

Caracterização de Compostos Fenólicos e Triterpenos em Pêssegos e Nectarinas do Banco de Germoplasma da Embrapa



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Clima Temperado
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
292**

**Caracterização de Compostos Fenólicos
e Triterpenos em Pêssegos e Nectarinas
do Banco de Germoplasma da Embrapa**

*Silvia Scariotto
Bénédicte Quilot-Turion
Jean-Luc Poëssel
Maria do Carmo Bassols Raseira
Maximiliano Dini
Fernanda Roth*

**Embrapa Clima Temperado
Pelotas, RS
2018**

Embrapa Clima Temperado 28
BR 392 km 78 - Caixa Postal 403
CEP 96010-971, Pelotas, RS
Fone: (53) 3275-8100
www.embrapa.br/clima-temperado
www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê Local de Publicações

Presidente
Ana Cristina Richter Krolow

Vice-Presidente
Enio Egon Sosinski

Secretário-Executivo
Bárbara Chevallier Cosenza

Membros
*Ana Luiza B. Viegas, Fernando Jackson,
Marilaine Schaun Pelufê, Sonia Desimon*

Revisão de texto
Bárbara Chevallier Cosenza

Normalização bibliográfica
Marilaine Schaun Pelufê

Editoração eletrônica
Nathália Santos Fick (estagiária)

Foto capa
Silvia Scarioto

1ª edição
Obra digitalizada (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Clima Temperado

C257 Caracterização de compostos fenólicos e triterpenos em pêssegos e nectarinas do Banco de Germoplasma da Embrapa / Silvia Scariotto... [et al.]. – Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2018. 26 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Clima Temperado, ISSN 1678-2518 ; 292)

1. Pêssego. 2. Nectarina. 3. Fruta de clima temperado. 4. Composto fenólico. I. Scariotto, Silvia. II. Série.

CDD 634.2

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução.....	8
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	12
Conclusões.....	16
Referências	16

Caracterização de Compostos Fenólicos e Triterpenos em Pêssegos e Nectarinas do Banco de Germoplasma da Embrapa¹

Silvia Scariotto²

Bénédicte Quilot-Turion³

Jean-Luc Poëssel⁴

Maria do Carmo Bassols Raseira⁵

Maximiliano Dini⁶

Fernanda Roth⁷

Resumo – Os compostos fenólicos de frutas de 97 cultivares e seleções de pessegueiro e 18 de nectarineira, com diferentes colorações de polpa e de película, foram estudados e quantificados em cromatografia líquida de alta eficiência, com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD), e identificados usando-se cromatografia líquida de alta eficiência, acoplada à ionização por electrospray – espectrometria de massa (HPLC-ESI-MS). Foram identificados trinta compostos, incluindo cinco ácidos hidroxicinâmicos, três flavan-3-ols, duas antocianinas, nove flavonoides, seis triterpenoides, quatro triterpenos e uma flavalignina. A composição fenólica dos acessos variou bastante tanto qualitativamente como quantitativamente, entre os genótipos. Os compostos fenólicos foram mais abundantes na película do que na polpa, tanto em pêssegos como em nectarinas. Os ácidos neoclorogênico e clorogênico, catequina e procianidina B1 estavam presentes em todos os genótipos e nos dois tipos de tecido, epiderme e polpa. Altas quantidades de ácido oleanólico e ursólico foram encontradas na epiderme. De um modo geral, as nectarinas

¹ Projeto Chamada 12/2015 - Cooperação Internacional – Embrapa/Fundação Agropolis.

² Engenheira-agrônoma, mestre em Agronomia, doutora em Fitomelhoramento, bolsista de pós-doutorado da UTFPr, Campus Pato Branco, PR, Brasil.

³ Doutora em Agronomia, pesquisadora do Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Avignon, França.

⁴ Doutor em Agronomia, pesquisador do Institut National de la Recherche Agronomique (INRA, Avignon, França.

⁵ Engenheira-agrônoma, doutora em Fitomelhoramento, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil.

⁶ Engenheiro-agrônomo, mestre em Fruticultura, doutorando em Fitomelhoramento, UFPel, RS, Brasil.

⁷ Engenheira-agrônoma, mestre em Fruticultura, funcionária da Yara Brasil Fertilizantes, RS, Brasil.

tinham maiores quantidades de flavonoides e antocianinas do que os pêssegos. Ao contrário, pêssegos se mostraram mais ricos do que as nectarinas, em flavan-3-ols e triterpenos. Estão sendo conduzidos estudos para verificar a possível influência desses compostos químicos na reação à infecção por *Monilinia*.

Termos para indexação: genótipos, composição química, antioxidantes.

Characterization of Phenolic and Triterpenoid Compounds in Peaches and Nectarines from the Embrapa Collection

Abstract – The phenolic compounds of 97 peach and 18 nectarine cultivars and selections, with different flesh and skin colors, were studied and quantified by high performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD) and identified by high performance liquid chromatography – electrospray tandem mass spectrometry (HPLC-ESI-MS). Thirty compounds were identified, including five hydroxycinnamic acids, three flavan-3-ols, two anthocyanins, nine flavonols, six triterpenoids, four triterpenes and one flavonolignan. The phenolic composition of the accesses varied greatly, both qualitatively and quantitatively, between genotypes. Phenolic compounds in peach and nectarine skin tissues were more abundant than in flesh tissues. The neochlorogenic and chlorogenic acids, catechin and procyanidins B1 were present in all genotypes and in both tissue types, skin and flesh. High quantities of oleanolic and ursolic acids were detected in the skin. Overall, nectarines had larger amounts of flavonoids and anthocyanins than peaches. On the contrary, peaches proved to be richer in flavan-3-ols and derivatives of triterpenoids than nectarines. Studies are being conducted in order to verify a possible influence of these chemicals on the reaction to *Monilinia* infection.

