\text{anel}}\text{N})$
1293	$\nu_{\text{as}}(\text{C}_{\text{anel}}\text{CC}_{\text{anel}}) + \delta(\text{CC})_{\text{anel}} + \delta(\text{CH})$
1176	$\nu_{\text{as}}(\text{C}_{\text{anel}}\text{CC}_{\text{anel}}) + \delta(\text{CH})$
918	$\delta(\text{C}_{\text{anel}}\text{CC}_{\text{anel}}) + \nu(\text{CC})_{\text{anel}}$
804	$\gamma(\text{CH})_{\text{anel}}$
441	$\delta(\text{CN}) + \delta_{\text{as}}(\text{C}_{\text{anel}}\text{CC}_{\text{anel}})$

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

$\nu$ : estiramento;  $\nu_{\text{s}}$ : estiramento simétrico;  $\nu_{\text{as}}$ : estiramento assimétrico;  $\delta$ : deformação no plano;  $\delta_{\text{as}}$ : deformação assimétrica;  $\gamma$ : deformação fora do plano

Referências: a: (R. de Oliveira & Sant'Ana, 2024).



O CV é um corante sintético pertencente ao grupo dos corantes triarilmetano catiônicos, muito utilizado no tingimento de tecidos nas indústrias têxteis e na fabricação de tintas de pintura e impressão. Além de seu uso bem estabelecido como corante, também é usado na medicina veterinária como agente bacteriostático e inibidor do crescimento de fungos e parasitas na aquicultura e na alimentação de aves (Ali et al., 2016; Chowdhury et al., 2013; R. de Oliveira & Sant'Ana, 2024). (Ali et al., 2016; Chowdhury et al., 2013; R. de Oliveira & Sant'Ana, 2024). O uso do CV em sinergia a uma AgNP sintetizada por rota verde, pode ter uma aplicação biológica promissora e menos invasiva, dada a atividade biológica tanto do CV como da AgNP (R. de Oliveira & Sant'Ana, 2024; Soares et al., 2018).

Embora não se tenha verificado atividades biológicas para as AgNP sintetizadas neste trabalho, acredita-se que elas podem possuir grande potencial, visto que diversos estudos já demonstraram a bioatividade das nanopartículas de prata sintetizadas a partir dos extratos de diferentes espécies do gênero *Euphorbia*. O extrato de folhas secas de *Euphorbia hirta* foi usado para criar nanopartículas de prata, e estas demonstraram ação antibacteriana eficaz contra *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* (Elumalai et al., 2010). Em outro estudo, as nanopartículas de prata desenvolvidas a partir do extrato da planta *Euphorbia hirta* apresentaram propriedades larvicidas contra o vetor da malária *Anopheles stephensi* (Priyadarshini et al., 2012). Nanopartículas de prata feitas a partir do extrato de *Euphorbia rothiana* mostraram grande potencial antibacteriano contra *Enterococcus fecalis* Gram-positivo e também atividade larvicida contra o vetor da dengue *Aedes aegypti* (Banumathi et al., 2017). Os extratos metanólicos e aquosos de AgNP feitos utilizando *Euphorbia prostrata* apresentaram alta atividade parasitária contra *Haemaphysalis bispinosa* e *Hippobosca maculata* (Zahir & Rahuman, 2012).

Avanços na nanotecnologia são importantes pois podem gerar diversas aplicações nas mais variadas áreas, como na produção de novos medicamentos e biopesticidas, e o uso de extratos de plantas, como o da *E. pulcherrima*, podem ajudar a evitar efeitos negativos dos procedimentos tradicionais, além de criar metodologias sustentáveis (Sameena & Thoppil, 2022).

#### 4.3 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos a partir das análises por espectroscopia Raman das brácteas de *Euphorbia pulcherrima* revelaram informações sobre sua composição, sendo possível

a identificação de bandas características dos polifenóis, carotenoides e ácidos graxos, além da obtenção de informações sobre os pigmentos e suas variações de acordo com a coloração das brácteas. Nas análises *in situ*, foi possível observar que as brácteas verdes apresentam maior intensidade das bandas atribuídas aos carotenoides em comparação aos polifenóis. Para as brácteas vermelhas, rosas e amarelas, observa-se que as bandas dos polifenóis são mais intensas em comparação aos carotenoides, com a intensidade das bandas dos carotenoides sendo maior nas brácteas amarelas, seguida das vermelhas e rosas. As brácteas brancas mostram ausência das bandas características dos carotenoides. Os resultados corroboram com estudos anteriores que indicaram a diminuição dos carotenoides durante a senescência foliar e a predominância das antocianinas em brácteas coloridas. Assim como em outros estudos, os resultados sugerem que as cianidinas e pelargonidinas são as principais antocianinas encontradas nas brácteas analisadas, sendo sua concentração e combinação com outros pigmentos presentes, os fatores determinantes que causam a variação na coloração das brácteas.

As análises dos espectros eletrônicos em conjunto com os dados Raman dos extratos com diferentes solventes das brácteas verdes, vermelhas e amarelas, mostraram como as variedades possuem um perfil de pigmentos característico, que juntos são responsáveis pelas cores das brácteas. Além disso, verificou-se que composição química dos extratos influenciou na eficácia das AgNP sintetizadas. Possivelmente, a maior presença dos carotenoides e flavonoides nas brácteas vermelhas resultou em uma maior ação redutora, facilitando a formação de AgNP. Esta correlação destaca a importância de entender-se a composição química das diversas matrizes biológicas, destacando a espectroscopia Raman como uma técnica que detecta compostos bioativos mesmo em pequenas quantidades, como os carotenoides e polifenóis, para o desenvolvimento de metodologias sustentáveis e inovadoras na nanotecnologia, com potencial impacto em diversas áreas.

## 5 CONCLUSÕES GERAIS

Esta tese demonstrou, pela primeira vez, a aplicação da espectroscopia Raman para caracterizar os processos de amadurecimento de amostras de jilós, de duas variedades de banana ('prata' e 'nanica') e de diferentes famílias de pimentas (Solanaceae, Anacardiaceae e Piperaceae), frutos amplamente consumidos e compostos por diversas moléculas com atividade antioxidante. Os dados obtidos dos exocarpos de jilós e bananas imaturos e maduros revelaram que a coloração amarelada característica dos frutos maduros em cada tipo de fruta tem origem distintas, entretanto ambas as espécies são ricas em ácidos fenólicos, flavonoides e carotenoides. As diferenças na composição desses compostos entre as duas espécies foram evidenciadas através de análises dos espectros Raman e eletrônicos, indicando que uma combinação de flavonoides e carotenoides pode ser responsável pela coloração do jiló e da banana. O pigmento laranja do jiló muito maduro foi identificado como chalcona naringenina associada ao  $\beta$ -caroteno, enquanto a cor amarela das bananas maduras foi atribuída ao carotenoide luteína, conforme corroborado pelos espectros eletrônicos dos extratos brutos de ambas as variedades. Por meio da espectroscopia Raman foi possível identificar e rastrear os principais componentes sintetizados durante o processo de maturação das frutas, mostrando que o jiló apresenta um maior conteúdo de ácidos fenólicos e flavonoides em comparação com a banana.

A análise por espectroscopia Raman de pimentas da família Solanaceae também revelou diferenças no perfil químico ao longo do amadurecimento. Compostos fenólicos, carotenoides, ácidos graxos e alcaloides como a capsaicina foram identificados nos exocarpos. Durante o amadurecimento das pimentas malagueta, habanero, biquinho e karneval vermelha observou-se aumento do conteúdo de carotenoides bem como variações nos deslocamentos das bandas Raman referentes ao modo vibracional de estiramento ( $\nu_{C=C}$ ) indicando variações estruturais. As análises espectroscópicas obtidas de amostras de pimentões proveniente de cultivo convencional e orgânico nos mesmos estágios de maturação (verde e vermelho, respectivamente), mostraram perfil espectral semelhante, entretanto para ambos os tipos de cultivo, os pimentões verdes apresentaram maior intensidade das bandas atribuídas aos fenólicos quando comparado com as bandas dos carotenoides. Nos pimentões vermelhos, as bandas dos carotenoides se intensificam à medida que o pimentão amadurece (E1 para E2), enquanto nos amarelos, parece não

ocorrer mudanças perceptíveis com o amadurecimento (E1 para E2). A análise das pimentas rosa e pimenta-do-reino preta e branca indicou a ocorrência de compostos fenólicos, polifenóis, flavonoides, ácidos graxos, e ausência de carotenoides. As contribuições de cada composto para os perfis espectrais observados foram propostas a partir de cálculos de Teoria do Funcional de Densidade (DFT) que complementaram as análises experimentais.

Vale ressaltar que a utilização de frutos tanto para consumo humano quando para processos industriais gera resíduos como cascas, sementes e caules. O aproveitamento desses resíduos de baixo custo principalmente de cascas tem crescido nos últimos anos, visto que muitos dos compostos bioativos encontrados nesse material podem ser utilizados pelas indústrias alimentícia, têxtil, cosmética e farmacêutica. A pesquisa que visa a valorização de resíduos/subprodutos de origem vegetal pode impactar positivamente os setores econômico, social e ambiental.

Considerando-se a relevância das propriedades biológicas dos pigmentos, realizamos também um estudo sobre a caracterização do padrão de coloração das brácteas de *Euphorbia pulcherrima* que se inicia com a cor verde e gradativamente vai alterando para outras cores como branco, amarelo, rosa e vermelho. Os espectros Raman dos diferentes espécimes com as cores citadas anteriormente revelaram a ocorrência das mesmas classes de substâncias comuns aos frutos como polifenóis, carotenoides e ácidos graxos, embora não estejam relacionados a processo de amadurecimento. Os resultados corroboram dados da literatura que indicaram a diminuição dos carotenoides durante a senescência foliar e a predominância dos flavonoides em brácteas coloridas. O potencial redutor e estabilizante de nanopartículas de prata (AgNPs) conferido aos polifenóis foi confirmado através dos resultados obtidos com extrato brutos das brácteas vermelhas.

Em resumo, esta tese evidenciou a eficácia da espectroscopia Raman na caracterização de pigmentos vegetais, destacando sua capacidade para identificar e rastrear componentes químicos em diferentes espécies e estágios de maturação. Os resultados obtidos não apenas contribuem para o entendimento dos perfis metabólicos das espécies estudadas, mas também mostraram o potencial da técnica na identificação molecular *in situ* de subprodutos agroalimentares. A espectroscopia Raman combinada com a espectroscopia Raman Intensificada por Superfície podem ser técnicas de escolha na caracterização de nanopartículas sintetizadas a partir de extratos de plantas, portanto, contribuindo para o desenvolvimento de metodologias sustentáveis aplicáveis a ensaios biológicos e síntese verde.

## REFERÊNCIAS

- Adefegha, S. A., Oboh, G., & Oluokun, O. O. (2022). *Food bioactives: the food image behind the curtain of health promotion and prevention against several degenerative diseases* (pp. 391–421). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823944-5.00012-0>
- Aguessy, S., Idossou, R., Dassou, A. G., Yêyinou Laura Estelle, L., Yelome, O. I., Gbaguidi, A. A., Agre, P. A., Dansi, A., & Agbangla, C. (2021). Ethnobotanical characterization of scarlet eggplant (*Solanum aethiopicum* L.) varieties cultivated in Benin (West Africa). *Journal of Agriculture and Food Research*, 5. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100173>
- Aguilar-Hernández, I., Afseth, N. K., López-Luke, T., Contreras-Torres, F. F., Wold, J. P., & Ornelas-Soto, N. (2017). Surface enhanced Raman spectroscopy of phenolic antioxidants: A systematic evaluation of ferulic acid, p -coumaric acid, caffeic acid and sinapic acid. *Vibrational Spectroscopy*, 89, 113–122. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2017.02.002>
- Al-Khayri, J. M., Upadhya, V., Pai, S. R., Naik, P. M., Al-Mssallem, M. Q., & Alessa, F. M. (2022). Comparative Quantification of the Phenolic Compounds, Piperine Content, and Total Polyphenols along with the Antioxidant Activities in the Piper trichostachyon and *P. nigrum*. *Molecules*, 27(18), 5965. <https://doi.org/10.3390/molecules27185965>
- Ali, H. M., Shehata, S. F., & Ramadan, K. M. A. (2016). Microbial decolorization and degradation of crystal violet dye by *Aspergillus niger*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13(12), 2917–2926. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1117-x>
- Aljohani, A. S. M., Alhumaydhi, F. A., Rauf, A., Hamad, E. M., & Rashid, U. (2022). In Vivo Anti-Inflammatory, Analgesic, Sedative, Muscle Relaxant Activities and Molecular Docking Analysis of Phytochemicals from *Euphorbia pulcherrima*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/7495867>
- Almatroudi, A. (2020). Silver nanoparticles: synthesis, characterisation and biomedical applications. *Open Life Sciences*, 15(1), 819–839. <https://doi.org/10.1515/biol-2020-0094>
- Ando, R. A. (2005). *Espectroscopia Vibracional, Raman Ressonante e Eletrônica de Nitroderivados em Sistemas Conjugados*. 144.
- Ando, R. A. (2009). *Interações de SO<sub>2</sub> com espécies iônicas e moleculares: espectroscopia Raman e cálculos teóricos*. Universidade de São Paulo.
- Anosike, C. A., Obidoa, O., & Ezeanyika, L. U. (2012). Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of methanol extract of garden egg (*Solanum aethiopicum*). *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(1), 76. <https://doi.org/10.1186/2008-2231-20-76>
- Antoniali, S., Leal, P. A. M., Magalhães, A. M. de, & Sanches, J. (2012). Resfriamento rápido de pimentão amarelo com ar forçado. *Ciência Rural*, 42(6), 1110–1116. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012005000030>
- Aquino, C. F., Salomão, L. C. C., Pinheiro-Sant'ana, H. M., Ribeiro, S. M. R., De Siqueira, D. L., & Cecon, P. R. (2018). Carotenoids in the pulp and peel of bananas from 15 cultivars in two ripening stages. *Revista Ceres*, 65(3), 217–226. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201865030001>
- Ashokkumar, K., Murugan, M., Dhanya, M. K., Pandian, A., & Warkentin, T. D. (2021). Phytochemistry and therapeutic potential of black pepper [*Piper nigrum* (L.)]

