

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
MESQUITA FILHO”**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Campus de Araraquara
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**Perfil fitoquímico e nutricional de Plantas Alimentícias
Não Convencionais (PANC)**

Barbara Paes Miglioli da Mata

Orientador: Prof. Dr. André Gonzaga dos Santos

**Araraquara - SP
2022**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
MESQUITA FILHO”**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Campus de Araraquara
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**Perfil fitoquímico e nutricional de Plantas Alimentícias
Não Convencionais (PANC)**

Barbara Paes Miglioli da Mata

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas,
Área de Pesquisa e Desenvolvimento de
Fármacos e Medicamentos, para obtenção
do título de Mestre em Ciências
Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. André Gonzaga dos
Santos

**Araraquara - SP
2022**

M425p

Mata, Barbara Paes Miglioli da.
Perfil fitoquímico e nutricional de Plantas Alimentícias Não
Convencionais (PANC) / Barbara Paes Miglioli da Mata. – Araraquara,
2022.
68 f. : il.

Orientador: André Gonzaga dos Santos.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de
Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e
Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

1. Análise centesimal. 2. Perfil nutricional. 3. Perfil fitoquímico. 4.
Fontes alimentícias inexploradas. 5. Plantas comestíveis não
convencionais. I. Santos, André Gonzaga dos, orient. II. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030078P6
Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Perfil Fitoquímico e Nutricional de Plantas Alimentícias Não Convencionais

AUTORA: BARBARA PAES MIGLIOLI DA MATA

ORIENTADOR: ANDRÉ GONZAGA DOS SANTOS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área: Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ANDRÉ GONZAGA DOS SANTOS (Participação Virtual)
Departamento de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciencias Farmaceuticas UNESP Araraquara

Prof. Dr. EDUARDO JOSÉ CREVELIN (Participação Virtual)
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP

Profa. Dra. KATIA SIVIERI (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - Unesp

Araraquara, 29 de julho de 2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha mãe Geni, exemplo de força e determinação e à minha irmã Beatriz pelos cuidados desde a infância. Agradeço aos meus amados sobrinhos João Pedro, Catarina, Heloisa e Rafaela por serem júbilo e trazerem tanta alegria em meus necessários momentos de descanso.

Agradeço aos estimados professores da FCFAr que compartilharam seus conhecimentos comigo durante o curso das disciplinas de pós-graduação e, assim, me permitiram alcançar novos níveis em meu desenvolvimento profissional. Especialmente às professoras doutoras Katia Sivieri e Ana Marisa Fusco Almeida pela parceria e pelo usufruto de seus laboratórios para o desenvolvimento do presente trabalho, bem como os mestrandos e doutorandos sob sua supervisão, os quais me auxiliaram em etapas importantes da pesquisa.

Um agradecimento muito especial à professora doutora Juliana Bonini Campos, a qual sempre me inspirou e, particularmente nos últimos anos, fez com que eu reconhecesse em mim a capacidade de realizar absolutamente tudo o que eu quisesse. Ju, sua maestria como profissional só não é maior do que a pessoa gentil e amorosa que você é. Obrigada por nos motivar!

Agradeço, sobretudo, aos meus colegas de laboratório, os quais tornaram possível eu chegar tão longe e mantiveram o caminho agradável. Caio Perego, pela sempre prontidão em me ajudar nas coletas no meio do mato; Winner por ser luz, sabedoria e risadas; André Faibicher por ser eterna inspiração, mesmo não estando mais fisicamente conosco.

Às minhas queridas ICs: Débora Okada, Stéfany Quezadas e Letícia Maria, obrigada pela chance de coorientá-las, afinal, diz-se que: “quem sempre está disposto a aprender tem sempre algo a ensinar”. Com vocês ensinei o pouco que sabia e muito aprendi.

Ao Laboratório de Farmacognosia, todo o meu amor! Agradeço aos meus companheiros de Departamento: Tirene, Marcão, Kelly e prof.^a dr^a Raquel, que faziam das pausas para o café um grande evento.

Um agradecimento, também, à minha tão importante rede de apoio extrauniversitária: Salve o Bonde das Batukera, coletivo feminino e feminista que desde 2018 atua em Araraquara disseminando a cultura popular e o samba de coco. Obrigada,

mulheres, pela cura de nossos encontros! Salve o GERMINA PANC (Grupo de Experiências Revolucionárias, Múltiplas e Independentes em Nutrição Alternativa com Plantas Alimentícias Não Convencionais), empreendimento que têm raiz neste trabalho de mestrado e, com a soma do conhecimento prático da gastróloga Amanda Sene Ciomino, germinou neste CNPJ tão potente e saboroso. Obrigada Mandi por embarcar nesta jornada comigo, te amo e te admiro. Vida longa ao germina!

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

Também agradeço à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP Araraquara, por ser minha casa há doze anos, entre a graduação, o mestrado e a continuidade das pesquisas. Eu não poderia ter escolhido um lugar melhor para me formar como profissional e como pessoa.

E, por último e mais importante, agradeço ao orientador deste trabalho, querido prof. dr. e amigo André Gonzaga dos Santos, pela participação direta, ajuda assídua e motivação constante ao longo dos últimos anos. Ele sempre nos lembra que “professor deve ser facilitador” e, com grande maestria, soube facilitar e impulsionar minha caminhada. Obrigada, professor, por humanizar as relações científicas. É realmente inspirador trabalhar ao seu lado!

EPÍGRAFE

“A terra deu, a terra dá, a terra cria
Homem a terra cria, a terra deu, a terra há
A terra voga, a terra dá o que tirar
A terra acaba com toda mal alegria
A terra acaba com o inseto que a terra cria
Nascendo em cima da terra, nessa terra há de viver
Vivendo na terra, que essa terra há de comer
Tudo que vive nessa terra, pra essa terra é alimento
Deus corrige o mundo pelo seu domínio
A terra gira com o seu grande poder

O homem planta um rebolinho de maniva
Aquele maniva com dez dias tá inchada
Começa nascer aquela folha orvalhada
Ali vai se criando aquela obra positiva
Muito esverdeada, muito linda e muito viva
Embaixo cria uma batata que engorda e faz crescer
Aquilo dá farinha pra todo mundo comer
E para toda criatura vai servir de alimento
Deus corrige o mundo pelo seu domínio
A terra gira com o seu grande poder...”

[Canção popular de samba de coco por Comadre Fulôzinha, 1999]

RESUMO

O Guia Alimentar para a População Brasileira do Ministério da Saúde e da Organização Pan-Americana da Saúde recomenda uma dieta saudável rica em frutas e legumes frescos como principal forma de promoção à saúde e prevenção de doenças crônicas. A biodiversidade dos biomas brasileiros corresponde a mais de 13% da riqueza mundial e, dentre as mais de 3.000 espécies do Reino Plantae com potencial alimentício, apenas 10% são utilizadas. Assim, propomos a triagem do perfil fitoquímico e nutricional de extratos de polpas dos frutos de plantas alimentícias não convencionais (PANC) do Brasil, a saber: bacupari (*Garcinia brasiliensis* Mart.); canistel (*Pouteria campechiana* (Kunth)); jatobá (*Hymenaea courbaril* L.); jenipapo (*Genipa americana* L.); oiti (*Moquilea tomentosa* (Benth.) Fritsch) e pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess.), utilizando diferentes técnicas, como: i) ensaios *in vitro* para avaliação da atividade antioxidante; ii) toxicidade embrionária em *zebrafish*; iii) composição centesimal; iv) análises por HPLC-UV, TLC e HPLC-MS. O perfil fitoquímico dos extratos foi determinado por HPLC-UV. Na TLC, a fase móvel que possibilitou a visualização de maior número de bandas, nas três amostras de pequi, foi composta por tolueno:acetato de etila:metanol:ácido acético (5,3:4:0,5:0,2 v/v) e revelada com anisaldeído sulfúrico. Já as amostras de bacupari, canistel e oiti não eluíram de forma satisfatória, requerendo otimização das condições de análise por TLC. Para o jenipapo houve separação de bandas nas três fases móveis testadas e, em todas, evidenciou uma banda azulada, característica de iridoides como a genipina. O extrato etanol 70% de bacupari e o extrato etanólico de canistel demonstraram o maior potencial antioxidante dentre os extratos de polpa dos frutos das PANC estudadas, inibindo em cerca de 70% o radical DPPH na concentração de 500 µg/mL. O teor de compostos fenólicos totais equivalentes ao ácido gálico (EAG) variou de 1,05±0,3 no pequi (coleta 2) a 13,4±2,4 no oiti. O maior e o menor teor de proteínas nas polpas de frutos foram encontrados em amostras de pequi (amostra coletada no campus da Unesp e na amostra comercial, respectivamente). O maior e o menor teor de lipídeos foram encontrados na amostra comercial de pequi e no canistel, respectivamente. O teor de fibras solúveis variou de 12,1±0,3 em oiti a 22,1±3,0 na amostra de pequi coletada no assentamento (coleta 1). Oiti também contou com o menor valor de fibras insolúveis (10,4±0,8) e o pequi coletado na Unesp (coleta 2) com o maior valor (14,5±0,2). Amostra comercial de pequi contou com o menor valor de lignina klason (1,6±0,3) e oiti com o maior valor (25,0±2,7). Com relação à avaliação da embriotoxicidade, a menor concentração do extrato etanólico de jatobá (50µg/mL) não apresentou diferença com significância estatística ($p > 0,05$) em comparação com os controles. Já as concentrações de 100 e 200 µg/mL apresentam diferença estatística ($p < 0,05$), com grande impacto na queda da taxa de sobrevivência. O extrato de jenipapo, por sua vez, apresentou baixa toxicidade aos embriões nas três concentrações testadas e manteve a taxa de sobrevivência alta mesmo após as 72 horas de exposição.

Palavras-chave: análise centesimal; perfil nutricional; perfil fitoquímico; fontes alimentícias inexploradas, plantas comestíveis não convencionais.

ABSTRACT

The Food Guide for the Brazilian Population from the Ministry of Health and the Pan American Health Organization recommends a healthy diet rich in fresh fruits and vegetables as the main way to promote health and prevent chronic diseases. The biodiversity of Brazilian biomes corresponds to more than 13% of the world's wealth and, among the more than 3,000 species of the Kingdom Plantae with food potential, Only 10% are used. Therefore, we propose screening the phytochemical and nutritional profile of Pulp extracts from the fruits of non-conventional food plants (PANC) from Brazil, namely: bacupari (*Garcinia brasiliensis* Mart.); canistel (*Pouteria campechiana* (Kunth)); jatobá (*Hymenaea courbaril* L.); jenipapo (*Genipa americana* L.); oiti (*Mochilea tomentosa* (Benth.) Fritsch) and pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess.), using different techniques, such as: i) in vitro assays to evaluate antioxidant activity; ii) embryonic toxicity in zebrafish; iii) proximate composition; iv) analyzes by HPLC-UV, TLC and HPLC-MS. The phytochemical profile of the extracts was determined by HPLC-UV. In TLC, the mobile phase that enable the visualization of the greatest number of bands, in the pequi samples, was composed of toluene:ethyl acetate:metanol:acetic acid (5.3:4:0.5:0.2 v/v) and developed with sulfuric anisaldehyde. Bacupari, canistel and oiti samples did not elute satisfactorily, requiring optimization of TLC analysis conditions. For jenipapo, there was a separation of bands in the three mobile phases tested na, in all, there was a bluish band, characteristic of iridoids such as genipina. The 70% ethanol extract of bacupari and the ethanolic extract of canistel demonstrated the highest antioxidant potential among the Pulp extracts of the PANC fruits studied, inhibiting the DPPH radical by around 70% at a concentration of 500 µg/mL. The content of total phenolic compounds equivalent to gallic acid (EGA) varied from 1.05±0.3 in pequi (sample 2) to 13.4±2.4 in oiti. The highest and lowest protein content in fruit pulps were found in pequi samples (sample 2 (Unesp) and commercial sample, respectively). The highest and lowest lipid contents were found in the commercial sample of pequi and canistel, respectively. The soluble fiber content varied from 12.1±0.3 in oiti to 22.1±3.0 in the pequi sample collected in the settlement (sample 1). Oiti also had the lowest value of insoluble fibers 10.4±0.8 na the pequi collected at Unesp (sample 2) had the highest value (14.5±0.2) Commercial sample of pequi had the lowest lignin value (1.6±0.3) and oiti with the highest value (25.0±2.7). Regarding the evaluation of embryotoxicity, the lowest concentration of the ethanolic extract of jatobá (50 µg/mL) did not present a statistically significant difference ($p>0.05$) compared to the controls. The concentrations of 100 and 200 µg/mL present a statistical difference ($p<0.05$), with a great impact on the drop in the survival rate. The jenipapo extract, in turn, showed low toxicity to embryos in the three concentrations tested and maintained a high survival rate even after 72 hours of exposure.

Keywords: proximate analysis; nutritional profile; phytochemical profile; untapped food sources, unconventional edible plants.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AOAC: Association of Official Analytical Chemists (em Português, “Associação de Químicos Analíticos Oficiais”)

CCD: cromatografia em camada delgada

DAD: *Diode Array Detector* (em Português, “Detector de Matriz de Diodos”)

EFS: extração em fase sólida

EtOH: etanol

FM: fase móvel

Grau P. A.: solventes em grau Para Análise

HPLC: *High Performance Liquid Chromatography* (em Português, “Cromatografia Líquida de Alta Eficiência”)

MeOH: metanol

MS: *Mass Spectrometry* (em Português, “Espectrometria de Massas”)

OECD: *Organisation for Economic Co-operation and Development* (em Português, “Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico”)

PANC: Plantas Alimentícias Não Convencionais

Pequi coleta 1: pequi coletado no Assentamento Monte Alegre

Pequi coleta 2: pequi coletado no campus da Unesp Araraquara

Pequi amostra comercial: polpa de pequi, produto comercial comprado em Goiás

PTFE: politetrafluoretileno

RDA: Recommended Dietary Allowance (em Português, “Ingestão Dietética Recomendada”)

R_f: fator de retenção

SAN: Segurança Alimentar e Nutricional

TLC: Thin Layer Chromatography (em Português, “cromatografia em camada delgada”)

UPLC: Ultra *Performance Liquid Chromatography* (em Português, “Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência”)

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1. Teor de umidade residual da polpa dos frutos das seis espécies de PANC, em base seca, determinado por perda por dessecação com radiação no infravermelho, após liofilização das polpas.

Tabela 2. Resultados do ensaio de inibição do radical DPPH por extratos etanol 70% e etanol nas diferentes espécies vegetais.

Tabela 3. Porcentagem de inibição do radical DPPH pelo extrato etanol 70% de bacupari, em diferentes concentrações.

Tabela 4. Porcentagem de inibição do radical DPPH pelo extrato etanólico de canistel, em diferentes concentrações.

Tabela 5. Porcentagem de inibição do radical DPPH pelo extrato etanol 70% de jatobá, em diferentes concentrações.

Tabela 6. Concentração das soluções padrão de ácido gálico e respectivas absorbâncias medidas em espectrofotômetro com comprimento de onda a 760nm.