Index terms: genotypes, chemical composition, antioxidants

Introdução

O pessegueiro, *Prunus persica* (L.) Batsch, foi domesticado na China, há mais de 7.500 anos (Zheng et al., 2014) e, atualmente, é uma das espécies frutíferas mais cultivadas, em regiões de clima temperado e subtropical do mundo. Os frutos dessa espécie são conhecidos pelos seus atributos em relação à saúde humana, contribuindo com fibras, vitaminas e compostos fenólicos (Gil et al., 2002). Seu consumo contribui para o aumento da ingestão de antioxidantes na dieta. Com a crescente preocupação do consumidor com a saúde e bem-estar, o consumo de frutas vem aumentando, devido ao seu valor nutricional, alto teor de fibras, vitamina C e carotenoides. Com isso, nos últimos anos, tem sido dada maior atenção para os alimentos conhecidos como funcionais. O consumo regular desses está associado à redução da mortalidade e da morbidade por algumas doenças crônicas não transmissíveis (Vieira et al., 2011; Neves, 2012). O efeito protetor exercido por esses alimentos tem sido atribuído, principalmente, à presença de fitoquímicos com ação antioxidante (Di Vaio et al., 2008).

Dentre os compostos com atividade antioxidante estão os compostos fenólicos, que constituem um grande e heterogêneo grupo de metabólitos secundários, amplamente distribuídos no reino vegetal (Rababah et al., 2005). Possuem ampla variedade de estruturas e estão ligados à aparência visual (pigmentos), sabor (pela adstringência) e propriedades promotoras de saúde (Tomás-Barberán et al., 2001). Nesse grupo, podemos citar os ácidos fenólicos e flavonoides como os principais compostos (Rababah et al., 2005).

Os triterpenos também são um importante grupo de fitoquímicos amplamente distribuídos em frutas e verduras. Eles ocorrem especialmente na epiderme (casca) de muitas frutas, em que são constituintes da cutícula. Esses compostos têm mostrado atividades hepatoprotetoras, anti-inflamatórias, antioxidantes e anticancerígenas (Ikeda et al., 2008; Pollier; Goossens, 2012; He; Liu, 2007), além de incontestável ação antimicrobiana (Jesus et al., 2015).

Em plantas, há trabalhos que mostram que esses compostos podem influenciar a resistência a patógenos. Gradziel et al. (2003), trabalhando com *Monilinia fructicola* em pêssegos, notaram menor suscetibilidade ao fungo, quando altos níveis de compostos fenólicos estavam presentes. Anteriormente, outros autores observaram que o ácido clorogênico, quando

presente em altas concentrações, nos frutos imaturos e em estágio de maturação, em combinação com fenólicos e outros fatores, tais como o ferro, interferiram na resistência à podridão-parda por manter *M. fructicola* sob a forma de infecções quiescentes (Bostock et al., 1999).

A concentração desses compostos tem ampla variação entre genótipos de pessegueiro (Tavarini et al., 2008). Em trabalho realizado por Gil et al. (2002), foi mostrado que há diferenças significativas nos compostos encontrados em pêssegos e nectarinas, assim como ocorrem diferenças entre frutos de diferentes cultivares da mesma variedade botânica. Contudo, até o presente, estudos buscando identificar e quantificar esses compostos foram realizados com um número pequeno de cultivares e de compostos, limitando concluir-se sobre a tendência geral, bem como extrapolar sobre a variabilidade genética dos perfis fenólicos de pêssegos e nectarinas, presentes no germoplasma conservado na Embrapa.

Dada a importância da podridão de frutas, causada por *Monilinia*, em mais de cem genótipos do programa de melhoramento da Embrapa, foi realizada a inoculação das frutas com uma suspensão de esporos de *M. fructicola*.

Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi identificar e quantificar compostos fenólicos na epiderme e polpa de 115 acessos da coleção da Embrapa, visando, em uma etapa posterior do trabalho, relacioná-los com a maior ou menor resistência desses acessos a *Monilinia fructicola*.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado durante o ciclo 2014/2015, utilizando-se amostras de frutos de 115 acessos do banco de germoplasma da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Brasil, sendo que, desses, 97 são acessos de pessegueiro e 18 são de nectarineiras (Tabela 1).

Preparo das amostras: foram colhidas cinco frutas maduras de cada acesso de pessegueiro e nectarineira, atentando-se para a uniformidade de maturação, ausência de danos por doença ou danos mecânicos. As frutas foram descascadas finamente, e a epiderme foi imediatamente congelada em nitrogênio líquido. Da polpa de cada fruto também foi coletada uma amostra,

cortando-se uma fatia vertical de cada lado do mesmo, também imediatamente congeladas em nitrogênio líquido. Depois de congeladas, as amostras foram armazenadas em ultrafreezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a liofilização e, após secas, foram moídas.

Extração de compostos fenólicos da epiderme: a extração dos compostos foi feita em laboratório do Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Avignon, França. Cem miligramas (100 mg) da epiderme liofilizada foram homogeneizados em Ultra-turrax (IKA labortechnik, JK Jank and Kunkel) por 1 minuto, com 8 mL da solução de extração (água/etanol 3:7 v/v). Em seguida, as amostras foram colocadas em agitador rotatório, sob condições controladas, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 4 horas. Após esse período, foram centrifugadas (5.000 rpm por 5 minutos, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$). O volume do sobrenadante foi cuidadosamente removido para evitar contaminação e colocado em tubo de ensaio (12 mL). Os tubos foram colocados em concentrador a vácuo, para evaporação do etanol. O resíduo resultante foi dissolvido em 1.000 μL de metanol e em seguida filtrado (em membrana PTFE 0,45 μm), e o filtrado colocado em recipiente de 1,5 mL e conservado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até processamento das análises.