- essential oil and piperine: a review. *Clinical Phytoscience*, 7(1).  
<https://doi.org/10.1186/s40816-021-00292-2>
- Ashokkumar, K., Pandian, A., Murugan, M., Dhanya, M. K., Sathyan, T., Sivakumar, P., Raj, S., & Warkentin, T. D. (2020). Profiling bioactive flavonoids and carotenoids in select south Indian spices and nuts. *Natural Product Research*, 34(9), 1306–1310.  
<https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1557179>
- Ayala-Arreola, J., Castillo-González, A. M., Valdez-Aguilar, L. A., Colinas-León, M. T., Pineda-Pineda, J., & Avitia-García, E. (2008). EFFECT OF CALCIUM, BORON AND MOLYBDENUM ON PLANT GROWTH AND BRACT PIGMENTATION IN POINSETTIA. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31(2), 165.  
<https://doi.org/10.35196/rfm.2008.2.165>
- Ballester, A.-R., Molthoff, J., de Vos, R., Hekkert, B. te L., Orzaez, D., Fernández-Moreno, J.-P., Tripodi, P., Grandillo, S., Martin, C., Heldens, J., Ykema, M., Granell, A., & Bovy, A. (2009). Biochemical and Molecular Analysis of Pink Tomatoes: Deregulated Expression of the Gene Encoding Transcription Factor SIMYB12 Leads to Pink Tomato Fruit Color. *Plant Physiology*, 152(1), 71–84.  
<https://doi.org/10.1104/pp.109.147322>
- Banumathi, B., Vaseeharan, B., Chinnasamy, T., Vijayakumar, S., Govindarajan, M., Alharbi, N. S., Kadaikunnan, S., Khaled, J. M., & Benelli, G. (2017). Euphorbia rothiana-Fabricated Ag Nanoparticles Showed High Toxicity on Aedes aegypti Larvae and Growth Inhibition on Microbial Pathogens: A Focus on Morphological Changes in Mosquitoes and Antibiofilm Potential Against Bacteria. *Journal of Cluster Science*, 28(5), 2857–2872. <https://doi.org/10.1007/s10876-017-1263-4>
- Baranski, R., Baranska, M., & Schulz, H. (2005). Changes in carotenoid content and distribution in living plant tissue can be observed and mapped in situ using NIR-FT-Raman spectroscopy. *Planta*, 222(3), 448–457. <https://doi.org/10.1007/s00425-005-1566-9>
- Beattie, J. R., Bell, S. E. J., & Moss, B. W. (2004). A critical evaluation of Raman spectroscopy for the analysis of lipids: Fatty acid methyl esters. *Lipids*, 39(5), 407–419.  
<https://doi.org/10.1007/s11745-004-1245-z>
- Ben-Othman, S., Jöudu, I., & Bhat, R. (2020). Bioactives from Agri-Food Wastes: Present Insights and Future Challenges. *Molecules*, 25(3), 510.  
<https://doi.org/10.3390/molecules25030510>
- Benjamaa, R., Moujanni, A., Kaushik, N., Choi, E. H., Essamadi, A. K., & Kaushik, N. K. (2022). Euphorbia species latex: A comprehensive review on phytochemistry and biological activities. *Frontiers in Plant Science*, 13(October), 1–24.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1008881>
- Bié, J., Sepodes, B., Fernandes, P. C. B., & Ribeiro, M. H. L. (2023). Polyphenols in Health and Disease: Gut Microbiota, Bioaccessibility, and Bioavailability. *Compounds*, 3(1), 40–72. <https://doi.org/10.3390/compounds3010005>
- BRASIL. (2014). *Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Monografia da Espécie Schinus terebinthifolius Raddi (Aroeira-da-praia)*. 5, 68.
- Campos, M. T. C., Maia, L. F., Dos Santos, H. F., Edwards, H. G. M., & de Oliveira, L. F. C. (2022). Revealing the chemical synergism in coloring tomatoes by Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*. <https://doi.org/10.1002/jrs.6471>
- Carneiro, T. S. (2022). *COMPOSTOS FENÓLICOS EM CASCAS, SEMENTES E ÓLEO DA PIMENTA ROSA OBTIDO POR PRENSAGEM A FRIO: ESTUDO DA BIOACESSIBILIDADE DA CASCA* [Universidade Federal do Sergipe].  
[https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/16216/2/TUANIA\\_SOARES\\_CARNEIRO.pdf](https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/16216/2/TUANIA_SOARES_CARNEIRO.pdf)
- Castro, L. V. D. E. (2015). *ESTUDO DE LESÃO DE CÁRIE EXPERIMENTAL VIA*

*ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA E RAMAN.*

- Cazzonelli, C. I., & Pogson, B. J. (2010). Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science*, *15*(5), 266–274. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.02.003>
- Chinedu, S. N., Olasumbo, A. C., Eboji, O. K., Emiloju, O. C., Olajumoke, K., & Dania, D. I. (2011). Proximate and Phytochemical Analyses of *Solanum aethiopicum* L. and *Solanum macrocarpon* L. Fruits. *Research Journal of Chemical Sciences*, *1*(3), 63–71.
- Chowdhury, S., Chakraborty, S., & Saha, P. Das. (2013). Removal of Crystal Violet from Aqueous Solution by Adsorption onto Eggshells: Equilibrium, Kinetics, Thermodynamics and Artificial Neural Network Modeling. *Waste and Biomass Valorization*, *4*(3), 655–664. <https://doi.org/10.1007/s12649-012-9139-1>
- Çınar, M., Alım, B., Alım, Z., & Şakar, E. (2023). Determination of the molecular structure and spectroscopic properties of capsaicin. *Radiation Physics and Chemistry*, *208*, 110879. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2023.110879>
- Clark, R. J. H., & Dines, T. J. (1986). Resonance Raman Spectroscopy, and Its Application to Inorganic Chemistry. *Angewandte Chemie International Edition in English*, *25*(2), 131–158. <https://doi.org/10.1002/anie.198601311>
- Collier, W. B., Magdó, I., & Klots, T. D. (1999). Infrared and Raman spectra of bicyclic molecules using scaled noncorrelated and correlated ab initio force fields. *The Journal of Chemical Physics*, *110*(12), 5710–5720. <https://doi.org/10.1063/1.478469>
- Crupi, P., Faienza, M. F., Naeem, M. Y., Corbo, F., Clodoveo, M. L., & Muraglia, M. (2023). Overview of the Potential Beneficial Effects of Carotenoids on Consumer Health and Well-Being. *Antioxidants*, *12*(5), 1069. <https://doi.org/10.3390/antiox12051069>
- Dai, Y., Liu, S., Xu, J., Zhao, C., & Gu, Q. (2019). Triterpenoids from *Euphorbia pulcherrima* with inhibitory effects on osteoclastogenesis. *Fitoterapia*, *134*(February), 355–361. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.02.028>
- Danton, O., Alexander, L., Hunlun, C., de Beer, D., Hamburger, M., & Joubert, E. (2018). Bitter Taste Impact and Thermal Conversion of a Naringenin Glycoside from *Cyclopia genistoides*. *Journal of Natural Products*, *81*(12), 2743–2749. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00710>
- De Gelder, J., De Gussem, K., Vandenaabeele, P., & Moens, L. (2007). Reference database of Raman spectra of biological molecules. *Journal of Raman Spectroscopy*, *38*(9), 1133–1147. <https://doi.org/10.1002/jrs.1734>
- de Oliveira, L. F. C. (1991). *Estudo espectroscópico de compostos poli carbonílicos e de suas espécies de coordenação*. Universidade de São Paulo.
- de Oliveira, R., & Sant’Ana, A. C. (2023). Featured Properties of the Adsorption of Tebuconazole on Ag Surface Characterized through SERS Spectroscopy. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20230042>
- de Oliveira, R., & Sant’Ana, A. C. (2024). Crystal violet degradation by visible light-driven AgNP/TiO<sub>2</sub> hybrid photocatalyst tracked by SERRS spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, *133*, 103694. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2024.103694>
- de Oliveira, V. E., Castro, H. V., Edwards, H. G. M., & de Oliveira, L. F. C. (2009). Carotenes and carotenoids in natural biological samples: a Raman spectroscopic analysis. *Journal of Raman Spectroscopy*, *41*(6), 642–650. <https://doi.org/10.1002/jrs.2493>
- de Oliveira, V. S., Cháves, D. W. H., Gamallo, O. D., Sawaya, A. C. H. F., Sampaio, G. R., Castro, R. N., Torres, E. A. F. da S., & Saldanha, T. (2020). Effect of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) fruit against polyunsaturated fatty acids and cholesterol

- thermo-oxidation in model systems containing sardine oil (*Sardinella brasiliensis*). *Food Research International*, 132, 109091. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109091>
- Degáspari, C. H., Waszczynskyj, N., & Prado, M. R. M. (2005). Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Ciência e Agrotecnologia*, 29(3), 617–622. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000300016>
- Di Lorenzo, C., Colombo, F., Biella, S., Stockley, C., & Restani, P. (2021). Polyphenols and Human Health: The Role of Bioavailability. *Nutrients*, 13(1), 273. <https://doi.org/10.3390/nu13010273>
- Dorta, E., & Lobo, G. (2022). Recovery of Wasted Vegetables and Fruits for Food Additives. In R. C. Ray (Ed.), *Fruits and Vegetable Wastes* (pp. 33–60). Springer Nature Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-9527-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-16-9527-8_2)
- dos Reis, L. C. R., Facco, E. M. P., Salvador, M., Flôres, S. H., & de Oliveira Rios, A. (2018). Antioxidant potential and physicochemical characterization of yellow, purple and orange passion fruit. *Journal of Food Science and Technology*, 55(7), 2679–2691. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3190-2>
- dos Santos da Rocha, P., de Araújo Boleti, A. P., do Carmo Vieira, M., Carollo, C. A., da Silva, D. B., Estevinho, L. M., dos Santos, E. L., & de Picoli Souza, K. (2019). Microbiological quality, chemical profile as well as antioxidant and antidiabetic activities of *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 220, 36–46. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.02.007>
- dos Santos Júnior, H. M., Oliveira, D. F., de Carvalho, D. A., Pinto, J. M. A., Campos, V. A. C., Mourão, A. R. B., Pessoa, C., de Moraes, M. O., & Costa-Lotufo, L. V. (2010). Evaluation of native and exotic Brazilian plants for anticancer activity. *Journal of Natural Medicines*, 64(2), 231–238. <https://doi.org/10.1007/s11418-010-0390-0>
- Dosoky, N. S., Satyal, P., Barata, L. M., Da Silva, J. K. R., & Setzer, W. N. (2019). Volatiles of black pepper fruits (*Piper nigrum* L.). *Molecules*, 24(23), 1–13. <https://doi.org/10.3390/molecules24234244>
- Ekalu, A., & Habila, J. D. (2020). Flavonoids: isolation, characterization, and health benefits. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 9(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s43088-020-00065-9>
- Eletta, O. A. A., Orimolade, B. O., Oluwaniyi, O. O., & Dosumu, O. O. (2017). Evaluation of proximate and antioxidant activities of Ethiopian eggplant (*Solanum aethiopicum* L) and Gboma Eggplant (*Solanum macrocarpon* L). *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 21(5), 967. <https://doi.org/10.4314/jasem.v21i5.25>
- Elumalai, E. K., Prasad, T. N. V. K. V., Hemachandran, J., Viviyan Therasa, S., Thirumalai, T., & David, E. (2010). Extracellular synthesis of silver nanoparticles using leaves of *Euphorbia hirta* and their antibacterial activities. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(9), 549–554.
- Falcone Ferreyra, M. L., Rius, S. P., & Casati, P. (2012). Flavonoids: Biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science*, 3(SEP), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00222>
- Fan, M., Andrade, G. F. S., & Brolo, A. G. (2020). A review on recent advances in the applications of surface-enhanced Raman scattering in analytical chemistry. *Analytica Chimica Acta*, 1097, 1–29. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.11.049>
- Fan, R., Qin, X. W., Hu, R. S., Hu, L. S., Wu, B. D., & Hao, C. Y. (2020). Studies on the chemical and flavour qualities of white pepper (*Piper nigrum* L.) derived from grafted and non-grafted plants. *European Food Research and Technology*, 246(12), 2601–2610. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03600-1>



- Faraone, I., Lela, L., Ponticelli, M., Gorgoglione, D., De Biasio, F., Valentão, P., Andrade, P. B., Vassallo, A., Caddeo, C., Falabella, R., Ostuni, A., & Milella, L. (2022). New Insight on the Bioactivity of *Solanum aethiopicum* Linn. Growing in Basilicata Region (Italy): Phytochemical Characterization, Liposomal Incorporation, and Antioxidant Effects. *Pharmaceutics*, *14*(6).  
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061168>
- Frisch, M. J. ., Trucks, G. W. ., Schlegel, H. B. ., Scuseria, G. E. ., Robb, M. A. ., Cheeseman, J. R. ., Scalmani, G. ., Barone, V. ., Mennucci, B. ., Petersson, G. A. ., Nakatsuji, H. ., Caricato, M.; LI, X. ., Hratchian, H. P. ., Izmaylov, A. F. ., Bloino, J. ., Zheng, G. ., & Sonnenb, D. J. (2009). *Gaussian 09*. Gaussian Inc.
- Fu, X., Cheng, S., Liao, Y., Huang, B., Du, B., Zeng, W., Jiang, Y., Duan, X., & Yang, Z. (2018). Comparative analysis of pigments in red and yellow banana fruit. *Food Chemistry*, *239*, 1009–1018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.046>
- Gan, R.-Y., Chan, C.-L., Yang, Q.-Q., Li, H.-B., Zhang, D., Ge, Y.-Y., Gunaratne, A., Ge, J., & Corke, H. (2019). Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains. In *Sprouted Grains* (pp. 191–246). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811525-1.00009-9>
- Ghasemnezhad, M., Sherafati, M., & Payvast, G. A. (2011). Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *Journal of Functional Foods*, *3*(1), 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.02.002>
- Gomes, G. P., Constantino, L. V., Corte, L. E.-D., Riger, C. J., Chaves, D. S. de A., & Gonçalves, L. S. (2019). Characterization of biochemical compounds and antioxidant activity of “dedo-de-moça” chili pepper accessions. *Horticultura Brasileira*, *37*(4), 429–436. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620190411>
- Gomes, L. J., Silva-Mann, R., Mattos, P. P. de, & Rabbani, A. R. C. (2013). Pensando a biodiversidade: aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi.). In *Pensando a biodiversidade: aroeira (Schinus terebinthifolius Raddi.)*. <https://doi.org/10.7198/8-857822-349-6-01>
- Gómez-García, M., & Ochoa-Alejo, N. (2013). Biochemistry and Molecular Biology of Carotenoid Biosynthesis in Chili Peppers (*Capsicum* spp.). *International Journal of Molecular Sciences*, *14*(9), 19025–19053. <https://doi.org/10.3390/ijms140919025>
- González-García, K. E., Soto-Hernández, R. M., Colinas-León, M. T. B., García-Mateos, M. D. R., Garín-Aguilar, M. E., & Guerra-Ramírez, D. (2022). Polifenoles en cinco variedades de *Euphorbia pulcherrima* nativas de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *13*(3), 433–442. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i3.2831>
- González Moreno, A., Prieto, P., Ruiz Delgado, M. C., Domínguez, E., Heredia, A., & De Cózar, A. (2021). Structure, isomerization and dimerization processes of naringenin flavonoids. *Physical Chemistry Chemical Physics*, *23*(33), 18068–18077. <https://doi.org/10.1039/d1cp01161h>
- Gonzali, S., & Perata, P. (2021). Fruit Colour and Novel Mechanisms of Genetic Regulation of Pigment Production in Tomato Fruits. *Horticulturae*, *7*(8), 259. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7080259>
- H. Al Mamari, H. (2022). *Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.98958>
- Hajizadeh-Sharafabad, F., Zahabi, E. S., Malekahmadi, M., Zarrin, R., & Alizadeh, M. (2022). Carotenoids supplementation and inflammation: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *62*(29), 8161–8177. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1925870>
- Hallmann, E., & Rembial kowska, E. (2012). Characterisation of antioxidant

