

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS - ICE
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - DQ



JHEIFFISON CLEMENTE SOUZA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA CASCA DO CAULE DE *Bertholletia excelsa*,
USANDO A PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA EM TUBOS, CCD E EM-(-)-APCI**

MANAUS
2023

JHEIFFISON CLEMENTE SOUZA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA CASCA DO CAULE DE *Bertholletia excelsa*,
USANDO A PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA EM TUBOS, CCD E EM(-)-APCI**

Monografia apresentada no curso de Bacharelado em Química do Instituto de Ciências Exatas – ICE, Departamento de Química - DQ e Universidade Federal do Amazonas - UFAM como parte dos requisitos para obtenção do título de Graduação de Bacharelado em Química.

Orientador (a): Prof. Dr. Anderson Cavalcante Guimarães

MANAUS

2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S729c Souza, Jheiffison Clemente
Caracterização química da casca do caule de *Bertholletia excelsa*, usando a prospecção fitoquímica em tubos, CCD e EM(-)-APCI / Jheiffison Clemente Souza . 2023
72 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Anderson Cavalcante Guimarães
TCC de Graduação (Química - Bacharelado) - Universidade Federal do Amazonas.

1. castanha-do-Brasil. 2. *Bertholletia excelsa*. 3. prospecção fitoquímica. 4. antioxidante. 5. espectrometria de massas. I. Guimarães, Anderson Cavalcante. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

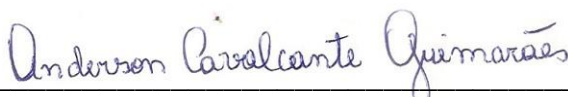
JHEIFFISON CLEMENTE SOUZA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA CASCA DO CAULE DE *Bertholletia excelsa*,
USANDO A PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA EM TUBOS, CCD E EM(-)-APCI**

Trabalho de conclusão de curso submetido ao Departamento de Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como parte dos requisitos para obtenção do grau de Graduação em Bacharel em Química.

Aprovado, em 03 de março de 2023

BANCA EXAMINADORA

Assinatura:  _____

Prof. Dr. Anderson Cavalcante Guimarães
Universidade Federal do Amazonas
Orientador

Assinatura: _____

Prof. Dr. Renyer Alves Costa
Universidade Federal do Amazonas
Membro da Comissão de Monografia, Estágio e Atividades Complementares

Assinatura _____

Prof. Dr. Marcos Batista Machado
Universidade Federal do Amazonas
Coordenador do Curso Bacharelado em Química

Esta monografia é toda dedicada ao meu pai, minha mãe, minhas irmãs e esposa, pois foi graças a eles que pude ter forças para concluir o curso de bacharel em Química.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à Deus por que sem Ele nada disso seria possível de ser realizado;

À minha família, meus pais Claucivaldo dos Santos Souza (*In memorian*) e Maria Celina Xavier Clemente, minhas irmãs Xayane Clemente Souza, Jayana Clemente Souza, Clarissa Clemente Souza e Josiane dos Santos Souza, pelo o amor de cada um e ao apoio que tive deles durante esta caminhada;

À minha esposa, Stephany Olgaides de Castro Barbosa por sempre está comigo nos momentos mais felizes e tristes da minha vida;

À minha tia, Cleucimar dos Santos Souza e sua família por terem ajudado a mim durante minha jornada em Manaus;

Ao meu Orientador, Anderson Cavalcante Guimarães, por ter me aceitado como seu aluno, pelos ensinamentos, críticas e sugestões prestado por ele durante toda a jornada acadêmica;

Os professores e colegas do Laboratório de Produtos Naturais da UFAM Q-BIOMA pelo apoio e ajuda durante toda a empreitada;

Ao Programa Institucional de Bolsa e Iniciação Científica (PIBIC) a Universidade Federal do Amazonas (UFAM) o Instituto de Ciências Exatas (ICE) e ao Departamento de Química (DQ) que de alguma forma contribuíram para minha vitória;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), Departamento de Assistência Estudantil (DAEST), Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPESP), Programa de Bolsa Permanência (PBP), Ministério da Educação (MEC), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Associação dos Moradores da Comunidade Remanescente de Quilombolas de Cachoeira Porteira (AMOCREQ-CPT), Associação das Comunidades Remanescentes de Quilombo do Município de Oriximiná (ARQMO) e a Fundação Cultural Palmares (FCP) pelos serviços e auxílios financeiros;

A todos, que de alguma forma seja direta ou indiretamente contribuíram pra realização deste trabalho acadêmico.

*O que sabemos é uma gota;
o que ignoramos é um oceano.
Isaac Newton*

RESUMO

As plantas medicinais produzem uma biodiversidade de metabólitos secundários, no qual possuem como função principal a proteção contra estresses abióticos e bióticos. No ser humano, esses princípios ativos são responsáveis pelos feitos medicinal e farmacológico. A *Bertholletia excelsa* (Lecythidaceae), é uma planta oleaginosa nativa da região amazônica. As classes químicas comumente identificadas na espécie compreendem os compostos fenólicos, terpenos e flavonóides, os quais são responsáveis principalmente pela atividade antioxidante. Estudos recentes confirmaram a presença de compostos fenólicos como quercetina e ácido protocatecuico, que podem estar relacionados com a capacidade sequestradora de radicais livres. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo fitoquímico de extratos brutos e frações da casca do caule da espécie. Logo, o material vegetal coletado foi seco, moído, extraído com etanol 20 e 80% por meio da extração estática exaustiva refrigerada por refluxo. Os extratos brutos foram filtrados, concentrados e fracionados em ordem crescente com hexano, clorofórmio, acetato de etila e butanol. Em seguida, foi realizado as análises de prospecção fitoquímica em tubos, CCD e EM. Os extratos etanólicos 20 e 80% apresentaram rendimentos totais de 1,92 e 1,85 %, respectivamente. No teste em tubos, os resultados foram baseados na mudança de cor após a reação ou formação de precipitado. Por meio do teste, foi caracterizado a presença de terpenos, esteroides, saponinas, flavonóis e flavanonas. No teste por CCD, foi caracterizado ácidos fenólicos, flavonóides e terpenos. Também foi observado uma atividade antioxidante frente ao DPPH. Na análise por EM, foi caracterizado que os compostos majoritários são ácidos graxos como: ácido palmítico (255 m/z), ácido oleico 281 (m/z), ácido linoleico (279 (m/z), ácido esteárico 283 (m/z) e ácido 9, 12, 13-trihidroxi-10-octadecenóico (329 m/z), o que condiz com a literatura. Além disso, também foi caracterizado a presença majoritária de uma ariltetralina lignana (419 m/z) e um ácido protocatecuico (153 m/z), de forma minoritária. Portanto, a atividade antioxidante pode estar associada com a concentração de constituintes polares nas amostras. Esta pesquisa é de suma importância e contribui para o conhecido químico da espécie.

Palavras-chaves: castanha-do-Brasil; *Bertholletia excelsa*, prospecção fitoquímica, antioxidante, espectrometria de massas

ABSTRACT

Medicinal plants produce a biodiversity of secondary metabolites, whose main function is to protect against abiotic and biotic stresses. In humans, these active principles are responsible for medicinal and pharmacological effects. *Bertholletia excelsa* (Lecythidaceae), is an oleaginous plant native to the Amazon region. The chemical classes commonly identified in the species include phenolic compounds, terpenes, and flavonoids, which are mainly responsible for the antioxidant activity. Recent studies have confirmed the presence of phenolic compounds such as quercetin and protocatechuic acid, which may be related to the free radical kidnapper capacity. In this context, the objective of this work was to carry out a phytochemical study of crude extracts and fractions of the stem bark of the species. Then, the collected plant material was dried, ground, extracted with ethanol 20 and 80% by means of static exhaustive extraction cooled by reflux. The crude extracts were filtered, concentrated and fractionated in ascending order with hexane, chloroform, ethyl acetate and butanol. Then, phytochemical prospecting analyses were carried out in tubes, CCD and MS. Ethanolic extracts 20 and 80% showed total yields of 1.92 and 1.85 %, respectively. In the tube test, the results were based on color change after reaction or precipitate formation. Through the test, the presence of terpenes, steroids, saponins, flavonols and flavanones were characterized. In the CCD test, phenolic acids, flavonoids and terpenes were characterized. An antioxidant activity against DPPH was also observed. In the MS analysis, it was characterized that the majority compounds are fatty acids such as: palmitic acid (255 m/z), oleic acid 281 (m/z), linoleic acid (279 (m/z), stearic acid 283 (m/z) and 9,12, 13-trihydroxy-10-octadecenoic acid (329 m/z), which is consistent with the literature. In addition, the majority presence of a aryltetralin lignan (419 m/z) and a protocatechuic acid (153 m/z) was also characterized in a minority form. Therefore, the antioxidant activity may be associated with the concentration of polar constituents in the samples. This research is of paramount importance and contributes to the known chemistry of the species.

Keyword: Brazil nuts; *Bertholletia excelsa*; phytochemical prospecting; antioxidant, mass spectrometry

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Estruturas moleculares de alguns compostos químicos das classes dos terpenóides, carotenóides, ácidos fenólicos, flavonóides, alcalóides e ácidos graxos já identificados em espécies da família da Lecythidaceae.....21
- Figura 2** – Aspectos botânicos da *Bertholletia excelsa* (A) árvore da castanha-do-Brasil (B) caule do tronco da árvore (C) fruto (ouríço) com sementes em seu interior (D) amêndoas (E) folha da espécie.....22
- Figura 3** – Estruturas moleculares de alguns compostos químicos das classes dos terpenóides, esteróides, fenólicos e flavonóides já identificados na espécie da *Bertholletia excelsa*.....29
- Figura 4** – Sistema de extração estática exaustiva refrigerada por refluxo.....37
- Figura 5** – Sistema e aparelhos usados nas etapas de filtração e concentração.....37
- Figura 6** – Sistemas, equipamentos e vidrarias usados nas etapas de fracionamento, secagem e armazenamento das amostras BEC.....38
- Figura 7** – Placas de CCD dos extratos brutos BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%, em concentrações de 15 mg mL⁻¹, volume aplicado 5 µL e sistema de eluição com acetato de etila: hexano: ácido acético: ácido fórmico (4: 6: 0,5: 0,5).....48
- Figura 8** – Teste qualitativo do potencial antioxidante das amostras BEC-EXT.B-20% e BEC-EXT.B-80% pela técnica de CCD com DPPH (A) placa sem DPPH (B) placa com DPPH após 30 min.....50
- Figura 9** – Espectros de massas (A) extrato bruto BEC-EXT.B-80% (B) fração éter da amêndoa de *Anacardium occidentale* L. (cajueiro).....53
- Figura 10** – Estrutura molecular dos grupos Diacilglicerol e Triacilglicerol ligados por ácidos graxos.....54
- Figura 11** – Espectros de massas da região dos íons moleculares Diacilglicerol e Triacilglicerol (A) fração BEC-HEX-80% (B) fração BEC-ACE-80% (C) extrato bruto BEC-EXT.B-80%.....54
- Figura 12** – Espectro de massas (fullscan) de BEC-EXT.B-20% (varredura-modo negativo).....56
- Figura 13** – Comparação de espectros de fragmentação (A) fração BEC-CLO-20% (B) espectro de massa do banco de dado MassBank of North America (MONA).....57
- Figura 14** – Espectros de massas (A) modo Fullscan da fração BEC-ACE-20% (B) espectro de fragmentação do íon *m/z* 153.....58
- Figura 15** – Proposta de fragmentação do ácido protocatecuico presente na fração BEC-ACE-20%.....59
- Figura 16** – Espectros de massas (A) fragmentação da *m/z* 329 (B) fragmentação da *m/z* 329 encontrada na literatura.....60
- Figura 17** – Fórmula molecular do ácido graxo (ácido 9, 12, 13-trihidroxi-10-octadecenoico) e suas principais fragmentações por APCI/EM² modo negativo (FullScan).....61

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classes de metabólitos secundários presentes em plantas medicinais e aromáticas.....	17
Quadro 2 – Classes de compostos químicos relatados para família Lecythidaceae na literatura.....	20
Quadro 3 – Compostos bioquímicos quantificados e/ou identificados na espécie <i>Bertholletia excelsa</i>	26
Quadro 4 – Compostos fitoquímicos quantificados e/ou identificados na espécie <i>Bertholletia excelsa</i>	28
Quadro 5 – Dados e caracterização de compostos químicos por espectrometria de massas com ionização por <i>electrospray</i> ESI(-)-EM e ionização química à pressão a atmosfera APCI(-)-EM.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Rendimento dos extratos brutos e frações oriundos do material botânico da casca do caule.....	44
Tabela 2 – Prospecção fitoquímica em tubos dos extratos etanol 80%.....	45
Tabela 3 – Prospecção fitoquímica em tubos dos extratos etanol 20%.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE – Acetato de etila
APCI – Ionização Química por Pressão Atmosférica
BEC – *Bertholletia excelsa* casca do caule
BUT – Butanol
CCD – Cromatografia em camada delgada
CLO – Clorofórmio
DAD – Detector de arranjo de diodo
DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EM – Espectrometria de Massas
ESI – Electro Spray Ionization
EXT.B-80% – Extrato bruto extraído em etanol a 80%
EXT.B-20% Extrato bruto extraído em etanol a 20%
FE – Fase estacionária
FM – Fase móvel
HEX – Hexano
HID – Hidroalcoólico
HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência
IC₅₀ – Concentração que inibe 50% (de DPPH)
LB – Lieberman-Burchard
mBq – Megabecquerel
MONA – MassBank of North America
MS – Mass spectrometry
AGM – Ácidos graxos monoinsaturados
NP – 2-aminoetil-difenilborinato
PEG – Polietilenoglicol
pH – Potencial hidrogeniônico
AGP – Ácidos graxos poliinsaturados
R_f – Fator de retenção
RMN – Ressonância magnética nuclear
RPM – Rotação por minuto
AGS – Ácidos graxos saturados
UV – Ultravioleta

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1	Plantas Medicinais	16
2.2	Metabólitos Secundários	16
2.3	Atividade Antioxidante	18
2.4	Família Lecythidaceae	19
2.5	Bertholletia excelsa	22
2.5.1	Aspectos Botânicos	22
2.5.2	Localização Geográfica	22
2.5.3	Importância Econômica Regional	23
2.5.4	Composição Bioquímica da <i>Bertholletia excelsa</i>	24
2.5.5	Composição Química da <i>Bertholletia excelsa</i>	26
2.5.6	Atividade Biológica	30
2.6	Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	31
2.7	Espectrometria de Massas (EM)	33
3.	OBJETIVO	34
3.1.	Objetivo Geral	34
3.2.	Objetivos Específicos	34
4.	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1.	Reagentes, Materiais, Equipamentos Utilizados	35
4.1.1	Reagentes	35
4.1.2	Materiais	35
4.1.3	Equipamentos	35
4.2	Coleta do Material Vegetal	36
4.3	Preparo do Extrato Vegetal	36
4.4	Fracionamento do Extrato	37
4.5	Prospecção Fitoquímica em Tubos de Ensaio	38
4.5.1	Teste de Fenólicos	38
a)	Preparação da Solução Estoque	38
b)	Teste para Fenóis e Taninos	39
c)	Teste de Antocianidinas, Antocianinas e Flavonóides	39

d)	Teste de Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavanonas	39
4.5.2	Teste de Esteróides e Terpenóides (Lieberman-Burchard e Salkowski) 40	
4.5.3	Teste de Saponinas.....	40
4.5.4	Teste de Flavonóides	41
4.5.5	Teste de Alcalóides	41
4.5.6	Teste de Cumarinas	42
4.6	Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	42
4.7	Ensaio de Atividade Antioxidante	43
4.7.1	Ensaio Qualitativo por CCD.....	43
4.8	Espectrometria de Massas (EM)	43
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1	Rendimento dos Extratos Brutos e Frações.....	44
5.2	Prospecção Fitoquímica em Tubos de Ensaio	45
5.3	Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	47
5.4	Ensaio Qualitativo de Atividade Antioxidante	49
5.5	Espectrometria de Massas por ESI e APCI	50
5.5.1	Lipídios	51
5.5.2	Ariltetralina Lignana.....	55
5.5.3	Ácido Protocatecuico.....	57
5.5.4	Oxilipina.....	59
6.	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIA	63

1. INTRODUÇÃO

Biodiversidade é uma definição recente, surgiu (1985) e refere-se à forma ampla de diversidade biológica para denominar a variedade de formas de vidas, seja na fauna ou flora (FRANCO, 2013). O Brasil é considerado o maior país com rica diversidade biológica. Em função disso, estima-se que o território Brasileiro possua 22% do total de espécies vegetais do planeta (FERRO *et al.*, 2006). O bioma Amazônico, que ocupa uma região de 5 milhões de quilômetros quadrados (Km²), é considerado o ecossistema com maior diversidade do mundo (IMAZON, 2009). De acordo com a FAPESP “Estima-se que existam outros 12 milhões de plantas ainda por serem descobertas” (TOLEDO, 2013).

Quando observamos a biodiversidade do ponto de vista químico da floresta Amazônica, notamos que grande parte permanece desconhecida. Por essa razão, estudos de caracterização química podem contribuir para o entendimento da biodiversidade do bioma Amazônico. Historicamente, as caracterizações dos grupos de metabólitos secundários foram desenvolvidas por ensaios clássicos, os quais são fundamentados em reações químicas. Contudo, as técnicas foram aprimoradas e hoje existe equipamentos modernos com capacidade alta de identificação de substâncias, como exemplo, a Espectrometria de Massas (EM) (SIMÕES *et al.*, 2017).