Extração de compostos fenólicos da polpa: os compostos fenólicos foram extraídos em três fases. Uma amostra de 250 mg de polpa liofilizada foi pesada. O material foi homogeneizado em Ultra-turrax com 3 mL de solução de extração (água/etanol 3:7 v/v) por 1 minuto. Em seguida, as amostras foram colocadas em agitador rotatório, em condições controladas, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 minutos; após esse período, foram centrifugadas (5.000 rpm por 5 minutos, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$). O sobrenadante foi cuidadosamente recuperado para evitar a contaminação com o sedimento. Numa segunda fase, adicionou-se mais 3 mL de solução de extração no sedimento e homogeneizou-se novamente durante 1 minuto. O material homogeneizado foi colocado novamente para agitar (nas mesmas condições anteriores), e o sobrenadante foi recuperado. Na terceira fase, mais 3 mL da solução de extração foram adicionados ao sedimento, foi feita nova homogeneização e centrifugação (mesmas condições) e o volume do sobrenadante foi recuperado.

O total coletado, de cada amostra, foi colocado em tubos de ensaio, os quais foram levados ao concentrador para evaporação do álcool. O material resultante foi dissolvido em 700 μL de metanol mais 300 μL de água ultrapura e filtrado (membrana PTFE 0,45 μm), e o filtrado obtido foi coletado em

recipiente de 1,5 mL para análise no HPLC, conservando-o a -20°C até o momento de se realizar as análises.

Determinação dos compostos fenólicos por análise em HPLC: amostras de 10 μL dos extratos foram analisadas por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). O HPLC (marca SHIMADZU- Prominence) estava equipado com uma coluna C18 (MERCK Superspher RP18 end capped), acoplado a um detector fotodiodo operado por Shimadzu software (LC Solutions). O conteúdo do extrato foi medido por procedimento HPLC, desenvolvido para quantificação de compostos fenólicos em pêssegos, em uma alíquota de 10 μL do extrato filtrado. A coluna foi mantida a 30°C . Para as fases móveis foi usada água acidificada com pH 2,6 (com H_3PO_4 85%), considerada solvente A, e metanol 100% (Prolabo Hypersolv Chromanorm), como Solvente B. A eluição isocrática foi realizada com base em tempos diferentes e em gradiente linear (Tabela 2).

Os extratos metanólicos foram analisados simultaneamente para formas livres e conjugadas de triterpenoides (210 nm), flavan-3-ols (280 nm), ácidos hidroxicinâmicos (315 nm), flavonóis (350 nm) e antocianinas (520 nm). Os compostos fenólicos foram caracterizados de acordo com os seus espectros de UV e massa, tempos de retenção e co-cromatografia com padrões conhecidos, quando disponíveis, e os resultados expressos em $\mu\text{g}/100 \text{ mg g}^{-1}$ de matéria seca (epiderme ou polpa).

Identificação dos compostos em HPLC-ESI-MS: a identificação de compostos fenólicos e triterpenoides foi realizada usando-se cromatografia líquida de alta eficiência, acoplada à ionização por electrospray (HPLC-ESI-MS), em um espectrômetro de massas (Waters-ACQUITY-UPLC), acoplado a uma matriz de diodos UV-vis e um espectrômetro de massas com armadilha de íons ultra-hônicos HCT, equipado com uma fonte de ionização por electropulverização (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). O espectrômetro de massas foi operado com fonte de ionização electrospray operando no modo negativo com voltagem capilar de 2kV, taxa de fluxo de nitrogênio de 10 L min^{-1} , temperatura de dessolvatação 365°C , e pressão de nebulização de 50 psi, com varredura na faixa de 100 a 1.000 m/z.

O teor de compostos fenólicos individuais na epiderme e polpa dos diferentes acessos de pessegueiro e nectarineira foi analisado por HPLC-DAD, e para a amostra específica de 'Casca 1281' foi realizada análise por HPLC-

ESI-MS, considerada como método simples e preciso para a identificação dos fenólicos.

Análise estatística: as análises estatísticas e gráficos das variáveis foram realizados utilizando-se software R (R Development Core Team 2006).

Resultados e Discussão

Identificação de fenólicos e triterpenoides presentes na epiderme e polpa de pêssegos e nectarinas.

A análise por HPLC-ESI-MS, para a amostra da seleção 'Cascata 1281', permitiu a identificação de cerca de 60 compostos. Desses, 30 foram escolhidos para caracterizar os genótipos, com base na facilidade de integrar os picos de concentração (Tabela 3).

No grupo das antocianinas, foram identificados dois picos, correspondendo a Cianidina-3-glucosídeo e Cianidina-3-rutinosídeo. Estudos anteriores já haviam demonstrado a presença dessas duas cianidinas em pêssegos e nectarinas (Tomás-Barberán et al., 2001; Andreotti et al., 2008; Zhao et al., 2015). Os pigmentos antocianínicos foram mais presentes na epiderme das frutas. Entretanto, pequenas quantidades foram detectadas também na polpa, principalmente próximas ao caroço (endocarpo).