Tabela 7. Teor (%) de compostos fenólicos totais equivalentes ao ácido gálico presentes nos extratos secos de diferentes espécies vegetais de PANC.

Tabela 8. Valor de fator de conversão de nitrogênio total em proteína segundo diversos tipos de alimentos.

Tabela 9. Análise centesimal de polpa de frutos de bacupari, canistel, oiti e três diferentes amostras de pequi (coleta 1, coleta 2 e amostra comercial). Ensaio de cinzas realizado pela incineração em mufla; determinação de proteína pelo ensaio de Kjeldahl; lipídeos pelo ensaio de Soxhlet; fibras solúveis, insolúveis, totais e lignina quantificado pelo método de diálise enzimática; e carboidrato determinado pelo método DNS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da benzofenona tetraprenilada 7-epiclusianona presente no bacupari (*Garcinia brasiliensis* Mart.).

Figura 2. Estrutura química da ampelopsina presente no canistel (*Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni).

Figura 3. Estrutura química da astilbina presente no jatobá (*Hymenaea courbaril* L.).

Figura 4. Estrutura química da genipina presente no jenipapo (*Genipa americana* L.).

Figura 5. Porcentagem de inibição do DPPH pelo extrato etanol 70% da polpa de bacupari, em diferentes concentrações.

Figura 6. Porcentagem de inibição do DPPH pelo extrato etanólico da polpa de canistel, em diferentes concentrações.

Figura 7. Porcentagem de inibição do DPPH pelo extrato etanol 70% da polpa de jatobá, em diferentes concentrações.

Figura 8. Curva analítica do ácido gálico utilizado como padrão no ensaio de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu. Leitura da absorbância realizada em 760 nm.

Figura 9. Cromatogramas obtidos dos extratos etanólico: (a) e (b) bacupari 70%; (c) e (d) bacupari 100%; (e) e (f) jenipapo 70%; (g) e (h) jenipapo 100%; (i) e (j) oiti 70%; (k) e (l) oiti 100%; (m) e (n) pequi 70% (coleta 1); (o) e (p) pequi 100% (coleta 1); (q) e (r) canistel 70%; (s) e (t) canistel 100%. Condições de análise: coluna C18 (250 x 4,6 mm; 5 µm); gradiente exploratório: 5-100% de metanol em 30 min e 100% de metanol até 40 min; vazão de 1,0 mL/min; detector com comprimento de onda em 230 e 250 nm respectivamente.

Figura 10. Cromatoplasmas de sílica gel (0,25 mm) das amostras de pequi (coleta 1, amostra comercial e coleta 2), da esquerda para a direita; amostras na concentração de 5 mg/mL (metanol); volume de aplicação igual a 20 µL. Fases móveis: FM1= tolueno:acetato de etila:metanol:ácido acético (5,3:4:0,5:0,2 v/v); FM2= hexano:acetato de etila:isopropanol (6:3,7:0,3 v/v); FM3= tolueno:acetato de etila:ácido fórmico (2,4:5,6:2 v/v), Revelador: ácido sulfúrico.

Figura 11. Cromatoplasma de sílica gel (0,25 mm) das frações amostras de bacupari, canistel, jenipapo e oiti da esquerda pra direita em cada uma das cromatoplasmas; amostras na concentração de 5 mg/mL (metanol); volume de aplicação igual a 20 µL. Fases móveis:

FM1= tolueno:acetato de etila:metanol:ácido acético (5,3:4:0,5:0,2 v/v); FM2= hexano:acetato de etila:isopropanol (6:3,7:0,3 v/v); FM3= tolueno:acetato de etila:ácido fórmico (2,4:5,6:2 v/v), Revelador: ácido sulfúrico 10%.

Figura 12. Curva de sobrevivência e resposta de concentração para extrato etanólico de jatobá, segundo horas pós-fertilização.

Figura 13. Curva de sobrevivência e resposta de concentração para extrato etanólico de jenipapo, segundo horas pós-fertilização.

Figura 14. Curva analítica de glicose utilizada como padrão para reação do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Leitura das absorbâncias em 530 nm.

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1	BACUPARI - <i>GARCINIA BRASILIENSIS</i> MART.	20
2.2	CANISTEL - <i>POUTERIA CAMPECHIANA</i> (KUNTH) BAEHNI.	22
2.3	JATOBÁ - <i>HYMENAEA COURBARIL</i> L.	24
2.4	JENIPAPO - <i>GENIPA AMERICANA</i> L.	26
2.5	OITI - <i>MOQUILEA TOMENTOSA</i> BENTH.....	28
2.6	PEQUI - <i>CARYOCAR BRASILIENSE</i> CAMBESS.....	29
3	OBJETIVOS.....	31
4	MÉTODOS.....	32
4.1	MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	32
4.2	COLETA E PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL	33
4.3	PROCESSO EXTRATIVO	34
4.4	TRIAGEM DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR DPPH.....	35
4.5	TRIAGEM DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS	36
4.6	PRÉ-TRATAMENTO (<i>CLEAN-UP</i>) DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE POR HPLC.....	37
4.7	ANÁLISE DOS EXTRATOS POR HPLC.....	38
4.8	ANÁLISE DOS EXTRATOS POR TLC (CCD)	38
4.9	AValiação DA TOXICIDADE EM MODELO ANIMAL ALTERNATIVO	39
4.10	ANÁLISE CENTESIMAL	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
5.1	PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL.....	41
5.2	TRIAGEM DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR DPPH.....	41
5.3	TRIAGEM DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS	47
5.4	ANÁLISE DOS EXTRATOS POR HPLC.....	49
5.5	ANÁLISE DOS EXTRATOS POR TLC (CCD)	52

5.6	AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM MODELO ANIMAL ALTERNATIVO	54
5.7	ANÁLISE CENTESIMAL	55
5.	CONCLUSÕES.....	60
7.	REFERÊNCIAS.....	62

1 INTRODUÇÃO

A garantia do direito humano à alimentação adequada é um dos pilares do conceito mundial de Segurança Alimentar e Nutricional (SAN). Em nível nacional e latino-americano, diversas diretrizes recomendam uma dieta saudável rica em frutas e legumes frescos como principal forma de promoção à saúde e prevenção de doenças crônicas, tais como o Guia Alimentar para a População Brasileira, lançado em 2014 pelo Ministério da Saúde em parceria com a Organização Pan-Americana da Saúde (Brasil, 2014) e documentos técnicos da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (2015).

A produção de alimentos seguros e saudáveis está intrinsecamente ligada ao conhecimento da biodiversidade e dos recursos naturais, e consequentemente à sua proteção (Brasil, 2014), gerando necessidade de estudos mundiais que identifiquem as características dos patrimônios naturais e biológicos de cada país. Atualmente, reitera-se a necessidade do uso sustentável da biodiversidade, para que seja possível estudar as várias espécies que ainda precisam ser investigadas sem, contudo, esgotar suas fontes (Stehmann, 2017).

Os sistemas alimentares ao redor do mundo requerem compromissos e ações concretas que visem alcançar ecossistemas mais sustentáveis e regenerativos, aumentando a diversidade de plantas, animais e microrganismos, para que a preservação da biodiversidade ocorra concomitantemente à produção (Jones, 2021).

O Brasil é um país megadiverso em termos biológicos, com uma biota de cerca de 210 mil espécies, o que corresponde a 13% da riqueza mundial. Desse grande número que compõe a biodiversidade de biomas brasileiros, quase 50.000 são do reino Plantae e, desses, estima-se que 10% das plantas possuem potencial alimentício, sendo que a grande

maioria (90%) permanece subutilizada (Lewinsohn; Prado, 2005; Kinupp; Lorenzi, 2014; SiBBr, 2020; Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2022).

Nesse contexto, “plantas alimentícias não-convencionais” (PANC) é um termo utilizado desde 2008 para nomear plantas que possuem grande potencial alimentício, porém não compõem a matriz agrícola convencional por serem pouco conhecidas ou negligenciadas pela maioria da população de uma região, de um país ou mesmo globalmente (Kinupp; Lorenzi, 2014). O termo surgiu para unir em uma única categoria geral diversos conceitos heterogêneos que eram usados até o momento, tais como: “plantas alimentícias alternativas, plantas alimentícias silvestres, plantas alimentícias espontâneas, plantas alimentícias regionais, hortaliças tradicionais, hortaliças não convencionais, ervas comestíveis espontâneas”, dentre outros. É importante ressaltar que o conceito de PANC possui diferenças regionais, já que muitas hortaliças não-convencionais no sul do Brasil podem ser corriqueiras no cardápio do norte e/ou nordeste, a ponto de lá serem consideradas convencionais (EMBRAPA, 2017; Kinupp; Lorenzi, 2014). É possível, também, que partes não utilizadas de plantas já conhecidas sejam chamadas de PANC, como é o caso, por exemplo, do coração da bananeira, parte não habitual de uma espécie consumida mundialmente. O coração da bananeira é comestível após cocção para retirar o amargor e é rico em fibras, proteínas e minerais como fósforo, magnésio, cálcio, cromo, níquel, zinco e ferro, auxiliando na prevenção de problemas de saúde como osteoporose e anemia (Rosa et al., 2020).

Algumas PANC, inclusive, apresentam teores de minerais e de vitaminas superiores aos encontrados em vegetais alimentícios convencionais (Barminas et al. 1998; Silva et al., 2018), o que contribui valiosamente nas dietas e, sobretudo, reforça o potencial benéfico das plantas tidas como não-convencionais. A difusão, popularização e resgate de saberes ancestrais como a forma de consumo e o valor nutricional das PANC

nativas serve não somente como riqueza nutricional e gastronômica, mas também como método de resguardar a biodiversidade e cultura tradicional brasileira (Kinupp; Lorenzi, 2014).

Uma PANC largamente conhecida pelas suas características nutricionais é *Pereskia aculeata* Miller, popularmente conhecida como ora-pro-nobis, um cacto de porte arbustivo nativo brasileiro. Suas folhas são ricas em fibra alimentar, minerais, vitaminas, proteínas e vários aminoácidos essenciais (Takeiti et al., 2009). Seus frutos, ainda imaturos, contém vitamina C. Todas as partes do vegetal são utilizadas na alimentação: folha, ramos foliares, flores e frutos (Kinupp; Lorenzi, 2014). Há estudos validando inclusive seu uso tópico, devido à atividade anti-inflamatória em dermatites (Pinto et al., 2015).

Há relatos que dietas ricas em frutas e vegetais exercem um efeito protetor contra grande variedade de doenças, principalmente aquelas com base no estresse oxidativo (Cox et al., 2000; Strandhagen et al., 2000). Uma hipótese é que o efeito protetor seja justamente pela atuação de compostos antioxidantes presentes nos alimentos, especialmente vitaminas e metabólitos secundários como os compostos fenólicos (Eastwood, 1999; Potter, 1997). As substâncias antioxidantes reduzem o estresse oxidativo nas células e, portanto, são úteis no tratamento de muitas doenças, incluindo câncer, doenças cardiovasculares e doenças inflamatórias (Krishaiiah; Sarbatly; Nithyanandam, 2011).

Diante do grande potencial químico e nutricional brasileiro a ser investigado e da importância de compostos bioativos de fontes vegetais à saúde humana, neste trabalho foi proposta a avaliação do perfil fitoquímico, da composição centesimal, da ação antioxidante e da embriotoxicidade de seis polpas dos frutos de PANC nativas do Brasil: bacupari (*Garcinia brasiliensis* Mart.); canistel (*Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni);

jatobá (*Hymenaea courbaril* L.); jenipapo (*Genipa americana* L.); oiti (*Moquilea tomentosa* (Benth.) Fritsch) e pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess). Algumas das PANC acima citadas têm suas características nutricionais e composição de metabólitos secundários pouco investigados; outras, no entanto, já foram protagonistas de maior número de ensaios.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bacupari - *Garcinia brasiliensis* Mart.

É uma espécie arbórea pertencente à família *Clusiaceae* (anteriormente conhecida como *Guttiferae*) cujos frutos são chamados popularmente, no Brasil, de bacupari, bacupari-miúdo, bacuparizinho ou bacuripari. A espécie ocorre nas cinco regiões geográficas brasileiras, sendo mais comum na Amazônia, cujo uso foi primeiramente relatado em meados de 1500 d.C (Santa-Cecília et al., 2013; DATAPLAMT, 2020). Os frutos são a principal parte comestível da árvore, e possuem cascas amarelas ou alaranjadas, com polpa branca comestível, de aspecto mucilaginoso, sabor doce e ácido, a qual pode ser consumida *in natura* ou como ingredientes em algumas receitas, como bolo, pães, geleias, sorvetes e bebidas, sendo fonte relevante de alguns minerais (Lorenzi et al., 2006; Santa-Cecília et al., 2013; Kinupp; Lorenzi, 2014; Souza et al., 2016).

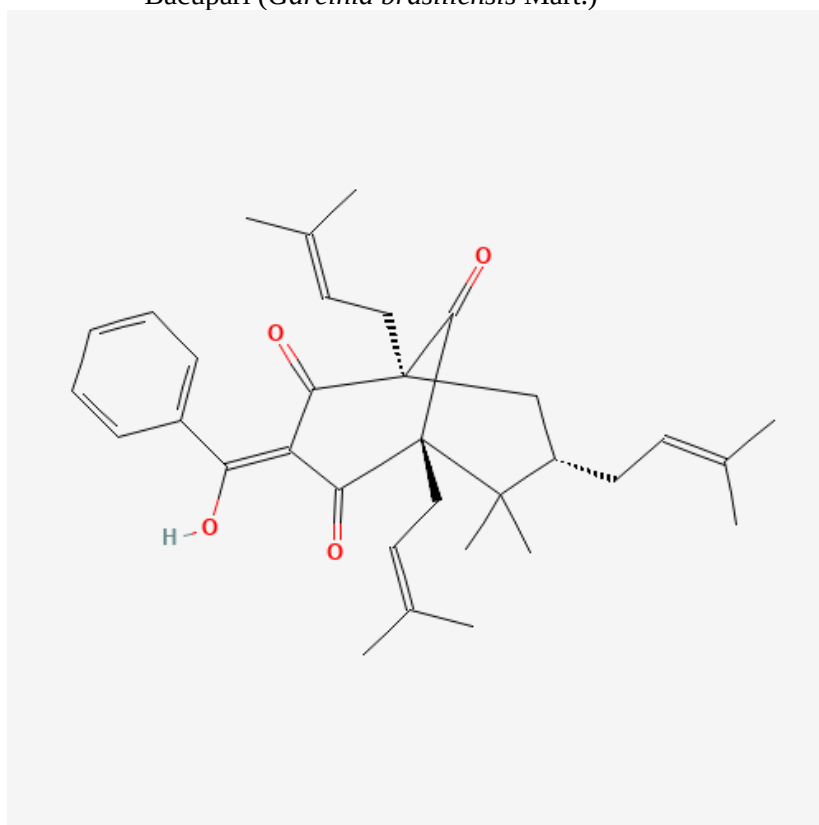
Há relatos na medicina popular brasileira de que as folhas do bacupari são indicadas para inflamações do trato urinário, artrite, dores, tumores, úlceras pépticas e cicatrização de feridas (Pio-Corrêa, 1984; Ferreira et al., 2012; Santa-Cecília et al., 2013); a casca do caule para doenças urinárias; e as sementes dos frutos como cicatrizante de feridas e para tratamento de hematomas (Pott; Pott, 1994).