Ao longo da história, os seres humanos sempre procuraram tratar suas enfermidades por meio da utilização de recursos naturais, como as plantas medicinais, que contém uma importante fonte de substâncias farmacologicamente ativas (REMPEL *et al.*, 2019). Por esse motivo, a comunidade científica vem direcionando os estudos biológicos com plantas usadas pela medicina popular para encontrar a cura de doenças (ENGWA, 2018).

Nesse sentido, a espécie *Bertholletia excelsa* apresenta potencial para descoberta de novas substâncias ativas, é uma planta nativa da região Amazônica, de importância econômica, apreciada pela indústria de cosmético e alimentos. As substâncias presentes na planta podem ser fonte de novas aplicações, nas áreas da saúde, cosmética e química fina.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Plantas Medicinais

Hoje em dia, a Organização Mundial de Saúde (OMS) considera que “uma planta medicinal é qualquer vegetal que contém substâncias que podem ser usadas para fins terapêuticos”. Essas substâncias, chamadas de princípios ativos, podem ser encontradas nos vegetais de forma livre ou conjugada, ligadas em constituintes como proteínas e sacarídeos, e incluem compostos como fenólicos, flavonóides, triterpenóides entre outras classes de metabólitos (VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005).

A literatura científica descreve diversas plantas medicinais, as quais apresentam atividades farmacológicas. A título de exemplo, podemos citar duas espécies referidas por Bessa *et al.* (2013) e Silva (2018): a espécie *Anacardium othonianum* Rizz. da família Anacardiaceae que apresenta entre outras ação antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória e a *Cecropia pachystachya* T. da família Cecropiaceae, que apresenta ação anti-hipertensiva e hipoglicemiante.

A utilização de plantas medicinais para fins terapêuticos já acontece há muito tempo. Há registros feitos por imperadores chineses a cerca de 3000 a. C. No entanto, não há uma data exata sobre o conhecimento do uso de plantas medicinais. Mesmo assim, acredita-se que o conhecimento de plantas medicinais se deu por meio da observação da natureza. O homem primitivo pôde ter começado a usar ervas locais para amenizar dores e lesões ao acaso ou com base na superstição (STAROSTA; ANJOS, 2020).

Essa prática de utilizar plantas medicinais como uso terapêutico, até o momento ainda se encontra estabelecida nas mais diversas localidades do território nacional. Essas regiões compreendem comunidades ribeirinhas, quilombolas, indígenas, municípios interioranos e os grandes centros urbanos, onde esse modelo de tratamento continua sendo uma das opções de uso preliminar. Este fato, se deve à facilidade de acesso às plantas, aliado aos conhecimentos ancestrais e também pela dificuldade de acesso ao sistema de saúde do governo (CARNEIRO, 2019; VEIGA, 2008). Logo, muitas pessoas continuam fazendo uso de plantas medicinais para combaterem suas enfermidades (DA SILVA; DE OLIVEIRA; VICENTE, 2019).

2.2 Metabólitos Secundários

Uma das características do reino vegetal é a presença de atividade metabólica (NELSON e COX, 2014). O metabolismo vegetal pode ser dividido em primário e secundário, o primário é aquele que fornece as substâncias envolvidas nas funções básicas essenciais na vida celular, tais como na fotossíntese, os constituintes bioquímicos envolvidos no metabolismo primário compreendem os aminoácidos, nucleotídeos, lipídios, carboidratos e proteínas (SÁ-FILHO *et al.*, 2021).

Diferente dos primários, os metabólitos secundários não estão envolvidos em processos geradores de energia, portanto, não possuem uma distribuição universal, pois não são necessários para todas as plantas (REZENDE *et al.*, 2016). Existe três grandes grupos de metabólitos secundários: substâncias nitrogenadas, compostos fenólicos e terpenos, no **Quadro 1** é mostrado estas classes químicas (CUNHA *et al.*, 2016; BORGES; AMORIM, 2020).

Quadro 1. Classes de metabólitos secundários presentes em plantas medicinais e aromáticas

Substâncias nitrogenadas	Compostos fenólicos	Terpenos
Alcalóides	Cumarinas	Isopreno (5 C)
Betalaínas	Ligninas	Monoterpenóides (10 C)
Glicosídeos cianogênicos	Lignanas	Iridoides (10 C)
Glucosinolatos	Fenilpropanoídes	Sesquiterpenóides (15 C)
	Taninos condensados	Diterpenóides (20 C)
	Taninos hidrolisáveis	Triterpenóides (30 C)
	Flavonoides	Tetraterpenóides (40 C)
Estilbenos		

Fonte: Adaptado de REZENDE *et al.*, (2016).

Os metabólitos secundários são compostos naturais gerados em plantas, eles são responsáveis por diversas transformações químicas, tendo como objetivo assegurar a proteção contra estresses abióticos e bióticos (BORGES; AMORIM, 2020). Os produtos de metabólitos secundários sintetizados pelos vegetais, são de estruturas complexas, com massas moleculares baixas, são encontradas em concentrações relativamente pequenas e apresentam atividades biológicas em ação conjunta ou de forma isolada (SILVA; LIMA, 2016).

Os metabólitos secundários frente a fatores bióticos, desempenham um papel crucial como atrativos ou repelentes de polinizadores. Bem como, na proteção contra pragas e doenças causados por herbívoros, patógenos ou outros organismos maléficos. Enquanto, a ação protetora contra estresses abióticos, estão relacionados

com fenômenos associados a temperatura, estresse hídrico, exposição à radiação UV do sol, deficiência de nutrientes e minerais. No ser humano, esses princípios ativos são responsáveis pela ação farmacológica de uma planta (REZENDE *et al.*, 2016; LUNA, 2016).

Em vista disso, os metabólitos secundários de plantas possuem valor econômico no ponto de vista das aplicações tecnológicas. Quando identificados e isolados, as substâncias ativas podem ser aplicadas em setores da indústria nutracêutica, cosmética e química fina. Esses ativos são utilizados no desenvolvimento de produtos com valor agregado como medicamentos, saborizantes, conservantes, fragrâncias, inseticidas e nutracêuticos (REZENDE *et al.*, 2016).

2.3 Atividade Antioxidante

Os antioxidantes são compostos ativos presentes em plantas em pequenas concentrações, bem como são substâncias capazes de retardar ou inibir as taxas de oxidações de maneira eficaz, quando ocorre a produção excessiva de radicais de oxigênio (SANTOS; ANDRADE, 2022). Dentre os antioxidantes, destacam-se os compostos fenólicos, terpenóides e flavonoides como protetores contra a formação dos radicais livres de oxigênio no organismo celular (SILVA *et. al.*, 2018).

Os radicais são átomos ou moléculas liberadas por vias metabólicas vegetais e animais, são altamente reativos e instáveis por conterem um ou mais elétrons não pareados em seus orbitais atômicos ou moleculares, em função disso, os radicais agem como intermediários na transferência de elétrons em processos bioquímicos, logo, provocam inúmeras reações em cadeia no organismo que terminam alterando a estrutura molecular de diversos componentes celulares (DA COSTA; MONTEIRO, 2009; VASCONCELOS *et al.*, 2014; LIMA; BEZERRA, 2012).

Os radicais livres são os principais responsáveis pela perda da qualidade nutricional dos alimentos, causadas pelas alterações físicas, enzimáticas, microbiológicas e químicas (DA COSTA *et al.*, 2010; SILVA, BORGES, FERREIRA, 1999). Além disso, são responsáveis por doenças que acometem o homem como carcinogênese, doenças degenerativas, envelhecimento precoce, danos celulares dentre outras (GANESH *et al.*, 2018).

Por isso, atualmente há um crescente interesse em encontrar plantas medicinais e aromáticas, que disponham de compostos fenólicos presentes nos extratos vegetais com ações antioxidantes. Substâncias com núcleo fenólico, como flavonóides, tocoferol e ácidos fenólicos são capazes de inibir e reduzir lesões causadas pelos radicais livres nas células, além de quelarem íons férricos que catalisam peroxidações lipídicas (BURATTO *et al.*, 2011). A busca por essas substâncias ativas, tem como meta: aprimorar a conservação de alimentos, a produção de diversos produtos funcionais e o combate das enfermidades causadas por processos oxidativos, com uso de medicamentos e fármacos produzidos a partir de substâncias inibidoras de radicais livres (DA COSTA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2018; SOUZA *et al.*, 2007).

2.4 Família Lecythidaceae

A família Lecythidaceae é composta por mais de 200 espécies de plantas entre árvores e arbustos, e cerca de 11 gêneros nativos de regiões de climas neotropical e paletropical como do sudeste da Ásia, África ocidental e América do sul e central. No território Brasileiro boa parte dessas espécies estão localizadas em habitats de terra firme na floresta Amazônica e Mata Atlântica, um exemplo comum dessa família é a espécie conhecida como *Bertholletia excelsa* (castanha-do-Brasil) (JANOVIK, 2011; HAYASIDA, 2015).

De acordo com as palavras de Hayasida (2015), a família Lecythidaceae possui poucos estudos fitoquímicos. Todavia, nos últimos anos houve um aumento nas pesquisas químicas com a família Lecythidaceae. Dentre as espécies mais relatadas na literatura destacam-se a *Eschweilera coriacea*, a *Eschweilera longipes*, a *Eschweilera ovalifolia*, a *Lecythis pisonis* Cambess, a *Couropita guianensis*, a *Cariniana rubra* Gardner ex Miers, a *Cariniana domestica* e a *Bertholletia excelsa*.

As classes e subclasses químicas relatadas na família Lecythidaceae através de análises fitoquímicas indicam a presença de substâncias como antraquinonas, cumarinas, flavanonas, flavanóis, flavonóides, alcalóides leucoantocianidinas, saponinas, esteróides, taninos, xantonas, compostos fenólicos e terpenos em gerais. O **Quadro 2** mostra alguns metabólitos químicos identificados e quantificados em

espécies da família Lecythidaceae (SILVA, 2014; JANOVIK, 2011; CARVALHO *et al.*, 1998; HAYASIDA, 2015).

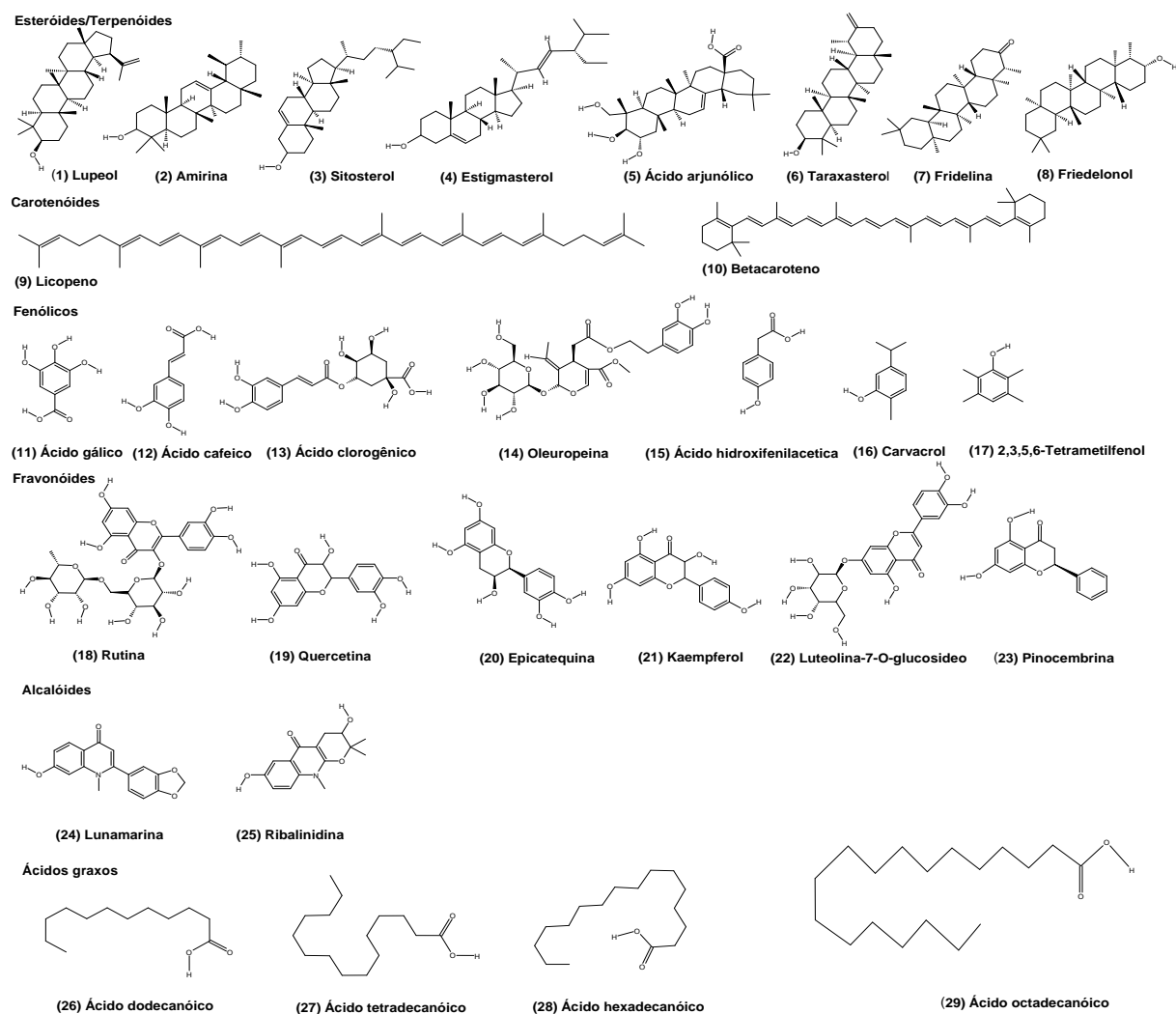
De acordo com o estudo levantado, as principais substâncias encontradas com maior frequência na família Lecythidaceae são os terpenóides, especialmente triterpenos, saponinas triterpênicas e esteroides (TAVARES, 2014). Dentre esses compostos, estão lupeol (1), amirina (2), sitosterol (3), estigmasterol (4), ácido arjunólico (5), taraxasterol (6), friedelina (7), friedelanol (8) e outros terpenos listados abaixo.

Quadro 2. Classes de compostos químicos relatados para família Lecythidaceae na literatura

ESPÉCIES	CLASSES QUÍMICAS	AUTORES
<i>Cariniana domestica</i> (Mart) Miers; <i>Cariniana rubra</i> Gardner ex Miers; <i>Eschweilera Longipes</i> Miers; <i>Couroupita guianensis</i> Aubl	Esteróides/Terpenóides: lupeol; β -amirina; α -amirina; β -sitosterol; estigmasterol; ácido arjunólico; sitosterol 3-O- β -D-glucopiranoside; 2-(3-O- β -glucopiranosil ácido arjunolico); 28- β -glucopiranosil-23-O-acetil ácido arjunolico; 3-O- β -glucopiranosil arjunolico ácido; 28-O-[α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -glucopiranosil]-23-O-acetil ácido arjunolico; stigmast-5,22e-dien-3 β -ol; stigmast-5-em-3-ol; cinamato de β -amirina; cinamato de α -amirina; 3-oxo-fridelano; 3 β -hidroxi-fridelano; 3-oxo-ursa-12(13)-eno; 3-oxo-olean-12(13)-eno; α -tocoferol; tocotrienol; taraxasterol; 3- α -hidroxi-lupeol; 3- α -hidroxi-taraxasterol; β -pinene; 3-carene; limonene; α -bergamotene; β -caryophyllene; germacrene D; linalool; 6-camphenol; cis-verbenol; fridelina; fridelinol; α -amirenona; β -aminerona; 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4- olídeo; neofitadieno; β -friedelanol; fridelina	Jonovik <i>et al.</i> , (2012); Silva (2014); Carvalho <i>et al.</i> , 1998; Khan <i>et al.</i> , (2014); Da Costa (2003); Tavares (2014).
<i>Cariniana domestica</i> (Mart) Miers	Carotenóides: licopeno, β -caroteno	Janovik (2011).
<i>Cariniana domestica</i> (Mart) Miers; <i>Cariniana rubra</i> Gardner ex Miers; <i>Couroupita guianensis</i> Aubl; <i>Eschweilera coriaceae</i> (Mori, Scott A.)	Fenólicos: ácido gálico; ácido cafeico; ácido glorogênico; oleuropeina glicosilada; aglicona da oleuropeina; ácido hidroxifenilacetico; carvacrol; 2,3,5,6-tetramethylphenol; 9,10-dihidro-fenantreno	Janovik (2011); Silva (2014); Khan <i>et al.</i> , (2014); Hayasida (2015).
<i>Cariniana domestica</i> (Mart) Miers; <i>Cariniana rubra</i> Gardner ex Miers; <i>Napoleona imperialis</i>	Flavonóides: rutina; quercetina; epicatequina; kaempferol; luteolina-7-O-glucosideo; k-glicuronideo; pinocembrina	Janovik (2011); Silva (2014); Ukachukwu <i>et al.</i> , 2015).
<i>Napoleona imperialis</i>	Alcalóides: lunamarina e ribalinidina	Ukachukwu <i>et al.</i> , (2015).
<i>Eschweilera ovalifolia</i>	Ácidos graxos: ácidos dodecanóico; tetradecanóico; hexadecanóico; octadecanóico	Tavares (2014).

Além dos terpenos, as espécies da família Lecythidaceae apresentam alguns estudos químicos que conduziram a identificação de compostos carotenóides como licopeno (9) e betacaroteno (10); fenólicos como ácido gálico (11), ácido caféico (12), ácido clorogênico (13), oleuropeína (14), ácido hidroxifenilacético (15); carvacrol (16) e 2,3,5,6-tetrametilfenol (17); flavonóides como rutina (18), quercetina (19), epicatequina (20), kaempferol (21), luteolina-7-O-glucosídeo (22) e pinocembrina (23); alcalóides como lunamarina (24) e ribalinidina (25) e ácidos graxos como ácidos dodecanóico (26), tetradecanóico (27), hexadecanóico (28) e octadecanóico (29) (JANOVÍK, 2011; UKACHUKWU *et al.*, 2015; TAVARES, 2014). A **Figura 1** a seguir, ilustra as estruturas moleculares desses respectivos constituintes químicos.