Os flavonoides foram encontrados, principalmente, na epiderme, sendo nove no total, enquanto na polpa foram encontrados apenas dois. Dentro desse grupo, três derivados de quercetina foram identificados: a Quercetina-3-galactosídeo, a Quercetina-3-glicosídeo e a Quercetina-3-rutinosídeo. A presença dessas três quercetinas é comum em frutas, como ameixas (Venter et al., 2014; Tomás-Barberán et al., 2001), amêndoas (Milbury et al., 2006) e pêssegos (Zhao et al., 2015). Ainda nesse grupo, os três glicosídeos de kaempferol também foram identificados e corresponderam a Kaempferol-3-galactosídeo, Kaempferol-3-glicosídeo e Kaempferol-3-rutinosídeo. Também foram encontradas duas isoramnetinas correspondentes, Isoramnetin-3-glicosídeo e Isoramnetin-3-rutinosídeo. Resultados semelhantes foram obtidos em damasqueiro, sendo que, nesse caso, foram encontrados apenas

na epiderme (Ruiz et al., 2005). Os flavonoides influenciam nas qualidades sensoriais dos alimentos e bebidas, principalmente no que se refere ao amargor e à adstringência (Drewnowski; Gomez-Careros, 2000). Contudo, apresentam varios beneficios à saúde, tais como, ação preventiva contra câncer (Jang et al., 1997), ação antimitótica (Edwards et al., 1990), atividade estrogênica (Gehm et al., 1997), antimalária (Li et al., 2014), antioxidante (Jang et al., 1997) e atividade antiasmática. (Zwaagstra et al., 1997).

No grupo dos flavan-3-ol, catequina, procianidina B1 e procianidina dimer foram detectados em ambos os tipos de amostra, epiderme e polpa. A identificação da terceira procianidina dimer foi incompleta. A ocorrência de outras procianidinas, como B2, B3 e B4, já foi relatada em pêssegos por Bengoechea et al. (1997) e é possível que a procianidina B2 possa coincidir com um dos dímeros de procianidina não identificados, detectados na análise HPLC-ESI-MS. Outros compostos menores foram identificados por ESI-MS, com espectro característico de Flavan-3-ol, como epicatequina, mas as concentrações presentes nos acessos avaliados era pequena e, com isso, não foi quantificada. A presença desses compostos pode trazer beneficios à saúde, pois estudos demonstraram alta correlação desses compostos com a atividade antioxidante dos pêssegos e nectarinas, sendo maior a correlação desses com a atividade antioxidante, quando comparada com os compostos do grupo dos flavonóis e antocianinas (Zhao et al., 2015).

Cinco derivados do ácido hidroxicinâmico foram encontrados, sendo os de maiores concentrações o ácido neoclorogênico e o ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico), respectivamente. A ocorrência do ácido clorogênico e ácido neoclorogênico, em pêssego, está bem documentada (Tomás-Barberán et al., 2001; Villarino et al., 2011; Zhao et al., 2015). Outras espécies frutíferas também são ricas em ácidos hidroxicinâmicos, como cerejas e ameixas (Villarino et al., 2011). A ESI-MS detectou também a presença de um estereoisômero do ácido clorogênico, identificado como ácido cis-5-O-cafeoylquínico. Nesse grupo, com exceção do 3,5-dicafeoilquínico, que estava presente somente na epiderme, todos os demais foram encontrados nos dois tecidos dos frutos analisados. Os ácidos hidroxicinâmicos são metabólitos secundários que constituem o subgrupo dos ácidos fenólicos mais encontrados no reino vegetal. Eles apresentam papel importante na biossíntese de sistemas fenólicos mais complicados (Teixeira et al., 2013).

Já os triterpenos foram identificados apenas na epiderme dos acessos estudados, o que condiz com resultados de diversos autores que apontam a película das frutas, incluindo ceras cuticulares, como sendo a parte das frutas mais rica nesses compostos (Jäger et al., 2009; Szakiel et al., 2012). É interessante salientar que, segundo alguns autores, em pêssego, a estrutura da cutícula parece ter relação com a resistência à podridão-parda (Gradziel et al., 1998; Santos et al., 2012). Os triterpenos são também utilizados para fins medicinais, em diversos países asiáticos, por seu efeito anti-inflamatório, analgésico, antipirético, hepatoprotetivo, cardiotônico, sedativo e tônico (Ovensná et al., 2004). Estudos recentes têm citado outras atividades biológicas desses compostos, incluindo antioxidante, antimicrobiana, antiviral, antialérgica, antiangiogênica e espasmolítica (Sultana; Ata, 2008; Shah et al., 2009).

Distribuição da frequência dos compostos fenólicos na coleção estudada

Nos 115 acessos estudados, a concentração de Cianidina-3-glucosídeo foi muito variável, com amplitude de 0 a 5.250,07 $\mu\text{g}/100 \text{ mg g}^{-1}$ de peso seco, na epiderme, e de 0 a 185,07 $\mu\text{g}/100 \text{ mg g}^{-1}$ na polpa, dependendo do acesso. Catequina e procianidina B1 foram os compostos do grupo flavan-3-ol com maiores concentrações, detectados nos acessos em questão. O conteúdo de catequina variou de 144,11 a 3.105,41 $\mu\text{g}/100 \text{ mg g}^{-1}$ peso seco na epiderme, e de 19,84 a 1.174,64 $\mu\text{g}/100 \text{ mg g}^{-1}$ na polpa. O conteúdo de procianidina B1 variou de 31,92 a 2.130 e de 9,6 a 1.054,42 $\mu\text{g}/100 \text{ mg g}^{-1}$ em peso seco, na epiderme e na polpa, respectivamente (Figura 1).

Quercetina-3-galactosídeo e quercetina-3-glucosídeo foram os flavonoides mais encontrados na epiderme, variando de 13,09 a 937,77, e de 15,82 a 911,14 $\mu\text{g}/100 \text{ mg g}^{-1}$ de peso seco, respectivamente. Contudo, a maioria dos acessos apresentou concentração abaixo de 100 $\mu\text{g}/100 \text{ mg g}^{-1}$ para quercetina 3-glicosídeo, sendo que essa também foi detectada na polpa de alguns acessos (Figura 1). Os resultados corroboram estudos anteriores em pêssegos (Zhao et al., 2015).