Estudos feitos a partir de extrato de suas folhas demonstram ocorrência expressiva de substâncias polifenólicas pertencentes às classes dos flavonoides e benzofenonas, que possuem diversas atividades biológicas, tais como atividade antimicrobiana, contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, antifúngica (contra *Candida albicans*) e antiparasitária (contra *Trypanosoma cruzi*, parasita causador da Doença de Chagas) (Arwa, 2013; Zan et al., 2018).

São escassos, porém, os estudos sobre a composição nutricional da polpa do fruto bacupari, mas os materiais publicados destacam o teor de alguns minerais, como manganês, zinco e magnésio (Souza et al., 2016). A benzofenona tetraprenilada de nome

químico 7-epiclusianona, isolada de seus frutos por Santos *et al.* em 1999, possui várias propriedades biológicas descritas, incluindo atividade antiproliferativa contra linhagens de células cancerígenas (Ionta et al., 2015), atividade analgésica (Santa-Cecília et al., 2011) e propriedades anti-histamínicas (Neves et al., 2007). Outro estudo, mais recente, feito com a casca do fruto, demonstrou atividade antiobesidade, antioxidante e anti-inflamatória devido principalmente à modulação da inflamação, diminuição da síntese de ácidos graxos, redução do fator de necrose tumoral e diminuição da glicemia (Moreira et al., 2017). A Figura 1 apresenta a molécula química da 7-epiclusianona.

Figura 1. Estrutura química da benzofenona tetraprenilada 7-epiclusianona presente no Bacupari (*Garcinia brasiliensis* Mart.)



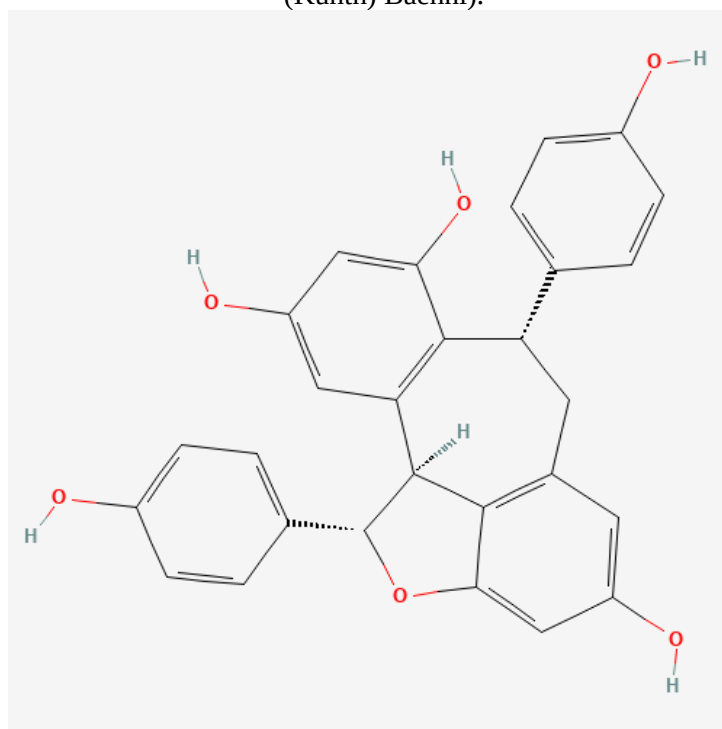
Fonte: National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 5471610, 7-Epiclusianone.

Os extratos das folhas e frutos de bacupari e seus compostos isolados apresentam diversas bioatividades de grande valia para a indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica, visto que os compostos fenólicos são os principais metabólitos secundários descritos para os frutos, os quais também contêm óleo essencial.

2.2 Canistel - *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni.

O canistel, de nome científico *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni e pertencente à família *Sapotaceae*, é uma árvore perene de origem latino-americana cultivada principalmente na América do Sul. Existe, na medicina tradicional maia, um composto preparado à base de associação de alguns extratos vegetais, dentre os quais está *P. campechiana*, que demonstrou propriedade antinociceptivas e anti-hiperalgésica em estudos pré-clínicos (Déciga-Campos et al., 2017). Há, também, estudo que evidencia que o extrato da casca do caule possui leve atividade antimicrobiana (contra *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) e antifúngica (contra *Candida albicans* e *Trichophyton mentagrophytes*) devido presença de triterpenos e esteróis (Ragasa; Labaclado; Redeout, 2011). Estilbenos e flavonoides glicosilados foram isolados de suas folhas (Hernandez, 2008) e tiveram sua atividade antimitótica testada, tal atividade comprovada apenas para o composto conhecido como ampelopsina B, apresentado na Figura 2.

Figura 2. Estrutura química da ampelopsina B presente no canistel (*Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni).



Fonte: National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 5318088, Ampelopsin B.

Em relação aos frutos, há evidências de que são constituídos por diversos polifenóis, os quais apresentam grande atividade antioxidante e hepatoprotetora (Aseervatham et al., 2014; Ma et al., 2004). Elsayed e colaboradores (2016) mostraram que o extrato etanólico das sementes de canistel reduziu em 85% a inflamação no teste de edema de pata de rato na dose de 100 mg/kg após 4h. Já o extrato etanólico das folhas (200 mg/kg) apresentou atividade analgésica máxima após 90 minutos no teste da placa quente.

O fruto canistel possui casca fina e lisa e polpa cremosa e densa, de cor amarelo-alaranjada, com sabor levemente adocicado. Sua polpa pode ser consumida *in natura* ou batidas com leite e/ou sorvete. A quantidade determinada de carotenoides na polpa variou de 1,9 a 23,5 mg/g em base seca em estudo que indica que o canistel apresenta teores muito elevados dessa substância (De Lanerolle, 2008), a qual é considerada pela ANVISA

uma substância bioativa (ou seja, que possui propriedades nutricionais e funcionais, oferecendo benefício fisiológico adicional. Os carotenoides são pigmentos naturais e alguns deles possuem atividade pró-vitamina A (Agostini Costa, 2010). Outros estudos reportaram, também, atividade antioxidante, antimutagênica e antinitrosativa para o suco da polpa (Franco, 2006; Hernandez, 2008; Silva, 2009).

Há relatos, também, de que o extrato etanol 70% da polpa de canistel é rico em compostos fenólicos e flavonoides, com conteúdo de fenólicos totais aproximado de 2.257,8 mg EAG/100g (Kong, 2013).

2.3 Jatobá - *Hymenaea courbaril* L.

Hymenaea courbaril é uma árvore tropical de grande porte amplamente distribuída no México, América Central e América Latina, exceto Chile e Uruguai (Martin; Langenheim; Zavarin, 1972). Pertence à família botânica Fabaceae e é comum na região da Amazônia Internacional e, no Brasil, conhecida popularmente como “jatobá”, “farinheira” e de “jataí” ou “jutaí”, por ser uma espécie melífera com produção de néctar pelas abelhas jataí. Na Bolívia é conhecida como “paquio”, na Colômbia, como “algarrobo” e, na Nicarágua, como “guapinol” (Abdel-Kader et al., 2002; Cury et al., 2011; Ebanks Thomas, 2012).

Atinge altura e diâmetro excepcionais na Amazônia e é cultivada como ornamento e também para consumo como medicamento ou alimento, visto que a polpa farinácea de seu fruto marrom, do tipo legume indeiscente, pode ser usada na gastronomia. O fruto contém casca rígida que abriga de 2 a 6 sementes lenhosas recobertas por polpa farinácea adocicada e com forte odor, sendo que apenas a polpa é considerada comestível (Contreras-Calderón et al., 2011). A farinha da polpa é um alimento funcional rico em proteína e pode ser utilizada em receitas de refrescos, panificação, geleias, bolos, biscoitos pudim, dentre outras possibilidades (Cury et al., 2011; Dias; Laureano, 2019).

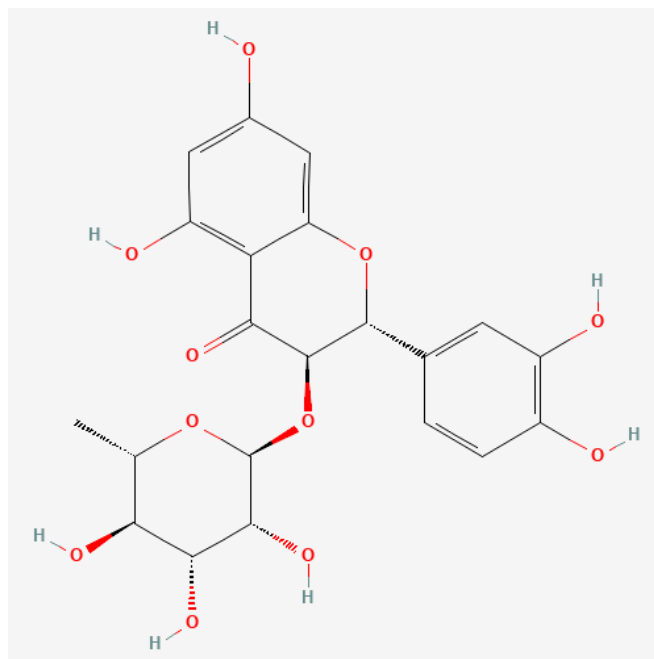
A casca do caule é amplamente utilizada na Amazônia devido propriedades medicinais, principalmente em distúrbios respiratórios (como gripes e asma) e urinários (Castro Braga et al., 2000; Cavalcante, 2010), além de outras indicações compiladas em revisão recente, como uso em casos de impotência, anemia, diarreias, fraqueza, febre, convulsão, problemas renais e dor de garganta (Bezerra et al., 2013; Magalhães et al., 2019). Culturalmente, o chá da casca do caule também pode substituir o café na tradicional mistura de café-com-leite, quando este encontra-se escasso em algumas regiões (Kinupp; Lorenzi, 2014).

Estudos experimentais conduzidos em comunidade como Riacho Catingueira, no Ceará, Matozinho, em Pernambuco, e em Bonanza, na Nicarágua, classificaram a espécie entre as com maior versatilidade de uso, sendo útil em diversas enfermidades e em diferentes sistemas do corpo humano (Cartaxo; Souza; Albuquerque, 2010; Ebanks Thomas, 2012; Saraiva et al., 2015), fato que justifica a bioprospecção dessa espécie (Souza et al., 2014).

Alguns autores listam seus principais constituintes: a semente contém cerca de 45% de xiloglucanos, oligossacarídeos de parede celular já presentes nos cotilédones de armazenamento e extraíveis com água (Lima, 1995, Santos, 2017). Bezerra e colaboradores (2013), avaliaram o extrato etanólico da casca do caule de *Hymenaea courbaril* L. e algumas de suas frações. Tanto o extrato etanólico e a fração obtida com acetato de etila mostraram forte atividade antioxidante frente ao radical DPPH. O extrato bruto apresentou atividade miorelaxante na traqueia de ratos, sendo a fração obtida com acetato de etila mais eficiente. O estudo bioguiado permitiu o isolamento da astilbina, tendo os autores sugerido que a atividade induzida por este composto indica que ele pode ser parcialmente responsável pelo efeito miorelaxante. Dados como estes mostram a potencial ação antioxidante, miorelaxante e anti-inflamatória, o que corrobora seu uso

na medicina popular no tratamento de doenças inflamatórias das vias aéreas. A Figura 3 apresenta a molécula química da astilbina.

Figura 3. Estrutura química da astilbina presente no jatobá (*Hymenaea courbaril* L.).



Fonte: National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 119258, Astilbin.

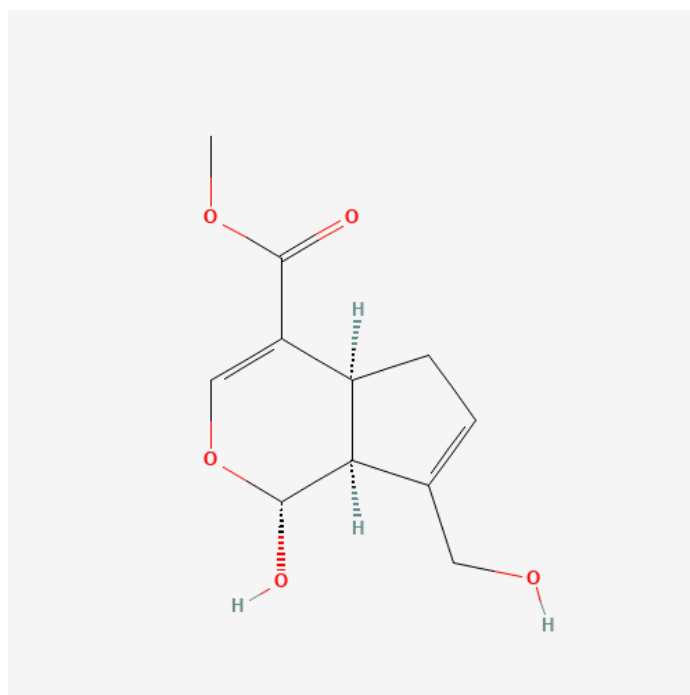
Levantamento etnobotânicos realizado com espécies da Caatinga apresentou o jatobá como promissor para futuras pesquisas voltadas à obtenção de fitofármacos, devido ao alto valor dado pela comunidade a essa espécie e, também, à grande versatilidade de uso (Pereira Júnior et al., 2014).

2.4 Jenipapo - *Genipa americana* L.

Genipa americana L., conhecido popularmente como jenipapo, pertence à família Rubiaceae e é uma árvore nativa em quase todo o território brasileiro. Além de seu corriqueiro consumo como alimento pelos habitantes do norte e nordeste do Brasil, também é conhecido devido corante chamado genipina, o qual está contido em seus frutos imaturos e é usado em tingimento natural de tecidos e em pinturas de pele, além de outros

artesanatos, devido sua coloração azul-arroxeadada. O geniposídeo que origina a genipina via hidrólise enzimática com B-glicosidases representa cerca de 4 a 6% do fruto seco (Butler, 2003). A Figura 4 apresenta a molécula química da genipina.

Figura 4. Estrutura química da genipina presente no jenipapo (*Genipa americana* L.)



Fonte: National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 442424, Genipin.

Além do uso alimentício e medicinal, possui registro de uso ornamental e madeireiros. Os frutos de *G. americana* podem ser consumidos *in natura* ou em compotas, em forma de sorvete, licor, suco ou vinho, e apresentaram atividade antioxidante (Omena et al., 2012). A indústria tem forte interesse na utilização do pigmento naturalmente azul do jenipapo, bem como na caracterização reológica da solução extrativa de *G. americana* para produção de corantes estáveis. O pigmento azul, cor primária e tão rara na natureza, juntamente com o amarelo e vermelho, permite a produção de cores em diversas tonalidades requeridas pela indústria. Atualmente, tem-

se utilizado o extrato aquoso para formulação de cosméticos, tintura alimentícia e também devido às propriedades antioxidantes.