- compounds in sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under organic and conventional growing systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(12), 2409–2415. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5624>
- Han, M., Opoku, K. N., Bissah, N. A. B., & Su, T. (2021). Solanum aethiopicum: The Nutrient-Rich Vegetable Crop with Great Economic, Genetic Biodiversity and Pharmaceutical Potential. *Horticulturae*, 7(6), 126. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7060126>
- Heringer, A. P. (2009). *ASPECTOS QUÍMICOS, ECOLÓGICOS E FARMACOLÓGICOS DE Schinus terebinthifolius Raddi* [UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO]. <https://livros01.livrosgratis.com.br/cp087952.pdf>
- Hernández-Ortega, M., Ortiz-Moreno, A., Hernández-Navarro, M. D., Chamorro-Cevallos, G., Dorantes-Alvarez, L., & Necochea-Mondragón, H. (2012). Antioxidant, Antinociceptive, and Anti-Inflammatory Effects of Carotenoids Extracted from Dried Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2012/524019>
- Hu, W., Guan, Y., Ji, Y., & Yang, X. (2021). Effect of cutting styles on quality, antioxidant activity, membrane lipid peroxidation, and browning in fresh-cut potatoes. *Food Bioscience*, 44, 101435. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101435>
- Hussain, H., Mamadalieva, N. Z., Hussain, A., Hassan, U., Rabnawaz, A., Ahmed, I., & Green, I. R. (2022). Fruit Peels: Food Waste as a Valuable Source of Bioactive Natural Products for Drug Discovery. *Current Issues in Molecular Biology*, 44(5), 1960–1994. <https://doi.org/10.3390/cimb44050134>
- Ibiyinka, O., Akinwumi Oluwafemi, A., Adebayo O, O., & Olugbenga Kayode, P. (2021). Comparative study of chemical composition and evaluation of the In-Vitro antioxidant capacity of unripe and ripe banana species (*Musa Sapientum*) biowastes. *International Journal of Agricultural Science and Food Technology*, 061–066. <https://doi.org/10.17352/2455-815X.000089>
- IUPAC. (1965). *IUPAC Nomenclature of Organic Chemistry* (W. H. Favre, H. A.; Powell (Ed.)). Pure Appl. Chem.
- Jamróz, M. H. (2013). Vibrational Energy Distribution Analysis (VEDA): Scopes and limitations. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 114, 220–230. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.05.096>
- K. Jash, S. (2023). Chemistry and Role of Flavonoids in Agriculture: A Recent Update. In *Flavonoid Metabolism - Recent Advances and Applications in Crop Breeding* (pp. 1–26). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.106571>
- Kennedy, J. F. (1962). *John F. Kennedy: Containing the Public Messages, Speeches, and Statements of the President, de United States President (1961-1963 : Kennedy)*. United States Office of the Federal Register.
- Kevers, C., Falkowski, M., Tabart, J., Defraigne, J. O., Dommès, J., & Pincemail, J. (2007). Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8596–8603. <https://doi.org/10.1021/jf071736j>
- Khawas, P., & Deka, S. C. (2016). Comparative Nutritional, Functional, Morphological, and Diffractogram Study on Culinary Banana (*Musa ABB*) Peel at Various Stages of Development. *International Journal of Food Properties*, 19(12), 2832–2853. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1141296>
- Kim, M. J., Kim, D. W., Kim, J. G., Shin, Y., Jung, S. K., & Kim, Y.-J. (2021). Analysis of the Chemical, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Properties of Pink Pepper (*Schinus molle* L.). *Antioxidants*, 10(7), 1062. <https://doi.org/10.3390/antiox10071062>

- Kist, B. B., Santos, C. E. dos, Carvalho, C. de, & Beling, R. R. (2019). Anuário Brasileiro de Horti e Fruti 2019. *Editora Gazeta Santa Cruz*, 96.  
[http://www.abcsem.com.br/upload/arquivos/HortiFruti\\_2019\\_DUPLA.pdf](http://www.abcsem.com.br/upload/arquivos/HortiFruti_2019_DUPLA.pdf)
- Kneipp, K., Wang, Y., Kneipp, H., Perelman, L. T., Itzkan, I., Dasari, R. R., & Feld, M. S. (1997). Single Molecule Detection Using Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS). *Physical Review Letters*, 78(9), 1667–1670.  
<https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.78.1667>
- Kolašinac, S., Pećinar, I., Danojević, D., Ačić, S., & Stevanović, Z. D. (2021). Raman spectroscopic-based chemometric modeling in assessment of red pepper ripening phases and carotenoids accumulation. *Journal of Raman Spectroscopy*, 52(9), 1598–1605.  
<https://doi.org/10.1002/jrs.6197>
- Koleva Gudeva, L., Mitrev, S., Maksimova, V., & Spasov, D. (2013). Content of capsaicin extracted from hot pepper (*Capsicum annuum* ssp. *microcarpum* L.) and its use as an ecopesticide. *Hemijaska Industrija*, 67(4), 671–675.  
<https://doi.org/10.2298/HEMIND120921110K>
- Kowalski, R., & Kowalska, G. (2005). Phenolic acid contents in fruits of aubergine (*Solanum melongena* L.). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 14(1), 37–42.
- Koyama, Y., Kanaji, M., & Shimamura, T. (1988). CONFIGURATIONS OF NEUROSPORINE ISOMERS ISOLATED FROM THE REACTION CENTER AND THE LIGHT-HARVESTING COMPLEX OF *Rhodobacter spheroides* G1C. A RESONANCE RAMAN, ELECTRONIC ABSORPTION, AND <sup>1</sup>H-NMR STUDY. *Photochemistry and Photobiology*, 48(1), 107–114. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1988.tb02794.x>
- Koyama, Y., Takatsuka, I., Nakata, M., & Tasumi, M. (1988). Raman and Infrared Spectra of the All-trans, 7-&, 9&, 134s and 154s Isomers of p-Carotene: Key Bands Distinguishing Stretched or Terminal-Bent Configurations from Central-Bent Configurations. *Journal of Raman Spectroscopy*, 19(January 1987), 37–49.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jrs.1250190107>
- Krysa, M., Szymańska-Chargot, M., & Zdunek, A. (2022). FT-IR and FT-Raman fingerprints of flavonoids – A review. *Food Chemistry*, 393(February).  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133430>
- Kumar, A., P, N., Kumar, M., Jose, A., Tomer, V., Oz, E., Proestos, C., Zeng, M., Elobeid, T., K, S., & Oz, F. (2023). Major Phytochemicals: Recent Advances in Health Benefits and Extraction Method. *Molecules*, 28(2), 887.  
<https://doi.org/10.3390/molecules28020887>
- Kumar, H., Bhardwaj, K., Sharma, R., Nepovimova, E., Kuča, K., Dhanjal, D. S., Verma, R., Bhardwaj, P., Sharma, S., & Kumar, D. (2020). Fruit and Vegetable Peels: Utilization of High Value Horticultural Waste in Novel Industrial Applications. *Molecules*, 25(12), 2812. <https://doi.org/10.3390/molecules25122812>
- Kumar, R., Vijayalakshmi, S., & Nadasabapathi, S. (2017). Health Benefits of Quercetin. *Defence Life Science Journal*, 2(2), 142.  
<https://doi.org/10.14429/dlsj.2.11359>
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 1–16.  
<https://doi.org/10.1155/2013/162750>
- Langer, J., de Aberasturi, D. J., Aizpurua, J., Alvarez-Puebla, R. A., Auguie, B., Baumberg, J. J., Bazan, G. C., Bell, S. E. J., Boisen, A., Brolo, A. G., Choo, J., Cialla-May, D., Deckert, V., Fabris, L., Faulds, K., Javier García de Abajo, F., Goodacre, R., Graham, D., Haes, A. J., ... Liz-Marzán, L. M. (2020). Present and future of surface-enhanced Raman scattering. *ACS Nano*, 14(1), 28–117.

<https://doi.org/10.1021/acsnano.9b04224>

Legner, R., Voigt, M., Servatius, C., Klein, J., Hambitzer, A., & Jaeger, M. (2021). A four-level maturity index for hot peppers (*Capsicum annum*) using non-invasive automated mobile raman spectroscopy for on-site testing. *Applied Sciences (Switzerland)*, *11*(4), 1–13. <https://doi.org/10.3390/app11041614>

Li, N., Wu, X., Zhuang, W., Xia, L., Chen, Y., Wu, C., Rao, Z., Du, L., Zhao, R., Yi, M., Wan, Q., & Zhou, Y. (2021). Tomato and lycopene and multiple health outcomes: Umbrella review. *Food Chemistry*, *343*, 128396.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128396>

Li, Y., Zhang, C., Pan, S., Chen, L., Liu, M., Yang, K., Zeng, X., & Tian, J. (2020). Analysis of chemical components and biological activities of essential oils from black and white pepper (*Piper nigrum* L.) in five provinces of southern China. *LWT*, *117*, 108644. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108644>

Liu, H., Zheng, J., Liu, P., & Zeng, F. (2018). Pulverizing processes affect the chemical quality and thermal property of black, white, and green pepper (*Piper nigrum* L.). *Journal of Food Science and Technology*, *55*(6), 2130–2142.

<https://doi.org/10.1007/s13197-018-3128-8>

Lorenzi, H. (1998). *Arvores Brasileiras. Manual de Identificcion y Cultivo de plantas Arvoreas Nativas del Brasil*.

Lozoya-Gloria, E., Cuéllar-González, F., & Ochoa-Alejo, N. (2023). Anthocyanin metabolic engineering of *Euphorbia pulcherrima*: advances and perspectives. *Frontiers in Plant Science*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1176701>

Lu, X., Rycenga, M., Skrabalak, S. E., Wiley, B., & Xia, Y. (2009). Chemical Synthesis of Novel Plasmonic Nanoparticles. *Annual Review of Physical Chemistry*, *60*(1), 167–192. <https://doi.org/10.1146/annurev.physchem.040808.090434>

M'rabet, Y., Rokbeni, N., Cluzet, S., Boulila, A., Richard, T., Krisa, S., Marzouki, L., Casabianca, H., & Hosni, K. (2017). Profiling of phenolic compounds and antioxidant activity of *Melia azedarach* L. leaves and fruits at two stages of maturity. *Industrial Crops and Products*, *107*, 232–243. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.048>

MACEDO, N. B. (2018). *PIMENTA ROSA (Schinus terebinthifolius Raddi): COMPOSTOS PRESENTES NOS FRUTOS E SUAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIA* [UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE].

[https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/10019/2/NAYARA\\_BISPO\\_MACEDO.pdf](https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/10019/2/NAYARA_BISPO_MACEDO.pdf)

Machado, N. F. L., Batista de Carvalho, L. A. E., Otero, J. C., & Marques, M. P. M. (2013). A conformational study of hydroxyflavones by vibrational spectroscopy coupled to DFT calculations. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *109*, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.01.038>

Maduwanthi, S. D. T., & Marapana, R. A. U. J. (2021). Comparison of pigments and some physicochemical properties of banana as affected by ethephon and acetylene induced ripening. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *33*(April), 101997. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101997>

Mahomoodally, M. F., Dall'Acqua, S., Sinan, K. I., Sut, S., Ferrarese, I., Etienne, O. K., Sadeer, N. B., Ak, G., & Zengin, G. (2020). Phenolic compounds analysis of three *Euphorbia* species by LC-DAD-MSn and their biological properties. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *189*, 113477.

<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113477>

Maia, L. F.; Oliveira, V. E. de; Oliveira, L. F. C. (2017). Espectroscopia Raman de políenos conjugados. In *Química de substâncias bioativas: obtenção e análise*. (pp. 269–287). UFJF.

Maia, L. F., De Oliveira, V. E., Edwards, H. G. M., & De Oliveira, L. F. C. (2021). The

- Diversity of Linear Conjugated Polyenes and Colours in Nature: Raman Spectroscopy as a Diagnostic Tool. *ChemPhysChem*, 22(3), 231–249.  
<https://doi.org/10.1002/cphc.202000818>
- Martin, C., Bruneel, J.-L., Castet, F., Fritsch, A., Teissedre, P.-L., Jourdes, M., & Guillaume, F. (2017). Spectroscopic and theoretical investigations of phenolic acids in white wines. *Food Chemistry*, 221, 568–575.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.137>
- Martin, C., & Li, J. (2017). Medicine is not health care, food is health care: plant metabolic engineering, diet and human health. *New Phytologist*, 216(3), 699–719.  
<https://doi.org/10.1111/nph.14730>
- Martini, W., Porto, B., de Oliveira, M., & Sant’Ana, A. (2017). Comparative Study of the Lipid Profiles of Oils from Kernels of Peanut, Babassu, Coconut, Castor and Grape by GC-FID and Raman Spectroscopy. *Journal of the Brazilian Chemical Society*.  
<https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170152>
- Matti Linnanto, J. (2022). Electronic Structure of Chlorophyll Monomers and Oligomers. *Chlorophylls*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.104089>
- McLean, A. D., & Chandler, G. S. (1980). Contracted Gaussian basis sets for molecular calculations. I. Second row atoms,  $Z = 11–18$ . *The Journal of Chemical Physics*, 72(10), 5639–5648. <https://doi.org/10.1063/1.438980>
- Meghwal, Murlidhar; Goswami, T. (2012). Chemical composition, nutritional, medicinal and functional properties of black pepper. *Open Access Scientific Reports*, 1(2), 1–7.  
<https://doi.org/10.4172/scientificreports.1>
- Mendes, T. D. C. (2013). *CRESCIMENTO E FISIOLOGIA DO AMADURECIMENTO EM FRUTOS DE JILÓ (Solanum gilo)*.
- Mesquita, S. D. S., Teixeira, C. M. L. L., & Servulo, E. F. C. (2017). Carotenoids: Properties, applications and market | Carotenoides: Propriedades, aplicações e mercado. *Revista Virtual de Química*, 9(2), 672–688.  
<http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/MesquitaNoPrelo.pdf>
- Miamoto, J. de B. M., Aazza, S., Ruas, N. R., Carvalho, A. A. de, Pinto, J. E. B. P., Resende, L. V., & Bertolucci, S. K. V. (2020). Optimization of the extraction of polyphenols and antioxidant capacities from two types of *Solanum gilo* Raddi using response surface methodology. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 16(December 2019), 100238. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2019.100238>
- Mierziak, J., Kostyn, K., & Kulma, A. (2014). Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment. *Molecules*, 19(10), 16240–16265.  
<https://doi.org/10.3390/molecules191016240>
- Milani, A., Basirnejad, M., Shahbazi, S., & Bolhassani, A. (2017). Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment. *British Journal of Pharmacology*, 174(11), 1290–1324. <https://doi.org/10.1111/bph.13625>
- Milenković, A., & Stanojević, L. (2021). Black pepper: Chemical composition and biological activities. *Advanced Technologies*, 10(2), 40–50.  
<https://doi.org/10.5937/savteh2102040m>
- Mohd Zaini, H., Roslan, J., Saallah, S., Munsu, E., Sulaiman, N. S., & Pindi, W. (2022). Banana peels as a bioactive ingredient and its potential application in the food industry. *Journal of Functional Foods*, 92(March), 105054.  
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105054>
- Mortensen, A., Skibsted, L. H., & Truscott, T. G. (2001). The Interaction of Dietary Carotenoids with Radical Species. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 385(1), 13–19. <https://doi.org/10.1006/abbi.2000.2172>
- Moskovits, M. (2005). Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective.