Figura 1. Estruturas moleculares de alguns compostos químicos das classes dos terpenóides, carotenóides, ácidos fenólicos, flavonóides, alcalóides e ácidos graxos já identificados em espécies da família da Lecythidaceae



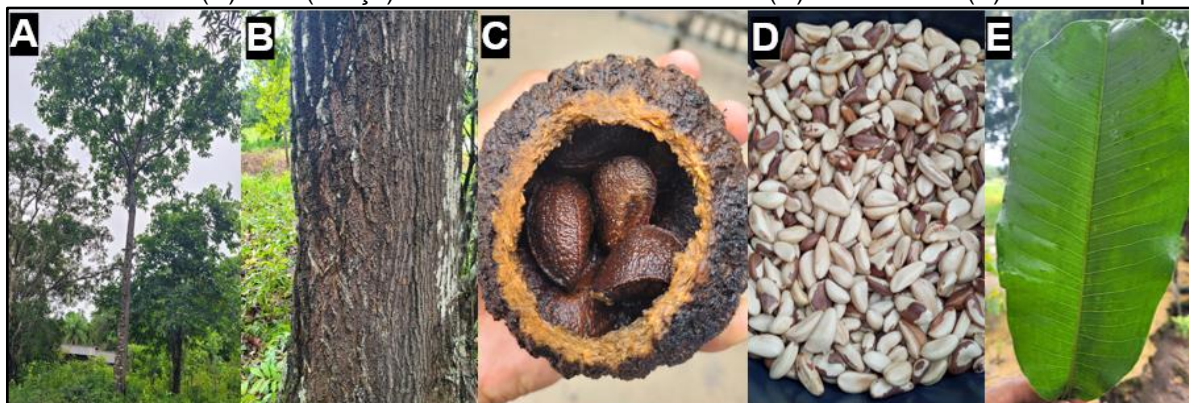
Fonte: SOUZA, C. Jheiffison (2022).

2.5 *Bertholletia excelsa*

2.5.1 Aspectos Botânicos

A castanha-do-Brasil é uma árvore originária da região Amazônica, é classificada como uma *Angiosperma*, da classe Dicotiledonea, da ordem *Myrtiflorae*, gênero *Bertholletia*, espécie *excelsa* e pertence à família das Lecythidaceae (DA SILVA; KLUCZKOVSKI; LIMA, 2022). A árvore da castanha-do-Brasil **Figura 2-A** é de grande porte, quando adulta pode alcançar alturas de até 50 m e 16 m de circunferência (DOS SANTOS, 2011). Seu caule **Figura 2-B** é robusto de forma cilíndrica com casca escura, ramos encurvados nas pontas e com galhos desprovidos até a copa (BENTES, 2007). Seu fruto é um ouriço **Figura 2-C** de casca espessa, de forma esférica, com casca lenhosa dura, com cerca de 20 cm de diâmetro, que contém em seu interior em média de 15 a 24 sementes (BORELLA, 2016). As sementes **Figura 2-D** são de coloração branca e de aspecto oleoso, apresentam cascas lenhosas com uma fina película lignificada (CAMARGO; CASTRO; GAVILANES, 2000). Suas folhas **Figura 2-E** apresentam uma coloração verde escuro, bases arredondadas, subcuneadas, brilhosas na parte superior, pálidas na inferior e medem de 17 a 36 cm de comprimento por 6,5 a 15,5 cm de largura (CARVALHO, 2014).

Figura 2. Aspectos botânicos da *Bertholletia excelsa* (A) árvore da castanha-do-Brasil (B) caule do tronco da árvore (C) fruto (ouriço) com sementes em seu interior (D) amêndoas e (E) folha da espécie



Fonte: SOUZA, C. Jheiffison (2022).

2.5.2 Localização Geográfica

A espécie *Bertholletia excelsa* se adapta perfeitamente em áreas de terra firme, de solos argilosos, regiões tropicais, chuvosa, de clima quente úmido com período de estiagem definido, quase sempre em áreas de difícil acesso conhecido como castanhais (BARBEIRO, 2012). Sua floração está de modo geral intimamente ligada às condições climatológica de cada zona fisiográfica (ALVES *et al.*, 2018). Sendo assim, seu período de frutificação e coleta manual apresentam variações decorrentes de condições climáticas de cada região.

A espécie é popularmente conhecida em algumas regiões do Brasil como castanha-do-Brasil, castanha-do-Pará, castanha-da-Amazônia, castanheira ou Amendoeira-da-América. Ou seja, a sua nomenclatura pode variar de acordo com a localização geográfica (LOCATELLI *et al.*, 2010; LORENZI, 2002). Além do território Brasileiro, a espécie ocorre também em outros países da América-Latina como Venezuela, Colômbia, Peru, Bolívia, Suriname e Guianas. A espécie também predomina em todos os estados da Amazônia Legal (Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins), sendo que os estados do Pará, Mato Grosso, Amazonas, Acre e Maranhão concentram as maiores populações de castanheiras (SANTOS, 2015).

2.5.3 Importância Econômica Regional

Os estados do Amazonas, Pará e Acre são responsáveis por mais de 80% do volume produzido de castanha no Brasil (SILVA, 2010). A castanha-do-Pará, é uma espécie que apresenta valor econômico desde a sua coleta até a sua aplicação industrial. Seus frutos são coletados por “castanheiros”, que geralmente são moradores locais, e a comercialização desse recurso natural é muitas das vezes a principal renda para muitos extrativistas florestais situados em comunidades indígenas, ribeirinhas e quilombolas (CARDOSO *et al.*, 2017). Além da venda das amêndoas, o fruto ouriço pode ser utilizado na confecção de artesanatos como luminária, cinzeiros, colares e chocalhos (CAMARGO *et al.*, 2010).

As amêndoas possuem um grande potencial econômica devido os seus altos teores nutricionais e sua ampla empregabilidade, tornando-a comercializada nacionalmente e internacionalmente (PACHECO; SCUSSEL, 2006). Além da sua

utilização *in natura*, ela é consumida no modo torrada, em farinhas e doces (BURATTO *et al.*, 2011). A matéria prima é amplamente aplicada e vendida como cosméticos e fármacos em forma de batom, creme hidratante, cicatrizante, óleo, repelente, sabonete e xampus (CAMARGO *et al.*, 2010).

2.5.4 Composição Bioquímica da *Bertholletia excelsa*

Na literatura há poucos estudos descrevendo os aspectos bioquímicos da casca do caule da castanha-do-Brasil. Por outro lado, há muitos trabalhos voltados para quantificação e identificação desses compostos nas amêndoas e principalmente no óleo, devido terem grande importância comercial na indústria da alimentação. Um estudo de caráter bioquímico realizado por Lima *et al.* (2014), com as amêndoas, foi identificado à presença de duas classes de fosfolipídios (ácido fosfatídico e fosfatidilinositol) além de oito substâncias lipídicas em sua composição.

Nas amêndoas, estudos tem demonstrado que as nozes da castanha-do-Brasil são extremamente ricas em ácidos graxos monoinsaturados, poliinsaturados e saturados; contendo em sua composição substâncias como os ácidos graxos ômega-3, ômega-6, α -linolênico, linoleico, oleico, palmítico, esteárico e entre outros (CHUNHIENG *et al.*, 2004; KARACAOĞLU *et al.*, 2020; THOMSON, 2011; YANG, 2009).

A castanha-do-Brasil pode ser classificada como uma planta oleaginosa. Em sua composição, ácidos graxos monoinsaturados oleicos, poli-insaturados e saturados compõem 25%, 21% e 15% respectivamente em sua composição nutricional. Seu teor lipídico (66,61 g/100 g) supera nozes como da castanha de caju (46,40), amendoim (49,00), pistache (54,70), “walnuts” (60,10) e “almond” (51,30), ficando atrás apenas da macadâmia (76,00) (CARDOSO *et al.*, 2017).

As amêndoas da castanha-do-Brasil, possuem minerais e vitaminas em sua composição, tornando-se um produto com alto valor nutritivo e com grande valor econômico. Possibilitando tanto o seu consumo quanto sua utilização no comércio industrial. Sua composição inclui os minerais como: selênio (Se), cromo (Cr), arsênio (As), cálcio (Ca), magnésio (Mg), manganês (Mn), potássio (K), zinco (Zn), cobre (Cu), ferro (Fe) e fósforo (P) (CARDOSO *et al.*, 2017; CHUNHIENG *et al.*, 2004; THOMSON,

2011; YANG, 2009; KLUCZKOVSKI *et al.*, 2015). Além dos minerais, as amêndoas da castanha-do-Brasil também são ricas em vitaminas A, B1, B2, C e E (DA SILVA, 2019).

O selênio, por exemplo, é encontrado em teores elevados nas amêndoas da castanha-do-Brasil, devido ao solo amazônico apresentar quantidades alta deste mineral (LEMIRE *et al.*, 2010). Por esse motivo, estudos tem tentado demonstrar que o Se contido em proteínas de fontes naturais pode estar associado a atividade anticarcinogênica (JAYASINGHE; CARUSO, 2011). De acordo com o trabalho de Chunhieng *et al.* (2004), foram detectadas concentrações de Se entre 0,4 a 12,7 mg/100 g, nas amêndoas. Outros estudos indicaram concentrações médias variando entre 2,35 e 43,9 mg/100 g (THOMSON, 2011) e $5,1 \mu\text{g Se g}^{-1} \pm 10,6\%$ e $49,9 \mu\text{g Se g}^{-1} \pm 6,4\%$ (DUMONT *et al.*, 2006). Apesar de ainda não ser comprovado, as concentrações do Se, assim como qualquer outro mineral, podem variar de acordo com o clima, solo, regiões e até mesmo entre sementes da mesma árvore (LEMIRE *et al.*, 2010).

Os minerais Mg e P foram descritos nas amêndoas em concentrações de 1.400 e 2.400 mg/100 g, respectivamente (CHUNHIENG *et al.*, 2004). Outros estudos, como os citados por Cardoso *et al.* (2017), encontraram concentrações similares dos minerais Mg (0,4 a 967,9 mg/100 g) e P (695,5 a 853,0 mg/100g). Além disso, o estudo de revisão descreve concentrações dos micronutrientes, Fe (0,1 a 7,4 mg/100 g), Cu (0,1 a 5,9 mg/100 g), Zn (0,6 a 11,0 mg/100 g) e Ca (0,4 a 743,3 mg/100 g). Além dos minerais essenciais, a castanha-do-Brasil também possuem níveis elevados de bário (Ba) e rádio (Ra) nas concentrações de 96 a 1990 $\mu\text{g/g}$ e (226RA 17-27 mBq/g e 228RA 18-31 mBq/g), respectivamente (PAREKH *et al.*, 2008).

As nozes da *Bertholletia excelsa*, possuem em sua composição de 15 a 20% de proteínas (BURATTO *et al.*, 2011). Também, contêm aminoácidos como: aspártico, glutâmico, serina, glicina, histidina, arginina, treonina, alanina, prolina, tirosina, valina, metionina, cisteína, isoleucina, leucina, fenilalanina, lisina, triptofano, asparagina e glutamina (KARACAOĞLU *et al.*, 2020; THOMSON, 2011). Os aminoácidos lisina, metionina e cisteína foram detectados teores de (3,3%), (6,3%) e (2,2%), respectivamente nas amêndoas (CHUNHIENG *et al.*, 2004).

Deste modo, as amêndoas da castanha-do-Brasil contêm micronutrientes benéficos para a saúde nutricional (CARDOSO *et al.*, 2017). Os nutricionistas apontam que a ingestão adequada desses nutrientes provenientes de produtos orgânicos naturais pode ajudar no sistema imunitário, na proteção contra estresses oxidativos e ocorrências de processos infecciosos (BIASEBETTI *et al.*, 2018). Portanto, os minerais e vitaminas presentes nas amêndoas da castanha-da-Brasil são importantes, tanto, para a reposição nutricional de micronutrientes essenciais para organismo humano, quanto, para combate contra processos oxidativos. O **Quadro 3** a seguir resume as classes bioquímicas já descritas na literatura a respeito da espécie *Bertholletia excelsa*.

Quadro 3. Compostos bioquímicos quantificados e/ou identificados na espécie *Bertholletia excelsa*

ORGÃOS VEGETAIS	CLASSES BIOQUÍMICAS	AUTORES
Amêndoas	Lípidios: ácidos graxos monoinsaturados, poliinsaturados e saturados (fosfolípidios, ácido graxo ômega-3, ácido graxo ômega-6, ácido α -linolênico, ácido linoleico, ácido oleico, esqualeno, ácido palmítico, ácido palmitolêico, ácido araquidônico, ácido docosanóico, ácido araquídico, ácido eicosanóico, ácido mirístico, ácido heptadecanóico, ácido laurico, ácido elaídico, ácido erúxico e ácido esteárico)	Lima <i>et al.</i> , (2014); Ryan <i>et al.</i> , (2006); Yang, (2009); Cardoso <i>et al.</i> , (2017); Santos <i>et al.</i> , (2013); Pereira <i>et al.</i> , (2019), Kluczkovski <i>et al.</i> , 2015.
Amêndoas	Minerais: selênio (Se-(Cys) ₂ e Se-Met), cromo, arsênio, cálcio, magnésio, manganês, potássio, sódio, zinco, cobre, ferro e fósforo	Chunhieng <i>et al.</i> , (2004); Karacaoğlu <i>et al.</i> , (2020); Yang, (2009); Dumont <i>et al.</i> , (2006); Santos <i>et al.</i> , (2013); Kluczkovski <i>et al.</i> , 2015.
Amêndoas	Aminoácidos: ácido aspártico, ácido glutâmico, serina, glicina, histidina, arginina, treonina, alanina, prolina, tirosina, valina, metionina, cisteína, isoleucina, leucina, fenilalanina, lisina, triptofano, asparagina, glutamina	Chunhieng <i>et al.</i> , (2004); Karacaoğlu <i>et al.</i> , (2020); Santos <i>et al.</i> , (2013).

2.5.5 Composição Química da *Bertholletia excelsa*

Os compostos fenólicos pertencem a diversas categorias de metabolitos secundários, como fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, estilbenos, lignanas, ligninas, taninos condensados e hidrolisáveis (SOUZA *et al.*, 2007). Alguns desses constituintes químicos e seus derivados já foram identificados e/ou quantificados por técnicas cromatográficas, espectroscópicas e espectrométricas tais como: cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplado a detectores de

arranjo de diodos (DAD) e espectrometria de massas de ionização por *eletrospray* no modo negativo (ESI(-)-EM) e ressonância magnética nuclear (RMN) em amêndoas, cascas da semente, película marrom da semente, resíduos de biomassa da casca do caule, raiz, resíduo da raiz, casca da raiz e entrecasca do caule, (DA SILVA *et al.*, 2019; GOMES, TORRES, 2015; JOHN, SHAHIDI, 2010; SCHOTT *et al.*, 2018; MOZOMBITE, 2020).

Na literatura a descrição da identificação e/ou a quantificação de flavonóides como: rutina (1), quercetina (2), epicatequina (3), kaempferol (4), catequina (5), galocatequina (6), taxifolina (7), miricetina-3-O-ramnósido (8), proantocianidina (9) e seus derivados (JOHN, SHAHIDI, 2010; KARACAOĞLU *et al.*, 2020; GOMES, TORRES, 2015; SCHOTT *et al.*, 2018). Em relação ao teor, os flavonóides foram detectados nas amêndoas, na concentração de 107,8 mg/100 g (YANG, 2009).

Os estudos realizados por Gomes e Torres (2015); John e Shahidi (2010) e Schott *et al.* (2018), detectaram a presença dos seguintes ácidos fenólicos: ácido gálico (10), ácido protocatecuico (11), ácido vanílico (12), ácido elágico (13), protocatecualdeído (14), ácido p-cumárico (18), ácido sinápico (19), resveratrol (20), ácido 2,4-dihidroxibenzoico (21) e ácido p-hidroxibenzoico (22). No estudo de Gomes e Torres (2015), os compostos fenólicos foram encontrados em concentrações variando de 70 a 421 mg/kg, enquanto, Yang (2009) detectou nas amêndoas substâncias fenólicas totais na concentração de 169,2 mg/100 g.

No estudo de Da Silva *et al.* (2019) e Mozombite (2020), realizados com resíduos de biomassa de raiz, casca de raiz, entrecasca e casca do caule da castanha-do-Brasil, foram identificados e/ou quantificados os seguintes compostos fenólicos: ácido elágico (13), ácido valoneico dilactona (15), ácido elágico hexesídeo (16), eschweilenol C (17), ácido elágico pentosídeo (23) e ácido metil elágico deoxihexosídeo. O estudo mostrou, que as cascas do caule contêm grandes quantidades de ácido elágico. Um total de 4,96 e 44,09 g/kg de derivados de ácido elágico por resíduos secos foram determinados para as cascas.

Além dos compostos fenólicos e flavonóides, já foram indicadas as presenças de tocoferóis, fitoesteróis e triterpenóide pentacíclico. De acordo com a revisão de Yang (2009); Thomson (2011) e Karacaoğlu (2020), as substâncias α -tocoferol, γ -tocoferol e δ -tocoferol (24) foram detectadas nas amêndoas da castanha-do-Brasil nas

concentrações $5,73 \pm 1,54$ mg, $7,87 \pm 2,15$ mg e $0,77 \pm 0,66$ mg, respectivamente. Enquanto que no óleo da semente da castanha-do-Brasil, foram encontrados os fitosteróides: sitosterol (**25**), estigmasterol (**26**) e campesterol (**27**) nas concentrações de $1.325,4 \pm 68,1$ mg/g, $26,9 \pm 4,4$ mg/g e $577,5 \pm 34,3$ mg/g, respectivamente (YANG, 2009). O estudo realizado por Campo *et al.* (2005), com a casca do caule de *B. excelsa*, isolou o ácido betulínico (**28**) do extrato hexânico. O **Quadro 4** a seguir, resume as classes fitoquímicas descritas na literatura presente em *B. excelsa* e a **Figura 3** ilustra, algumas estruturas moleculares desses compostos químicos.