Os kaempferols foram também obtidos nos acessos analisados, mas em quantidades muito menores do que os outros flavonoides, na maioria dos acessos foi abaixo de 50 $\mu\text{g}/100 \text{ mg g}^{-1}$ de matéria seca, com exceção do

Kaempferol-3-rutinosídeo, que esteve em maior quantidade de acessos com concentrações acima de $100 \mu\text{g}/100 \text{mg g}^{-1}$ de matéria seca (Figura 1).

Dos hidroxicinamatos, o ácido clorogênico, seguido do neoclorogênico, foram os mais abundantes nos acessos de pêsego e nectarina analisados, o que concorda com os estudos de Tomás-Barberán et al. (2001) e Rossato et al., (2009). Grandes variações entre os acessos foram encontradas para as concentrações desses compostos, sendo que o ácido clorogênico variou de 601,07 a 6.166,43 $\mu\text{g}/100 \text{mg g}^{-1}$ na epiderme, e de 145,23 a 2.386,83 $\mu\text{g}/100 \text{mg g}^{-1}$ peso seco na polpa. A maior concentração foi observada na epiderme das frutas da seleção 'Necta 3973', e das cultivares 'Sunblaze' e 'Premier'. Para o ácido neoclorogênico, as concentrações variaram de 8,38 a 88,29 $\mu\text{g}/100 \text{mg g}^{-1}$ na epiderme, e de 39,40 a 1.159,91 $\mu\text{g}/100 \text{mg g}^{-1}$ em peso seco da polpa (Figura 1).

Os triterpenos e seus derivados foram encontrados apenas na epiderme. O ácido ursólico foi o triterpeno com as maiores concentrações, variando de 2.031,021 a 10.687,18 $\mu\text{g}/100 \text{mg g}^{-1}$ peso seco, sendo que as mais altas foram encontradas em frutas de 'Suncoast', 'Necta 496', 'Necta 508' e 'Dourado II'. Do ácido oleanólico foram obtidas concentrações entre 1.224,33 e 4.545,72 $\mu\text{g}/100 \text{mg g}^{-1}$ e os maiores conteúdos foram em frutos dos acessos 'Tropic Blush', 'Leonense' x 'Bolinha' planta 18, 'Sensação', 'Olimpia' e 'Sentinela'.

Os resultados obtidos evidenciam o efeito genético sobre os perfis fenólicos, bem como os do tipo de tecido analisado. Essa variabilidade genética pode ser usada positivamente nos programas de melhoramento para alguns aspectos práticos da cultura.

Em resumo, foram quantificados, dependendo do genótipo em torno de 30 compostos, incluindo triterpenos, hidroxicinamatos, antocianinas, flavon-3-óis e flavonoides. Entre esses, alguns flavonoides e triterpenos foram identificados pela primeira vez, em pêsegos. Foi observada uma ampla diversidade de concentração entre os acessos avaliados.

As correlações, se existentes, entre esses compostos presentes nos frutos e os parâmetros obtidos na inoculação dos frutos com *M. fructicola*, (diâmetro da lesão e esporulação do fungo), permitirão estabelecer se alguns desses compostos presentes na epiderme têm importante papel no controle

da doença. Numa fase seguinte, a atividade desses compostos, na inibição ou não do fungo, deverá ser testada in vitro.

Conclusões

Os tecidos da epiderme de pêssegos e nectarinas têm maior concentração de compostos do que os tecidos da polpa.

Os ácidos neoclorogênico e clorogênico, catequina e procianidinas B1 estão presentes em todos os acessos e em ambos os tecidos avaliados.

Ácido oleanólico e ursólico estão presentes em grandes concentrações na epiderme, tanto de pêssegos como de nectarinas.

Referências

ANDREOTTI, C.; RAVAGLIA, D.; RAGAINI, A.; COSTA, G. Phenolic compounds in peach (*Prunus persica*) cultivars at harvest and during fruit maturation. **Annals of Applied Biology**, v. 153, p. 11–23, 2008.

BENGOECHEA, M. L.; SANCHO, A. I.; BARTOLOMÉ, B.; ESTRELLA, C.; GÓMEZ-CORDOVÉS, T.; HERNÁNDEZ, J. Phenolic composition of industrially manufactured purees and concentrates from peach and apple fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 4071–4075, 1997.

BOSTOCK, R. M.; WILCOX, S. M.; WANG, G.; ADASKAVEG, J. E. Suppression of *Monilinia fructicola* cutinase production by peach fruit surface phenolic acids. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 54, p. 37–50, 1999.

DI VAIO, C.; GRAZIANI, G.; MARRA, L.; CASCONI, A.; RITIENI, A. Antioxidant capacities, carotenoids and polyphenols evaluation of fresh and refrigerated peach and nectarine cultivars from Italy. **European Food Research and Technology**, v. 227, p. 1225–1231, 2008.

DREWNOWSKI, A.; GOMEZ-CARNEROS, C. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, p. 1424–1435, 2000.

EDWARDS, M. L.; STEMERICK, D. M.; SUNKARA, P. S. Chalcones: a new class of antimetabolic agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 33, p. 1948–1954, 1990.

GEHM, B. D.; MCANDREWS, J. M.; CHIEN, P. Y.; JAMESON, J. L. Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, p. 14138–14143, 1997.