Flavonoides, taninos e terpenos foram encontrados nesta espécie (Mendonça et al., 2020). Os compostos isolados incluem: genipina (iridoide), gardendiol, éster metílico do ácido desacetil-asperulosídico e shanzhisídeo. A genipina tem como propriedades farmacológicas as atividades antiangiogênica, anti-inflamatória e antioxidante (Almog et al., 2004; Koo et al., 2004). No uso popular as cascas são utilizadas devido suas propriedades antiulcerogênica, antidiarréica, catártica e anti-inflamatória. As folhas têm atividade antidiarréica e antipirética. A polpa dos frutos possui alto valor nutricional, rica em vitaminas do complexo B e vitamina C, além disso, é utilizada como antianêmica (Alves et al., 2008; Almeida et al., 2011; Porto et al., 2014).

2.5 Oiti - *Moquilea tomentosa* Benth.

Dados da literatura que tragam atividades de *Moquilea tomentosa* Benth. são mais escassos, se comparados às espécies acima citadas, porém algumas propriedades são relatadas, tais como o efeito antiviral (Miranda et al., 2002).

M. tomentosa, conhecida popularmente como oiti, compõe a família Chrysobalanaceae e é muito utilizado na arborização de cenários urbanos. Seus frutos são comestíveis, são fonte de fibras alimentares, possuem teor de vitamina E igual a 0,65 mg/100g na polpa, sendo menor nas sementes (0,05 mg/100g). Em geral, as polpas possuem maiores concentrações de minerais em relação às sementes, como cálcio, magnésio, potássio e sódio (De Medeiros et al., 2020).

Alguns compostos foram identificados e isolados dos extratos hexânicos dos frutos, tais como ácido betulínico, licanolídeo e ácido palmitoleico (Castilho; Kaplan, 2008). No extrato etanólico das sementes foram identificados flavonoides (galocatequina e quercetina), ácidos fenólicos (ácido cumárico e ferúlico), além de glicosídeo do ácido

jasmônico e lignanas (De Medeiros et al., 2020). De Medeiros e colaboradores (2020) não encontraram atividade antioxidante no extrato etanólico da polpa de oiti até a concentração de 1,0 mg/mL.

2.6 Pequi - *Caryocar brasiliense* Cambess.

Caryocar brasiliense Cambess, conhecido popularmente como pequi, é nativo em todas as áreas do Cerrado. Pertencente à família Caryocaraceae, seus frutos têm polpa fortemente aromática e são parte fundamental da culinária goiana e mineira, em preparações licorosas ou acompanhando feijões, carnes, frangos e arroz (Kinupp; Lorenzi, 2014). A polpa de pequi pode conter até 55% de óleo (fazendo com que possa ser usado similarmente ao azeite de dendê) e seus constituintes são principalmente ácido oleico e outras substâncias bioativas, incluindo carotenoides, fenólicos e tocoferóis (Rodriguez-Amaya; Kimura; Amaya-Farfan, 2008).

Muitos benefícios à saúde como as ações antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral e antimicrobiana, melhoria da função cardíaca, bem como um aumento da imunidade linfocitária dependente de linfócitos tem sido atribuída ao pequi, especialmente sua polpa, a qual é fonte de ferro, potássio, magnésio e fósforo (Mariano-Da-Silva et al., 2009). A constituição química correspondente a 100 g de polpa fresca compreende: 8,1 a 23,1 mg de carotenoides, 209,0 mg de compostos fenólicos e 6,6 mg de vitamina C (Torres, et al., 2018).

A revisão feita por Torres e colaboradores (2018), demonstra o potencial bioativo e funcional dos compostos presentes nas espécies de pequi. Os autores ressaltam o potencial do pequi para as atividades antitumoral, anti-inflamatória, cardiovascular, antifúngica e antimicrobiana. Há relato que a cera cuticular das folhas do pequi apresentou atividade antimicótica contra *Cryptococcus neoformans*, agente etiológico da

criptococose, doença fúngica de ocorrência generalizada que atinge principalmente imunocomprometidos (Passos et al., 2002).

3 OBJETIVOS

Determinar o perfil fitoquímico, nutricional, de ação antioxidante e a embriotoxicidade de polpas de frutos de plantas alimentícias não-convencionais que compõem a biodiversidade brasileira.

4 MÉTODOS

4.1 Materiais e equipamentos

Balança analítica: Marte®, modelo AY220 (Max 220 g. min 0,01 g; d = 0,0001 g);

Balança com radiação no infravermelho: GEHAKA®, modelo IV 2000.

Cartucho para extração em fase sólida: Agilent SampliQ® C18 (15 x 10 mm; 55 µm);

Coluna cromatográfica para HPLC: Thermo Scientific® (fase reversa C18, 250 x 4,6 mm; 5 µm).

Cromatografia em camada delgada: placa comercial modelo Alugram® Xtra SIL G/UV marca Macherey-Nagel®. Placas em alumínio cobertas com sílica gel (20 x 20 cm, 15-40 µm, 0,22 mm) com indicador de fluorescência UV 254 nm (Lote 206177 - REF 818333).

Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência: LC-UV, Thermo Scientific Ultimate 3000 VWD®, gerenciador do equipamento e para aquisição dos dados foi utilizado o programa: Chromeleon™ CDS 6x;

Espectrofotômetro de microplacas: Biotek® Instruments, modelo PowerWave XS2, serial number 219239

Estufa de secagem: Fanem®, modelo 315 SE com circulação de ar.

Membrana filtrante: membrana PTFE hidrofílico, com diâmetro 13 mm e poro 0,22 µm.

Moinho de batelada analítico: IKA® modelo básico A11.

Programa de análise de dados e construção de gráficos: GraphPad Prism® 5 e Microsoft® Excel 2016.

Rotaevaporador: Heidolph®, Germany.

Solventes: a) Água deionizada: GEHAKA®, obtida em sistema purificador de água, modelo DG 300; b) Água ultrapura: Merck Millipore®, obtida em modelo Direct® – Q 3 UV; c) Solventes grau P.A.: etanol e metanol Qhemis® e Synth®. d) Solvente grau

cromatográfico: etanol e metanol J.T. Baker®. Banho ultrassom: Unique®, modelo USC – 2800, frequência 40 KHz.

4.2 Coleta e processamento do material vegetal

Os frutos de seis espécies vegetais (*Garcinia brasiliense* Mart., *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni, *Hymenaea courbaril* L., *Genipa americana* L., *Moquilea tomentosa* (Benth.) Fritsch e *Caryocar brasiliense* Cambess) foram coletados de espécimes localizados no campus da FCF-UNESP (Araraquara-SP) e no Assentamento Monte Alegre (Bueno de Andrada-SP). As exsiccatas do material vegetal estão depositadas no Herbário São José de Rio Preto (UNESP) sob os números de tombo 34405, 34408, 34406, 34407, 34404 e 34403, respectivamente. Este estudo foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o código AE422BB (Unesp, 48.031.918 / 0001-24). Além das coletas *in situ* (coleta 1 e coleta 2), também foram adquiridas amostras comerciais de pequi (as quais serão indicadas como pequi amostra comercial ao longo deste trabalho), compradas em Goiânia/GO, para comparação com o pequi colhido em Araraquara/SP (coleta 1 e coleta 2).

Após a coleta (ou compra, no caso da amostra comercial de Pequi), fez-se separação manual da polpa, casca e das sementes dos frutos e o material foi congelado a -80 °C, liofilizado, triturado em moinho analítico e novamente congelado em freezer -80 °C para armazenagem até o momento de uso. A umidade foi determinada pela perda por dessecação do material vegetal em balança com radiação no infravermelho.

4.3 Processo extrativo

A polpa seca e pulverizada de cada espécie vegetal foi submetida à extração e posterior filtração à vácuo em papel de filtro. Optou-se pelo método de extração múltipla, em três etapas, através de maceração e sonicação em ultrassom por 20 minutos a cada etapa, sempre utilizando o resíduo da extração anterior para prosseguir à próxima extração (método de exaustão). Optou-se por realizar a extração em erlenmeyer ao invés de tubos de ensaio, o que aumenta a superfície de contato do líquido extrator com o material vegetal, com intuito de otimizar o rendimento da extração. Considerando princípios da Química Verde e a diretriz recente adotada pelo Laboratório de Farmacognosia de descontinuar uso de solventes prejudiciais ao meio ambiente e à saúde do analista, optou-se pela utilização de dois solventes diferentes, etanol 70% e etanol absoluto, na proporção de 1:10 (m/v) em cada etapa, totalizando proporção de 1:30 (m/v) no processo extrativo global.

Na análise preliminar foram utilizados 10 mL de solvente em cada uma das três etapas, totalizando 30 mL de cada solvente extrator para 1 g de material vegetal seco. A solução extrativa (soma dos volumes filtrados resultantes de cada uma das três etapas da extração) foi coletada em béquer e colocada para secar por 24 horas em capela sob fluxo de ar e, após, em dessecador com sílica gel sob pressão reduzida até massa constante.

Posteriormente, foi realizada extração em maior escala com todo o material vegetal coletado, excetuando-se a armazenagem de cerca de 5 g de cada espécie para ônus da prova. Visando diminuição da utilização de solventes, de acordo com princípios da Química Verde, a extração em maior escala teve a proporção diminuída de 1:30 para 1:15 (m/v) no processo extrativo global. Ou seja, a relação droga vegetal/solvente total (3 etapas) foi de 1:15 (m/v), sendo 1:5 em cada etapa. Em seguida, a solução extrativa concentrada foi seca por 24 horas sob fluxo de ar em capela e, finalmente, todos os

extratos foram colocados em dessecador com sílica gel sob pressão reduzida até atingir a massa constante. Os extratos secos foram armazenados em frascos fechados em geladeira.

4.4 Triagem da atividade antioxidante por DPPH

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada utilizando o ensaio do radical DPPH seguindo metodologia previamente descrita, com adaptações para a Química Verde (Alves et al., 2010; Blois, 1958; Sharma; Bhat, 2009). O ensaio foi realizado em microplacas objetivando diminuir o tempo de análise, diminuir o volume necessário de amostra e solventes e expandir a quantidade de concentrações testadas. O volume final da reação, em cada poço da microplaca, foi de 300 μL , sendo 30 μL o volume fixo de DPPH utilizado em cada poço. A concentração do radical, no poço do ensaio, foi de 62 $\mu\text{mol/L}$. Aos poços da reação foram adicionados 30 μL de DPPH + solução etanólica dos extratos vegetais + etanol, sendo que os dois últimos analitos tinham seus volumes variáveis em cada poço, a fim de atingir diferentes concentrações finais a cada ensaio. A microplaca foi incubada em ausência de luz durante 20 minutos e, posteriormente, as absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro a 517 nm. Inicialmente, foram testados os extratos etanol 70% de bacupari, jenipapo e pequi (coleta 1); e os extratos etanólicos de bacupari, canistel, jenipapo e pequi (coleta 1). As primeiras concentrações testadas foram 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$. A partir do ensaio inicial obtivemos resultados que embasaram a escolha do extrato etanol 70% de bacupari e do extrato etanólico de canistel para um segundo ensaio, desta vez em uma faixa maior de concentração (30, 50, 100, 200, 300, 400 e 500 $\mu\text{g/mL}$). Em um terceiro momento também foi realizado o ensaio de DPPH com os extratos etanol 70% e etanólico de jatobá em nove concentrações (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 e 900 $\mu\text{g/mL}$).

4.5 Triagem do teor de fenólicos totais

Os compostos fenólicos são um grupo muito extenso de substâncias responsáveis por diversas funções além do potencial antioxidante objetivado neste trabalho. Tais compostos podem ser responsáveis por contribuir com características de adstringência e amargor em alimentos, bem como reações de escurecimento e substratos de oxidação (Singleton, 1999).

É justamente por ser um grupo amplo que existe dificuldade em identificar e isolar os compostos fenólicos através de técnicas como HPLC, tornando a interpretação dos resultados tarefa laboriosa. Por este motivo, escolheu-se determinar o teor de compostos fenólicos totais dos extratos com teste colorimétrico por fotometria no visível utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu e curva analítica de ácido gálico seguindo o método descrito por Singleton e Rossi (1965) e Singleton et al. (1999). O ensaio detecta o teor de compostos fenólicos totais, incluindo monofenóis e fenóis mais facilmente oxidados. As absorbâncias das amostras foram medidas em 760 nm em espectrofotômetro UV/Vis de cubetas. Os extratos etanólico e hidroetanólico 70% foram solubilizados em etanol e em etanol 70%, respectivamente, e avaliados na concentração de 30,0 µg/mL; como branco, para cada extrato foi adicionado aos reagentes um volume do respectivo diluente correspondente ao volume da solução do extrato. Para a construção da curva analítica do ácido gálico, solubilizado em água deionizada, foram utilizadas as concentrações 0,3125; 0,625; 1,25; 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 µg/mL. Os experimentos foram realizados em triplicata. Os resultados foram expressos em miligramas de compostos fenólicos totais equivalentes ao ácido gálico por grama de extrato seco.

4.6 Pré-tratamento (*clean-up*) de amostras para análise por HPLC

O pré-tratamento das amostras, também chamado de “*clean-up*”, tem como objetivos extrair os analitos de interesse a partir da matriz, concentrando o analito e eliminando os interferentes, o que, conseqüentemente, preserva a coluna que será utilizada no método cromatográfico. A técnica utilizada no pré-tratamento foi a extração em fase sólida (EFS) seguida de filtração em membrana.

Para isso, as amostras foram preparadas a partir do extrato seco etanólico e etanol 70% de cada uma das 6 espécies de PANC, totalizando 12 amostras. Assim, a extração em fase sólida procedeu da seguinte maneira: o cartucho contendo sílica C18 foi ativado com 5 mL de metanol e depois com metanol:água 95:5 (v/v) no mesmo volume. Para a aplicação das amostras, uma solução contendo 10 mg de cada um dos extratos foi solubilizada em metanol:água 95:5 (v/v). A aplicação da amostra no cartucho seguiu com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, as amostras foram eluídas com 4 mL de metanol:água 95:5 (v/v) recolhendo em frasco de vidro previamente pesado. Todas as amostras foram secas em capela sob fluxo de ar e dessecadas em dessecador sob pressão reduzida com sílica gel durante 24 h.

Com os eluatos secos resultantes do procedimento anterior, foram preparadas soluções com concentração de, aproximadamente, 10 mg/mL, utilizando uma mistura de metanol:água 20:80 (grau HPLC) para solubilização dos extratos e posterior filtração usando seringa de vidro com membrana PTFE hidrofílico. A amostra filtrada foi acondicionada em frasco para injeção automática (*vial*).

4.7 Análise dos extratos por HPLC

Cromatografia de Fase Reversa (ou só “Fase Reversa”) é uma técnica cromatográfica em que a fase estacionária é apolar (hidrofóbica) e a fase móvel é polar, fato que permite a separação de compostos através destas interações hidrofóbica. A cromatografia em modo reverso é especialmente usada visando a separação eficaz de substâncias apolares ou fracamente polares, com tempo de eluição e equilíbrio do sistema mais rápidos.