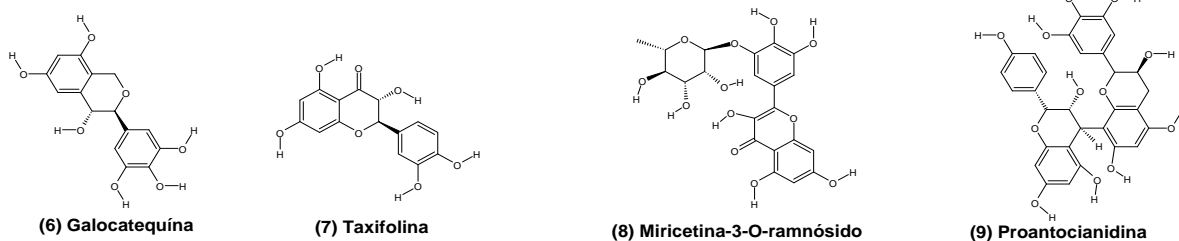
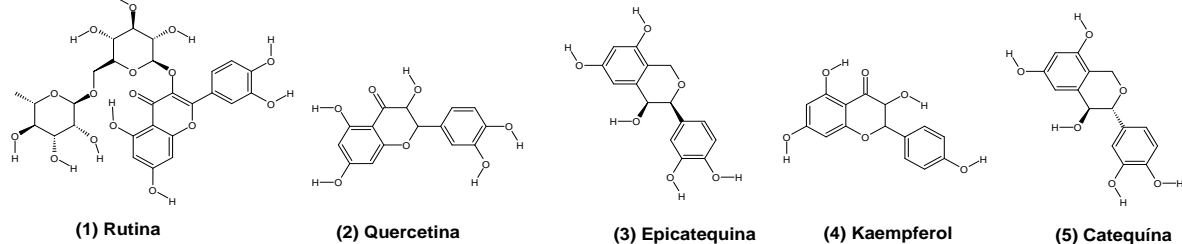
Quadro 4. Compostos fitoquímicos quantificados e/ou identificados na espécie *Bertholletia excelsa*

ORGÃOS VEGETAIS	CLASSES QUÍMICAS	AUTORES
Amêndoas, cascas da semente, película marrom	Flavonóides: rutina; taxifolina, miricetina-3-O-ramnósido, quercetina, catequina, derivado da catequina; galocatequina;, epicatequina, Kaempferol; proantocianidina	Gomes e Torres, 2015; John & Shahidi, 2010; Karacaoğlu <i>et al.</i> , 2020; Schott <i>et al.</i> , 2018; Yang, 2009; Cardoso <i>et al.</i> , (2017).
Amêndoas, cascas da semente, película marrom, casca do caule, raiz, resíduos da raiz, casca da raiz, entrecasca	Ácidos fenólicos: ácido cítrico, ácido protocatecuico, ácido vanílico, ácido gálico, ácido elágico, derivado do ácido protocatecuico, protocatecualdeído, derivado do ácido elágico, derivado do ácido gálico, derivado do ácido vanílico, dilactona de ácido valoneico, glicosídeo de ácido elágico, pentosídeo de ácido elágico, ácido metil elágico deoxihexosídeo, eschweilenol c., ácido 2,4-dihidroxibenzóico, ácido p-hidroxibenzóico, ácido p-cumárico, ácido sinápico, resveratrol	Da Silva <i>et al.</i> , 2019; Mozombite, 2020; Gomes & Torres, 2015; John e Shahidi, 2010; Karacaoğlu <i>et al.</i> , 2020; Schott <i>et al.</i> , 2018; Yang, 2009; Cardoso <i>et al.</i> , (2017).
Amêndoas, casca do caule	Terpenóides/Esteróides: Ácido betulínico, β -sitosterol, estigmasterol e campesterol.	Karacaoğlu <i>et al.</i> , 2020; Yang, 2009; Cardoso <i>et al.</i> , (2017), Campos <i>et al.</i> , (2005).
Amêndoas	Outros compostos: α -tocoferol, γ -tocoferol, δ -tocoferol, esqualeno	Karacaoğlu <i>et al.</i> , 2020; Ryan <i>et al.</i> , 2006; Yang, 2009; Cardoso <i>et al.</i> , (2017).

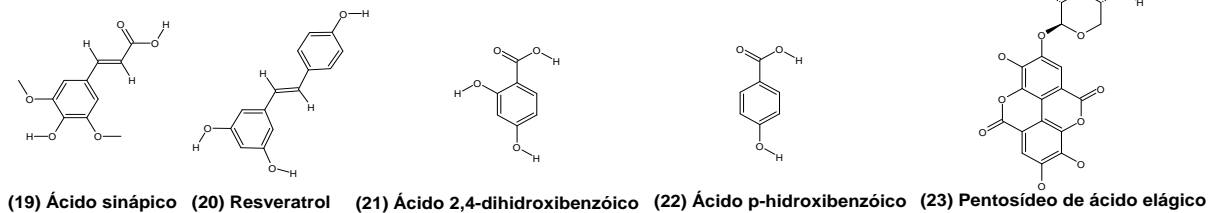
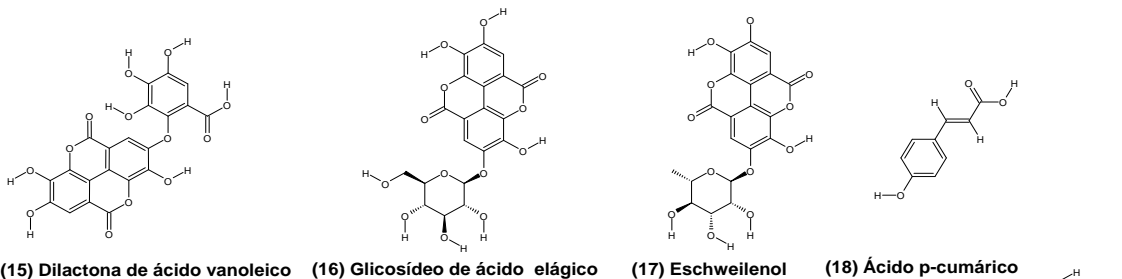
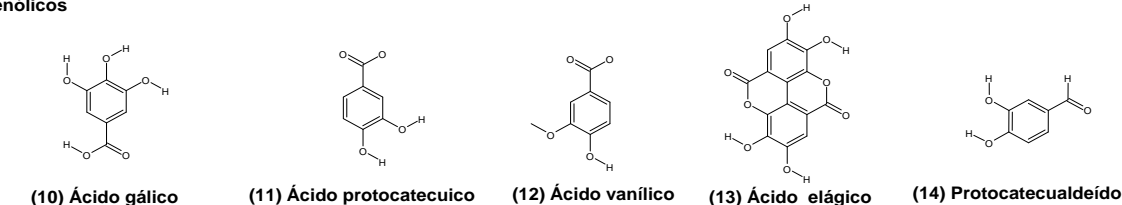
Portanto, a *B. excelsa*, e elevado endemismo na Amazônia, demonstra potencial para a produção de metabólitos secundários, que podem contribuir para apoiar os estudos fitoquímicos da família Lecythidaceae, bem como para a descoberta de novas substâncias com aplicações tecnológicas, conservação de alimentos, nos cuidados da saúde, para beleza e principalmente para produção de fármacos e nutracêuticos (CHUNHIENG *et al.* 2004; SILVEIRA, 2015).

Figura 3. Estruturas moleculares de alguns compostos químicos das classes dos terpenóides, esteróides, fenólicos e flavonóides já identificados na espécie da *Bertholletia excelsa*

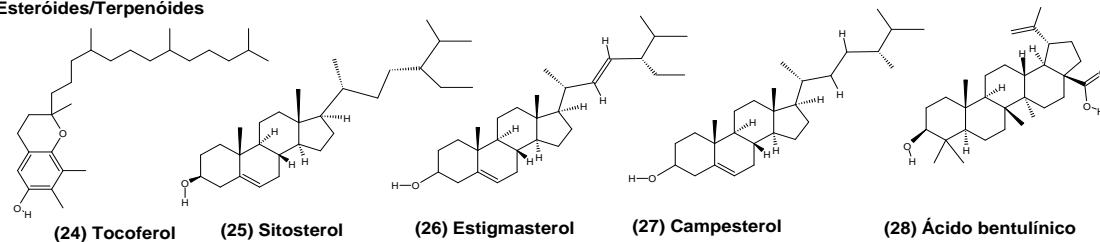
Fravonóides



Fenólicos



Esteróides/Terpenóides



Fonte: SOUZA, C. Jheiffison (2022).

2.5.6 Atividade Biológica

Bertholletia excelsa é uma espécie amplamente estudada na contemporaneidade, em função disso, há muitas pesquisas dedicadas a encontrar extratos vegetais com atividades biológicas, uma vez que, constituintes bioativos com essas propriedades são altamente buscados para serem utilizados como aplicações em produtos com valores agregados, seja no desenvolvimento de nutracêuticos ou como ingredientes alimentares funcionais. Dentre os estudos biológicos feitos com a castanha-do-Brasil, a capacidade antioxidante total é a mais investigada, em razão de compostos fenólicos e flavonóides estarem associados aos efeitos anticancerígeno, anti-inflamatório e anti-hipertensivo (GOMES; TORRES, 2015; JOHN; SHAHIDI, 2010; YANG; LIU; HALIM, 2009; CARDOSO *et al.*, 2017; MOZOMBITE, 2020).

Os autores Gomes e Torres (2015); Cardoso *et al.* (2017), concluíram em seus trabalhos que as sementes da castanha-do-Brasil apresentam capacidade antioxidante, e atividade biológica está relacionada com a presença selênio, compostos fenólicos e flavonóides. Já John e Shahidi (2010) constataram que a atividade antioxidante é maior nos extratos da película marrom que envolve a semente do que nas próprias amêndoas e cascas, compostos fenólicos ligados a essa atividade biológica foram identificados e quantificados. Diante dos resultados, ambos os autores concordam que a castanha-do-Brasil possuem substâncias bioativas com capacidade efetiva de controlar estresses oxidativos gerados pelos radicais livres no organismo.

Ao estudar as amêndoas da castanha-do-Brasil BURATTO *et al.* (2011) concluiu que as sementes apresentam baixas concentrações de constituintes polares como fenólicos e flavonóides, não apresentam capacidade antimicrobiana nas concentrações testadas, mas, apresentam elevada capacidade sequestradora do radical DPPH. A capacidade antioxidante de extratos de amêndoas da castanha-do-Brasil é inferior a nozes como “walnuts”, noz-pecã, “peanuts”, pistache, cajueiro e amendoeira, mas, superiores a nozes de pinhão, noz mecadâmia e avelã (YANG; LIU; HALIM, 2009). Além das nozes, a entrecasca, casca do caule e raiz da castanha-do-Brasil, também possuem estudos biológicos. Um estudo realizado com extratos, frações e um ácido bentulínico isolado de *Bertholletia excelsa* foi evidenciado capacidade tripanocida (superior a 70% na concentração de 500 µg/mL), especialmente para extratos polares, o que pode estar associado a compostos

fenólicos e flavonóides (CAMPO *et al.*, 2005). Outro estudo evidenciou atividade antiplasmódica ($IC_{50} = 2,08 - 9,47 \mu M$) e antioxidante ($IC_{50} = 15,58 - 35,47 \mu M$) (MOZOMBITE, 2020).

2.6 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A Cromatografia em camada delgada (CCD) é uma técnica físico-química que consiste na separação dos componentes de uma mistura através da migração diferencial sobre uma camada delgada de adsorvente retido sobre uma superfície plana. Na CCD, o processo de separação é fundamentado no mecanismo de adsorção. Esta técnica teve início com os trabalhos de IZMAILOV e SHRAIBER em 1938, sendo que somente a partir da década de 60 passou a ser largamente utilizada (COLLINS; BRAGA; BONATO,1997; DEGANI; CASS; VIEIRA,1998).

Na CCD, a fase estacionária (FE) deve ser selecionada de acordo com a necessidade da análise. Entre os adsorventes mais utilizados estão alumina (Al_2O_3), diatomácea, celulose, piliamida e sílica (SiO_2), sendo o último mais utilizado em cromatografia por adsorção. Em geral, a sílica é empregada na separação de compostos lipofílicos como aldeídos, cetonas, fenóis, ácidos graxos, aminoácidos, alcaloides, terpenóides e esteróides. As placas de CCD podem ser previamente preparadas ou pré-fabricadas, no mercado existe uma variedade de adsorventes para fins cromatográficos, as fabricantes mais comuns são Merck, Fluka, Supelco, Sigma-Aldrich entre outros (COLLINS; BRAGA; BONATO,1997; DEGANI; CASS; VIEIRA,1998).

Antes do processo de eluição, as placas de CCD precisam ser ativadas com a finalidade de retirar substâncias aderentes ou eliminar a presença de água. O tempo e temperatura de ativação varia de um adsorvente para outro. A SiO_2 por exemplo, pode ser aquecida 30 a 50 minutos em temperaturas de 105 à 110 °C (COLLINS; BRAGA; BONATO,1997).

A fase móvel (FM), também conhecido como eluente pode ser um solvente ou mistura de solventes. A seleção correta da FM na análise tem um papel fundamental na eficiência, resolução cromatográfica e separação de componentes de uma mistura. Durante a eluição existe uma competição entre as moléculas da FM e da amostra,

pela superfície do adsorvente. Portanto, na escolha da FM, é necessário considerar a natureza química das substâncias a serem separadas e a polaridade (COLLINS; BRAGA; BONATO,1997; DEGANI; CASS; VIEIRA,1998).

As aplicações das amostras nas placas preparativas acontecem na forma de solução em solventes voláteis, que possam ser facilmente eliminados após a aplicação com capilares de vidro, micropipetas ou microseringas aferidas, que permitem determinar a quantidade de amostra adicionada na placa. A concentração da amostra aplicada nas cromatoplasas depende da sensibilidade do revelador, soluções diluídas exigem aplicação de um volume maior de amostra ou uma maior concentração. A aplicação pode ser feita na forma de faixa em linha horizontal ou gotas numa distância de 1,5 à 2 cm acima da borda inferior com aproximadamente 1 cm entre as aplicações (COLLINS; BRAGA; BONATO,1997).

A cuba cromatográfica deve ser de vidro com fundo plano, e para um bom desenvolvimento cromatográfico é necessário que a cuba esteja totalmente fechada e saturada com papel filtro embebido com a FM. A adição da placa deve ser rápida e na forma vertical, método conhecido como cromatografia unidimensional ascendente. Após a FM atingir a parte superior da placa, deve ser retirada e deixada em uma capela para secar (COLLINS; BRAGA; BONATO,1997).

A etapa revelação das placas cromatográficas, consiste em tornar visível as substâncias incolores presente nas amostras. A visualização pode ser feita através de métodos físicos, químicos e biológicos. O método físico consiste na exposição à radiação ultravioleta em comprimentos de onda 254 e 366 nm para compostos fluorescentes. O método químico consiste na utilização de reagentes cromogênicos como Dragendorf, Rager e Mayer (alcalóides); anisaldeído e vanilina sulfúrica (terpenos, esteróides e saponinas); sulfato cérico (compostos fenólicos, saponinas e terpenóides) e cloreto férrico (compostos fenólicos). No método biológico utiliza-se em reações enzimáticas ou bacteriana. Após esse processo, é necessário determinar o fator de retenção (R_f), que consiste na relação entre as velocidades de deslocamento do analito e FM (COLLINS; BRAGA; BONATO,1997).

Uma das vantagens da CCD é permitir a utilização de reveladores convencionais, oferece fácil compreensão, execução, separações em breve espaço

de tempo, versatilidade, grande reprodutibilidade e baixo custo. Pode ser de preparação analítica ou preparativa. Suas aplicações podem ser feitas em estudos preliminares dos componentes de um extrato orgânico ou análises de pureza de compostos (COLLINS; BRAGA; BONATO,1997).

2.7 Espectrometria de Massas (EM)

A espectrometria de massas (EM) é uma técnica sensível de análise que é amplamente usada para determinar a estrutura de compostos orgânicos e medir isótopos. Na caracterização de metabólitos secundários, a EM é útil para medir a razão massa/carga (m/z), que pode ser determinada a partir da formação de íons de moléculas ou de seus fragmentos (HARRIS; LUCY, 2012).

O equipamento de EM é composto por quatro componentes principais: uma fonte de ionização, um analisador de massa, um detector de íons e um processador de sinal. A amostra é introduzida no equipamento por meio de uma seringa, na fonte de ionização as moléculas das substâncias são convertidas em íons através de um processo de ionização que pode ser no modo positivo ou negativo. Os íons resultantes são acelerados por um campo elétrico em direção ao analisador de massa onde ocorre a seleção desses íons. Depois de passar pelo analisador, os íons são detectados e transformados em sinais elétricos que são processados por computadores com software específico que realiza os cálculos para se obter os espectros de massas e ao final são armazenados no computador (HARRIS; LUCY, 2012).

As fontes de ionização mais usadas para análise de compostos orgânicos presentes em matrizes complexas incluem: ionização por bombardeamento rápido de átomos (FAB), ionização por electrospray (ESI), ionização por elétrons (IE), ionização por dessorção da matriz assistida por laser (MALDI), ionização química (IQ) e ionização química à pressão atmosférica (APCI) (HARRIS; LUCY, 2012).