- Journal of Raman Spectroscopy*, 36(6–7), 485–496. <https://doi.org/10.1002/jrs.1362>
- Moustaka, J., Tanou, G., Giannakoula, A., Adamakis, I.-D. S., Panteris, E., Eleftheriou, E. P., & Moustakas, M. (2020). Anthocyanin accumulation in poinsettia leaves and its functional role in photo-oxidative stress. *Environmental and Experimental Botany*, 175, 104065. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104065>
- Msogoya, T. J., Majubwa, R. O., & Maerere, A. P. (2014). Effects of harvesting stages on yield and nutritional quality of African eggplant (*Solanum aethiopicum* L.) fruits. *Journal of Applied Biosciences*, 78, 6590. <https://doi.org/10.4314/jab.v78i0.1>
- Muliasari, H., Sopiah, B., Yuanita, E., & Ningsih, B. N. S. (2023). Free-Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Compounds of Red and Green Poinsettia Leaves (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) from Lombok Island. *Makara Journal of Science*, 27(4). <https://doi.org/10.7454/mss.v27i4.1349>
- Mutalib, M. A., Ali, F., Othman, F., Ramasamy, R., & Rahmat, A. (2016). Phenolics profile and anti-proliferative activity of *Cyphomandra Betacea* fruit in breast and liver cancer cells. *SpringerPlus*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40064-016-3777-x>
- Mwamatope, B., Tembo, D., Chikowe, I., Kampira, E., & Nyirenda, C. (2020). Total phenolic contents and antioxidant activity of *Senna singueana*, *Melia azedarach*, *Moringa oleifera* and *Lannea discolor* herbal plants. *Scientific African*, 9, e00481. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00481>
- Nabi, B. G., Mukhtar, K., Ahmed, W., Manzoor, M. F., Ranjha, M. M. A. N., Kieliszek, M., Bhat, Z. F., & Aadil, R. M. (2023). Natural pigments: Anthocyanins, carotenoids, chlorophylls, and betalains as colorants in food products. *Food Bioscience*, 52, 102403. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102403>
- Nagarajan, J., Ramanan, R. N., Raghunandan, M. E., Galanakis, C. M., & Krishnamurthy, N. P. (2017). Carotenoids. In *Nutraceutical and Functional Food Components* (pp. 259–296). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805257-0.00008-9>
- Naksing, T., Teeka, J., Rattanavichai, W., Pongthai, P., Kaewpa, D., & Areesirisuk, A. (2021). Determination of bioactive compounds, antimicrobial activity, and the phytochemistry of the organic banana peel in thailand. *Bioscience Journal*, 37, 1–11. <https://doi.org/10.14393/BJ-v37n0a2021-56306>
- Nascimento, P. L. de A. (2012). *Atividade antioxidante e antimicrobiana da pimenta malagueta (Capsicum frutescens)* [Universidade Federal Rural de Pernambuco]. <http://www.tede2.ufpe.br:8080/tede2/bitstream/tede2/4651/2/Patricia Lins Azevedo do Nascimento.pdf>
- Nasrollahzadeh, M., Mohammad Sajadi, S., Babaei, F., & Maham, M. (2015). *Euphorbia helioscopia* Linn as a green source for synthesis of silver nanoparticles and their optical and catalytic properties. *Journal of Colloid and Interface Science*, 450, 374–380. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.03.033>
- Nitarska, D., Stefanini, C., Haselmair-Gosch, C., Miosic, S., Walliser, B., Mikulic-Petkovsek, M., Regos, I., Slatnar, A., Debener, T., Terefe-Ayana, D., Vilperte, V., Hadersdorfer, J., Stich, K., & Halbwirth, H. (2018). The rare orange-red colored *Euphorbia pulcherrima* cultivar ‘Harvest Orange’ shows a nonsense mutation in a flavonoid 3'-hydroxylase allele expressed in the bracts. *BMC Plant Biology*, 18(1), 216. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1424-0>
- NK, S. (2017). Flavonoids in Rice, Their Role in Health Benefits. *MOJ Food Processing & Technology*, 4(3), 96–99. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2017.04.00095>
- Oboh, G., Ademiluyi, A. O., & Faloye, Y. M. (2011). Effect of Combination on the Antioxidant and Inhibitory Properties of Tropical Pepper Varieties Against  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -Glucosidase Activities In Vitro. *Journal of Medicinal Food*, 14(10), 1152–1158.

<https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0194>

OMS. (2003). *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation.*

OMS. (2014). *Global status report on noncommunicable diseases 2014.*

Oney-Montalvo, J. E., Avilés-Betanzos, K. A., Ramírez-Rivera, E. de J., Ramírez-Sucre, M. O., & Rodríguez-Buenfil, I. M. (2020). Polyphenols Content in Capsicum chinense Fruits at Different Harvest Times and Their Correlation with the Antioxidant Activity. *Plants*, 9(10), 1394. <https://doi.org/10.3390/plants9101394>

Oney-Montalvo, J., Uc-Varguez, A., Ramírez-Rivera, E., Ramírez-Sucre, M., & Rodríguez-Buenfil, I. (2020). Influence of Soil Composition on the Profile and Content of Polyphenols in Habanero Peppers (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agronomy*, 10(9), 1234. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091234>

OriginLab Corporation (Origin Version 2018). (n.d.). <https://www.originlab.com/>

Paauw, M., Koes, R., & Quattrocchio, F. M. (2019). Alteration of flavonoid pigmentation patterns during domestication of food crops. *Journal of Experimental Botany*, 70(15), 3719–3735. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz141>

Pagani, A. A. C., Souza, A. L. G. de, Souza, D. S., Batista, R. A., Xavier, A. C. R., & Pagani, G. D. (2014). Quantification of Bioactive Compounds of Pink (*Schinus Terebinthifolius*, Raddi). *International Journal of Engineering and Innovative Technology*, 4(5), 37–41.

Paludo, M. C., Colombo, R. C., Filho, J. T., Hermosín-Gutiérrez, I., Balluse, C. A., & Godoy, and H. T. (2019). Optimizing the Extraction of Anthocyanins from the Skin and Phenolic Compounds from the Seed of Jabuticaba Fruits. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30(7), 1506–1514. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190047>

Passo Tsamo, C. V., Herent, M. F., Tomekpe, K., Happi Emaga, T., Quetin-Leclercq, J., Rogez, H., Larondelle, Y., & Andre, C. (2015). Phenolic profiling in the pulp and peel of nine plantain cultivars (*Musa* sp.). *Food Chemistry*, 167, 197–204. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.095>

Perdew, J. P., Burke, K., & Ernzerhof, M. (1996). Generalized Gradient Approximation Made Simple. *Physical Review Letters*, 77(18), 3865–3868.

<https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.77.3865>

Peres, L. E. P. (2009). *Metabolismo secundário.*

<https://www2.ufpel.edu.br/biotecnologia/gbiotec/site/content/paginadoprofessor/uploads/professor/ce5449dfcf0e02f741a5af86c3c5ae9a.pdf?PHPSESSID=e32d8df36f08f86ef80010a253f33762>

Peterson, J. J., Dwyer, J. T., Beecher, G. R., Bhagwat, S. A., Gebhardt, S. E., Haytowitz, D. B., & Holden, J. M. (2006). Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, S66–S73. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.12.006>

Picolotto, A. M., Ariati, A. M., Franciscato, L. M. S. dos S., Bittencourt, P. R. S., Caramão, E. B., Sakai, O. A., & Moritz, C. M. F. (2020). CHEMICAL AND THERMOANALYTICAL CHARACTERIZATION OF THE PINK PEPPER (*Schinus terebinthifolius* Raddi) SEEDS ESSENTIAL OIL. *Revista Mundi Engenharia, Tecnologia e Gestão (ISSN: 2525-4782)*, 5(7), 1–21.

<https://doi.org/10.21575/25254782rmetg2020vol5n71120>

Pinto, B. R. C., Melo, C. M. T., Pinto, L. S. R. C., Almeida, E. S., & Mascarenhas, S. N. A. do P. (2023). Compostos fenólicos e atividade antioxidante em extratos de pimenta rosa. In *CIÊNCIAS DA SAÚDE E SUAS DESCOBERTAS CIENTÍFICAS*. Seven Editora. <https://doi.org/10.56238/ciesaudesv1-011>

- Placzek, G. (1934). The Rayleigh and Raman scattering. In *Handbuch der Radiologie* (pp. 209–374).
- Plazas, M., Prohens, J., Cuñat, A., Vilanova, S., Gramazio, P., Herraiz, F., & Andújar, I. (2014). Reducing Capacity, Chlorogenic Acid Content and Biological Activity in a Collection of Scarlet (*Solanum aethiopicum*) and Gboma (*S. macrocarpon*) Eggplants. *International Journal of Molecular Sciences*, *15*(10), 17221–17241. <https://doi.org/10.3390/ijms151017221>
- Popović-Djordjević, J., Špirović-Trifunović, B., Pećinar, I., Fernando Cappa de Oliveira, L., Krstić, Đ., Mihajlović, D., Akšić, M. F., & Simal-Gandara, J. (2023). Fatty acids in seed oil of wild and cultivated rosehip (*Rosa canina* L.) from different locations in Serbia. *Industrial Crops and Products*, *191*, 115797. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115797>
- Prasanna, V., Prabha, T. N., & Tharanathan, R. N. (2007). Fruit Ripening Phenomena—An Overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *47*(1), 1–19. <https://doi.org/10.1080/10408390600976841>
- Priyadarshini, K. A., Murugan, K., Panneerselvam, C., Ponarulselvam, S., Hwang, J. S., & Nicoletti, M. (2012). Biolarvicidal and pupicidal potential of silver nanoparticles synthesized using *Euphorbia hirta* against *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, *111*(3), 997–1006. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-2924-8>
- Qin, J., Chao, K., & Kim, M. S. (2011). Investigation of Raman chemical imaging for detection of lycopene changes in tomatoes during postharvest ripening. *Journal of Food Engineering*, *107*(3–4), 277–288. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.07.021>
- Radotić, K., Melø, T. B., & Lindgren, M. (2023). A fluorescence spectroscopic study of light transmission and adaxial-abaxial distribution of emitting compounds in leaves of Christmas star (*Euphorbia pulcherrima*). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *303*, 123269. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.123269>
- Rao, V. P., & Kiran, S. (2017). Flavonoid: A review on Naringenin. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *6*(5), 2778–2783.
- Rêgo, E. R., Rêgo, M. M., & Finger, F. L. (2015). METHODOLOGICAL BASIS AND ADVANCES FOR ORNAMENTAL PEPPER BREEDING PROGRAM IN BRAZIL. *Acta Horticulturae*, *1087*, 309–314. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1087.39>
- Rehman, H. A., Yousaf, Z., Rashid, M., Younas, A., Arif, A., Afzal, I., & Akram, W. (2014). Phytochemical relationship of *Euphorbia helioscopia* and *Euphorbia pulcherrima* with *Lactuca sativa*. *Natural Product Research*, *28*(20), 1725–1731. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.942300>
- Reifschneider, F. J. B., Nass, L. L., Gl, A. N. A., Heinrich, U., Ribeiro, U. S. C., Henz, G. P., Euclides, K., Boiteux, L. S., Ritschel, P., Ferraz, R. M., & Quecini, V. (2015). *Uma pitada de biodiversidade Na Mesa Dos Brasileiros*.
- Ribes-Moya, A. M., Adalid, A. M., Raigón, M. D., Hellín, P., Fita, A., & Rodríguez-Burruezo, A. (2020). Variation in flavonoids in a collection of peppers (*Capsicum* sp.) under organic and conventional cultivation: effect of the genotype, ripening stage, and growing system. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *100*(5), 2208–2223. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10245>
- Rodriguez, D. (2001). A Guide to Carotenoid Analysis in Foods. In N. W. ILSI Human Nutrition Institute; One Thomas Circle (Ed.), *Life Sciences*. ILSI Press.
- Roland, W. S. U., van Buren, L., Gruppen, H., Driesse, M., Gouka, R. J., Smit, G., & Vincken, J.-P. (2013). Bitter Taste Receptor Activation by Flavonoids and Isoflavonoids: Modeled Structural Requirements for Activation of hTAS2R14 and hTAS2R39. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(44), 10454–10466.



<https://doi.org/10.1021/jf403387p>

Ruiz-Ruiz, J. C., Matus-Basto, A. J., Acereto-Escoffié, P., & Segura-Campos, M. R. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolic compounds isolated from *Melipona beecheii* honey. *Food and Agricultural Immunology*, 28(6), 1424–1437. <https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1347148>

Sagar, N. A., Pareek, S., Sharma, S., Yahia, E. M., & Lobo, M. G. (2018). Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(3), 512–531. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12330>

Saini, R. K., Nile, S. H., & Park, S. W. (2015). Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Research International*, 76, 735–750. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.047>

Saini, R. K., Prasad, P., Lokesh, V., Shang, X., Shin, J., Keum, Y.-S., & Lee, J.-H. (2022). Carotenoids: Dietary Sources, Extraction, Encapsulation, Bioavailability, and Health Benefits—A Review of Recent Advancements. *Antioxidants*, 11(4), 795. <https://doi.org/10.3390/antiox11040795>

Saito, S., & Tasumi, M. (1983). Normal-coordinate analysis of retinal isomers and assignments of Raman and infrared bands. *Journal of Raman Spectroscopy*, 14(4), 236–245. <https://doi.org/10.1002/jrs.1250140405>

Sajjadi, M., Nasrollahzadeh, M., & Mohammad Sajadi, S. (2017). Green synthesis of Ag/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocomposite using *Euphorbia peplus* Linn leaf extract and evaluation of its catalytic activity. *Journal of Colloid and Interface Science*, 497, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.02.037>

Sala, O. (2008). *Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho*. Unesp.