GIL, M. I.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A. A. Antioxidant Capacities, Phenolic Compounds, Carotenoids, and Vitamin C Contents of Nectarine, Peach, and Plum

- Cultivars from California. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 17, p. 4976–4982, 2002.
- GRADZIEL, T. M.; BOSTOCK, R. M.; ADASKAVEG, J. E. Resistance to Brown Rot Disease in Peach is determined by Multiple Structural and Biochemical Components. **Acta Horticulturae**, v. 622, p. 347-352, 2003.
- GRADZIEL, T. M.; THORPE, M. A.; BOSTOCK, R. M.; WILCOX, S.; MONETL, R. Breeding for brown rot (*Monilinia fructicola*) resistance in clingstone peach with emphasis on the role of fruit phenolics. **Acta Horticulturae**, n. 465, p. 161-170, 1998.
- HE, X. J.; LIU, R. H. Triterpenoids isolated from apple peels have potent antiproliferative activity and may be partially responsible for apple's anticancer activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 4366-4370, 2007.
- IKEDA, Y.; MURAKAMI, A.; OHIGASHI, H. Ursolic acid: An anti- and pro-inflammatory, triterpenoid. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 52, p. 26-42, 2008.
- JÄGER, S.; TROJAN, H.; KOPP, T.; LASZCZYK, M. N.; SCHEFFLER, A. Pentacyclic triterpene distribution in various plants - rich sources for a new group of multi-potent plant extracts. **Molecules**, v. 14, p. 2016–2031, 2009.
- JANG, M.; CAI, L.; UDEANI, G. O.; SLOWING, K. V.; THOMAS, C. F.; BEECHER, C. W.; FONG, H. H. S.; FARNSWORTH, N. R.; KINGHORN, A. D.; MEHTA, R. G.; MOON, R. C.; PEZZUTO, J. M. Cancer chemo preventive activity of resveratrol, a natural product derived from Grape. **Science**, v. 275, p. 218–220, 1997.
- JESUS, J. A.; LAGO, J. H. G.; LAURENTI, M. D.; YAMAMOTO, E. S.; PASSERO L. F. D. Antimicrobial Activity of Oleanolic and Ursolic Acids: An Update. **Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1-14, 2015.
- LI, X.; WANGA, T.; ZHOU, B.; GAO, W.; CAO, J.; HUANG, L. Chemical composition and antioxidant and anti-inflammatory potential of peels and flesh from 10 different pear varieties (*Pyrus* spp.). **Food Chemistry**, v. 152, p. 531–538, 2014.
- MILBURY, P. E.; CHEN, C. Y.; DOLNIKOWSKI, G. G.; BLUMBERG, J. B. Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 5027–5033, 2006.
- NEVES, L. C. Frutos: o remédio do futuro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. i, 2012.
- OVENSNÁ, Z.; VACHALCOVÁ, A.; HORVÁTHOVÁ, K.; TÁTHOVÁ, D. Pentacyclic triterpenoic acids: new chemoprotective compounds. **Neoplasma**, v. 51, p. 327–333, 2004.
- POLLIER, J.; GOOSSENS, A. Oleanolic acid. **Phytochemistry**, v. 77, p. 10-15, 2012.
- RABABAH, T. M.; EREIFEJ, K. I.; HOWARD, L. Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins, and color in fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n.11, p. 4444-4447, 2005.
- ROSSATO, S. B.; HAAS, C.; RASEIRA, M. do C. B.; MOREIRA, J. C. F.; ZUANAZZI, J. Â. S. Antioxidant potential of peels and fleshes of peaches from different cultivars. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, p. 1119–1126, 2009.
- RUIZ, D.; EGEEA, J.; GIL, M. I.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Characterization and Quantitation of Phenolic Compounds in New Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 9544-9552, 2005.

- SHAH, B. A.; QAZI, G. N.; TANEJA, S. C. Boswellic acids: a group of medicinally important compounds. **Natural Product Reports**, v. 26, p. 72–89, 2009.
- SULTANA, N.; ATA, A. Oleanolic acid and related derivatives as medicinally important compounds. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 23, p. 739–756, 2008.
- SZAKIEL, A.; PACZKOWSKI, C.; PENSEC, F.; BERTSCH, C. Fruit cuticular waxes as a source of biologically active triterpenoids. **Phytochemistry Reviews**, v. 11, p. 263–284, 2012.
- TAVARINI, S.; INNOCENTI, E. D.; REMORINI, D.; MASSAI, R.; GUIDI, L. Original article Preliminary characterisation of peach cultivars for their antioxidant capacity. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, p. 810–815, 2008.
- TEIXEIRA, J.; GASPAR, A.; GARRIDO, E. M.; GARRIDO, J.; BORGES, F. Hydroxycinnamic acid antioxidants: An electrochemical overview. **BioMed Research International**, v. 2, p. 1–11, 2013.
- TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GIL, M. I.; CREMIN, P.; WATERHOUSE, A. L.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A.A. HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, p. 4748–4760, 2001.
- SANTOS, J.; RASEIRA, M. do C. B.; ZANANDREA, I. "Resistencia à podridão parda em pessegueiro. **Bragantia**, v. 71, n. 2, p. 219–225, 2012.
- VENTER, A.; JOUBERT, E.; De BEER, D. Nutraceutical value of yellow- and red-fleshed South African plums (*Prunus salicina* lindl.): evaluation of total antioxidant capacity and phenolic composition. **Molecules**, v. 19, p. 3084–3109, 2014.
- VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 888–897, 2011.
- VILLARINO, M.; SANDÍN-ESPAÑA, P.; MELGAREJO, P.; De CAL, A. High chlorogenic and neochlorogenic acid levels in immature peaches reduce *Monilinia laxa* infection by interfering with fungal melanin biosynthesis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 3205–3213, 2011.
- ZHAO, X.; ZHANG, W.; YIN, X.; SU, M.; SUN, C.; LI, X.; CHEN, K. Phenolic Composition and Antioxidant Properties of Different Peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] Cultivars in China. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 5762–5778, 2015.
- ZHENG, Y.; CRAWFORD, G.W.; CHEN, X. Archaeological Evidence for Peach (*Prunus persica*) Cultivation and Domestication in China. **Advances in Neural Information Processing Systems**, v. 27, p. 2699–2707, 2014.
- ZWAAGSTRA, M. E.; TIMMERMAN, H.; TAMURA, M.; TOHMA, T.; WADA, Y.; ONOGI, K.; ZHANG, M. Q. Synthesis and structure-activity relationships of carboxylated chalcones: a novel series of CysLT1 (LTD4) receptor antagonists. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, p. 1075–1089, 1997.