Dentre as fontes de ionização mencionadas anteriormente, a ionização ESI e APCI são as mais utilizadas para a detecção de substâncias fenólicas em produtos naturais. Essa técnica envolve a formação de um feixe eletrostático que transfere íons de uma solução para a fase gasosa. Durante esse processo, pequenas gotas carregadas são formadas em um Cone de Taylor e fragmentadas com a aplicação de

uma diferença de potencial entre um capilar e um contra-eletrodo sob pressão atmosférica, gerando íons de interesse. Esse processo pode ser dividido em três etapas: nebulização, liberação de íons e transporte de íons da região de pressão atmosférica da fonte para a região de alto vácuo do analisador (HAM, 2008). Embora a ionização por ESI e APCI sejam similares, existe algumas diferenças entre as técnicas no mecanismo de ionização, fragmentação e sensibilidade.

O processo subsequente na EM é a análise dos íons gerados, que é realizada pelo analisador de massas. Existem diferentes tipos de analisadores, sendo os mais comuns o TOF (tempo de voo), o quadrupolo e o *ion trap* (MAKAROV; SCIGELOVA, 2010). Por exemplo, no analisador TOF, os íons gerados são acelerados por meio de um potencial elétrico entre dois eletrodos e, em seguida, passam por um tubo de vácuo. A velocidade dos íons é inversamente proporcional à sua massa, e o tempo decorrido entre a ionização e a detecção é usado para calcular o m/z de compostos químicos presentes em pequenas quantidades (BARBOSA *et al.*, 2012).

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo Geral

Realizar estudo fitoquímico de extratos brutos e frações da casca do caule de *Bertholletia excelsa* (Lecythidaceae).

3.2. Objetivos Específicos

- Determinar o rendimento dos extratos brutos e frações após os processos de extração, filtração, concentração e fracionamento em ordem crescente de polaridade com hexano, clorofórmio, acetato de etila e butanol;
- Caracterizar as classes químicas de metabólitos secundários das frações e extratos brutos por prospecção fitoquímica em tubos de ensaios;
- Caracterizar o perfil química das frações e extratos brutos pela técnica de cromatografia em camada delgada;
- Caracterizar os compostos químicos das frações e extratos brutos pela técnica de espectrometria de massas;
- Avaliar de forma qualitativa a atividade antioxidante frente ao radical DPPH.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Reagentes, Materiais, Equipamentos Utilizados

4.1.1 Reagentes

2-aminoetil-difenilborinato - NP (*Sigma-Aldrich*®), acetato de etila (C₄H₈O₂) P.A (*Cinética*®), álcool etílico (C₂H₆O) P.A (*Cinética*®), álcool metílico comercial (CH₃OH) P.A (*Synth*®), água destilada (H₂O), ácido clorídrico (HCl-37%) P.A (*Synth*®), anidrido acético [(CH₃CO)₂O] P.A – A.C.S (*Dinâmica*®), ácido sulfúrico (H₂SO₄ 95-98%) P.A - A.C.S (*Sigma-Aldrich*®) e (*Biotec*®), ácido acético glacial (CH₃COOH) P.A (*Vetec*®), ácido fórmico (CH₂O₂) P.A (*Synth*®), butanol (C₄H₁₀O) P.A (*Dinâmica*®), cloreto férrico (FeCl₃) P.A (*Química-Credie*®), cloreto de mercúrio II (ICO) P.A – A.C.S (HgCl₂) (*Dinâmica*®), clorofórmio (CHCl₃) P.A A.C.S (*Qhemis*®), (*Synth*®), e (*Biotec*®), n-hexano (C₆H₁₄) P.A – A.C.S (*Synth*®), hidróxido de sódio (NaOH) P.A (*Synth*®), iodeto de potássio (KI) P.A 99,5 % (*Lobal-Chemie*®), magnésio (Mg) (*Aldrich*®), metanol grau HPLC (CH₃OH) (*Merck*®), nitrato de bismuto III pentahidratado [Bi(NO₃)₃.5H₂O] P.A – A.C.S ≥ 98% (*Sigma-Aldrich*®), polietilenoglicol 400 U.S.P. – PEG (*Synth*®), sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) P.A (*Nuclear*®), 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e vanilina (C₈H₈O₃) P.A (*Vetec*®).

4.1.2 Materiais

Placas gel de sílica (*Sigma-Aldrich*®); TLC sílica gel 60 F254 (*Camag*®), fita para medição de pH (*Macherey-Nagel*®) e microcapilar aferido (*Sigma-Aldrich*®).

4.1.3 Equipamentos

Balança analítica (*Shimadzu*®); balança semi-analítica Unibloc – PSC, Clock-CAL (*Shimadzu*®), banho-maria SL – 150 (*Salob*®), circulador de água Unichiller (*Huber*®), rotaevaporador (*Fisatom*®), câmera de UV TLC Visualizer (*Camag*®), ultrasonic Cleaner (*Unique*®), manta aquecedora 5000 mL (*Quimis*®) estufa de secagem e esterilização (*SP_{LABOR}*®) espectrômetro de massa LQC Fleet (*Thermo Scientific*®) e estufa de secagem e esterilização (*Tecna*®).

4.2 Coleta do Material Vegetal

O material botânico da casca do caule de *Bertholletia excelsa*, foi coletado nas proximidades do município de Itacoatiara/AM, no Ramal do Muiracupuzinho, km 56 da Estrada AM-010, Itacoatiara-Manaus, a coleta foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SinGen), em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos sob número de cadastro: A589ED6, emitido na data 09/11/2022. O material coletado foi higienizado com um pano limpo umidecido com água destilada, seco em estufa com circulação forçada a 60 graus celsius (°C), triturado em moinho de facas e armazenado em sacos de papel até a extração. A quantidade exata do material seco e moído foi de 6.567 g, dessa quantidade, foi retirado apenas 535 g para a extração.

4.3 Preparo do Extrato Vegetal

O material botânico foi extraído através da extração estática exaustiva refrigerada por refluxo **Figura 4**, utilizando etanol em duas concentrações diferentes. Essa metodologia foi adaptada de ALVES (2020), inicialmente, o material vegetal (535 g) foi dividido em duas partes. Uma parte resultou em 267 g, que foi extraído utilizando solução hidroalcoólica a 80% (80% etanol + 20% água). A outra parte contendo 271 g foi submetida a extração, utilizando solução hidroalcoólica a 20% (20% etanol + 80% água).

O material vegetal **(3)** foi adicionado em um balão de vidro de fundo redondo de 5 L **(4)**. Logo após, foi adicionado 2 L de solvente no material vegetal **(3)**. Em seguida, o sistema foi aquecido em uma manta aquecedora de 5 L **(2)** acoplada a um condensador de Allihn **(6)**, resfriado por um circulador de água **(5)** e **(7)**. O processo de extração foi repetido por quatro dias para cada concentração de etanol (80% e 20%), aquecendo o sistema duas vezes por dia por um período de 30 minutos, sem permitir a ebulição (<78,37 °C). A filtração dos extratos obtidos foi realizada utilizando funis de vidros, contendo papel filtro e/ou algodão com capacidade suficiente de reter quaisquer resíduos ou impurezas em suspensão **Figura 5-A**. O extrato etanólico a 80% foi concentrado no aparelho rotaevaporador **Figura 5-B**, em temperaturas controladas (50-55 °C) e rotação de 60 RPM. Já o extrato etanólico a 20% foi

concentrado em aparelho de banho-maria **Figura 5-C**, utilizando para isso capsulas de porcelanas e temperatura de 62 °C.

Figura 4. Sistema de extração estática exaustiva refrigerada por refluxo



Legenda: (1) controlador de temperatura (2) manta aquecedora (3) amostra e solvente (4) bolão de fundo redondo (5) entrada de água (6) condensador (7) saída de água. **Fonte:** SOUZA, C. Jheiffison (2019).

Figura 5. Sistemas e aparelhos usados nas etapas de filtração e concentração



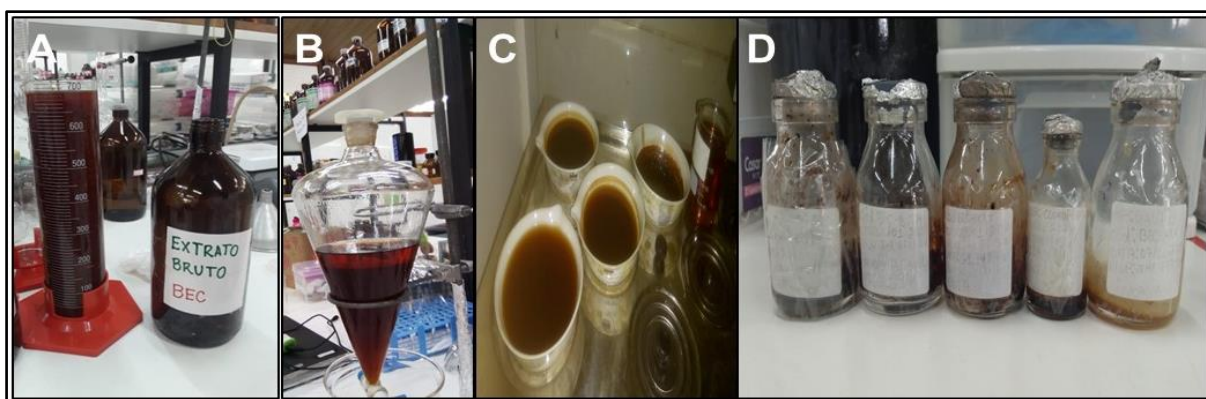
Legenda: (A) sistema de filtração composto por funil de vidro e algodão (B) aparelho rotaevaporador (C) aparelho de banho-maria. **Fonte:** SOUZA, C. Jheiffison (2019).

4.4 Fracionamento do Extrato

Foram obtidos os volumes de 710 mL (etanol 80%) e 640 mL (etanol 20%) de extrato bruto hidroalcoólico da BEC **Figura 6-A**. Daqueles volumes foram tomadas alíquotas de 355 mL e 320 mL, que foram submetidas ao fracionamento em ordem crescente de polaridade (hexano>clorofórmio>acetato de etila>butanol) **Figura 6-B**.

As outras metades dos 355 mL e 320 mL foram transferidas para cápsulas de porcelana devidamente identificadas e colocadas em banho-maria a 62 °C para a evaporação do solvente **Figura 6-C**. No sistema de fracionamento foi utilizado um funil de partição de capacidade de 1 L e um suporte universal **Figura 6-B**. A extração com cada solvente foi realizada exaustivamente, até que observasse uma diminuição na capacidade de extração do material. Após o fracionamento, os frascos foram secos e as massas foram determinadas em balança analítica. No final foi obtido as frações (BEC-HEX-80%, BEC-HEX-20%, BEC-CLO-80%, BEC-CLO-20%, BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80%, BEC-BUT-20%, BEC-HID-80% e BEC-HID-20%) e os extratos brutos (BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%) **Figura 6-D**.

Figura 6. Sistemas, equipamentos e vidrarias usados nas etapas de fracionamento, secagem e armazenamento das amostras BEC



Legenda: (A) Recipiente de armazenamento do extrato bruto (B) sistema de fracionamento com funil de partição (C) amostras em capsulas de porcelana no processo de secagem (D) frascos de armazenamento das frações e extratos brutos. **Fonte:** SOUZA, C. Jheiffison (2019).

4.5 Prospecção Fitoquímica em Tubos de Ensaio

4.5.1 Teste de Fenólicos

A caracterização fitoquímica em tubos de ensaio para a análise de compostos fenólicos foi realizado de acordo com a metodologia de Matos (2009), com os extratos brutos (BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%) e as frações mais polares acetato de etila, butanol e hidroalcoólico. Esse teste consistiu em quatro etapas.

a) Preparação da Solução Estoque

Foi utilizado 30 mg das frações mais polares (BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80%, BEC-BUT-20% e BEC-HID-80%) e extratos brutos (BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%) para a preparação das soluções estoques. Os resíduos foram solubilizados em metanol a 70% com auxílio de um aparelho Ultrasonic. Logo após, as soluções foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL e completou-se os volumes com o mesmo solvente. O potencial de hidrogênio (pH), destas soluções foram ajustados para 4, acrescentando solução de ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ e ao mesmo tempo, acompanhando a variação do potencial hidrogeniônico com fitas de medição de pH. Todos os ensaios desta análise fitoquímica foram realizados a partir destas soluções estoque em triplicata.

b) Teste para Fenóis e Taninos

Teste de Cloreto Férrico: foi adicionado 3 mL das soluções estoque em tubos de ensaios de cada uma das frações (BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80%, BEC-BUT-20%, BEC-HID-80%, BEC-EXT.B-80%, BEC-EXT.B-20% e TESTE-EM-BRANCO). A estes mesmo tubos, foram adicionadas três gotas de solução alcoólica de cloreto férrico (FeCl₃) e logo após foram agitados. A alteração após a reação foi observada e comparada com o teste em branco, isto é, usando apenas água destilada e cloreto férrico (MUSHTAQ *et al.*, 2014).

c) Teste de Antocianidinas, Antocianinas e Flavonóides

Teste de Antocianidinas, Antocianinas e Flavonóides: nesta análise foram utilizadas as frações BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80%, BEC-BUT-20% e BEC-HID-80%. Foi adicionado 3 mL das soluções estoque em três tubos de ensaio, enumerados de 2, 3 e 4. O tubo de número 2, teve a solução acidificada até pH 3; o tubo 3 foi alcalinizado até pH 8 e o tubo 4 ajustado até pH 11. Após alguns minutos, a coloração de cada tubo foi observada (MATOS, 2009).

d) Teste de Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavanonas

Teste de Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavanonas: nesta análise foram utilizadas as frações BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80%, BEC-BUT-20% e BEC-HID-80%. Foi adicionado 3 mL das soluções estoque em dois tubos

de ensaio, enumerados de 5 e 6. Os tubos de número 5, tiveram a solução acidificada até pH 3 com a adição de ácido clorídrico (HCl) 0,1 mol L⁻¹ e o tubo 6 foi alcalinizado até pH 11 com a adição de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol L⁻¹. Em seguida, os tubos foram submetidos a aquecimento por 3 minutos em banho-maria a 100 °C, após esse período, a coloração foi observada (MATOS, 2009).

4.5.2 Teste de Esteróides e Terpenóides (Lieberman-Burchard e Salkowski)

Teste de Lieberman-Burchard: foi utilizado 30 mg das frações (BEC-CLO-80%, BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80% e BEC-BUT-20%) extratos brutos (BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%), as frações foram submetidas a extração por três vezes com 2 mL de clorofórmio (CHCl₃), logo após, as soluções clorofórmio foram filtradas gota a gota em um funil fechado com bolinhas de algodão e recobertas com alguns decigramas de sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) para tubos de ensaio. Posteriormente, foi adicionado 1 mL de anidrido acético [(CH₃CO)₂O] em cada tubo, as soluções foram agitadas suavemente e juntado cuidadosamente com três gotas de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄ 95-98%) e novamente os tubos foram agitados suavemente (MATOS, 2009).

Teste de Salkowski: nesta análise foi utilizado 2 mL das frações (BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80% e BEC-BUT-20%) e extratos brutos (BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%). Em cada tubo de ensaio, foi adicionado 2 mL de clorofórmio (CHCl₃) e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄ 95-98%) (IQBAL *et al.* 2015).

4.5.3 Teste de Saponinas

Teste de Saponinas: nesta análise foi utilizado 30 mg das frações (BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80%, BEC-BUT-20%, BEC-HID-80% e BEC-HID-20%) e extratos brutos (BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%). As amostras foram solubilizadas em 10 mL de água destilada com auxílio de um aparelho ultrasonic. Em seguida, foram filtradas para tubos de ensaios por meio de funis recobertos com papel filtro. Logo após, as soluções foram agitadas fortemente por dois minutos (MATOS, 2009; ISMAIL *et al.*, 2016).

Teste confirmatório para Saponinas: foi adicionado 2 mL de HCl concentrado (HCl-37%) em cada tubo preparado no teste anterior (teste de saponinas). Logo depois, os tubos de ensaios ficaram uma hora imersa em banho-maria ± 50 °C. Em seguida, deixou-se esfriar os tubos, neutralizou-se com NaOH 10% e agitou-se novamente. De imediato, as amostras foram extraídas três vezes com 2 mL de clorofórmio (HCCl_3) e, então submetidas aos testes de **Lieberman-Burchard (1)** seção 4.5.2. (MATOS, 2009).

4.5.4 Teste de Flavonóides

Teste de Shinoda: nesta análise foi utilizado 2 mL das frações (BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80% e BEC-BUT-20%) e extratos brutos (BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%). Em cada tubo de ensaio, foi adicionado uma pequena quantidade magnésio (Mg) e 5 gotas de ácido clorídrico concentrado (HCl-37%) (MATOS, 2009; MUSHTAQ *et al.*, 2014; OGBUANU *et al.*, 2014).

4.5.5 Teste de Alcalóides

Teste de Dragendorff: nesta análise foi utilizado 3 mL das frações (BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80% e BEC-BUT-20%) e extratos brutos (BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%). Foi preparado 100 mL do reagente Dragendorff dissolvendo 8,0121 g de nitrato de bismuto III pentahidratado-98% [$\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -98%] em 20 mL de ácido clorídrico pré-diluído a 30% (HCl-30%) e foi dissolvido separadamente 22,8007 g de iodeto de potássio (KI) em um volume mínimo de água (H_2O). Em seguida, a primeira solução foi lançada, pouco a pouco, sobre a segunda, e por fim, completou-se o volume para 100 mL, utilizou-se apenas 3 gotas da solução em cada tubo de ensaio (MATOS, 2009; CARDOSO, 2009; SIMÕES *et al.*, 2004).