Salehi, B., Iriti, M., Vitalini, S., & Antolak, H. (2019). *Euphorbia -Derived Natural Products with Potential for Use in Health Maintenance*. 1–22.

Salehi, B., Zakaria, Z. A., Gyawali, R., Ibrahim, S. A., Rajkovic, J., Shinwari, Z. K., Khan, T., Sharifi-Rad, J., Ozleyen, A., Turkdonmez, E., Valussi, M., Tumer, T. B., Fidalgo, L. M., Martorell, M., & Setzer, W. N. (2019). Piper species: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. In *Molecules* (Vol. 24, Issue 7). <https://doi.org/10.3390/molecules24071364>

Salgaço, M. K. (2019). *Avaliação de compostos fenólicos em pimentas Capsicum spp. em função de processos térmicos* [Universidade Estadual Paulista]. <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/4df2597c-23e8-4321-835f-fa6ad3b92929/content>

Sameena, V. P., & Thoppil, J. E. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles from *Euphorbia* and its biological activities. *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 7(2), 377–392. <https://doi.org/10.1007/s41204-022-00232-6>

Sánchez-Mata, M. C., Yokoyama, W. E., Hong, Y. J., & Prohens, J. (2010).  $\alpha$ -Solasonine and  $\alpha$ -solamargine contents of gboma (*solanum macrocarpon* l.) and scarlet (*solanum aethiopicum* l.) eggplants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(9), 5502–5508. <https://doi.org/10.1021/jf100709g>

Santos, A. S. dos. (2018). *CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS DE LINHAGENS DE PIMENTA BIQUINHO CULTIVADAS EM SISTEMA ORGÂNICO* [UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS]. [https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/9706/SANTOS\\_Adriano\\_2018.pdf?sequence=5&isAllowed=y](https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/9706/SANTOS_Adriano_2018.pdf?sequence=5&isAllowed=y)

Schulz, H., & Baranska, M. (2007). Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 43(1), 13–25. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2006.06.001>

- Schulz, H., Baranska, M., Quilitzsch, R., Schütze, W., & Lösing, G. (2005). Characterization of Peppercorn, Pepper Oil, and Pepper Oleoresin by Vibrational Spectroscopy Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), 3358–3363. <https://doi.org/10.1021/jf048137m>
- Seal, T., Chaudhuri, K., & Pillai, B. (2016). Identification and Quantification flavonoids in three wild edible plants, *Houttuynia cordata*, *Solanum gilo* and *Solanum kurzii* of North-Eastern region in India, using High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, September. <https://www.jocpr.com/articles/identification-and-quantification-flavonoids-in-three-wild-edible-plants-houttuynia-cordata-solanum-gilo-and-solanum-kur.pdf>
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820–897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Shi, Q. W., Su, X. H., & Kiyota, H. (2008). Chemical and pharmacological research of the plants in genus *Euphorbia*. *Chemical Reviews*, 108(10), 4295–4327. <https://doi.org/10.1021/cr078350s>
- Sidhu, J. S., & Zafar, T. A. (2018). Bioactive compounds in banana fruits and their health benefits. *Food Quality and Safety*, 2(4), 183–188. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy019>
- Siebeneichler, T. J., Peixoto, E. C., Antunes, B. F., Galli, V., & Rombaldi, C. V. (2022). COMPOSIÇÃO DE PIMENTA ROSA (*Schinus terebinthifolius* Raddi), ATIVIDADES BIOLÓGICAS, ENCAPSULAMENTO E APLICAÇÕES EM ALIMENTOS: UMA REVISÃO. In *Produção Animal e Vegetal: Inovações e Atualidades - Volume 2*. Agron Food Academy. <https://doi.org/10.53934/9786585062039-72>
- Silva, V. M. B. (2017). *Pimentas do gênero Capsicum: Constituintes químicos e potencial antioxidante* [Universidade Federal da Paraíba]. <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/12737/1/Arquivototal.pdf>
- Singla, R. K., Dubey, A. K., Garg, A., Sharma, R. K., Fiorino, M., Ameen, S. M., Haddad, M. A., & Al-Hiary, M. (2019). Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 102(5), 1397–1400. <https://doi.org/10.1093/jaoac/102.5.1397>
- Slatnar, A., Mikulic-Petkovsek, M., Veberic, R., Stampar, F., & Schmitzer, V. (2013). Anthocyanin and chlorophyll content during poinsettia bract development. *Scientia Horticulturae*, 150, 142–145. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.10.014>
- Sluijs, I., Cadier, E., Beulens, J. W. J., van der A, D. L., Spijkerman, A. M. W., & van der Schouw, Y. T. (2015). Dietary intake of carotenoids and risk of type 2 diabetes. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 25(4), 376–381. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2014.12.008>
- Soares, M. R. P. S., Corrêa, R. O., Stroppa, P. H. F., Marques, F. C., Andrade, G. F. S., Corrêa, C. C., Brandão, M. A. F., & Raposo, N. R. B. (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Caesalpinia ferrea* (Tul.) Martius extract: physicochemical characterization, antifungal activity and cytotoxicity. *PeerJ*, 6, e4361. <https://doi.org/10.7717/peerj.4361>
- Sora, G. T. de S., Souza, A. H. P., Zielinski, A. A. F., Haminiuk, C. W. I., Matsushita, M., & Peralta, R. M. (2015). FATTY ACID COMPOSITION OF *Capsicum* GENUS PEPPERS. *Ciência e Agrotecnologia*, 39(4), 372–380. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542015000400008>
- Sunseri, F.; Polignano, G. B.; Alba, V.; Lotti, C.; Bisignano, V.; Mennella, G.; Alessandro, A.D.; Bacchi, M.; Riccardi, P.; Fiore, M. C.; Ricciard, M. (2010). Genetic diversity and characterization of African eggplant germplasm collection. *African*

- Journal Plant Science*, 4(July), 231–241. <https://doi.org/10.5897>
- Tang, J., & Albrecht, A. C. (1970). Developments in the Theories of Vibrational Raman Intensities. *Raman Spectroscopy*, 33–68. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-3027-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-3027-1_2)
- Tena, N., & Asuero, A. G. (2022). Up-To-Date Analysis of the Extraction Methods for Anthocyanins: Principles of the Techniques, Optimization, Technical Progress, and Industrial Application. *Antioxidants*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/antiox11020286>
- Teslova, T., Corredor, C., Livingstone, R., Spataru, T., Birke, R. L., Lombardi, J. R., Cañameres, M. V., & Leona, M. (2007). Raman and surface-enhanced Raman spectra of flavone and several hydroxy derivatives. *Journal of Raman Spectroscopy*, 38(7), 802–818. <https://doi.org/10.1002/jrs.1695>
- Tian, K., Wang, W., Yao, Y., Nie, X., Lu, A., Wu, Y., & Han, C. (2018). Rapid identification of gutter oil by detecting the capsaicin using surface enhanced Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*, 49(3), 472–481. <https://doi.org/10.1002/jrs.5306>
- Tsimogiannis, D., Samiotaki, M., Panayotou, G., & Oreopoulou, V. (2007). Characterization of Flavonoid Subgroups and Hydroxy Substitution by HPLC-MS/MS. *Molecules*, 12(3), 593–606. <https://doi.org/10.3390/12030593>
- Tuan, P. A., Lee, J., Park, C. H., Kim, J. K., Noh, Y. H., Kim, Y. B., Kim, H. R., & Park, S. U. (2019). Carotenoid biosynthesis in oriental melon (*Cucumis melo* L. Var. Makuwa). *Foods*, 8(2), 1–9. <https://doi.org/10.3390/foods8020077>
- Tundis, R., Loizzo, M. R., Menichini, F., Bonesi, M., Conforti, F., Statti, G., De Luca, D., de Cindio, B., & Menichini, F. (2011). Comparative Study on the Chemical Composition, Antioxidant Properties and Hypoglycaemic Activities of Two *Capsicum annum* L. Cultivars (*Acuminatum* small and *Cerasiferum*). *Plant Foods for Human Nutrition*, 66(3), 261–269. <https://doi.org/10.1007/s11130-011-0248-y>
- Tundis, R., Menichini, F., Bonesi, M., Conforti, F., Statti, G., Menichini, F., & Loizzo, M. R. (2013). Antioxidant and hypoglycaemic activities and their relationship to phytochemicals in *Capsicum annum* cultivars during fruit development. *LWT - Food Science and Technology*, 53(1), 370–377. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.013>
- Ullah, R., Khan, S., Bilal, M., Ali, H., & Khalil, U. (2019). Comparison among different postharvest ripening treatments based on carotene contents in mango using UV-VIS and Raman spectroscopy. *Laser Physics*, 29(10). <https://doi.org/10.1088/1555-6611/ab2f36>
- Valduga, E., Tatsch, P. O., Tiggemann, L., Treichel, H., Toniazzo, G., Zeni, J., Di Luccio, M., & Fúrigo Júnior, A. (2009). Produção de carotenoides: microrganismos como fonte de pigmentos naturais. *Química Nova*, 32(9). <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000900036>
- Vasas, A., & Hohmann, J. (2014). Euphorbia diterpenes: Isolation, Structure, biological activity, and synthesis (2008-2012). *Chemical Reviews*, 114(17), 8579–8612. <https://doi.org/10.1021/cr400541j>
- Voorra, V., Larrea, C., & Bermudez, S. (2020). Global Market Report: Bananas. *Exchange Organizational Behavior Teaching Journal*, 62. <https://www.iisd.org/system/files/publications/ssi-global-market-report-banana.pdf>
- Voutilainen, S., Nurmi, T., Mursu, J., & Rissanen, T. H. (2006). Carotenoids and cardiovascular health. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83(6), 1265–1271. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.6.1265>
- Vu, H. T., Scarlett, C. J., & Vuong, Q. V. (2019). Changes of phytochemicals and antioxidant capacity of banana peel during the ripening process; with and without ethylene treatment. *Scientia Horticulturae*, 253, 255–262. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.043>
- Wan, Y., Guo, Z., Jiang, X., Fang, K., Lu, X., Zhang, Y., & Gu, N. (2013). Quasi-

spherical silver nanoparticles: Aqueous synthesis and size control by the seed-mediated Lee–Meisel method. *Journal of Colloid and Interface Science*, 394, 263–268.

<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.12.037>

Wang, C.-H., Huang, C.-C., Chen, W., & Lai, Y.-S. (2020). The Chemical Aspects of Raman Spectroscopy: Statistical Structure-Spectrum Relationship in The Analyses of Bioflavonoids. *Journal of Food and Drug Analysis*, 28(2), 239–247.

<https://doi.org/10.38212/2224-6614.1058>

Wang, X., Luo, S., Li, Q., Song, L., Zhang, W., Yu, P., Xuan, S., Wang, Y., Zhao, J., Chen, X., & Shen, S. (2022). Delphinidins and Naringenin Chalcone Underlying the Fruit Color Changes during Maturity Stages in Eggplant. *Agronomy*, 12(5), 1036.

<https://doi.org/10.3390/agronomy12051036>

Wee, C.-C., Subbiah, V. K., Arita, M., & Goh, H.-H. (2023). The applications of network analysis in fruit ripening. *Scientia Horticulturae*, 311, 111785.

<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111785>

Windarsih, A., Arsanti Lestari, L., Erwanto, Y., Rosiana Putri, A., Irnawati, Ahmad Fadzillah, N., Rahmawati, N., & Rohman, A. (2023). Application of Raman Spectroscopy and Chemometrics for Quality Controls of Fats and Oils: A Review. *Food Reviews International*, 39(7), 3906–3925.

<https://doi.org/10.1080/87559129.2021.2014860>

Yabuzaki, J. (2017). Carotenoids Database: structures, chemical fingerprints and distribution among organisms. *Database*, 2017. <https://doi.org/10.1093/database/bax004>

Yu, C. X., Wang, R. Y., Qi, F. M., Su, P. J., Yu, Y. F., Li, B., Zhao, Y., Zhi, D. J., Zhang, Z. X., & Fei, D. Q. (2019). Eupulcherol A, a triterpenoid with a new carbon skeleton from: *Euphorbia pulcherrima*, and its anti-Alzheimer's disease bioactivity. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 18(1), 76–80.

<https://doi.org/10.1039/c9ob02334h>

Zahir, A. A., & Rahuman, A. A. (2012). Evaluation of different extracts and synthesised silver nanoparticles from leaves of *Euphorbia prostrata* against *Haemaphysalis bispinosa* and *Hippobosca maculata*. *Veterinary Parasitology*, 187(3–4), 511–520.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.02.001>

Zamora-Peredo, L., Rodríguez-Jimenez, R., García González, L., Hernández Torres, J., & Hernandez Quiroz, T. (2018). ESTUDIO DEL PERICARPIO DE CHILE HABANERO (*Capsicum chinense* Jacq.) POR ESPECTROSCOPIA RAMAN. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences, ahead*, 0–0. <https://doi.org/10.4067/S0719-38902018005000103>

Zhang, Y., Deng, T., Sun, L., Landis, J. B., Moore, M. J., Wang, H., Wang, Y., Hao, X., Chen, J., Li, S., Xu, M., Puno, P.-T., Raven, P. H., & Sun, H. (2021). Phylogenetic patterns suggest frequent multiple origins of secondary metabolites across the seed-plant 'tree of life.' *National Science Review*, 8(4). <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa105>

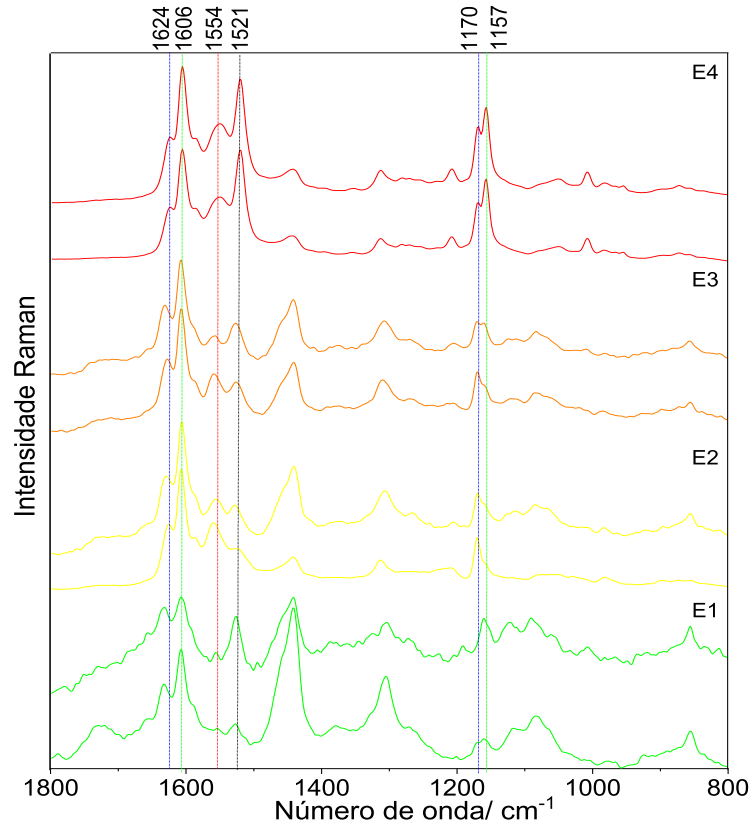
Zhang, Y., Shu, H., Mumtaz, M. A., Hao, Y., Li, L., He, Y., Jin, W., Li, C., Zhou, Y., Lu, X., Fu, H., & Wang, Z. (2022). Transcriptome and Metabolome Analysis of Color Changes during Fruit Development of Pepper (*Capsicum baccatum*). *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), 12524. <https://doi.org/10.3390/ijms232012524>

Zhuang, Y., Chen, L., Sun, L., & Cao, J. (2012). Bioactive characteristics and antioxidant activities of nine peppers. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 331–338.