Neste trabalho, as análises de uma alíquota de 20 µL de cada uma das 12 amostra foram realizadas em cromatógrafo Thermo Scientific Ultimate 3000® com detector UV/Vis utilizando coluna de fase reversa C18 (Thermo Scientific® 250 x 4,6 mm; 5 µm), em condições de gradiente exploratório utilizando água sem aditivos e metanol como solvente orgânico. A concentração do solvente orgânico na composição da fase móvel final variou de 5 a 100% em 30 minutos, mantendo 100% de metanol até 40 minutos, com vazão de 1,0 mL/min e detector UV/Vis com detecção em 4 comprimentos de onda, a saber: 230, 250, 300 e 350 nm.

4.8 Análise dos extratos por TLC (CCD)

Na análise por cromatografia em camada delgada (TLC, na sigla em inglês) foram preparadas soluções dos extratos na concentração de 5 mg/mL em etanol. Foram preparadas três fases móveis diferentes com a finalidade de obter melhor separação entre as bandas. Os solventes empregados como fase móvel foram: tolueno, ácido acético, hexano, isopropanol, ácido fórmico, acetato de etila e metanol, em grau P.A., com as seguintes proporções:

- Fase Móvel 1 (FM1): tolueno:acetato de etila:metanol:ácido acético 5,3:4:0,5:0,2 (v/v).
- Fase Móvel 2 (FM2): hexano:acetato de etila:isopropanol 6:3,7:0,3 (v/v).
- Fase Móvel 3 (FM3): tolueno:acetato de etila:ácido fórmico 2,4:5,6:2 (v/v).

O volume de 20µL das amostras foram aplicadas em cromatoplacas de sílica gel, com auxílio de capilar, e eluídas separadamente nas fases móveis descritas acima e reveladas com anisaldeído sulfúrico, seguido de aquecimento em estufa (110° C). Após a revelação foi calculado o fator de retenção (R_f) das bandas.

4.9 Avaliação da toxicidade em modelo animal alternativo

Duas espécies vegetais foram selecionadas para este ensaio, sendo elas jatobá e jenipapo. Entre os extratos etanólicos e etanol 70%, inferiu-se que os extratos etanólicos 70%, por terem menor concentração de etanol consequentemente apresentariam menor toxicidade devido a maior presença de açúcares e consequente menor concentração de metabólitos secundários, especialmente de média e baixa polaridade. Por este motivo, apenas os extratos etanólicos de jatobá e jenipapo foram submetidos a este ensaio.

Embriões de casais de zebrafish gerados em criadeiras foram lavados com meio embriônico (composição: NaCl; KCl; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) e aqueles que tiveram desenvolvimento normal foram selecionados para o teste. Após 1 a 3 horas pós-fertilização (hpf), transferiu-se os embriões para uma microplaca de 96 poços (2 embriões/poço) em 100 µL de meio embriônico. Posteriormente, 100 µL dos extratos solubilizados em 1% de etanol (concentração máxima de EtOH suportada pelos embriões) foram adicionados aos poços, em três diferentes concentrações (50, 100 e 200 µg/mL).

Para cada concentração, 10 embriões foram avaliados e dois experimentos independentes foram realizados. Os efeitos dos extratos sobre os embriões são observados às 24, 48 e 72 hpf através de microscopia. Alterações no desenvolvimento embriônico como coagulação, falta de formação de sômitos, atraso de desenvolvimento, deformação da cauda e falta de batimentos cardíacos foram avaliados segundo o guia da OECD (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico, 2013).

4.10 Análise centesimal

As análises da composição centesimal dos frutos de bacupari, canistel, oiti e pequi (coleta 2) foram realizadas em parceria com os laboratórios de Microbiologia de Alimentos e Nutrição, sob orientação da professora doutora Kátia Sivieri e colaboração dos doutorandos Mateus Kawata Salgaço, Fellipe Lopes de Oliveira e da técnica Danielli dos Santos Baeta.

A composição centesimal dos extratos foi conduzida segundo ensaios padronizados da *Association Official Analytical Chemistry* (AOAC), sendo que as análises passaram pela extração de proteínas brutas, analisadas e quantificadas pelo método de Kjeldahl; para a determinação de lipídeos totais, utilizou-se o método de Soxhlet; e para a determinação de cinzas totais foi utilizada mufla (estufa em alta temperatura) a 550°. Para análise de fibras dietéticas, por sua vez, realizou-se ensaio enzimático por diálise segundo descrito por Mañas, Bravo e Saura-Calixto (1995), o qual tem como resultante o teor de fibras totais discriminadas em solúveis, insolúveis, lignina klason e, também, o teor de açúcares totais das amostras, utilizando-se o ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (Mañas, Bravo e Saura-Calixto, 1995).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Processamento do material vegetal

O teor de umidade residual do material vegetal seco, após processamento, foi determinado pela técnica de perda por dessecação em balança com radiação no infravermelho e os resultados estão representados na Tabela 1. Os teores de umidade ficaram abaixo do limite geral de 14% para a preservação de drogas vegetais (Simões, 2017). No entanto, o material foi armazenado em freezer a -80 °C após a sua secagem.

Tabela 1. Teor de umidade residual da polpa dos frutos das seis espécies de PANC, em base seca, determinado por perda por dessecação com radiação no infravermelho, após liofilização das polpas.

espécie vegetal	umidade (%)*
<i>Garcinia brasiliensis</i> Mart bacupari	6,6 ± 1,5
<i>Pouteria campechiana</i> (Kunth) Baehni canistel	7,4 ± 0,1
<i>Hymenaea courbaril</i> L. jatobá	3,0 ± 0,1
<i>Genipa americana</i> L. jenipapo	5,5 ± 0,1
<i>Moquilea tomentosa</i> (Benth.) Fritsch oiti	4,8 ± 0,1
<i>Caryocar brasiliensis</i> Cambess pequi coleta 1	3,5 ± 0,3

*Ensaio realizado em duplicata (n = 2). Resultados expressos em média ± desvio padrão

5.2 Triagem da atividade antioxidante por DPPH

Os resultados do ensaio inicial com o radical DPPH, feito com os extratos etanol 70% de bacupari, jenipapo e pequi (coleta 1); e os extratos etanólicos de bacupari, canistel, jenipapo e pequi (coleta 1) nas concentrações de 50 e 100 µg/mL estão representados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados do ensaio de inibição do radical DPPH por extratos etanol 70% e etanol nas diferentes espécies vegetais.

solvente extrator	espécie vegetal	concentração (ug/mL)	abs controle	abs extrato	abs real	abs dpvh	% inibição
etanol 70%	<i>Garcinia brasiliensis</i> Mart bacupari	50	0,024	0,321	0,297	0,397	25,2
		100	0,047	0,266	0,219	0,397	44,8
	Genipa americana L. jenipapo	50	0,021	0,387	0,366	0,397	7,8
		100	0,041	0,372	0,331	0,397	16,6
	Caryocar brasiliensis Cambess pequi (coleta 1)	50	0,024	0,332	0,308	0,397	22,4
		100	0,047	0,348	0,301	0,397	24,2
etanol	<i>Garcinia brasiliensis</i> Mart bacupari	50	0,022	0,317	0,295	0,397	25,7
		100	0,044	0,339	0,295	0,397	25,7
	Pouteria campechiana (Kunth) Baehni canistel	50	0,021	0,320	0,299	0,397	24,7
		100	0,042	0,271	0,229	0,397	42,3
	Genipa americana L. jenipapo	50	0,021	0,334	0,313	0,397	21,2
		100	0,042	0,374	0,332	0,397	16,4
	Caryocar brasiliensis Cambess pequi (coleta 1)	50	0,022	0,386	0,364	0,397	8,3
		100	0,043	0,368	0,325	0,397	18,1

ABS= absorvância; $ABS_{real} = (ABS_{bruta} - ABS_{controle})$; $ABS_{dpvh} =$ absorvância do poço apenas com DPPH.

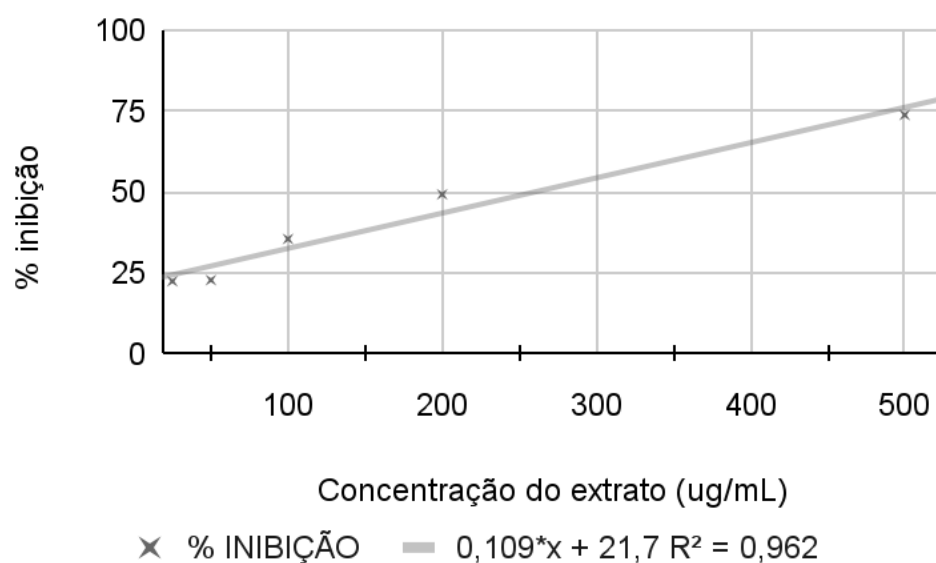
Como o extrato etanol 70% de bacupari e o extrato etanólico de canistel demonstraram a maior porcentagem de inibição do radical DPPH na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$, neste ensaio inicial, fez-se um segundo ensaio apenas com esses dois extratos em uma faixa maior de concentração (30, 50, 100, 200, 300, 400 e 500 $\mu\text{g/mL}$). A Tabela 3 e a Figura 5 representam os resultados da porcentagem de inibição obtidos em diferentes concentrações do extrato etanol 70% de bacupari.

Tabela 3. Porcentagem de inibição do radical DPPH pelo extrato etanol 70% de bacupari, em diferentes concentrações.

espécie vegetal solvente extrator	concentração (ug/mL)	abs controle	abs extrato	abs real	abs dpph	% inibição
<i>Garcinia brasiliensis</i> Mart bacupari etanol 70%	25	0,051	0,484	0,433	0,558	22,4
	50	0,041	0,472	0,431	0,558	22,8
	100	0,048	0,408	0,360	0,558	35,5
	200	0,044	0,327	0,283	0,558	49,3
	500	0,049	0,195	0,146	0,558	73,8

ABS= absorvância; $ABS_{real} = (ABS_{bruta} - ABS_{controle})$; ABS_{dpph} = absorvância do poço apenas com DPPH.

Figura 5. Porcentagem de inibição do DPPH pelo extrato etanol 70% da polpa de bacupari, em diferentes concentrações.



A partir da equação da reta foi possível calcular a EC50%, ou seja, a concentração de extrato etanol 70% da polpa de bacupari capaz de inibir 50% da atividade radicalar do DDPH. Para este extrato, a EC50% foi de 259,63 ug/mL.

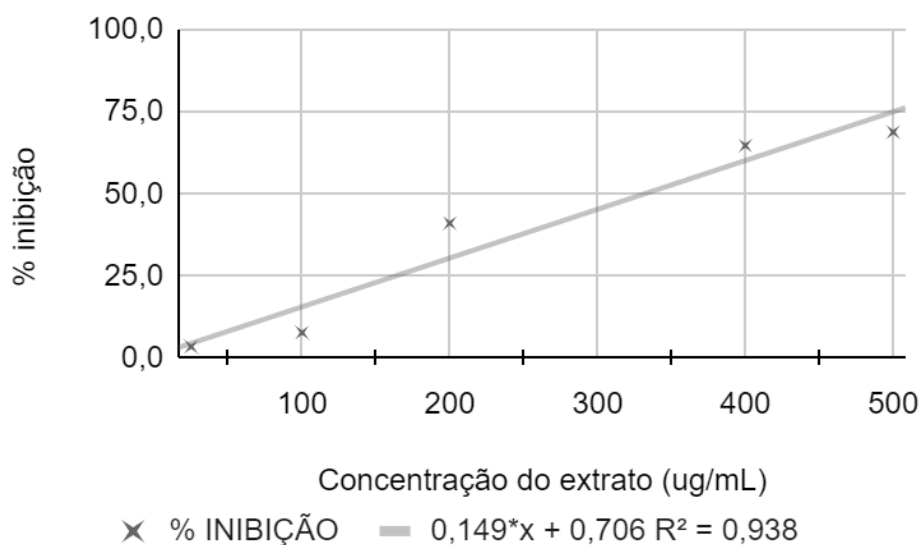
Já a Tabela 4 e a Figura 6 representam os resultados da porcentagem de inibição do radical DPPH com diferentes concentrações do extrato etanólico de canistel.

Tabela 4. Porcentagem de inibição do radical DPPH pelo extrato etanólico de canistel, em diferentes concentrações.

espécie vegetal solvente extrator	concentração (ug/mL)	abs controle	abs extrato	abs real	abs dpph	% inibição
<i>Pouteria campechiana</i> (Kunth) Baehni canistel etanol	25	0,042	0,581	0,539	0,558	3,40
	100	0,041	0,556	0,515	0,558	7,70
	200	0,045	0,374	0,329	0,558	41,0
	400	0,053	0,250	0,197	0,558	64,7
	500	0,055	0,229	0,174	0,558	68,8

ABS= absorbância; $ABS_{real} = (ABS_{bruta} - ABS_{controle})$; ABS_{dpph} = absorbância do poço apenas com DPPH

Figura 6. Porcentagem de inibição do DPPH pelo extrato etanólico da polpa de canistel, em diferentes concentrações.



Também a partir da equação da reta foi possível calcular o EC50% que, no caso do extrato etanol da polpa de canistel foi de 330,83 µg/mL.

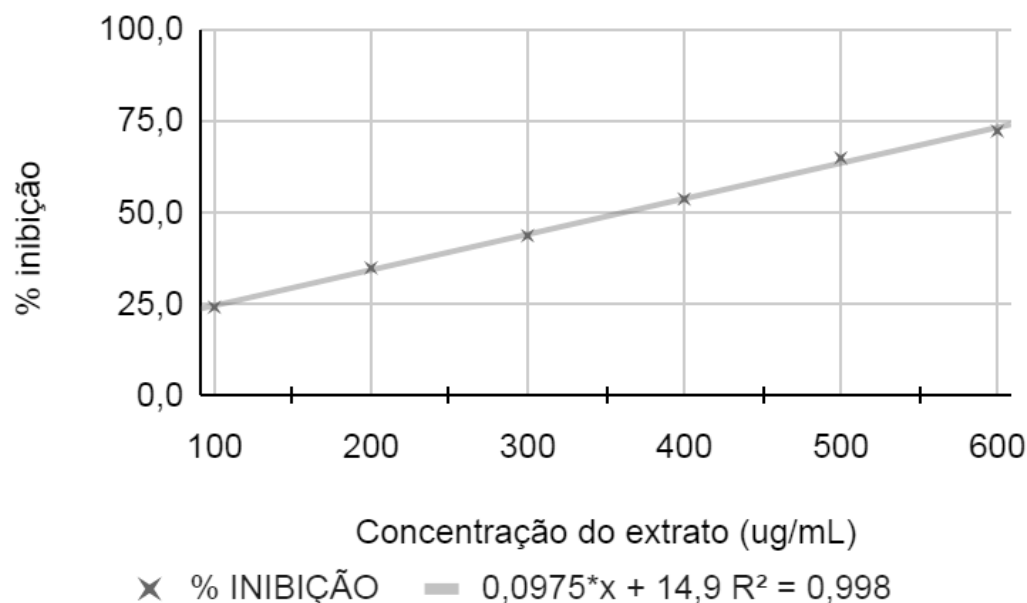
Um terceiro ensaio foi realizado com o extrato etanol 70% da polpa de jatobá e seus resultados estão apresentados na Tabela 5 e na Figura 7.