Teste de Mayer: nesta análise foi utilizado 3 mL das frações (BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80% e BEC-BUT-20%) e extrato bruto (BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%). Foi preparado 100 mL da solução de Mayer dissolvendo 1,3512 g de cloreto de mercúrio (HgCl_2) em 60 mL de água (H_2O) e 5,0452 g de iodeto de potássio (KI) em 20 mL de água (H_2O). As duas soluções foram misturadas, agitadas

e diluídas com água até obter 100 mL, utilizou-se 3 gotas da solução em cada tubo de ensaio (MATOS, 2009; CARDOSO, 2009; SIMÕES *et al.*, 2004).

4.5.6 Teste de Cumarinas

Teste de Cumarinas (1): nesta análise foi utilizado 2 mL das frações (BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80% e BEC-BUT-20%) e extratos brutos (BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%). Em cada tubo de ensaio, foi adicionado 3 mL de hidróxido de sódio 10% (NaOH) (YADAV *et al.*, 2014).

Teste de Cumarinas (2): nesta análise foi adicionado 2 mL das frações (BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80% e BEC-BUT-20%) e extratos brutos (BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%). Após adicionar as amostras, a boca dos tubos de ensaios foram cobertas com papel filtro e tratado com duas gotas de solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1 mol L⁻¹. Posteriormente, os tubos de ensaios foram colocados por 3 minutos em água fervente a 100 °C, em seguida, os papéis de filtro foram removidos e examinados sob a luz ultravioleta em comprimentos de onda de 254 nm e 366 nm na câmara de UV TLC Visualizer (SUMAN *et al.*, 2013).

Teste de Cumarinas (3): foi utilizado 2 gotas das frações (BEC-ACE-80%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-80% e BEC-BUT-20%) e extratos brutos (BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%) em papéis filtros previamente cortados. Em seguida, foi adicionado 2 gotas da solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1 mol L⁻¹. Esperou-se secar os papéis, logo após foram examinados sob a luz ultravioleta em comprimentos de onda de 254 nm e 366 nm na câmara de UV TLC Visualizer.

4.6 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) foi utilizada na caracterização das classes fitoquímicas das frações e extratos brutos. Como fase estacionária (FE), foi utilizado placas gel de sílica com suporte de alumínio e como fase móvel (FM), foi utilizado o sistema de solvente acetato de etila: hexano: ácido acético: ácido fórmico nas proporções (4: 6: 0,5: 0,5), respectivamente. As placas foram cortadas entre 5 cm de comprimento e 10 cm de largura. A eluição máxima no processo cromatográfico foi permitido os eluentes percorrem somente uma distância

de 4,5 cm. As placas foram limpas com metanol e ativadas em estufa a 80 °C por 30 minutos (GUIMARÃES, 2005).

As eluições foram realizadas em uma cuba de vidro de fundo plano em método de cromatografia ascendente. Na preparação das amostras (BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%) foi usado 15 mg dos extratos brutos que foram diluídos em metanol em concentrações de 15 mg mL⁻¹. Na placa, foi aplicado um volume de 5 a 15 µL das soluções, com o auxílio de microseringas e microcapilares de vidro aferido. A distância das aplicações das amostras foi de 0,5 cm acima da borda inferior e a distância entre as aplicações foram de 0,5 a 1 cm. As aplicações foram feitas em bandas (GUIMARÃES, 2005).

Após a etapa de eluição, as placas de gel de sílica foram reveladas com os reagentes de vanilina sulfúrica, NP/PEG e anisaldeído. Em seguida, as placas foram visualizadas sob a luz ultravioleta UV e luz branca em uma câmera TLC Visualizer. O perfil químico foi obtido direcionando-se o protocolo para avaliar a presença de terpenos, fenólicos e flavonoides (GUIMARÃES, 2005).

4.7 Ensaio de Atividade Antioxidante

4.7.1 Ensaio Qualitativo por CCD

O ensaio qualitativo de atividade antioxidante foi realizado pela técnica de CCD. Os extratos brutos foram eluídos no sistema de eluente acetato de etila: hexano: ácido acético: ácido fórmico (6: 4: 0,5: 0,5), na concentração de 15 mg mL⁻¹ e volume aplicado de 5 µL. As placas gel de sílicas foram reveladas com o reagente 2,2-difenil-1-picril-hidrazil 0,2% (DPPH) em metanol, em seguida, ficaram à temperatura ambiente durante 30 minutos (ALVES, 2020).

4.8 Espectrometria de Massas (EM)

A técnica utilizada na caracterização do perfil químico foi a Espectrometria de Massas (EM). As análises dos extratos BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20% e frações BEC-HEX-80%, BEC-CLO-20%, BEC-CLO-80%, BEC-ACE-20%, BEC-ACE-80%, BEC-BUT-20% e BEC-BUT-80%, foram realizadas no Laboratório de Cromatografia e

Espectrometria de Massas (LABCEM) Central Analítica-UFAM. Foi utilizado o espectrômetro de massas modelo LQC Fleet (Thermo Scientific®), utilizando como fonte de ionização eletrospray (ESI) e ionização química à pressão atmosférica (APCI), injeção direta em modo negativa $[M-H]^-$ e positivo $[M+H]^+$, na faixa de 100-1000 Da. Todas amostras foram preparadas na concentração de 1 mg mL^{-1} em metanol grau HPLC, em seguida 100 μL foram retirados e em um outro frasco avolumados para 1 mL de metanol. Os espectros obtidos foram processados no programa Thermo Xcalibur versão 2.2. SP1.48 e comparados com os dados da literatura.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento dos Extratos Brutos e Frações

A quantidade de material botânico inicial de 267,67 g extraído com etanol 80% e 271,88 g extraído com etanol 20% tiveram seus rendimentos determinados conforme mostra a **Tabela 1**. O rendimento total das amostras extraídas com etanol 20% foi de 10,29 g ou 1,92 % e as amostras submetidas à extração com etanol 80% foi de 9,91 g ou 1,85 %, rendimentos calculados com base nas massas das cascas secas e trituradas. Comparando os dois processos de extração, o resultado indica que o solvente extrator etanol 20% teve maior rendimento em comparação com o solvente extrator etanol 80%. Quando comparamos as frações, percebemos que as frações mais polares obtiveram maiores rendimentos no processo de extração em comparação com as frações apolares.

Tabela 1. Rendimento dos extratos brutos e frações oriundos do material botânico da casca do caule

BEC - 267,67 (g) / 50,00 (%)			BEC - 271,88 (g) / 50,00 (%)		
Frações	Massa (g)	Massa (%)	Frações	Massa (g)	Massa (%)
BEC-HEX-80%	1,14	0,21	BEC-HEX-20%	0,004	0,0008
BEC-CLO-80%	0,76	0,14	BEC-CLO-20%	0,06	0,01
BEC-ACE-80%	1,59	0,29	BEC-ACE-20%	0,30	0,05
BEC-BUT-80%	0,73	0,13	BEC-BUT-20%	0,47	0,08

BEC-HID-80%	0,93	0,17	BEC-HID-20%	4,50	0,84
BEC-EXT.B-80%	4,76	0,89	BEC-EXT.B-20%	4,93	0,92
Total	9,91	1,85	Total	10,29	1,92

Fonte: SOUZA, C. Jheiffison (2022).

5.2 Prospecção Fitoquímica em Tubos de Ensaio

As **Tabelas (2) e (3)** a seguir, resumem os resultados obtidos para os testes de prospecção fitoquímica em tubos de ensaio com as amostras BEC. Por meio da técnica, foi caracterizado qualitativamente a possível presença das seguintes classes de metabólitos secundários: terpenos, esteróides, saponinas, flavonóis e flavanonas. Todos os ensaios clássicos, foram baseados em reações químicas, que resultaram na formação de precipitados ou mudança de coloração. Apesar das metodologias serem limitadas, pois existe a possibilidade da ocorrência de reações inespecíficas, gerando tanto resultados falsos-negativos quanto falso-positivos. Os resultados dos testes fitoquímicos obtidos no presente trabalho, estão em concordância com estudos de espécies da família Lecythydaceae (HAYASIDA, 2015; SILVA, 2014).

Tabela 2. Prospecção fitoquímica em tubos dos extratos etanol 80%

Metabólitos secundários	BEC-HEX-80%	BEC-CLO-80%	BEC-ACE-80%	BEC-BUT-80%	BEC-HID-80%	BEC-EXT.B-80%
Fenóis	*	*	-	-	-	-
Taninos pirogálicos	*	*	-	-	-	-
Taninos flababênicos	*	*	-	-	-	-
Antocianinas/antocianidinas	*	*	-	-	-	*
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	*	*	-	-	-	*
Chaconas e Auronas	*	*	-	-	-	*
Flavonóis	*	*	Vermelho-laranja (+)	Vermelho-laranja (+)	Vermelho-laranja (+)	*

Leucoatocianidinas	*	*	-	-	-	*
Catequinas	*	*	-	-	-	*
Flavanonas	*	*	Vermelho-laranja (+)	Vermelho-laranja (+)	Vermelho-laranja (+)	*
Esteróides livres	*	Verde (+)	-	*	Azul (+)	*
Triterpenóides pentacíclicos livres	*	-	Cor parda (+)	Cor parda (+)	*	*
Terpenóides e/ou Esteróides	*	*	Marrom-avermelhado (+)	Marrom-avermelhado (+)	*	Marrom-avermelhado (+)
Saponinas	*	*	Espuma/precipitado (+)	Espuma/precipitado (+)	Espuma/precipitado (+)	-
Flavonóides	*	*	-	-	*	-
Alcalóides	*	*	-	-	*	-
Cumarinas	*	*	-	-	*	-

Legenda: sinal (+) indica positivo, sinal (-) indica negativo e sinal (*) indica teste não realizado.

Fonte: SOUZA, C. Jheiffison (2022).

Tabela 3. Prospecção fitoquímica em tubos dos extratos etanol 20%

Metabolitos secundários	BEC-HEX-20%	BEC-CLO-20%	BEC-ACE-20%	BEC-BUT-20%	BEC-HID-20%	BEC-EXT.B-20%
Fenóis e Taninos	*	*	-	-	*	-
Taninos Pirogálicos	*	*	-	-	-	-
Taninos Flobabênicos	*	*	-	-	-	-
Antocianinas e Antocianidinas	*	*	-	-	*	*
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	*	*	-	-	*	*
Chaconas e Auronas	*	*	-	-	*	*
Flavonóis	*	*	Vermelho-laranja (+)	Vermelho-laranja (+)	*	*

Leucoatocianidinas	*	*	-	-	*	*
Catequinas	*	*	-	-	*	*
Flavanonas	*	*	Vermelho-laranja (+)	Vermelho-laranja (+)	*	*
Esteróides livres	*	*	-	Azul (+)	*	*
Triterpenóides pentacíclicos livres	*	*	Cor parda (+)	*	Cor parda (+)	*
Terpenóides e/ou Esteróides	*	*	Marrom-avermelhado (+)	Marrom-avermelhado (+)	*	Marrom-avermelhado (+)
Saponinas	*	*	Espuma/precipitado (+)	Espuma/precipitado (+)	Espuma/precipitado (+)	Espuma/precipitado (+)
Flavonóides	*	*	-	-	*	-
Alcalóides	*	*	-	-	*	-
Cumarinas	*	*	-	-	*	-

Legenda: sinal (+) indica positivo, sinal (-) indica negativo e sinal (*) indica teste não realizado.
Fonte: SOUZA, C. Jheiffison (2022).

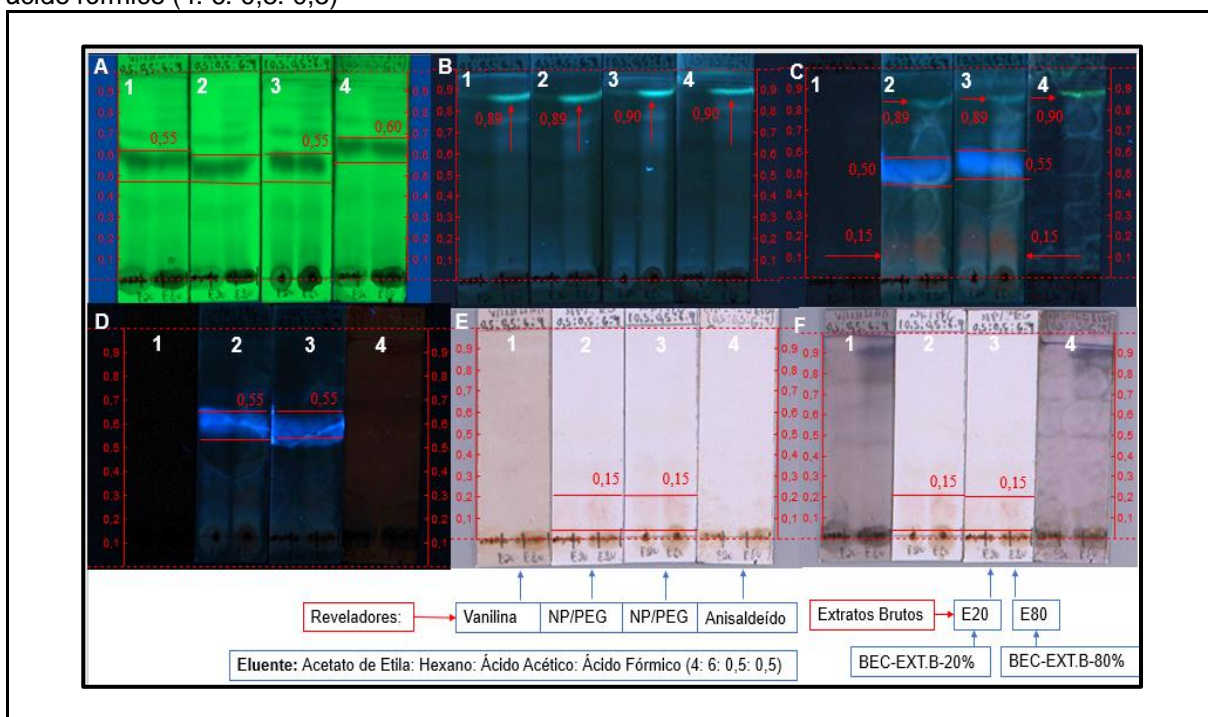
5.3 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Dentre os eluentes testados, o eluente CCD23 (acetato de etila: hexano: ácido acético: ácido fórmico) na proporção (6: 4: 0,5: 0,5), respectivamente, apresentou o melhor desempenho na separação e resolução cromatográfica dos compostos químicos na técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD). As amostras BEC.EXT.B-20% e BEC.EXT.B-80%, revelaram no comprimento de onda 254 nm manchas pretas **Figura 7-A** nas placas de CCD (1), (2) e (3) com Rfs = 0,55 e na placa de CCD (4) com Rf = 0,60. O BEC-EXT.B-80%, revelou no comprimento de onda 366 nm bandas intensas de fluorescência azul claro **Figura 7-B** nas placas de CCD (1) e (2) com Rfs = 0,89 e nas placas de CCD (3) e (4) com Rfs = 0,90.

Ao revelar as placas com o reagente NP sob comprimento onda 366 nm, foi observado tanto para BEC.EXT.B-80%, quanto, para BEC.EXT.B-20% bandas intensas de fluorescência azul escuro **Figura 7-C** na placa (2) com Rf = 0,50 e na placa

(3) com $R_f = 0,55$. Ao analisar as placas, observou-se que as fluorescências em azuis são as mesmas que foram reveladas em $R_f = 0,55$ no comprimento de onda 254 nm na **Figura 7-A**. Já as fluorescências em azuis de $R_f = 0,89$ nas placas (2) e (3) reveladas com NP no comprimento de onda 366 nm e uma fluorescência verde de $R_f = 0,90$ na placa (4) revelada com anisaldeído, são os mesmos $R_f = 0,89$ identificadas no comprimento de onda 366 nm da **Figura 7-B**. Ainda nas mesmas placas (2) e (3) da **Figura 7-C**, também foi revelado bandas de fluorescência alaranjada com $R_f = 0,15$ para ambos os extratos.

Figura 7. Placas de CCD dos extratos brutos BEC-EXT.B-80% e BEC-EXT.B-20%, em concentrações de 15 mg mL^{-1} , volume aplicado $5 \mu\text{L}$ e sistema de eluição com acetato de etila: hexano: ácido acético: ácido fórmico (4: 6: 0,5: 0,5)



Legenda: (A) placas de CCD sem revelador em comprimento de onda 254 nm (B) placas de CCD sem revelador em comprimento de onda 366 nm (C) placas reveladas com vanilina sulfúrica (1) e anisaldeído (4) sem aquecimento e NP (2 e 3) em comprimento de onda 366 nm (D) placas reveladas com vanilina sulfúrica (1) e anisaldeído (4) com aquecimento e NP/PEG (2 e 3) em comprimento de onda 366 nm (E) placas reveladas com vanilina sulfúrica (1) e anisaldeído (4) sem aquecimento e NP (2 e 3) sob a luz branca (F) placas reveladas com vanilina sulfúrica (1) e anisaldeído (4) com aquecimento e NP/PEG (2 e 3) sob a luz branca. **Fonte:** SOUZA, C. Jheiffison (2022).