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.01.001>

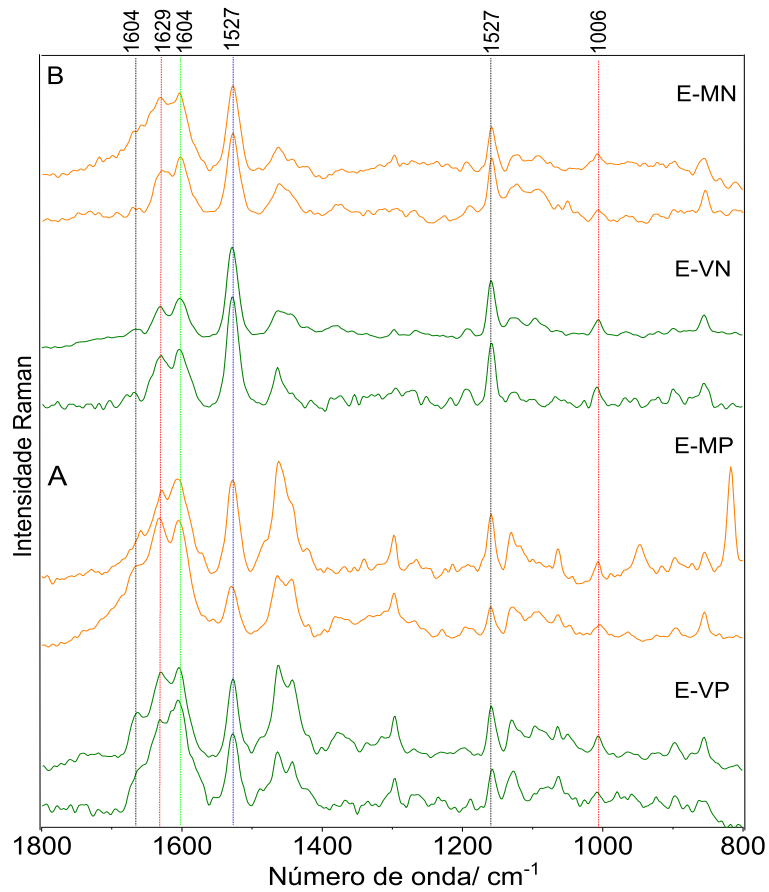
**APÊNDICE A – Capítulo 2**

Figura A.1- Espectros Raman de duas réplicas de jiló nos quatro estágios de maturação (E1 a E4), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

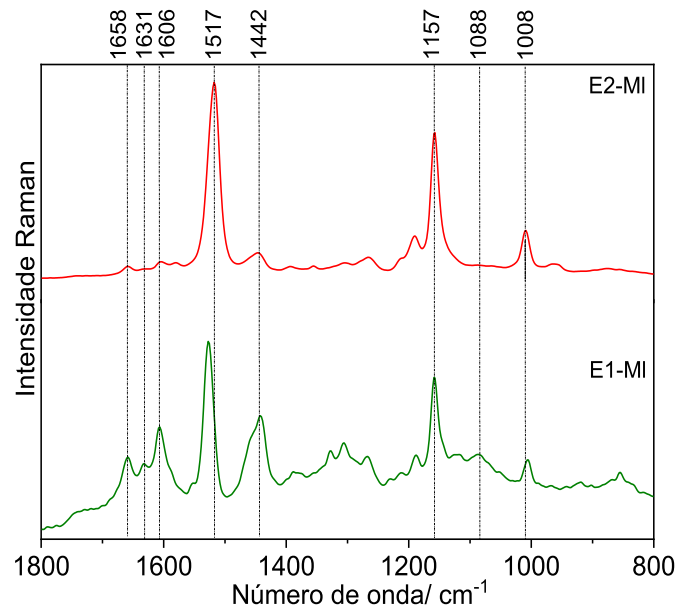
Figura A.2- Espectros Raman de duas réplicas da banana em dois estágios de maturação: (A) 'prata'- verde (E-VP) e madura (E-MP), e (B) 'nanica'- verde (E-VN) e madura (E-MN), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

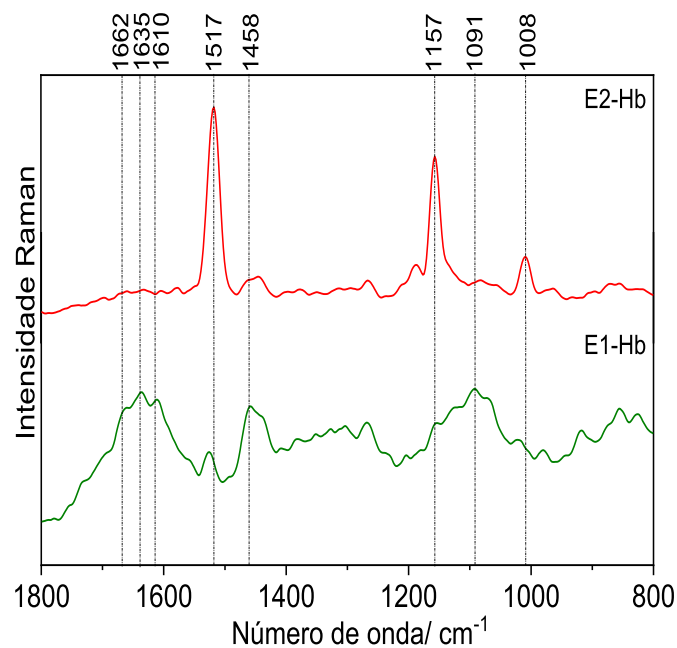
### APÊNDICE B – Capítulo 3

Figura B.1- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta malagueta (E1-MI e E2-MI), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



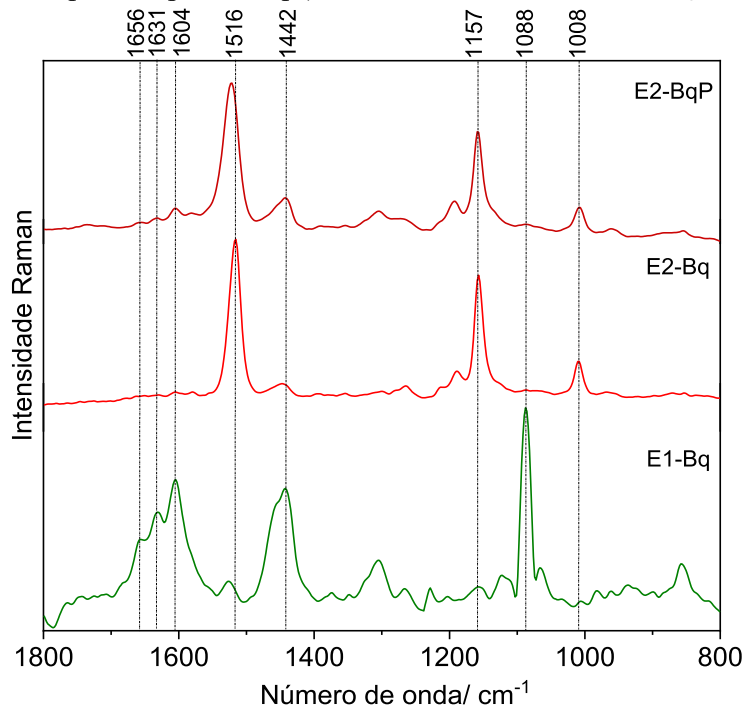
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura B.2- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta habanero (E1-Hb e E2-Hb), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



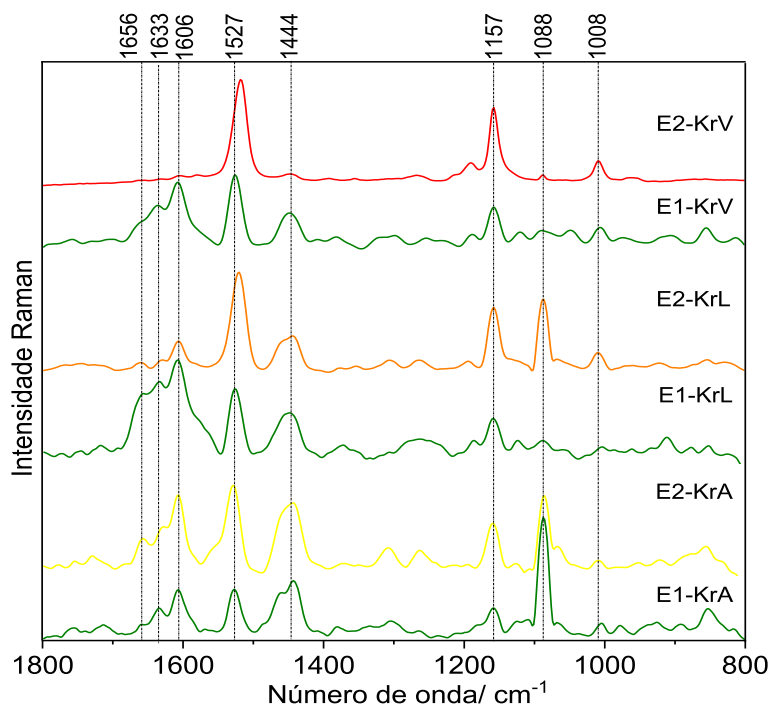
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura B.3- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta biquinho (E1-Bq, E2-Bq e E2-BqP), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

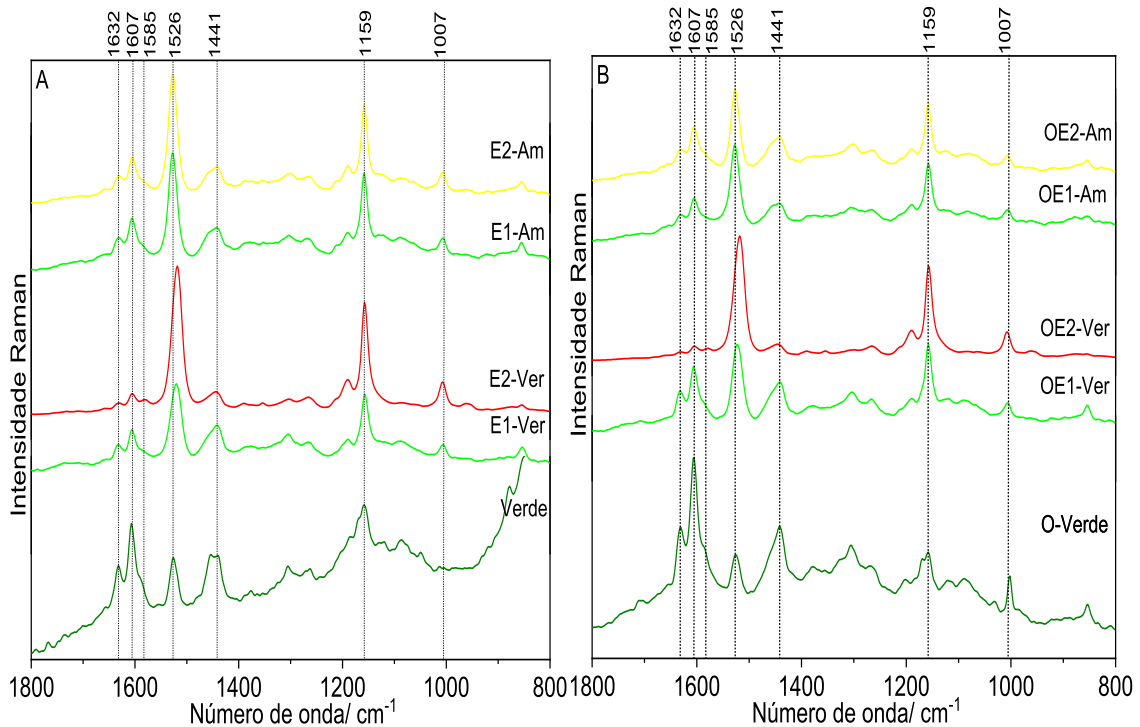
Figura B.4- Espectros Raman dos dois estágios de maturação da pimenta Karneval vermelha (E1-KrV e E2-KrV), laranja (E1-KrL e E2-KrL) e amarela (E1-KrA e E2-KrA), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