Tabela 5. Porcentagem de inibição do radical DPPH pelo extrato etanol 70% de jatobá, em diferentes concentrações.

espécie vegetal solvente extrator	concentração (µg/mL)	abs controle	abs extrato	abs real	abs dpph	% inibição
<i>Hymenaea courbaril</i> L. jatobá etanol 70%	100	0,042	0,352	0,310	0,409	24,2
	200	0,044	0,310	0,266	0,409	35,0
	300	0,045	0,275	0,230	0,409	43,8
	400	0,047	0,236	0,189	0,409	53,8
	500	0,055	0,198	0,143	0,409	65,0
	600	0,059	0,0172	0,0113	0,409	72,4

ABS= absorvância; $ABS_{real} = (ABS_{bruta} - ABS_{controle})$; ABS_{dpph} = absorvância do poço apenas com DPPH.

Figura 7. Porcentagem de inibição do DPPH pelo extrato etanol 70% da polpa de jatobá, em diferentes concentrações.



Da mesma forma, calculou-se EC50% a partir da equação da reta e, no caso do extrato etanol 70% da polpa de jatobá foi de 330,83 ug/mL.

Tais resultados de EC50% no ensaio do radical DPPH com extratos vegetais obtidos neste trabalho (bacupari EtOH70% 259,63 ug/mL; canistel EtOH 100% 330,83 ug/mL; e jatobá EtOH70% 360,00 ug/mL) corroboram o encontrado por outros autores que também estudaram o potencial antioxidante de polpa de frutos de espécies vegetais, tais como Chiari et al. (2012), que encontraram EC50% de 290,56 ug/mL do extrato etanol 70% de *Psidium guajava* (goiaba), espécie amplamente difundida no Brasil cuja atividade antioxidante sugere uso cosmético na prevenção do envelhecimento prematuro da face e também quimioprevenção de câncer e outras doenças crônicas. Vieira et al. (2011), com extrato etanol 20%, encontraram EC50% de caju 259,18 ug/mL e de cajá 486,65 ug/mL. A título de comparação, para termos visão de outros valores dentro de uma mesma escala, neste mesmo ensaio o extrato etanol 20% de tamarindo obteve EC50% de 1431,47 ug/mL, valor de 3 a 5 vezes maior do que o encontrado por nós com as PANC citadas, e o de acerola, de 1,74 ug/mL. O fruto acerola é muito conhecido pelo

seu alto potencial antioxidante, tendo sua EC50% muito próxima a de ácidos padrões como ácido ascórbico.

5.3 Triagem do teor de fenólicos totais

Construiu-se curva analítica com o ácido gálico, composto fenólico escolhido para ser utilizado como padrão neste ensaio. Os dados de concentração da solução de ácido gálico e suas respectivas absorbâncias adquiridas em leitura no espectrofotômetro em comprimento de onda 760nm estão apresentados na Tabela 6, abaixo.

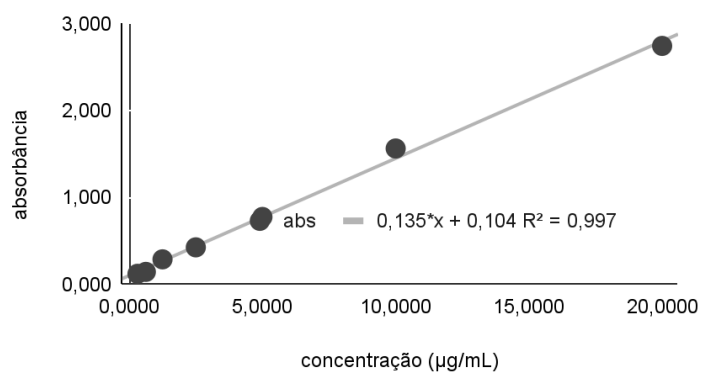
Tabela 6. Concentração das soluções padrão de ácido gálico e respectivas absorbâncias medidas em espectrofotômetro com comprimento de onda em 760nm.

concentração ácido gálico (µg/mL)	absorbância*
0,3125	0,124 ± 0,03
0,625	0,146 ± 0,03
1,25	0,290 ± 0,02
2,50	0,428 ± 0,02
5,00	0,777 ± 0,02
10,00	1,564 ± 0,01
20,00	2,743 ± 0,02

*Ensaio realizado em triplicata (n = 3). Resultados expressos em média ± desvio padrão.

Usou-se os valores da tabela acima para plotar o gráfico correspondente à curva analítica de ácido gálico, Figura 8 representada abaixo.

Figura 8. Curva analítica do ácido gálico utilizado como padrão no ensaio de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu. Leitura da absorbância realizada em 760 nm.



O gráfico possui coeficiente de correlação de Pearson (R^2) igual a 0,997, ou seja, valor próximo à 1 que valida experimentalmente a curva analítica para o uso pretendido no ensaio com reagente de Folin-Ciocalteu. A equação da reta obtida pelo gráfico acima ($y=0,135*x+0,104$) demonstra coeficiente angular (a) igual a 0,135 e coeficiente linear (b) igual a 0,104. Com os valores dos coeficientes e com o valor de absorbância das soluções das amostras, é possível correlacionar a concentração dos compostos fenólicos equivalentes ao ácido gálico (EAG) presente nos extratos. Sabendo-se que a concentração dos extratos nas soluções analisadas foi de 30 µg/mL, calcula-se o teor de compostos fenólicos EAG presente nos extratos, conforme Tabela 7, abaixo.

Tabela 7. Teor (%) de compostos fenólicos totais equivalentes ao ácido gálico presentes nos extratos secos de diferentes espécies vegetais de PANC.

espécie vegetal		teor (%) EAG*
Pouteria campechiana (Kunth) Baehni canistel		4,86 ± 0,7
<i>Hymenaea courbaril</i> L. jatobá		1,64 ± 0,7
<i>Genipa americana</i> L. jenipapo		8,67 ± 9,9
Moquilea tomentosa (Benth.) Fritsch oiti		13,4 ± 2,4
Caryocar brasiliensis Cambess pequi (coleta 1)	coleta 1	1,14 ± 0,1
	coleta 2	1,05 ± 0,3
	comercial	1,47 ± 0,2

*Ensaio realizado em triplicata (n = 3). Resultados expressos em média ± desvio padrão.

Como os dados das amostras são apenas indicativos e não representativos em relação ao número e tamanho da amostra, não realizamos testes estatísticos para diferenças significativas.

Em frutos de outras espécies de plantas não convencionais encontrou-se teores que variaram de 0,52% na polpa de baobá (*Adansonia digitata*); 1,58% na polpa do marolo (*Annona crassiflora*) a 2,61% na farinha da polpa de inajá (*Maximilia maripa*) (Ismail *et al.*, 2019; Barbi *et al.*, 2020; Carvalho *et al.*, 2022).

5.4 Análise dos extratos por HPLC

As análises por HPLC-UV tiveram por objetivo desenvolver métodos de análise para os extratos das PANC para estabelecimentos de seus perfis químicos em HPLC-UV e para a sua aplicação em técnicas hífenadas (HPLC-DAD/UV, HPLC-MS E UHPLC-MS/MS, após transferência de método neste último caso) empregadas na determinação do perfil metabolômico dos extratos. Os cromatogramas apresentados na Figura 9

correspondem aos comprimentos de onda de detecção mais representativos do perfil químico dos extratos, que foram 230 e 250 nm.

Conforme previsto pela polaridade dos solventes empregados, o extrato etanólico apresentou maior número de picos até $t_R = 15$ min, ocorrendo o oposto com o extrato etanol 70%, que apresentou maior número de picos após $t_R = 15$ min. A mesma relação pode ser observada para as áreas dos picos. No comprimento de onda de 250 nm, os picos encontrados no extrato etanol 70% são também observados no extrato etanólico, que apresenta maior complexidade (número de picos) no cromatograma para todas as espécies.

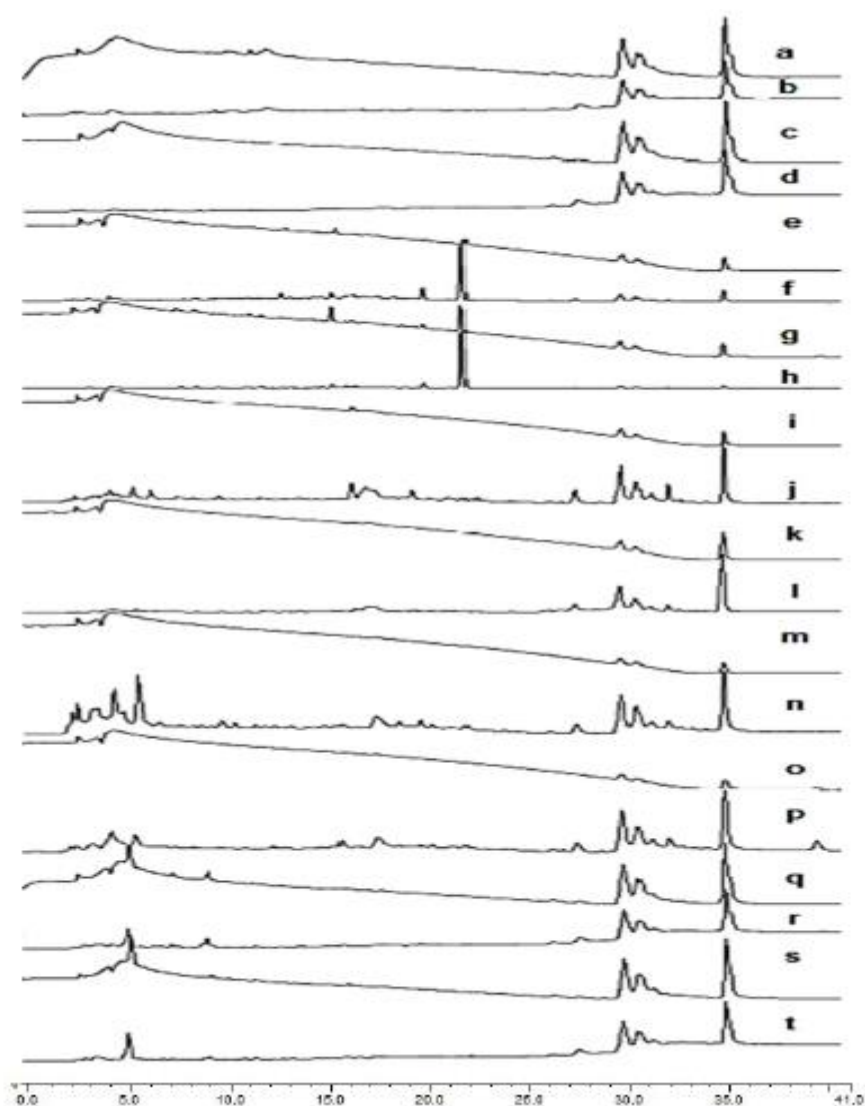


Figura 9. Cromatogramas obtidos dos extratos etanólico: (a) e (b) bacupari 70%; (c) e (d) bacupari 100%; (e) e (f) jenipapo 70%; (g) e (h) jenipapo 100%; (i) e (j) oiti 70%; (k) e (l) oiti 100%; (m) e (n) pequi 70% (coleta 1); (o) e (p) pequi 100% (coleta 1); (q) e (r) canistel 70%; (s) e (t) canistel 100%. Condições de análise: coluna C18 (250 x 4,6 mm; 5 μ m); gradiente exploratório: 5-100% de metanol em 30 min e 100% de metanol até 40 min; vazão de 1,0 mL/min; detector com comprimento de onda em 230 e 250 nm respectivamente.

5.5 Análise dos extratos por TLC (CCD)

A Figura 10 apresenta as cromatoplasmas das três diferentes amostras de pequi, identificadas como coleta 1, amostra comercial e coleta 2, da esquerda para a direita. As placas foram eluídas com diferentes fases móveis (Figura 10A), sendo a FM1 a fase móvel que possibilitou a visualização de maior número de bandas, composta por tolueno:acetato de etila:metanol:ácido acético (5,3:4:0,5:0,2 v/v) e revelada com anisaldeído sulfúrico. Nesta cromatoplasma, as três amostras correspondentes ao pequi (coleta 1, coleta 2 e amostra comercial) demonstraram bandas com o mesmo fator de retenção sendo, $R_f = 0,21; 0,58; 0,61; \text{ e } 0,86$, variando apenas a intensidade de coloração.

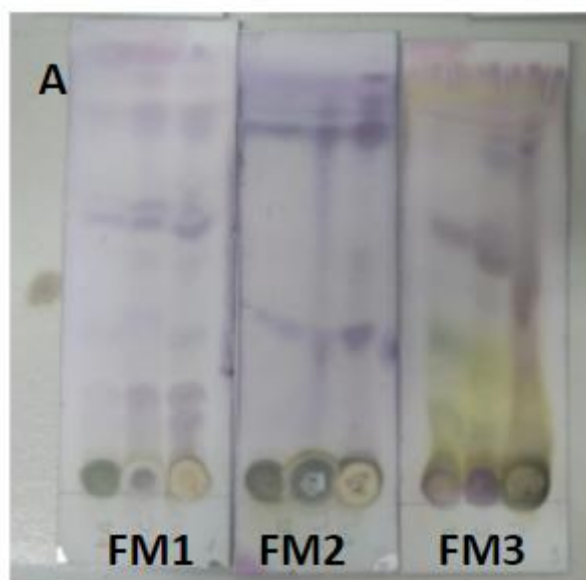


Figura 10: Cromatoplasmas de sílica gel (0,25 mm) das amostras de pequi (coleta 1, amostra comercial e coleta 2, da esquerda para a direita); amostras na concentração de 5 mg/mL (metanol); volume de aplicação igual a 20 μ L. Fases móveis: FM1= tolueno:acetato de etila:metanol:ácido acético (5,3:4:0,5:0,2 v/v); FM2= hexano:acetato de etila:isopropanol (6:3,7:0,3 v/v); FM3= tolueno:acetato de etila:ácido fórmico (2,4:5,6:2 v/v), Revelador: ácido sulfúrico.