As fluorescências de cor laranja também foram identificadas sob a luz branca, após revelar as placas de CCD com o reagente NP **Figura 7-E** e NP/PEG **Figura 7-F**. Uma fluorescência de coloração roxa foi observada nas placas (1) e (4) em $R_f = 0,90$ na **Figura 7-F**, com reveladores de vanilina e anisaldeído respectivamente. A

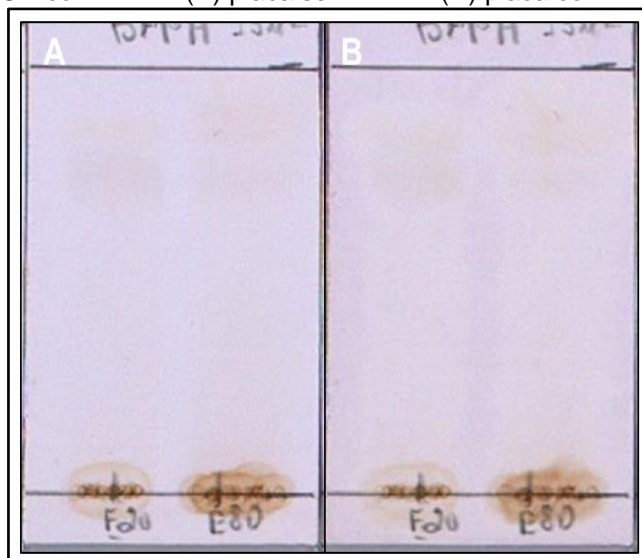
revelação das placas com o reagente PEG na **Figura 7-D**, foi observado uma intensificação da fluorescência azul escuro com $R_f = 0,55$.

Sendo assim, com base na literatura a fluorescência de cor azul a verde é característica da possível presença de compostos de ácidos fenólicos quando são revelados com NP/PEG em 366 nm. Já cor roxa é inerente da possível presença de terpenos, quando as placas são reveladas com os reagentes de vanilina sulfúrica e anisaldeído. A fluorescência vermelho-laranja é típica da possível presença flavonoides, quando são revelados com o reagente NP/PEG sob o comprimento de onda 366 nm e luz branca (GUERRA, 2018; GUIMARÃES, 2005).

5.4 Ensaio Qualitativo de Atividade Antioxidante

A capacidade antioxidante de uma amostra é observada pela mudança de coloração do radical livre, de violeta para amarelo característico do produto reduzido (BURATTO *et al.*, 2011). A **Figura 8** a seguir, exibe a análise qualitativa das amostras BEC-EXT.B-20% e BEC-EXT.B-80% por CCD. Ao comparar as placas da **Figura 8-A** com a **Figura 8-B**, observa-se o aparecimento de uma cor levemente amarelo pálido, tanto no extrato bruto BEC-EXT.B-20%, quanto, no extrato bruto BEC-EXT.B-80%. Portanto, o resultado referente ao teste de potencial antioxidante apresentado pelos extratos brutos pode estar relacionado a presença de compostos fenólicos e/ou flavonoides nas cascas do caule. No entanto, a capacidade antioxidante pode ser melhor explicada por meio de análises quantitativa.

Figura 8. Teste qualitativo do potencial antioxidante das amostras BEC-EXT.B-20% e BEC-EXT.B-80%, pela técnica de CCD com DPPH (A) placa sem DPPH (B) placa com DPPH após 30 min



Legenda: E20 = BEC-EXT.B-20% e E80 = BEC-EXT.B-80%. Eluente: acetato etila: hexano: ácido acético e ácido Fórmico (6: 4: 0,5: 0,5); revelador: solução de DPPH; concentração de 15 mg mL⁻¹.

Fonte: SOUZA, C. Jheiffison (2023).

5.5 Espectrometria de Massas por ESI e APCI

Os compostos reunidos a seguir, foram obtidos por ESI/EM, ESI/EM², APCI/EM e APCI/EM² e comparados com estudos já descritos na literatura. Os critérios usados nas análises dos espectros de massas para a caracterização do perfil químico foram a presença do pico do íon molecular, o pico base, padrão de fragmentação e a comparação visual com os espectros fornecidos por bancos de dados e trabalhos já publicados.

A análise de BEC por espectrometria de massas resultou na caracterização de oito ácidos graxos: ácido palmitolêico (253 *m/z*), ácido palmítico (255 *m/z*), ácido linolênico (277 *m/z*), ácido linoleico (279 *m/z*), ácido oleico (281 *m/z*), ácido esteárico (283 *m/z*) e ácido araquídico (311 *m/z*); uma axilipina: ácido 9,12, 13-THODE (329 *m/z*); um ácido fenólico: ácido protocatecuico (153 *m/z*) e uma lignana (419 *m/z*): NCGC00381126-01!6,7-bis(hidroximetil)-1-metoxi-8-(3,4,5-trimetoxifenil)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-2,3-diol. Perfazendo um total de dez constituintes químicos caracterizados para esta espécie de planta. O **Quadro 5** a seguir, mostra a relação dos compostos químicos sugeridos.

Quadro 5. Dados e caracterização de compostos químicos por espectrometria de massas com ionização por *electrospray* ESI(-)-EM e ionização química à pressão a atmosfera APCI(-)-EM

M/Z	EM/EM	Substância	Referência	EM/EM do artigo
153	109: 125: 138	Ácido Protocatecuico	Aksay, Selli, kelebek (2021); John; Shahidi (2010)	109: 137
187				
199	137	*	*	*
227	212: 209:195: 184:193:171	*	*	*
253	*	Ácido Palmitolêico	Cabral, (2010)	*
255	237: 235: 211	Ácido Palmítico	Wang <i>et al.</i> , (2017); Ramos <i>et al.</i> , (2020); Correia <i>et al.</i> , (2021)	237
277	262: 245: 233: 232: 215: 201: 105	Ácido Linolênico	Peres, (2020)	233: 259
279	279: 261: 259: 252: 249: 243: 183: 171: 111: 83	Ácido Linoleico	Zhou <i>et al.</i> , (2014); Cabral, (2010)	279: 261: 243: 235: 217
281	281: 263: 262: 251: 250: 235: 83	Ácido Oleico	Cabral, (2010)	*
282			*	
283	265: 251	Ácido Esteárico	Cabral, (2010)	*
284	*	*	*	*
293	*	*	*	*
311	*	Ácido Araquídico	Cabral, (2010)	*
329	314: 311: 293: 229: 211: 201: 171	Ácido 9, 12, 13-trihidroxioctadecenoico	Pussa; Anton, (2016)	311: 293: 263: 229: 211: 171: 139
353	323: 298: 294:	*	*	*
419	404: 389: 373	NCGC00381126-01!6,7-bis(hidroximetil)-1-metoxi-8-(3,4,5-trimetoxifenil)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-2,3-diol	MassBank of North America (MONA)	419: 404: 389: 373
731	573: 313	*	*	*

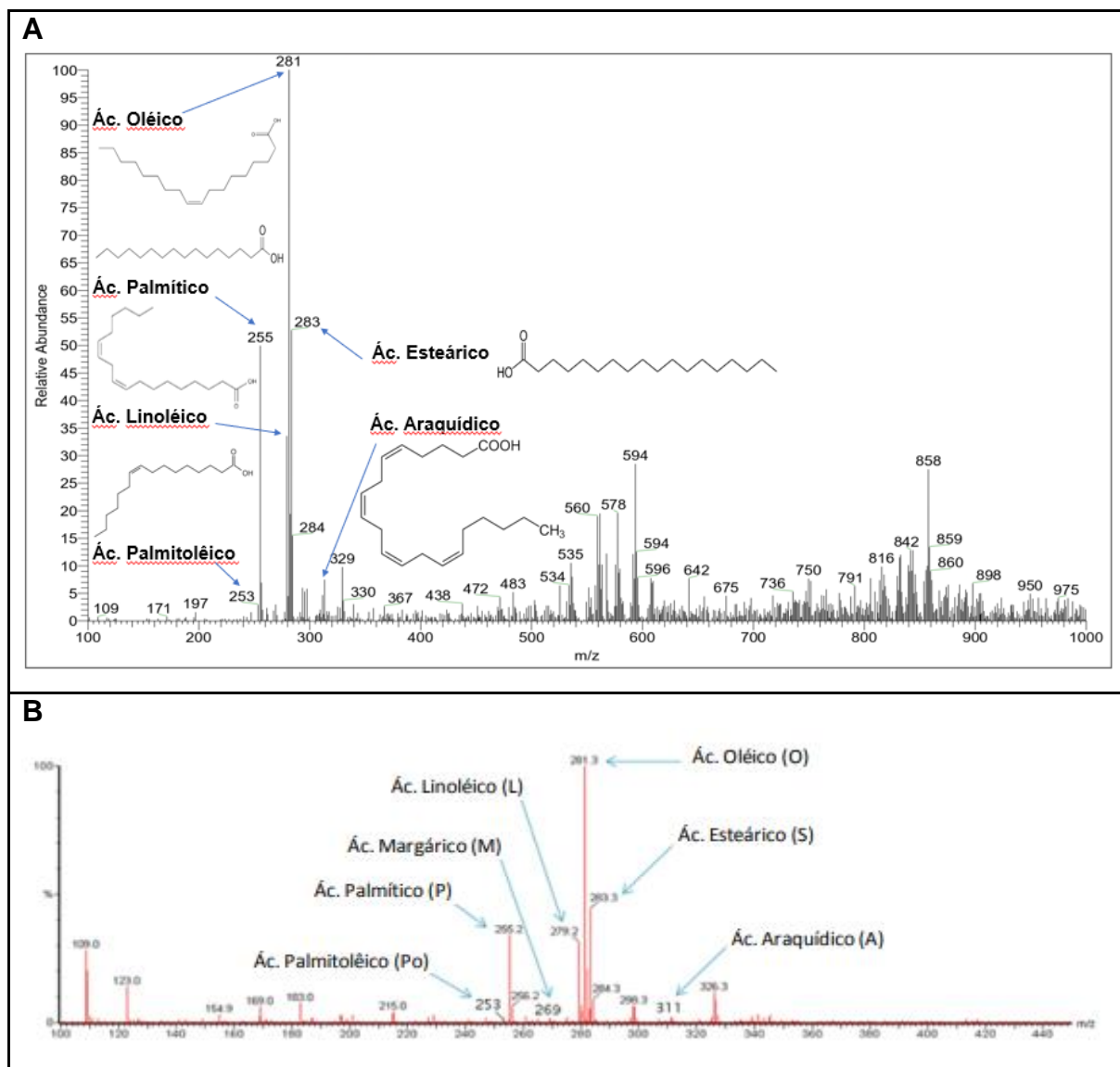
Legenda: sinal (*) indica não identificado. **Fonte:** SOUZA, C. Jheiffison (2022)

5.5.1 Lipídios

De modo geral, tanto as frações (BEC-HEX-80%, BEC-CLO-20%, BEC-CLO-80%, BEC-ACE-20%, BEC-ECE-80%, BEC-BUT-20% e BEC-BUT-80%), quanto, os extratos brutos (BEC-EXT.B-20% e BEC-EXT.B-80%), apresentaram perfis químicos semelhantes, indicando, dessa forma, que os lipídios são os constituintes químicos majoritários presentes na casca do caule de *B. excelsa*, de maneira idêntica as amêndoas *in natura* e de seu óleo vegetal. No entanto, não é possível afirmar que haja outros compostos majoritários, levando em consideração um estudo feito com matrizes complexas e sem a utilização de um pré-tratamento da amostra por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou cromatografia contracorrente de alta eficiência (HPCCC). Essas técnicas cromatográficas podem ser utilizadas na separação, concentração, purificação e isolamento de compostos presentes em matrizes complexas como é o caso de extratos vegetais. Esse pré-tratamento ajuda a aumentar a eficiência da ionização e a sensibilidade do aparelho de EM, permitindo uma melhor detecção dos compostos (SIMÕES *et al.*, 2017).

Na **Figura 9-A** a seguir, é mostrado o espectro de massas relativo ao extrato bruto BEC-EXT.B-80% obtido na análise p^or EM no modo negativo. Já a **Figura 9-B**, mostra um espectro de massas relativo aos picos do cromatograma de uma fração éter da amêndoa de *Anacardium occidentale* L. (cajueiro) (CABRAL, 2010). Ao comparar os dois espectros, observamos semelhanças idênticas entre eles. A comparação visual, a presença do pico do íon molecular e o padrão de fragmentação levaram a caracterização dos seguintes compostos químicos: ácido palmitolêico (**253 m/z**), ácido linoléico (**279 m/z**), ácido palmítico (**255 m/z**), ácido oléico (**281 m/z**), ácido esteárico (**283 m/z**) e ácido araquídico (**211 m/z**). Portanto, vemos que os dados obtidos podem ser confirmados com a literatura e conseguimos verificar a quão próximo estes perfis químicos são similares.

Figura 9. Espectros de massas (A) extrato bruto BEC-EXT.B-80% (B) fração éter da amêndoa de *Anacardium occidentale* L. (cajeueiro)

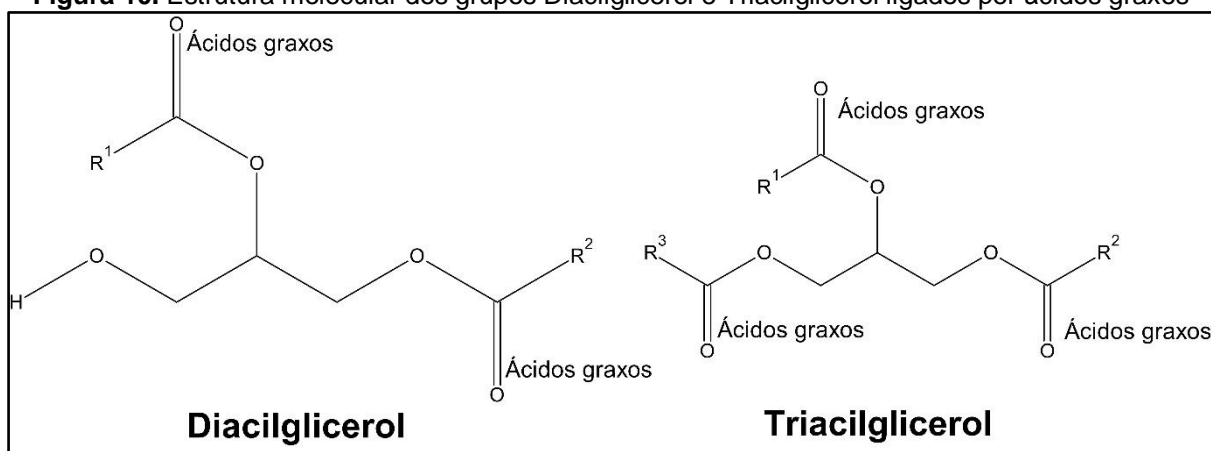


Fonte: Adaptado de CABRAL (2010).

De acordo a descrição dos trabalhos de Ryan *et al.* (2006), Santos *et al.* (2013) e Yang (2009), os lipídios são os compostos majoritários presentes nas amêndoas da Castanha-do-Brasil. A planta apresenta essa característica oleaginosa, devido à alta presença de compostos gordurosos. O presente estudo indica que os ácidos graxos livres presentes na BEC são principalmente ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGM) e poliinsaturados (AGP), sendo o ácido oléico o mais abundante de todos.

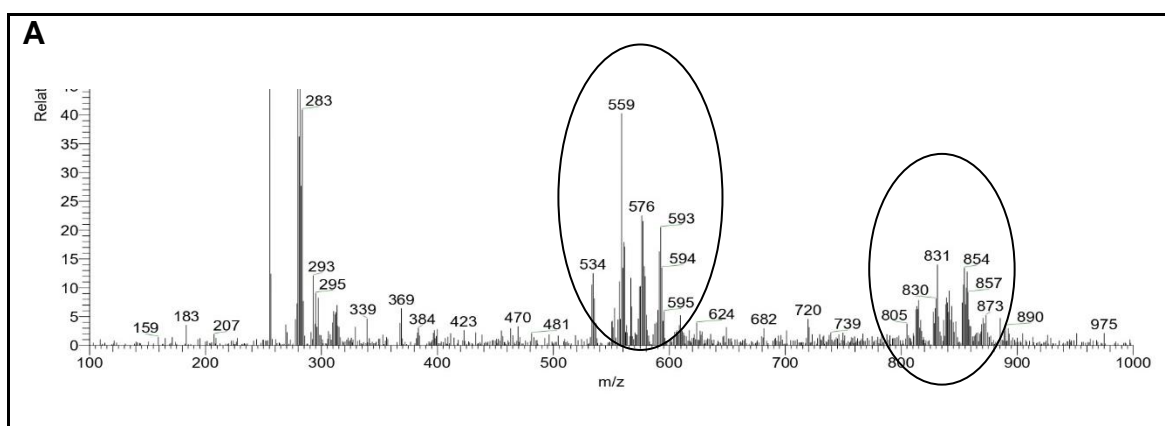
Além disso, também foi identificada uma possível região de grupos Diacilglicerol e Triacilglicerol **Figura 10**, principalmente nas frações BEC-HEX-80% e BEC-ACE-80% e extrato bruto BEC-EXT.B-80%. Os íons moleculares obtidos por este estudo para casca do caule, estão de acordo com os relatados por Pereira *et al.* (2019), em seu estudo com o óleo vegetal da amêndoa da castanha-do-Brasil. A **Figuras 11-A, Figura 11-B e Figura 11-C** adiante, mostra os espectros de massas das possíveis regiões desses compostos moleculares.