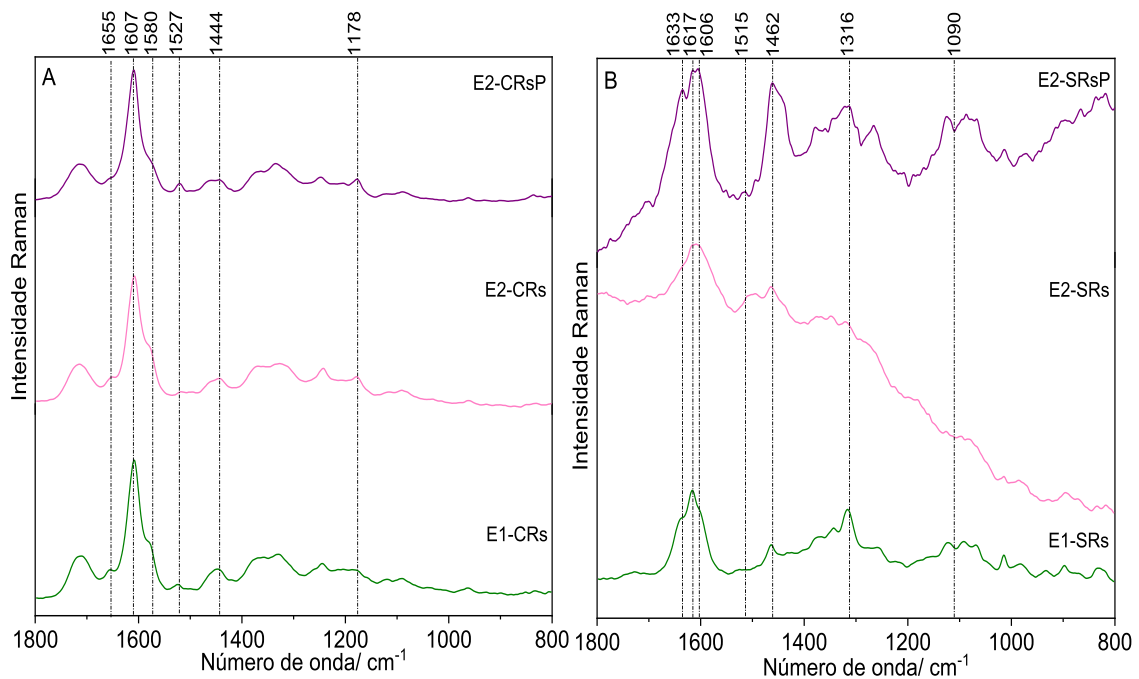


Figura B.5- Espectros Raman dos pimentões em diferentes estágios de maturação de cultivo (A) convencional e (B) orgânico, obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



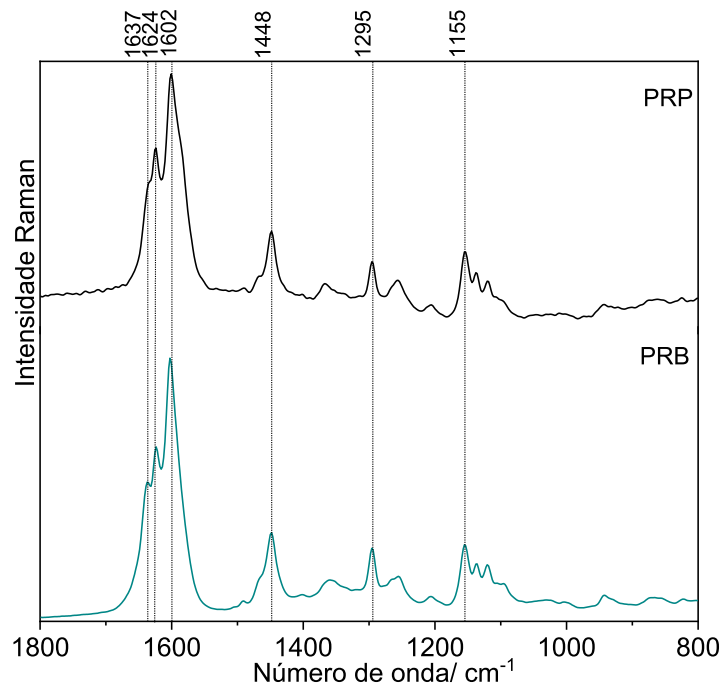
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura B.6- Espectros Raman das (A) cascas (E1-CRs, E2-CRs E2-CRsP) e (B) sementes (E1-SRs, E2-SRs E2-SRsP) da pimenta rosa em dois estágios de maturação, obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



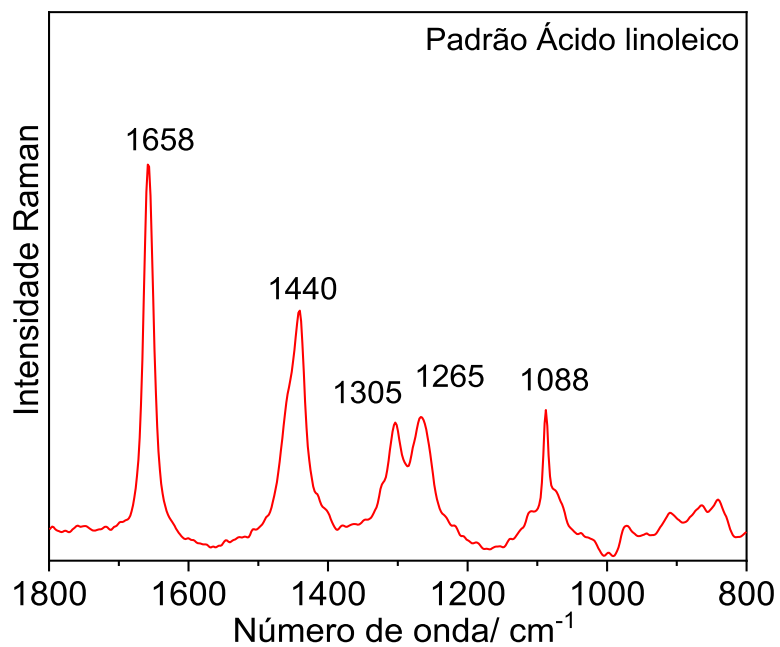
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura B.7- Espectros Raman da pimenta-do-reino preta (PRP) e branca (PRB), obtidos com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura B.8- Espectro Raman do padrão de ácido linoleico, obtido com linha de excitação em 1064 nm.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 15- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada do ácido clorogênico.

Número do átomo	Elemento	Coordenadas cartesianas (Å)		
		X	Y	Z
1	C	-5.8009770	-1.2085780	1.0699690
2	C	-4.4655470	-0.9938220	0.7501650
3	C	-4.0796680	0.0669800	-0.0950910
4	C	-5.0924780	0.9076650	-0.6099120
5	C	-6.4258850	0.6955110	-0.2930960
6	C	-6.7941340	-0.3698430	0.5548120
7	H	-6.1035600	-2.0284190	1.7237580
8	H	-3.7076640	-1.6615200	1.1625090
9	H	-4.8157870	1.7368940	-1.2692860
10	O	-7.4789660	1.4610340	-0.7467690
11	H	-7.1346190	2.1658010	-1.3205800
12	O	-8.1002740	-0.5812210	0.8696540
13	H	-8.6155910	0.1111500	0.4109410
14	C	-2.7006600	0.3362700	-0.4634690
15	C	-1.5907540	-0.3393760	-0.0898920
16	C	-0.2722350	0.0831690	-0.5801960
17	O	0.7035320	-0.7463220	-0.0806130
18	O	-0.0391110	1.0234710	-1.3265120
19	C	2.0463980	-0.4559950	-0.5319880
20	C	2.6678400	0.6568010	0.3332920
21	C	2.8558300	-1.7460110	-0.5217400
22	C	4.2221630	0.5695960	0.3841690
23	H	2.3385750	1.6267560	-0.0638850
24	C	4.2291960	-1.4721540	-1.2054310
25	C	4.7719800	-0.0396950	-0.9153120
26	H	4.5134220	0.6352350	-1.7457710
27	O	3.0364150	-2.3167020	0.7766010
28	H	3.5098700	-1.6463120	1.3240990
29	H	1.9748820	-0.0990500	-1.5732880
30	H	2.3156880	-2.5146270	-1.0941370
31	H	5.8675730	-0.1073800	-0.8582320
32	H	4.0871140	-1.5475990	-2.2981150
33	O	5.1491500	-2.4811100	-0.8310930
34	H	4.7882180	-2.8307370	0.0132470
35	H	2.2938240	0.5702410	1.3638520
36	O	4.6460690	-0.2508360	1.4856130
37	H	4.9270290	0.3838450	2.1819050
38	C	4.7840180	1.9640440	0.6579960
39	O	4.6350700	2.8250910	-0.3701920
40	H	5.0039480	3.6780600	-0.0593460
41	O	5.2946370	2.2689250	1.7230270
42	H	-2.5326150	1.1909000	-1.1299240
43	H	-1.6129940	-1.2092390	0.5688870

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 16- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada da quercetina.

Número do átomo	Elemento	Coordenadas cartesianas (Å)		
		X	Y	Z
1	C	0.0851760	1.4923580	-0.0001100
2	C	1.5303010	1.7449400	0.0000570
3	C	2.3822640	0.5721480	0.0000280
4	C	1.7678170	-0.7034450	0.0001750
5	C	-0.4471190	0.2279220	-0.0002000
6	C	3.8063500	0.6035430	-0.0001490
7	C	2.4947600	-1.8965820	0.0002260
8	C	3.8836530	-1.8240360	0.0002380
9	C	4.5411740	-0.5797260	-0.0000610
10	H	1.9840230	-2.8582960	0.0001700
11	H	5.6357430	-0.5383620	-0.0002860
12	O	4.5727340	-3.0024170	0.0001950
13	H	5.5247580	-2.8019520	-0.0000010
14	O	4.4095410	1.8195610	-0.0002250
15	H	5.3728420	1.6756210	-0.0000590
16	O	0.4163560	-0.8530510	-0.0000450
17	O	1.8826240	2.9455060	0.0002350
18	O	-0.6324650	2.6357960	-0.0001500
19	H	0.1164600	3.3089410	0.0001170
20	C	-1.8507020	-0.1765700	-0.0001890
21	C	-2.1956580	-1.5441160	-0.0003580
22	C	-2.8852420	0.7854390	0.0000410
23	C	-3.5330320	-1.9356450	-0.0002730
24	H	-1.4140960	-2.3015490	-0.0006140
25	C	-4.2176490	0.3920220	0.0001010
26	H	-2.6582730	1.8495750	0.0001540
27	C	-4.5452790	-0.9788820	-0.0000070
28	H	-3.7931440	-2.9988470	-0.0004150
29	O	-5.2054690	1.3360800	0.0002890
30	H	-6.0537360	0.8530040	0.0002650
31	O	-5.8937990	-1.2612660	0.0001640
32	H	-6.0116300	-2.2260250	-0.0001540

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 17- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada do ácido linoleico.

Número do átomo	Elemento	Coordenadas cartesianas (Å)		
		X	Y	Z
1	C	7.2462700	2.3100510	0.1404340
2	C	5.8483390	1.8846670	-0.2921840
3	H	5.7724850	2.0112730	-1.3881840
4	H	5.1201290	2.5944700	0.1424650

5	C	5.5029690	0.4509060	0.1064780
6	H	5.6066150	0.3502070	1.1988680
7	H	6.2543170	-0.2292860	-0.3260150
8	C	4.0973120	0.0316240	-0.3313040
9	H	4.0019460	0.1458430	-1.4268370
10	H	3.3518960	0.7185230	0.1100050
11	C	3.7492320	-1.4090290	0.0573630
12	H	3.8504560	-1.5249920	1.1515780
13	H	4.4929970	-2.0943480	-0.3882200
14	C	2.3421400	-1.8363740	-0.3691710
15	H	1.5952700	-1.1650950	0.0896070
16	H	2.2349070	-1.7058930	-1.4618340
17	C	2.0132980	-3.2867950	-0.0030110
18	H	2.1498090	-3.4301690	1.0841890
19	H	2.7380070	-3.9605530	-0.4919890
20	C	0.5860970	-3.7201370	-0.3927780
21	H	0.5000350	-4.8101900	-0.2305560
22	H	0.4266670	-3.5512090	-1.4716510
23	C	-0.4898330	-3.0252710	0.3916180
24	H	-0.4385370	-3.1435620	1.4836540
25	C	-1.4820300	-2.2890370	-0.1229860
26	H	-1.5483370	-2.1718070	-1.2123850
27	C	-2.5750220	-1.6239450	0.6759360
28	H	-2.3612870	-1.7563360	1.7514530
29	C	-3.9311520	-2.2063700	0.3594240
30	H	-4.0315180	-3.2718820	0.5960620
31	C	-4.9837490	-1.5862780	-0.1942650
32	H	-5.8893110	-2.1849660	-0.3552150
33	C	-5.1018760	-0.1468410	-0.6064390
34	H	-5.3215900	-0.0993650	-1.6898250
35	H	-4.1477050	0.3858420	-0.4651570
36	C	-6.2192480	0.5990040	0.1459490
37	H	-6.0070400	0.5672520	1.2287890
38	H	-7.1733070	0.0592120	0.0079830
39	C	-6.3865790	2.0528750	-0.3049780
40	H	-5.4312490	2.5912010	-0.1646120
41	H	-6.5900070	2.0783420	-1.3913420
42	C	-7.4998740	2.8010890	0.4352130
43	H	-8.4549110	2.2665630	0.2890420
44	H	-7.2984040	2.7684060	1.5202850
45	C	-7.6520150	4.2556300	-0.0154570
46	H	-7.8865980	4.3169660	-1.0899180
47	H	-8.4579990	4.7674450	0.5311920
48	H	-6.7229220	4.8231010	0.1517460
49	O	7.5940380	3.5944440	-0.1947240
50	H	6.8467000	4.0079610	-0.6653890
51	O	8.0313490	1.6119230	0.7349460
52	H	-2.5702700	-0.5385150	0.4813760

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 18- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada da capsaicina.

Número do átomo	Elemento	Coordenadas cartesianas (Å)		
		X	Y	Z
1	C	4.2250380	0.4389330	-1.8330880
2	C	3.2188590	0.6544340	-0.8902090
3	C	3.0978210	-0.2324750	0.1957540
4	C	3.9680380	-1.3111530	0.3174120
5	C	4.9792110	-1.5286910	-0.6483350
6	C	5.0990710	-0.6479980	-1.7185970
7	H	4.3350900	1.1285510	-2.6739120
8	H	2.3248620	-0.0525350	0.9448820
9	H	5.8911170	-0.8198240	-2.4496360
10	O	5.8325810	-2.5854320	-0.5204070
11	H	5.5681750	-3.0487210	0.2989000
12	O	3.9639480	-2.2447090	1.3291170
13	C	2.9900250	-2.0857030	2.3603170
14	H	1.9670200	-2.1457950	1.9532380
15	H	3.1550790	-2.9116540	3.0615810
16	H	3.1189290	-1.1241910	2.8841240
17	C	2.2477920	1.8093840	-1.0479650
18	H	1.2914580	1.4419990	-1.4494930
19	H	2.6530900	2.5143460	-1.7970880
20	N	1.9723960	2.4896930	0.2102500
21	H	2.7734810	2.7205290	0.7973860
22	C	0.7749610	2.8899390	0.7555260
23	O	0.7437830	3.4380260	1.8566990
24	C	-0.5068070	2.5984040	-0.0187380
25	H	-0.3598950	2.6550930	-1.1094440
26	H	-1.2061980	3.3990060	0.2618150
27	C	-1.1102160	1.2364300	0.3686210
28	H	-0.4124270	0.4244780	0.0946530
29	H	-1.2111830	1.2021400	1.4665540
30	C	-2.4710210	0.9794670	-0.2833590
31	H	-2.3690840	1.0223650	-1.3827020
32	H	-3.1706030	1.7878150	-0.0097340
33	C	-3.0852770	-0.3735290	0.1190820
34	H	-3.2057180	-0.4121750	1.2151720
35	H	-2.3690600	-1.1746120	-0.1457220
36	C	-4.4057100	-0.6450350	-0.5421530
37	H	-4.3957750	-0.6938050	-1.6401280
38	C	-5.5703230	-0.8132660	0.0945450
39	H	-5.5837760	-0.7614870	1.1934660
40	C	-6.9008160	-1.0785010	-0.5591160
41	H	-6.7414490	-1.1091930	-1.6519140
42	C	-7.4651960	-2.4399100	-0.1155430
43	H	-8.4329900	-2.6428170	-0.6001780
44	H	-6.7750460	-3.2585040	-0.3664440

45	H	-7.6273920	-2.4584180	0.9745370
46	C	-7.8987470	0.0511670	-0.2490790
47	H	-8.0775430	0.1276520	0.8357800
48	H	-7.5204650	1.0235040	-0.5965090
49	H	-8.8691870	-0.1360750	-0.7346600

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 19- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada da capsantina.