Tabela 1. Listagem de acessos de pêssegos ou nectarinas do banco de germoplasma da Embrapa Clima Temperado, utilizados na identificação e quantificação de compostos fenólicos e triterpenos.

Genótipos	Genótipos	categoria	Genótipos	Genótipos	categoria		
Flordastar	AP	40	Conserva 1578	AP	79	Pampeano	BP
Chula	BP	41	São Pedro	AP	80	Maciêl	AP
Pilcha	AP	42	Maravilha	BP	81	Chimarrita	BP
Marfim	BP	43	Cardeal	AP	82	Esmeralda	AP
Conserva 1556	AP	44	BRS Rubimel	AP	83	Cascata 727	BP
Conserva 1245	AP	45	Douradão	AP	84	Marli	BP
Conserva 1824	AP	46	Tropic Snow	BP	85	Conserva 1526	AP
Eldorado	AP	47	BRS Kampai	BP	86	Conserva 685	AP
Cascata 1693	BP	48	Turmalina	AP	87	Diamante	AP
Conserva 1904	AP	49	Douradao II	AP	88	BRS Regalo	BP
MagnoxLeonense P4	AP	50	Conserva 1798	AP	89	TX 1A 150	AP

Continua...

Continuação Tabela 1

Genótipos		Genótipos		Genótipos		Genótipos	
Genótipos	categoria	Genótipos	categoria	Genótipos	categoria	Genótipos	categoria
Conserva 1600	AP	51	Conserva 1666	AP	90	Carapuça	AP
LeonensexBolinha P-18	AP	52	Husao	BP	91	Santa Aurea	AP
Olimpia	AP	53	Granada	AP	92	Lord	AP
Conserva 672	AP	54	Conserva 1218	AP	93	Topazio	AP
Seleção Bolinha 25	AP	55	Cascata 1513	BP	94	Ingo Tao	BP
Seleção Bolinha 26	AP	56	Atenas	AP	95	Jubileu	AP
Tarumã	AP	57	Cascata 1065	AP	96	BR3	BP
Aldrigh	AP	58	Cascata 1669	AP	97	Onix	AP
Capdebosq	AP	59	Cascata 1055	BP	98	Ewtrin	BN
Safira	AP	60	Cascata 1281	BP	99	Necta 512	AN
Bolinha	AP	61	Conserva 657	AP	100	TX 2A 232 LWN	BN

Continua...

Continuação Tabela 1

Genótipos		Genótipos		Genótipos		Genótipos	
Premier	BP	62	Agata	AP	101	Super Morena	AN
Pepita	AP	63	Jade	AP	102	Necta 3973	BN
Cascata 1493	BP	64	Princesa	AP	103	Necta 496	BN
Sentinela	BP	65	Conserva 594	AP	104	Suncoast	AN
Tropic Beauty	AP	66	Conserva 334	AP	105	Sunblaze	AN
Tropic Blush	AP	67	Aztec Gold	AP	106	Morena	AN
BRS Mandinho	AP	68	Conserva 930	AP	107	Necta 508	AN
Sensação	AP	69	Gaúcho de Poá	BP	108	Linda	AN
Conserva 1216	AP	70	Cascata 1577	BP	109	Necta 529	AN
Cascata 828	BP	71	Cascata 1015	AP	110	Mara	AN
Aurora 2	AP	72	BRS Fascínio	BP	111	Necta 531	BN

Continua...

Tabela 2. Programação de HPLC mostrando os gradientes da fase móvel, usados para analisar os compostos fenólicos presentes na epiderme e polpa de acessos de pêssegos ou nectarinas do banco de germoplasma da Embrapa Clima Temperado.

Tempo (min)	Epiderme		Tempo (min)	Polpa	
	SA ¹ (%)	SB ² (%)		SA ¹ (%)	SB ² (%)
4	97	3	4	97	3
9	88	12	9	88	12
15	86	14	15	86	14
21	86	14	21	86	14
25	84	16	25	84	16
30	84	16	30	84	16
32	83	17	32	83	17
42	83	17	42	83	17
60	65	35	60	65	35
80	65	35	80	65	35
99	45	65	99	45	65
120	10	90	108	30	70
130	10	90	109	0	100
131	0	100	116	0	100
136	0	100	118	97	13
138	97	13	138	97	13
150	97	13	138	Stop	Stop
158	97	13			
158	Stop	Stop			

¹SA = Solvente A; ²SB = Solvente B.

Tabela 3. Lista de compostos identificados nos acessos estudados da coleção da Embrapa Clima Temperado.