Já a Figura 11 apresenta as amostras de PANC identificadas, da esquerda para a direita, como bacupari, canistel, jenipapo e oiti. As placas foram eluídas em diferentes fases móveis: tolueno:acetato de etila: metanol: ácido acético (5,3:4:0,5:0,2 v/v) (Figura 11D); FM2: hexano: acetato de etila: isopropanol (6:3,7:0,3 v/v) (Figura 11E); e FM3:

tolueno: acetato de etila: ácido fórmico (2,4:5,6:2 v/v) (Figura 11F). Todas as cromatoplasmas foram reveladas com anisaldeído sulfúrico. Todas as amostras, exceto a referente ao jenipapo, não eluíram de forma satisfatória, o que requer otimização dessas fases móveis através do aumento da força de eluição. Por outro lado, na amostra de jenipapo (terceiro ponto de aplicação), houve separação de bandas em todas as fases móveis testadas; em todas apareceu uma banda azulada, característica de iridoides como a genipina presente no jenipapo (Wagner, 1987).

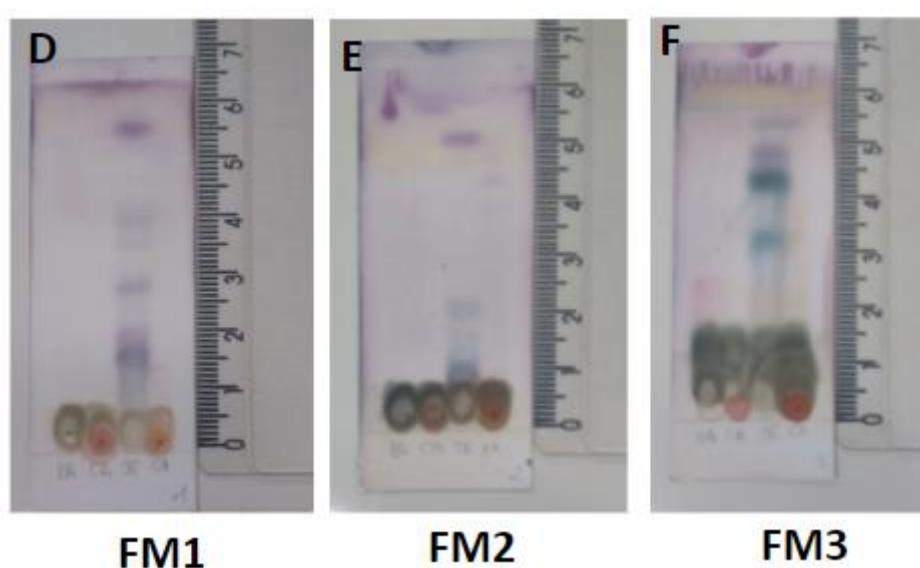


Figura 11: Cromatoplasma de sílica gel (0,25 mm) das frações amostras de bacupari, canistel, jenipapo e oiti da esquerda pra direita em cada uma das cromatoplasmas; amostras na concentração de 5 mg/mL (metanol); volume de aplicação igual a 20 μ L. Fases móveis: FM1= tolueno:acetato de etila:metanol:ácido acético (5,3:4:0,5:0,2 v/v); FM2= hexano:acetato de etila:isopropanol (6:3,7:0,3 v/v); FM3= tolueno:acetato de etila:ácido fórmico (2,4:5,6:2 v/v), Revelador: ácido sulfúrico 10%.

5.6 Avaliação da toxicidade em modelo animal alternativo

As Figuras 12 e 13, a seguir, referem-se aos dados dos ensaios feitos, inicialmente, com os extratos das polpas de jatobá e jenipapo. Tais dados representam dados combinados expressos em média e erro padrão de, no mínimo, dois experimentos independentes. As curvas de sobrevivência foram plotadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas com o teste de log-rank. Cada figura contém dois tipos de controle: EM, que é o meio embriônico (composição: NaCl; KCl; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) e o controle de etanol, que é a solução veículo para solubilizar os extratos. Os extratos foram solubilizados no máximo a 1% de etanol, pois essa é a concentração máxima suportada pelos embriões.

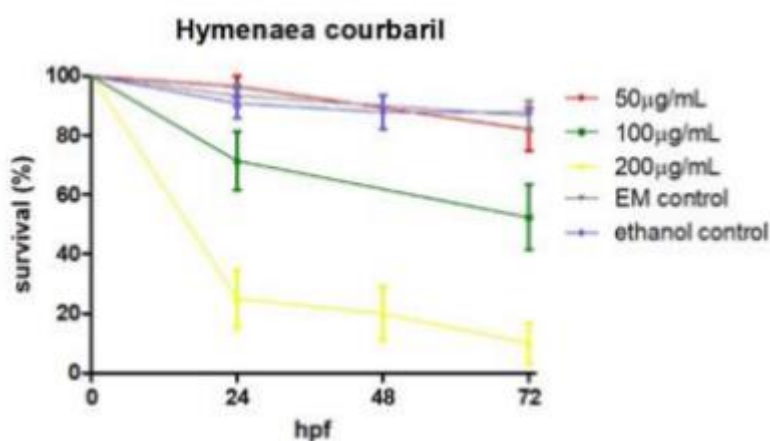


Figura 12. Curva de sobrevivência e resposta de concentração para extrato etanólico de jatobá, segundo horas pós-fertilização. EM control= controle de meio embriônico; hpf= horas pós-fertilização.

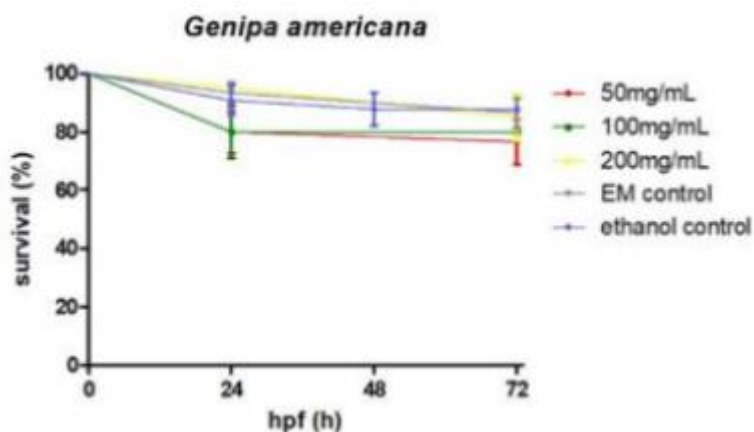


Figura 13. Curva de sobrevivência e resposta de concentração para extrato etanólico de jenipapo, segundo horas pós-fertilização. EM control= controle de meio embriônico; hpf= horas pós-fertilização.

Em comparação com o controle de meio embriônico (EM control), o extrato de jatobá na concentração de 50 µg/mL não apresenta diferença estatística na sobrevivência dos embriões. Já as concentrações de 100 e 200 µg/mL demonstram queda na sobrevivência dos embriões com significância estatística ($p < 0,05$). O extrato de jenipapo apresentou baixa toxicidade nos embriões, mantendo a taxa de sobrevivência alta após 72h de exposição. Nenhuma das três concentrações testadas apresentam diferença estatística com o controle.

5.7 Análise centesimal

O ensaio de Kjeldahl é um método para determinação de proteínas que consiste na determinação do nitrogênio orgânico total, isto é, o nitrogênio proteico somado ao não-proteico. Na maioria dos alimentos, o nitrogênio não-proteico representa um valor ínfimo do total. Para converter o nitrogênio medido em proteína, multiplica-se o conteúdo de nitrogênio por um fator geral padronizado para diversos tipos de alimentos, segundo Tabela 8 (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Tabela 8. Valor de fator de conversão de nitrogênio total em proteína segundo diversos tipos de alimentos.

alimento	fator de conversão
centeio, trigo, cevada, aveia	5,83
macarrão	5,70
amendoim	5,46
soja	6,25
arroz	5,95
amêndoas	5,18
castanha do pará	5,46
avelã e outras nozes	5,30
coco	5,30
leite, margarina e derivados	6,38
gelatina	5,55
outros alimentos	6,25

Fonte: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

Como todas as amostras analisadas neste trabalho se tratam de polpa de frutos, selecionamos o fator de conversão de nitrogênio total em proteína referente ao coco (5,30) devido à similaridade da natureza botânica dos alimentos em questão.

Os resultados da análise de cinzas, proteínas, lipídeos, fibras e carboidratos, os quais compõem a análise centesimal, estão representados na Tabela 9, a seguir.

Tabela 9. Análise centesimal de polpa de frutos de bacupari, canistel, oiti e três diferentes amostras de pequi (coleta 1, coleta 2 e amostra comercial). Ensaio de cinzas realizado pela incineração em mufla; determinação de proteína pelo ensaio de Kjeldahl; lipídeos pelo ensaio de Soxhlet; fibras solúveis, insolúveis, totais e lignina quantificado pelo método de diálise enzimática; e carboidrato determinado pelo método DNS.

<i>nomes científicos das amostras (nome popular)</i>	<i>Caryocar brasiliensis Cambess (pequi, coleta 1)</i>	<i>Caryocar brasiliensis Cambess (pequi, coleta 2)</i>	<i>Caryocar brasiliensis Cambess (pequi, comercial)</i>	<i>Garcinia brasiliensis Mart., (bacupari)</i>	<i>Pouteria campechiana (Kunth) Baehni (canistel)</i>	<i>Moquilea tomentosa (Benth.) Fritsch (oiti)</i>
cinzas (% m/m)	1,90 ± 0,11	2,32 ± 0,06	2,08 ± 0,06	1,52 ± 0,03	1,81 ± 0,02	3,32 ± 0,09
proteína (%)	15,29 ± 1,24	25,10 ± 0,92	7,62 ± 1,48	8,59 ± 0,49	13,19 ± 1,30	15,46 ± 0,45
lipídeos (%)	56,7 ± 0,20	51,4 ± 0,60	66,1 ± 0,60	11,5 ± 1,80	3,6 ± 1,50	4,0 ± 1,60
fibra solúvel (FS) (g/100g base seca)	22,1 ± 3,00	21,7 ± 1,40	21,0 ± 0,90	12,8 ± 0,90	13,3 ± 0,20	12,1 ± 0,30
fibra insolúvel (FI) (g/100g base seca)	11,0 ± 1,10	14,5 ± 0,20	14,1 ± 1,00	10,5 ± 1,30	12,3 ± 0,40	10,4 ± 0,80
lignina klason (LK) (g/100g base seca)	4,5 ± 4,40	2,4 ± 0,30	1,6 ± 0,30	5,7 ± 1,10	11,2 ± 0,50	25,0 ± 2,70
fibra total (FS+FI+L) (g/100g base seca)	37,3 ± 8,30	38,5 ± 1,30	36,6 ± 1,90	28,9 ± 1,90	36,8 ± 0,70	47,5 ± 3,10
carboidrato (%)	22,1 ± 3,00	21,7 ± 1,40	21,0 ± 0,90	12,8 ± 0,90	13,3 ± 0,20	12,1 ± 0,30

Ensaios realizados em triplicata (n = 3). Resultados expressos em média ± desvio padrão.

FS = fibras solúveis; FI = fibras insolúveis; LK = lignina klason e FT = fibras totais (FS+FI+LK).

No ensaio de Soxhlet, por sua vez, a gordura ou óleo é extraída dos alimentos por repetidas lavagens com solvente orgânico (usualmente hexano ou éter de petróleo) sob refluxo em uma vidraria específica. Posteriormente ocorre a separação da gordura e do solvente. O teor graxo corresponde ao peso do resíduo remanescente após evaporação do solvente.

No ensaio de Kjeldahl podemos notar que houve diferença significativa entre o teor de proteína das três amostras de pequi, sendo que a amostra comercial demonstrou teor relativamente mais baixo, corroborando com a hipótese de que o processamento industrial reduz componentes nutricionais dos alimentos. Além disso, o teor de proteína identificado nas amostras coleta 1 e coleta 2 de pequi são comparáveis àqueles encontrados em amostras de ora-pro-nobis, PANC largamente conhecida por ser rica em proteínas.

No método de diálise enzimática usa-se reagente DNS para determinação dos valores de fibras solúveis, os quais são compatíveis com valores de açúcares. Para isso, foi necessário construir uma curva analítica de glicose, a qual é utilizada como padrão neste método e se encontra representada a seguir, na Figura 14.

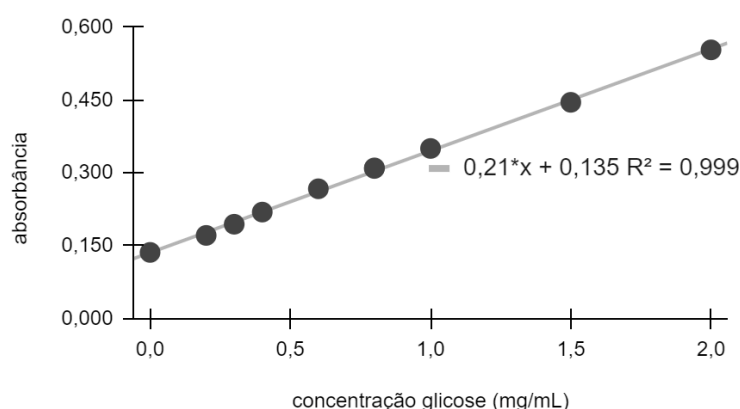


Figura 14. Curva analítica de glicose utilizada como padrão para reação do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Leitura das absorbâncias em 530 nm.

A equação da reta obtida pelo gráfico acima ($y=0,21*x+0,135$) demonstra coeficiente angular (a) igual a 0,21 e coeficiente linear (b) igual a 0,135. Com os valores dos coeficientes e com o valor de absorbância das soluções das amostras, é possível calcular a concentração destas soluções, valor até então desconhecido. Sabendo-se a concentração das soluções das amostras, calcula-se a quantidade de fibras solúveis e insolúveis das mesmas, valores expressos em g/100g de base seca, conforme Tabela 9.

É importante salientar que, neste método utilizado, os valores obtidos de fibras solúveis são compatíveis e equivalentes aos valores de açúcares, visto que a curva analítica de glicose conta com a reação do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Portanto, os valores observados para fibras solúveis (FS) da Tabela 9 tratam-se também dos valores de carboidratos totais presentes nas amostras.

5. CONCLUSÕES

O extrato etanol 70% de bacupari e o extrato etanólico de canistel demonstraram o maior potencial antioxidante dentre os extratos de polpa dos frutos das seis PANC estudadas, inibindo em cerca de 70% o radical DPPH na concentração de 500 µg/mL. O teor de compostos fenólicos totais equivalentes ao ácido gálico (EAG) variou de 1,05±0,3 no pequi coletado na Unesp (coleta 2) a 13,4±2,4 no oiti.

As análises por HPLC-UV do extrato etanólico e etanol 70% de todas as espécies analisadas demonstraram a maior complexidade química que os extratos etanólicos 100%. As condições utilizadas, mesmo em gradiente exploratório, permitiram a resolução de grande número de picos, o que possibilitará, futuramente, otimizar a fase móvel e identificar as substâncias presentes nos extratos.

Na CDD, a fase móvel composta por tolueno:acetato de etila:metanol:ácido acético (5,3:4:0,5:0,2 v/v) e revelada com anisaldeído sulfúrico possibilitou a visualização de maior número de bandas nas três amostras de pequi. Já as amostras de bacupari, canistel e oiti não eluíram de forma satisfatória, requerendo otimização das condições de análise por TLC. Para o jenipapo houve separação de bandas nas três fases móveis testadas e, em todas, evidenciou-se uma banda azulada, característica de iridoides como a genipina.