Número do átomo	Elemento	Coordenadas cartesianas (Å)		
		X	Y	Z
1	C	14.7377590	1.2429790	0.4158280
2	C	14.1686250	0.3854910	1.5286930
3	C	13.1433110	-0.6527450	1.0296380
4	C	12.1300300	-0.0041190	0.0582310
5	C	12.3709440	1.1922720	-0.5500650
6	C	13.6048830	2.0165120	-0.2528630
7	H	14.9890690	-0.1263900	2.0577070
8	H	13.3339130	2.8581930	0.4146730
9	C	11.4673840	1.8176400	-1.5812460
10	H	10.9074580	2.6725330	-1.1617560
11	H	12.0694930	2.2254080	-2.4101580
12	H	10.7370960	1.1111480	-1.9941250
13	C	12.4190010	-1.2117780	2.2737390
14	H	11.7364790	-2.0354920	2.0200020
15	H	13.1575010	-1.5963290	2.9949820
16	H	11.8299690	-0.4278640	2.7729600
17	C	13.8701350	-1.8186750	0.3184240
18	H	14.5701810	-2.3096920	1.0131000
19	H	13.1606410	-2.5839630	-0.0302220
20	H	14.4382500	-1.4712270	-0.5560990
21	O	15.7123900	2.1157880	1.0034480
22	H	16.0876060	2.6508170	0.2834800
23	C	10.9289050	-0.8064530	-0.1858750
24	H	11.0884520	-1.8896240	-0.2387630
25	C	9.6424540	-0.3625500	-0.2558510
26	H	9.4499380	0.7054580	-0.1103150
27	C	8.4711280	-1.1848090	-0.4503720
28	C	7.2341840	-0.5745270	-0.4240350
29	H	7.2308060	0.5114640	-0.2662520
30	C	5.9541900	-1.1813880	-0.5616900
31	H	5.9063350	-2.2624380	-0.7185620
32	C	4.7750080	-0.4771030	-0.4941510
33	H	4.8398780	0.6064060	-0.3349860
34	C	3.4548460	-1.0193230	-0.6000920
35	C	2.3777630	-0.1531150	-0.4918490
36	H	2.6211640	0.9054200	-0.3364490

37	C	0.9982740	-0.4667810	-0.5490550
38	H	0.6985580	-1.5096410	-0.6981610
39	C	-0.0084460	0.4688570	-0.4204880
40	H	0.2874000	1.5127180	-0.2715130
41	C	-1.3861000	0.1450640	-0.4629160
42	H	-1.6217410	-0.9168730	-0.6072010
43	C	-2.4708910	0.9994540	-0.3371000
44	C	-3.7829530	0.4341490	-0.3926970
45	H	-3.8341100	-0.6520040	-0.5383740
46	C	-4.9743890	1.1131910	-0.2755050
47	H	-4.9494940	2.1961320	-0.1277210
48	C	-6.2374570	0.4637210	-0.3335850
49	H	-6.2089830	-0.6229850	-0.4811050
50	C	-7.4935500	1.0288570	-0.2238460
51	C	-8.6275320	0.1516620	-0.3091280
52	H	-8.4258380	-0.9155660	-0.4599990
53	C	-9.9425910	0.5019780	-0.2242560
54	H	-10.2315630	1.5435670	-0.0790740
55	C	-10.9989330	-0.5253860	-0.3291090
56	C	8.6501840	-2.6656950	-0.6571850
57	H	9.2955610	-2.8652510	-1.5276140
58	H	9.1413310	-3.1279440	0.2150340
59	H	7.6999210	-3.1872980	-0.8181810
60	C	3.2902210	-2.5017350	-0.8168670
61	H	3.7778060	-2.8170070	-1.7533350
62	H	3.7635780	-3.0718810	-0.0014710
63	H	2.2391300	-2.8068230	-0.8696460
64	C	-2.3224150	2.4861140	-0.1391620
65	H	-2.8443090	3.0410420	-0.9351650
66	H	-2.7691460	2.8021080	0.8173840
67	H	-1.2751390	2.8089360	-0.1413650
68	C	-7.7225220	2.5032460	-0.0198900
69	H	-6.7884280	3.0756070	0.0223250
70	H	-8.3353100	2.9195900	-0.8356750
71	H	-8.2732180	2.6883470	0.9166610
72	C	-12.4836970	-0.0808720	-0.2445290
73	C	-13.3657960	-1.1371820	-0.9692710
74	H	-12.8028190	-2.0805780	-1.0261550
75	C	-14.6037060	-1.3464490	-0.1116610
76	C	-14.0327410	-1.2742430	1.3033850
77	C	-12.6794800	1.2916610	-0.9186620
78	H	-12.2341280	2.1266070	-0.3605520
79	H	-12.2264660	1.2815190	-1.9225420
80	H	-13.7509340	1.4977760	-1.0395430
81	C	-12.9812410	-0.1286950	1.3032370
82	H	-13.5383190	-2.2355370	1.5236360
83	H	-14.8067220	-1.1243260	2.0755440
84	H	-13.6272250	-0.8291920	-1.9923620



85	O	-10.7056930	-1.7180700	-0.4569650
86	C	-11.8650490	-0.4554560	2.3121780
87	H	-11.3520140	-1.3965630	2.0688390
88	H	-11.1081320	0.3428950	2.3580380
89	H	-12.2995970	-0.5567480	3.3197220
90	C	-13.6453230	1.1869360	1.7520270
91	H	-14.4974340	1.4556300	1.1148610
92	H	-14.0162180	1.0665120	2.7828090
93	H	-12.9323780	2.0253700	1.7615030
94	H	13.6865400	1.0576770	2.2596350
95	H	13.9622960	2.4849140	-1.1886000
96	H	15.2261130	0.5936100	-0.3377100
97	O	-15.5342180	-0.2808950	-0.3988050
98	H	-16.2639790	-0.3651220	0.2382250
99	H	-15.0851690	-2.3218650	-0.3160570

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 20- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada da pelargonidina.

Número do átomo	Elemento	Coordenadas cartesianas (Å)		
		X	Y	Z
1	C	0.0427530	1.7497960	0.0000180
2	C	-1.3414980	1.8647190	0.0000130
3	C	-2.1683940	0.7320590	0.0000020
4	C	-1.5520340	-0.5439190	-0.0000100
5	C	0.6412800	0.4571220	0.0000120
6	H	-1.8040200	2.8556260	0.0000150
7	C	-3.5972030	0.7751120	0.0000010
8	C	-2.2581860	-1.7345700	-0.0000130
9	C	-3.6564850	-1.6533480	-0.0000060
10	C	-4.3238830	-0.4043250	-0.0000010
11	H	-1.7575640	-2.7013620	-0.0000210
12	H	-5.4173180	-0.3746900	0.0000010
13	O	-4.3260860	-2.8224600	-0.0000110
14	O	-4.1450740	2.0122160	0.0000110
15	O	0.8587470	2.8355010	0.0000210
16	C	2.0352500	0.1001100	-0.0000060
17	C	2.4039610	-1.2768980	0.0000380
18	C	3.0790970	1.0649980	-0.0000460
19	C	3.7245800	-1.6660250	0.0000250
20	H	1.6292350	-2.0419540	0.0000740
21	C	4.4056260	0.6755800	-0.0000600
22	H	2.8438940	2.1247990	-0.0000660
23	C	4.7445980	-0.6907030	-0.0000560
24	H	4.0060000	-2.7197870	0.0000630
25	H	5.1938190	1.4329970	-0.0000700
26	O	6.0125630	-1.1370980	0.0000340

27	H	-5.2875030	-2.6617650	-0.0000120
28	H	-5.1172170	1.9475000	0.0000180
29	H	0.3160090	3.6450710	0.0000210
30	H	6.6320940	-0.3831380	0.0001550
31	O	-0.1894260	-0.6158520	-0.0000100

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 21- Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada da piperina.

Número do átomo	Elemento	Coordenadas cartesianas (Å)		
		X	Y	Z
1	C	5.2771530	-0.5208210	0.0254150
2	C	5.5085210	0.8515040	-0.0785720
3	C	4.4639170	1.7609940	-0.1345750
4	C	3.1640150	1.2423260	-0.0865390
5	C	2.9064830	-0.1414170	0.0180640
6	C	4.0037530	-1.0452930	0.0762450
7	C	7.4859920	-0.1932460	-0.1368620
8	H	4.6507290	2.8324380	-0.2134120
9	H	2.3266700	1.9395060	-0.1378960
10	H	3.8378400	-2.1204620	0.1614930
11	H	7.9261790	-0.3405360	-1.1401260
12	O	6.4782330	-1.1923660	0.0961440
13	O	6.8583060	1.1041750	-0.0825070
14	H	8.2517450	-0.2573020	0.6502760
15	C	1.5622940	-0.6963940	0.0665370
16	H	1.5125030	-1.7906460	0.1216420
17	C	0.3759630	-0.0300130	0.0538790
18	H	0.3604700	1.0647590	0.0051890
19	C	-0.8910280	-0.6996140	0.1042210
20	H	-0.8989520	-1.7951030	0.1485850
21	C	-2.1005990	-0.0860260	0.0964040
22	H	-2.1530220	1.0038220	0.0426000
23	C	-3.3398260	-0.9021000	0.1296250
24	O	-3.3006340	-2.1413040	0.1125080
25	C	-4.6767580	1.2396430	0.2170760
26	C	-5.7785400	-1.0101190	0.0616400
27	C	-6.0987710	1.6318300	0.6251010
28	H	-3.9636670	1.6492260	0.9477410
29	C	-6.7709600	-0.3177680	-0.8729870
30	H	-5.4807630	-2.0007860	-0.3048340
31	C	-7.1519090	1.0936620	-0.3603620
32	H	-6.2906210	1.2390360	1.6367510
33	H	-7.6656440	-0.9484370	-0.9868140
34	H	-8.1340460	1.0730620	0.1370040
35	N	-4.5454600	-0.2240660	0.1693320
36	H	-6.2291360	-1.1618430	1.0608640

37	H	-6.3087130	-0.2473140	-1.8707410
38	H	-7.2528110	1.7836370	-1.2131880
39	H	-6.1594400	2.7282490	0.7005710
40	H	-4.4365340	1.6902330	-0.7660520

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

## APÊNDICE C – Súmula curricular

### DADOS PESSOAIS

Nome: Mariana Toledo Clemente Campos

Local e data de nascimento: Juiz de Fora- MG, 31 de março de 1994.

### EDUCAÇÃO

Ensino Médio realizado no Colégio Professor Ricardo Musse, Juiz de Fora- MG, 2009-2011.

Bacharela e Licenciada em Química pela Universidade Federal de Juiz de Fora (2017/2023), mestre em Química (área de concentração Físico-Química) pela mesma instituição (2020).

### ARTIGOS PUBLICADOS

1. **Campos, M. T. C.**; Maia, L. F.; Popović-Djordjević, J.; Edwards, H.G. M.; de OLIVEIRA, L. F.C. Ripening process in exocarps of scarlet eggplant (*Solanum aethiopicum*) and banana (*Musa spp.*) investigated by Raman spectroscopy. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 2024.
2. **Campos, M. T. C.**; Maia, L. F.; dos Santos, H. F.; Edwards, H. G. M.; de Oliveira, L. F. C. Revealing the chemical synergism in coloring tomatoes by Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 54, p. 1314-1326, 2022.
3. Maia, L. F.; Gonzaga, T. A.; **Campos, M. T. C.**; Lobo'hajdu, G.; Edwards, H.G. M.; de Oliveira, L. F. C. Coloration patterns of marine sponges assessed by vibrational spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 1, p. jrs.6143, 2021.
4. Garcia, H. C.; **Campos, M. T. C.**; Edwards, H.G. M.; de Oliveira, L. F. C. Vibrational and structural properties of barbiturate anions in supramolecular compounds. *Vibrational Spectroscopy*, v. 86, p. 134-142, 2016.

**RESUMOS PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSOS**

1. Maia, L. F.; Oliveira, R.; **Campos, M. T. C.**; Ribeiro, R. C.; Santana, A. C.; de Oliveira, L. F. C.; Rezende, C. M. Raman and surface-enhanced Raman scattering spectroscopy characterization of the metabolic profile of Coffea arabica green beans. In: 46<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2023, Águas de Lindóia. 46<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2023.
2. **Campos, M. T. C.**; Maia, L. F.; de Oliveira, L. F. C. Identificação dos precursores biossintéticos de carotenoides através da espectroscopia Raman. In: XVII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química Rio de Janeiro, 2019, Rio de Janeiro. XVII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química Rio de Janeiro, 2019.
3. **Campos, M. T. C.**; Maia, L. F.; de Oliveira, L. F. C. Espectroscopia Raman aplicada ao estudo de carotenos do tomate. In: XXXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química Minas Gerais, 2018, Juiz de Fora. XXXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química Minas Gerais, 2018.
4. **Campos, M. T. C.**; Maia, L. F.; de Oliveira, L. F. C.; Moragas, C. J.; Chagas, M. S.; Behrens, M. D. Raman Spectroscopy as a Tool in the Characterization of Flavonoids and Carotenoids from Leaves of Arrabidaea chica. In: 46th World Chemistry Congress, 40<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química and IUPAC 49th General Assembly, 2017, São Paulo-SP. 46th World Chemistry Congress, 40<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2017.