Composto	Abrev.	Grupo	Tecido
Ácido neoclorogênico	t3CQ	HC	EP
Procianidina B1	ProcyB1	Fla	EP
Catequina	Cat	Fla	EP
Ácido clorogênico	t5CQ	HC	EP
cis-5-O-caffeoilquínico	c5CQ	HC	EP
Cinchonaína II	Cincho	Flav	EP
Procianidina dimer	ProcyA	Fla	EP
5-p-coumaroilquínico	5pCQ	HC	EP
Cianidina-3-glicosídeo	Cya3Glu	Ant	EP
Cianidina-3-rutinosídeo	Cya3Rut	Ant	EP
3,5-dicafeoilquínico	3,5diCQ	HC	E
Quercetina-3-galactosídeo	Q3Gal	Flo	E
Quercetina-3-glicosídeo	Q3Glu	Flo	E
Quercetina-3-rutinosídeo	Q3Rut	Flo	E
Kaempferol-3-galactosídeo	K3Gal	Flo	E
Kaempferol-3-glicosídeo	K3Glu	Flo	EP
Kaempferol-3-rutinosídeo	K3Rut	Flo	E
Isoramnetin-3-glicosídeo	I3Glu	Flo	E
Isoramnetin-3-rutinosídeo	I3Rut	Flo	E
Kaempferol acetilhexosídeo	Kah	Flo	EP
Ácido dihidroxi-urs-12-en-28-oico	Thu1	Tri	E
Ácido dihidroxi-urs-12-en-28-oico	Thu2	Tri	E
Ácido coumaroiloxi-hidroxi urs-12-en-28-oico	cdhu1	Trid	E

Continua...

Continuação Tabela 3.

Composto	Abrev.	Grupo	Tecido
Ácido coumaroiloxi-hidroxi urs-12-en-28-oico	Cdhu2	Trid	E
Ácido coumaroiloxi-hidroxi urs-12-en-28-oico	Cdhu3	Trid	E
Ácido coumaroiloxi-hidroxi urs-12-en-28-oico	Cdhu4	Trid	E
Ácido oleanólico	Ole	Tri	E
Ácido ursólico	Urs	Tri	E
Ácido 3 β -p-Coumaroiloxi-urs-12-en-28-oico	cou5	Trid	E
Ácido 3 β -p-Coumaroiloxi-urs-12-en-28-oico	Cou6	Trid	E

*Abreviaturas (Abrev.); Derivados de Hidroxicinâmico (HC); Flavan-3-ol (Fla); Flavonol (Flo); Antocianina (Ant); Triterpenos (Tri); Triterpenoides (Trid); e Flavalignanas (Flav). Ocorrência nos tecidos da epiderme (E), polpa (P) ou ambos (EP).

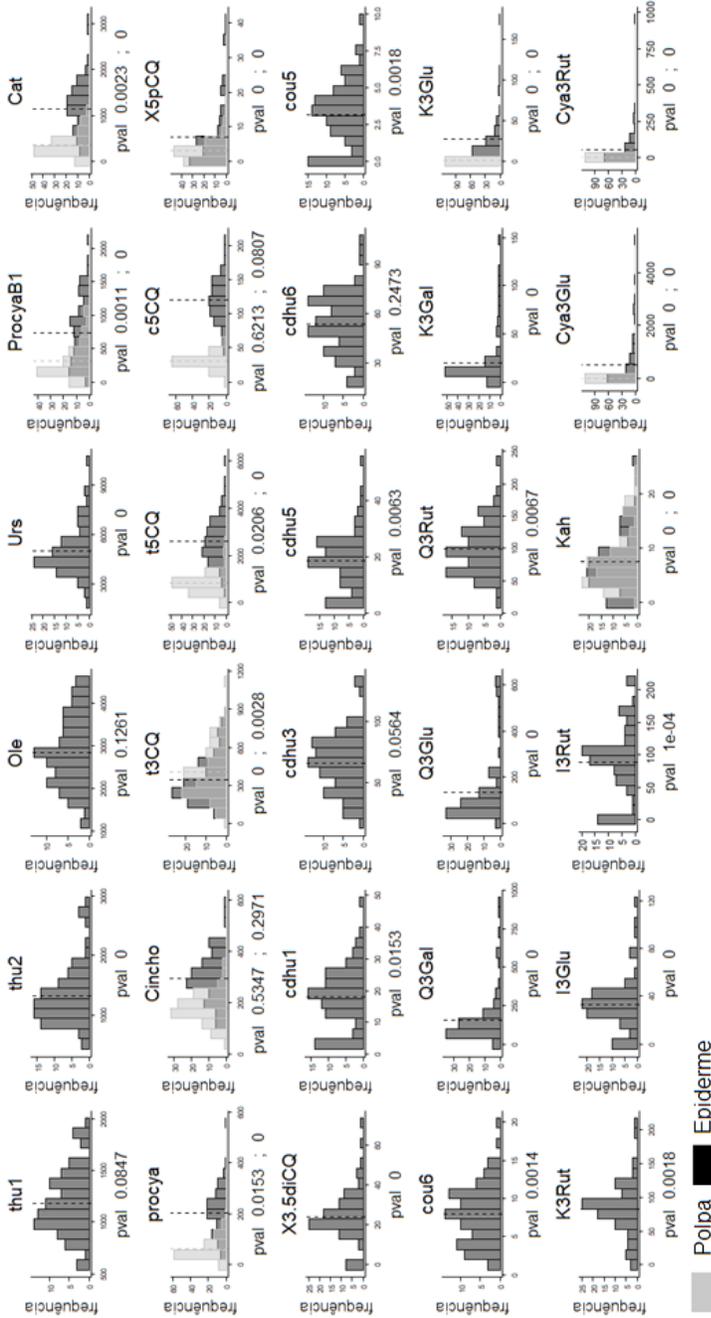


Figura 1. Distribuição de frequência das concentrações fitoquímicas em $\mu\text{g}/100\text{mg}$ g-1 de matéria seca da epiderme e polpa dos frutos de 115 acessos de pêssego e nectarina de. Abreviaturas: ver Tabela 3. * p-valor (pval) referente ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk.

Embrapa

Clima Temperado