O maior e o menor teor de proteínas nas polpas de frutos foram encontrados em amostras de pequi (amostra coletada no campus da Unesp e na amostra comercial, respectivamente). O maior e o menor teor de lipídeos foram encontrados na amostra comercial de pequi e no canistel, respectivamente. O teor de fibras solúveis variou de 12,1±0,3 em oiti a 22,1±3,0 na amostra de pequi coletada no assentamento (coleta 1). Oiti também contou com o menor valor de fibras insolúveis (10,4±0,8) e o pequi coletado na

Unesp (coleta 2) com o maior valor ($14,5 \pm 0,2$). Amostra comercial de pequi contou com o menor valor de lignina klason ($1,6 \pm 0,3$) e oiti com o maior valor ($25,0 \pm 2,7$)

Com relação à avaliação da embriotoxicidade, a menor concentração do extrato etanólico de jatobá ($50 \mu\text{g/mL}$) não apresentou diferença com significância estatística ($p > 0,05$) em comparação com os controles. Já a concentração de 100 e $200 \mu\text{g/mL}$ apresentam diferença estatística ($p < 0,05$), com grande impacto na queda da taxa de sobrevivência. O extrato de jenipapo, por sua vez, apresentou baixa toxicidade aos embriões nas três concentrações testadas e manteve a taxa de sobrevivência alta mesmo após as 72 horas de exposição.

7. REFERÊNCIAS

- ABDEL-KADER, M. et al. Isolation and absolute configuration of ent-halimane diterpenoids from *Hymenaea courbaril* from the Suriname rain forest. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 1, p. 11-15, 2002.
- AGOSTINI COSTA, T. S. et al. Composição de carotenoides em canistel (*Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni). **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 3, 2010
- ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.
- ALMOG, J. et al. Genipina novel fingerprint reagent with colorimetric and fluorogenic activity. **Journal of Forensic Science**, v. 49, n. 2, p. 1-3, 2004.
- ALVES, E. O. et al. Levantamento etnobotânico e caracterização de plantas medicinais em fragmentos florestais de Dourados-MS. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 651-658, 2008.
- ARWA, P. S. **Estudo químico e busca de substâncias bioativas de Garcinia brasiliensis**. 2013. 157 f. Dissertação (Doutorado) - Instituto de Química, UNESP, Araraquara, 2013.
- ASEERVATHAM, G. S. B. et al. Antioxidant and hepatoprotective potential of *Pouteria campechiana* on acetaminophen-induced hepatic toxicity in rats. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 70, n. 1, p. 1-14, 20 mar. 2014.
- BARBI, R. C. T et al. Ripe and unripe inajá (*Maximilia maripa*) fruit: A new high source of added value bioactive compounds. **Food Chemistry**, v.331, n. 127333, 2020.
- BARMINAS, J.; CHARLES, M.; EMMANUEL, D. Mineral composition of non-conventional leafy vegetables. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 53, n. 1, p. 29-36, 1998.
- BARROSO, R. P. et al. *In vitro* antioxidant properties of golden grass (*Syngonanthus nitens*) by electron paramagnetic resonance. **Food science & nutrition**, v. 7, n. 4, p. 1353-1360, 2019.
- BEZERRA, G. P. et al. Phytochemical study guided by the myorelaxant activity of the crude extract, fractions and constituent from stem bark of *Hymenaea courbaril* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 149, n. 1, p. 62-69, 2013.
- BRASIL. **Guia alimentar para a população brasileira**. Brasília, 2014.
- BUTLER, M.F. et al. Mechanism and kinetics of the crosslinking reaction between biopolymers containing primary amine groups and genipin. **J. Polym. Sci. A Polym. Chem.**, v.41, p.3941-3953, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pola.10960>. Acesso em: 18 jun. 2024.

CASTILHO, R. O. et al. Constituintes químicos de *Licania tomentosa* Benth. (CHRYSOBALANACEAE). **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 66-69, 2008.

CASTRO BRAGA, F. et al. Screening Brazilian plant species for *in vitro* inhibition of 5-lipoxygenase. **Phytomedicine**, v. 6, n. 6, p. 447-452, 2000.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. 7. ed. Belém: Museu Goeldi, 2010.

CARTAXO, S. L.; SOUZA, M. M. DE A.; ALBUQUERQUE, U. P. DE. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 131, n. 2, p. 326-342, set. 2010.

CARVALHO, N. C. C. et al. Phytochemical Analysis of the Fruit Pulp Extracts from *Annona crassiflora* Mart. and Evaluation of Their Antioxidant and Antiproliferative Activities. **Foods**, v. 11, n. 2079, 2022.

CHIARI, B. G. et al. Assessment of the chemical profile, polyphenol content and antioxidant activity in extracts of *Psidium guajava* L. Fruits. **Int J Pharm Pharm Sci**, v. 4, s. 5, p. 331-336, 2012.

CONTRERAS-CALDERÓN, J. et al. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2047-2053, 1 ago. 2011.

COX, B. D.; WHICHELOW, M. J.; PREVOST, A. T. Seasonal consumption of salad vegetables and fresh fruit in relation to the development of cardiovascular disease and cancer. **Public Health Nutrition**, v. 3, n. 1, p. 19-29, 2000.

DE MEDEIROS, J. L. et al. Chemical composition, nutritional properties, and antioxidant activity of *Licania tomentosa* (Benth.) fruit. **Food Chemistry**, v. 313, p. 126117, 2020.

CURY, G. C. et al. Estudio del fruto comestible de la especie vegetal *Hymenaea courbaril* L. **Revista Boliviana de Química**, v. 28, n. 2, p. 73-78, 2011.

DÉCIGA-CAMPOS, M. et al. Antinociceptive and antihyperalgesic activity of a traditional Maya Herbal preparation composed of *Pouteria campechiana*, *Chrysophyllum cainito*, *Citrus limonum*, and *Annona muricata*. **Drug Development Research**, v. 78, n. 2, p. 91-97, 2017.

DE LANEROLLE, M. S. et al. The carotenoids of *Pouteria campechiana* (Sinhala: Ratalawulu). **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**, v. 36, n. 1, p. 95-98, 2008.

DIAS, J. E.; LAUREANO, L. C. **Corpo-território: mulher Kalunga**. Cavalcante, GO: Articulação Pacari, 2019.

EASTWOOD, M. A. Interaction of dietary antioxidants *in vivo*: how fruit and vegetables prevent disease? **QJM: An International Journal of Medicine**, v. 92, n. 9, p. 527-530, 1999.

EBANKS THOMAS, A. M. **Plantas Útiles del Municipio de Bonanza**. [s.l: s.n.].

ELSAYED, A. M. et al. Chemical composition and biological activities of *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 16, p. 209-215, 2016.

EMBRAPA. Ações de resgate e multiplicação promovem a volta de PANC ao campo e à mesa. In: **Hortaliças em Revista**. [s.l: s.n.]. p. 6-10, 2017.

JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Flora e Funga do Brasil**. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 08 ago. 2022

FRANCO, E. M.. **Actividad antioxidante in vitro de las bebidas de frutas**. Bebidas, 2006. (Alfa Editores Técnicos).

HERNANDEZ, C. L. C. *et al.* Isolation and Evaluation of Antimitotic Activity of Phenolic Compounds from *Pouteria campechiana* Baehni. **Philippine Journal of Science**, v.137,n. 1, p. 1-10, 2008.

HERCULANO, R. D. **Sensor sólido de óxido nítrico utilizando látex como matriz**. 2005. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo- Ribeirão Preto, 2005.

ISMAIL, B. B. et al. LC-MS/QTOF identification of phytochemicals and the effects of solvents on phenolic constituents and antioxidant activity of baobab (*Adansonia digitata*) fruit Pulp. **Food Chemistry**, v.277, p.279-288, 2019.

IONTA, M. et al. 7-Epiclusianone, a benzophenone extracted from *Garcinia brasiliensis* (Clusiaceae), induces cell cycle arrest in G1/S transition in A549 cells. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 12804-12816, 2015.

JONES, S. K. et al. Agrobiodiversity Index scores show agrobiodiversity is underutilized in national food systems. **Nature Food**,v. 2, n.9, p.712-723, 2021.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: Guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014.

KOO, H. J. et al. Antiinflammatory effects of genipin, an active principle of gardenia. **European Journal of Pharmacology**, v. 495, n. 2-3, p. 201-208, 2004.

KONG, K. W. et al. Total phenolics and antioxidant activities of *Pouteria campechiana* fruit parts. **Sains Malaysiana**, v.42, n.2, p.123-127, 2013.

KRISHNAIAH, D.; SARBATLY, R.; NITHYANANDAM, R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, n. 3, p. 217-233, 2011.

LEWINSOHN, T.; PRADO, P. I. Quantas espécies há no Brasil? **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, 36-42, 2005.

LIMA, N. et al. Oligosaccharides derived from the xyloglucan isolated from the seeds of

Hymenaea courbaril var. stilbocarpa. **Int J Biol Macromol**, p. 413-415, 1995.

LORENZI, H. et al. **Frutas Brasileiras Exóticas e Cultivadas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.

MA, J. et al. Analysis of polyphenolic antioxidants from the fruits of three Pouteria species by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 19, p. 5873-5878, 2004.

MAGALHÃES, K. DO N. et al. Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of the late professor Francisco José de Abreu Matos. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 237, p. 314-353, 12, 2019.

MAÑAS, E.; BRAVO, F.; SAURA-CALIXTO, F. Dietary fiber analysis: Methodological error sources. **Journal of Clinical Nutrition**. v. 49, p. 158-162, 1995. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8549514/>. Acesso em: 18 jun.2024.

MAGALHÃES, K. DO N. et al. Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of the late professor Francisco José de Abreu Matos. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 237, n. March, p. 314-353, 2019.

MARTIN, S. S.; LANGENHEIM, J. H.; ZAVARIN, E. Sesquiterpenes in leaf pocket resin of Hymenaea courbaril. **Phytochemistry**, v. 11, n. 10, p. 3049-3051, 1972.

MENDONÇA, L. A. B. M. et al. Toxicity and phytochemistry of eight species used in the traditional medicine of sul-mato-grossense, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, p. 574-581, 2019.

MIRANDA, M. M. F. S. et al. Anti-herpes simplex virus effect of a seed extract from the tropical plant *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch (Chrysobalanaceae). **Phytomedicine**, v. 9, n. 7, p. 641- 645, 2002.

MOREIRA, M. E. DE C. et al. Bacupari peel extracts (*Garcinia brasiliensis*) reduce high-fat diet-induced obesity in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 29, p. 143-153, 2017.

NEVES, J. et al. Antianaphylactic properties of 7-epiclusianone, a tetraprenylated benzophenone isolated from *Garcinia brasiliensis*. **Planta Medica**, v. 73, n. 7, p. 644-649, 11 jun. 2007.

OMENA, C. M. B. et al. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 334–344, nov. 2012.

PASSOS, X. S. et al. Antifungal activity of *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) against *Cryptococcus neoformans*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 6, p. 623-627, 2002.

PEREIRA JÚNIOR, L. R. et al. Espécies da caatinga como alternativa para o

desenvolvimento de novos fitofármacos. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 4, p. 509-520, 2014. Disponível em: [http://dx. doi.org/10.1590/2179-8087.024212](http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.024212). Acesso em: 18 jun.2024.

PINTO, N. D. C. C. et al. *Pereskia aculeata* Miller leaves present *in vivo* topical anti-inflammatory activity in models of acute and chronic dermatitis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 173, p. 330-337, 2015

POTTER, J. D. Cancer prevention: epidemiology and experiment. **Cancer letters**, v. 114, n. 1-2, p. 7-9, 1997.

PORTO, R. G. C. L. et al. Chemical composition and antioxidant activity of *Genipa americana* L. (Jenipapo) of the Brazilian Cerrado. **Journal of Agriculture and Environmental Sciences**, v. 3, n. 4, p. 51-61, 2014.

RAGASA, Y.; LABACLADO, L. M.; RIDEOUT, J. A. Triterpenes and Sterol from *Pouteria campechiana*. **The Manila Journal of Science**, v. 2, n. January 2011, p. 1-7, 2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes Brasileiras de Carotenoides: tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos**. Brasília: MMA/SBF, 2008.

ROSA, R. H. et al. Determination of Macro- and Microelements in the Inflorescences of Banana Tree Using ICP OES: Evaluation of the Daily Recommendations of Intake for Humans. **The Scientific World Journal**, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2020/8383612>. Acesso em: 18 jun. 2024.

SANTA-CECÍLIA, F. V. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory properties of 7-epiclusianone, a prenylated benzophenone from *Garcinia brasiliensis*. **European Journal of Pharmacology**, v. 670, n. 1, p. 280-285, 2011.

SANTOS, M. H. DOS et al. 7-epiclusianona, a nova benzofenona tetraprenilada e outros constituintes químicos dos frutos de *Rheedia gardneriana*. **Química Nova**, v. 22, n. 5, p. 654-660, 1999.

SANTOS, M. DE O. et al. The conservation of native priority medicinal plants in a caatinga area in Ceará, northeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 89, n. 4, p. 2675-2685, 2017.

SARAIVA, M. E. et al. Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 171, p. 141-153, 2015.

SOUZA, R. K. D. et al. Ethnopharmacology of medicinal plants of carrasco, northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 157, p. 99-104, 2014.

SILVA, C. A. M., SIMEONI, L. A.; SILVEIRA, D. Genus *Pouteria*: chemistry and biological activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia [online]**, v. 19, n. 2a, 2009.

SILVA, L. F. L. E. et al. Nutritional Evaluation of Non-Conventional Vegetables in

Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 2, p. 1775-1787, 2018.

SIMÕES, C. M. O., et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO SOBRE A BIODIVERSIDADE BRASILEIRA (SiBBr), 2020. Disponível em: <https://www.rnp.br/noticias/sibbr-biodiversidade-brasileira-producao-cientifica-e-politicas-publicas-mais-assertivas>. Acesso em: 08 ago. 2022.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO (SBAN). Alimentação variada e o papel do café da manhã. São Paulo, 2015.

STRANDHAGEN, E. et al. High fruit intake may reduce mortality among middle-aged and elderly men. The study of men born in 1913. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 54, n. 4, p. 337-341, 2000.

TAKEITI, C. Y. et al. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. sup1, p. 148-160, 2009.

TORRES, L. R. O. et al. Bioactive compounds and functional potential of pequi (*Caryocar* spp.), a native Brazilian fruit: a review. **Grasas y Aceites**, v. 69, n. 2, p. e257-e257, 2018.

VIEIRA, L. M. et al. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. **Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal**, v. 33, n.3, p. 888-897, 2011.

ZAN, R. A. et al. Bioactive properties and phytochemical assessment of Bacupari-anão (*Garcinia brasiliensis* Mart.) leaves native to Rondônia, Brazil. **Food & function**, v. 9, n. 11, p. 5621-5628, 2018.

WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINSKY, E. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. Berlim: Springer Verlag, 1984. P.320.