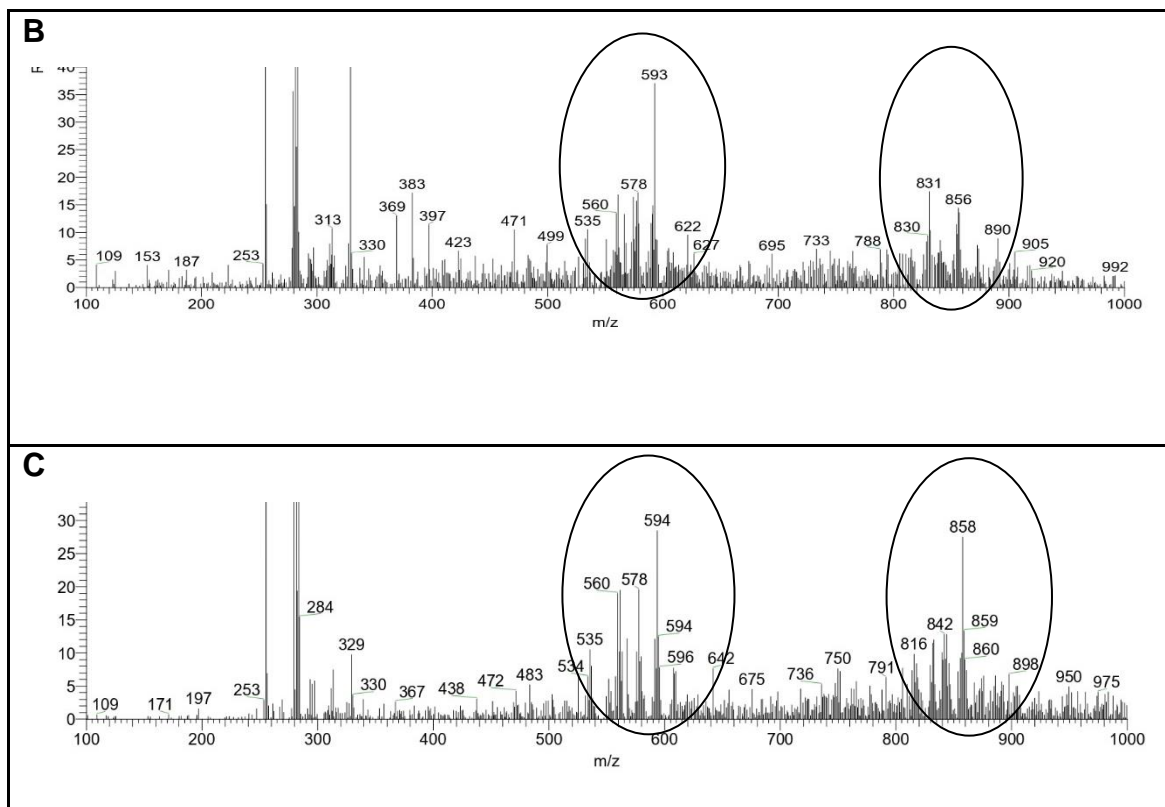
Figura 10. Estrutura molecular dos grupos Diacilglicerol e Triacilglicerol ligados por ácidos graxos



Fonte: Souza C. Jheiffison (2022).

Figura 11. Espectros de massas da região dos íons moleculares Diacilglicerol e Triacilglicerol (A) fração BEC-HEX-80% (B) fração BEC-ACE-80% (C) extrato bruto BEC-EXT.B-80%



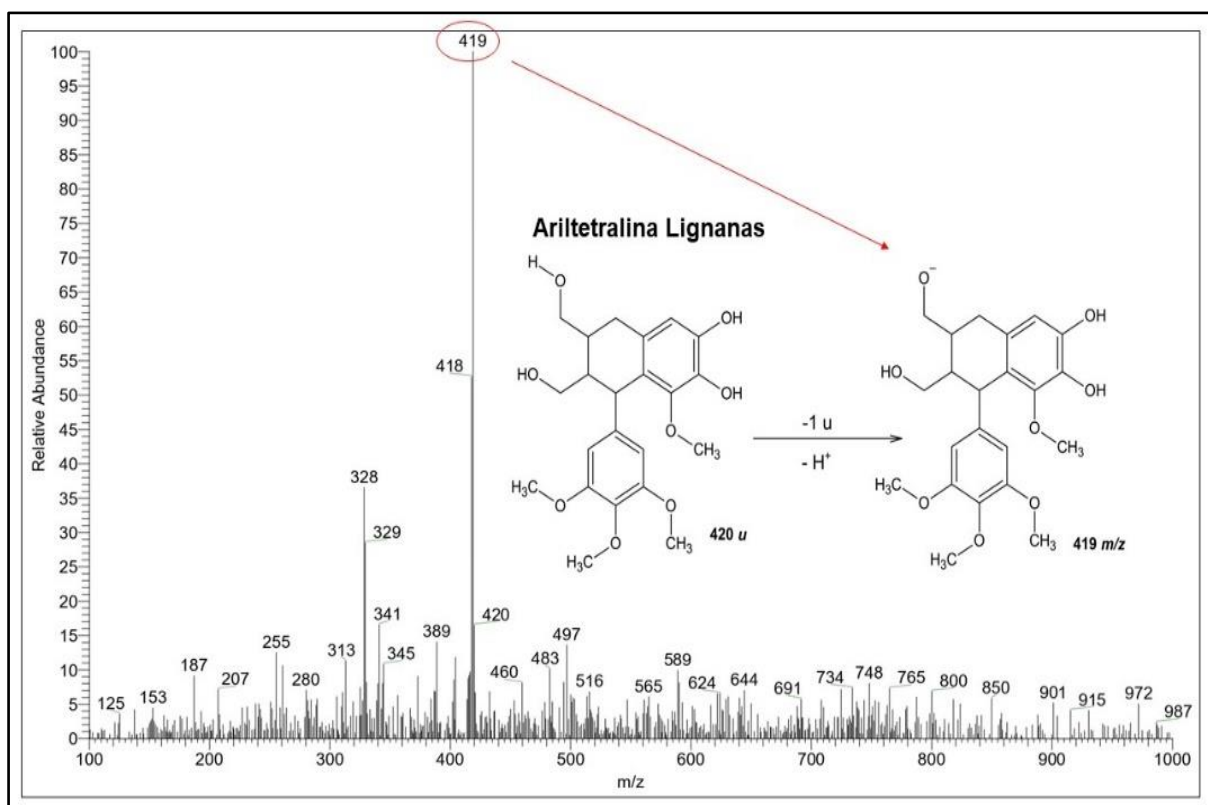


Fonte: Souza C. Jheiffison (2022).

5.5.2 Ariltetralina Lignana

O íon precursor de m/z 419 apareceu majoritariamente nos extratos brutos e frações extraídos com etanol a 20% (BEC-CLO-20%, BEC-ACE-20%, BEC-BUT-20% e BEC-EXT.B-20%), com exceção da fração BEC-BUT-80%. Os espectros de massas no modo negativo $[M-H]^-$ dessas amostras, indicaram o pico majoritário de m/z 419 (420 Da), conforme podemos ver na **Figura 12**. Portanto, a fórmula molecular proposta para m/z 419 foi $C_{22}H_{28}O_8$.

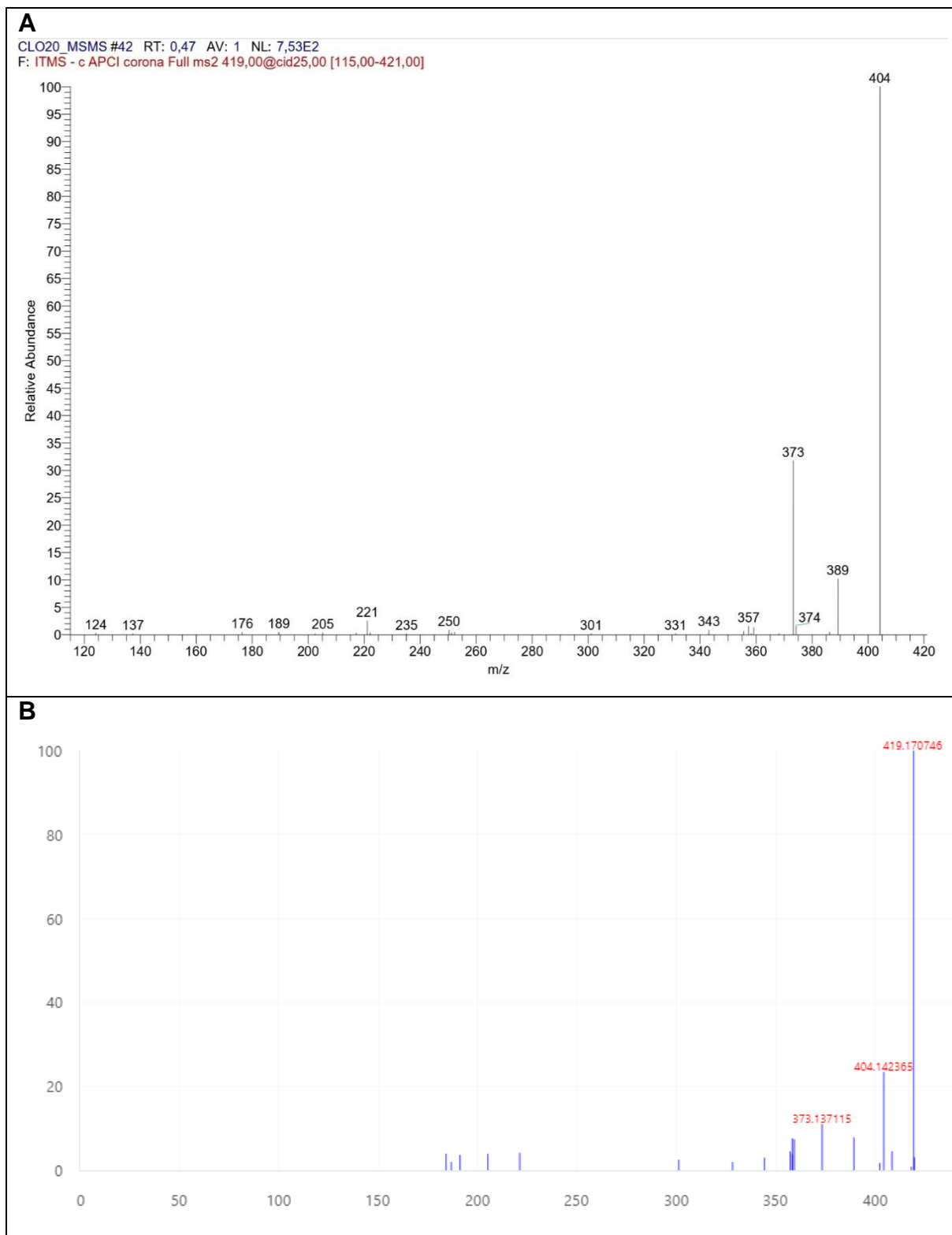
Figura 12. Espectro de massas (fullscan) de BEC-EXT.B-20% (varredura-modo negativo)



Fonte: Souza C. Jheiffison (2022).

A fragmentação do íon m/z 419 por APCI/EM², gerou o pico m/z 404, m/z 389 e m/z 373, conforme podemos ver na **Figura 13-A**. Ao comparar este padrão de fragmentação, com um espectro de massas similar obtido no banco de dados da MassBank of North America, ilustrado na **Figura 13-B**, foi possível propor a caracterização de uma ariltetralina lignana, conhecido pela nomenclatura NCGC00381126-01!6,7-bis(hidroximetil)-1-metoxi-8-(3,4,5-trimetoxifenil)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-2,3-diol. Como sugestão, os íons moleculares gerados pela fragmentação são referentes a perda de -OH ($419 m/z \rightarrow 404 m/z$); -CH₃O⁻ ($419 m/z \rightarrow 389 m/z$) e CH₂O₂H₂ ($419 m/z \rightarrow 373 m/z$). A afirmativa dessa substância pode ser confirmada por meio de outras técnicas como Ressonância Magnética Nuclear Unidimensional e Bidimensional.

Figura 13. Comparação de espectros de fragmentação (A) fração BEC-CLO-20% (B) espectro de massa do banco de dado MassBank of North America (MONA)



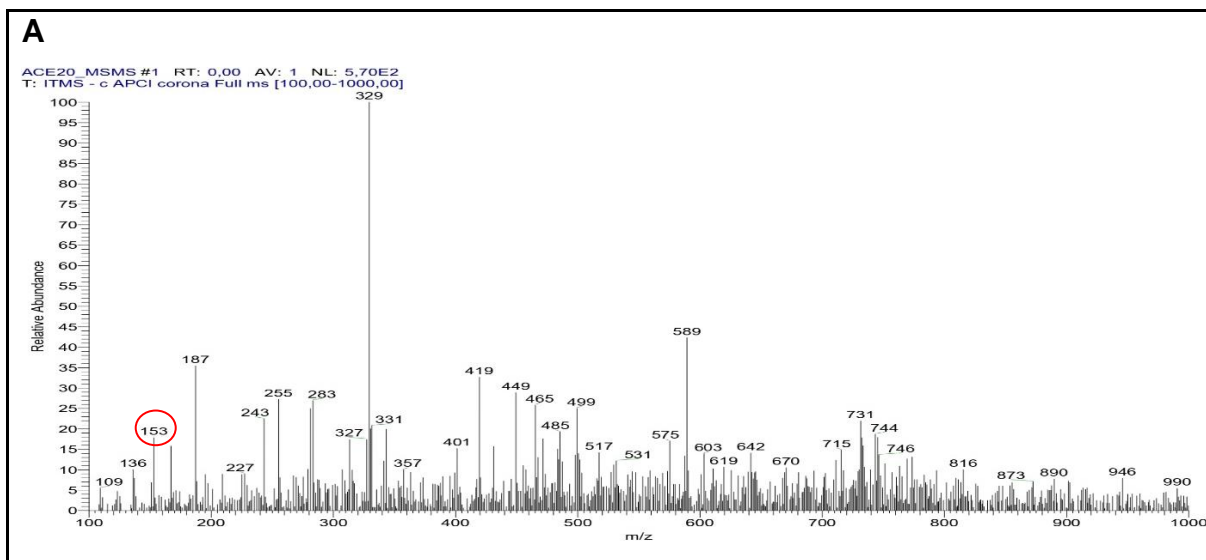
Fonte: Adaptado de MassBank of North America (MONA) (2022).

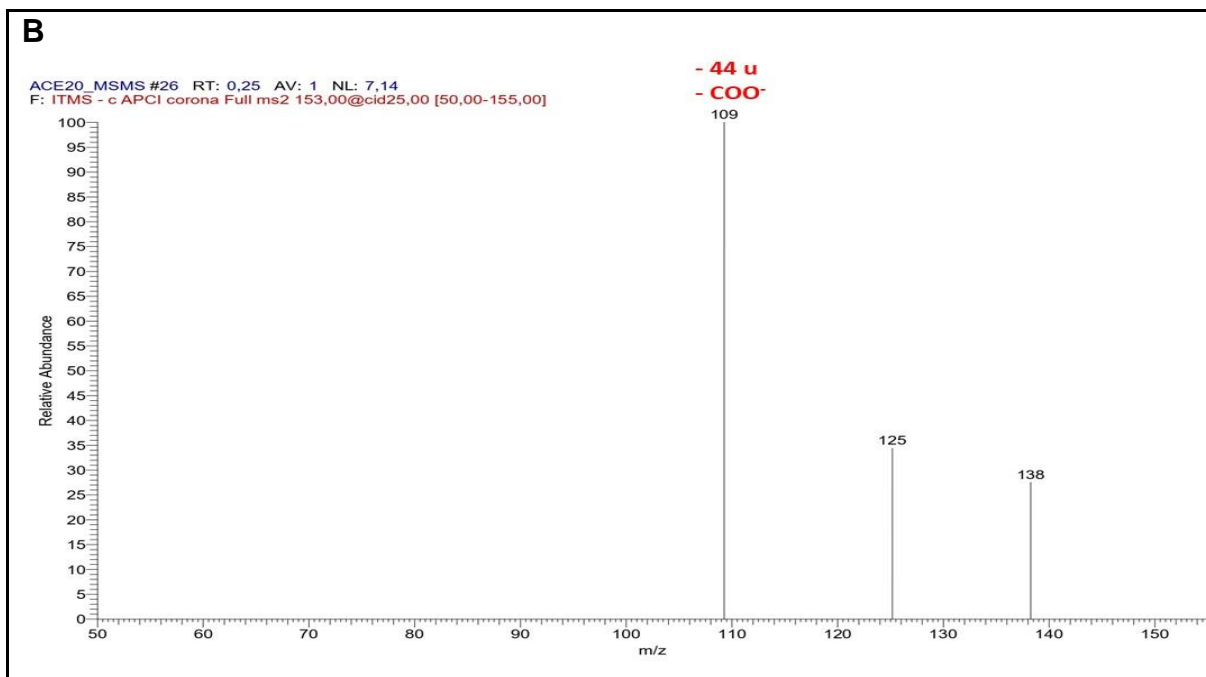
5.5.3 Ácido Protocatecuico

O espectro de massas $[M-H]^-$ da fração BEC-ACE-20%, indicou um pico minoritário m/z 153 (154 Da), como podemos ver na **Figura 14-A**. Ao comparar a m/z do íon obtido com a literatura, foi proposto a fórmula molecular $C_7H_6O_4$. A fragmentação por APCI/EM², gerou o pico m/z 109 ($C_6H_5O_2$; 100%), 125 (34%) e 138 (27%). Com destaque para m/z 109 que podem indicar a perda 44 u ($-COO^-$), conforme ilustrado na **Figura 14-B**. Sendo assim, o íon m/z 153 aliado ao seu padrão de fragmentação, foi possível propor a presença do ácido protocatecúico, que apresenta a perda do íon carboxilato, gerando o íon m/z 109 com 100% de abundância, como mostrado na **Figura 15** (FLORES, 2022).

A proposta de caracterização do ácido fenólico (ácido protocatecúico) no presente estudo pela fragmentação de seu íon molecular (m/z 153), se aproxima do resultado de fragmentação do obtido por Aksay *et al.* (2021), com os valores de m/z 153 → 137, 109. Além disso, o presente estudo também reforça trabalhos como de Gomes e Torres, (2015) e John e Shahidi (2010), os quais também já caracterizaram a presença do ácido protocatecúico na castanha-do-Brasil. No entanto, a afirmativa dessa substância pode ser confirmada por meio de outras técnicas como Ressonância Magnética Nuclear Unidimensional e Bidimensional

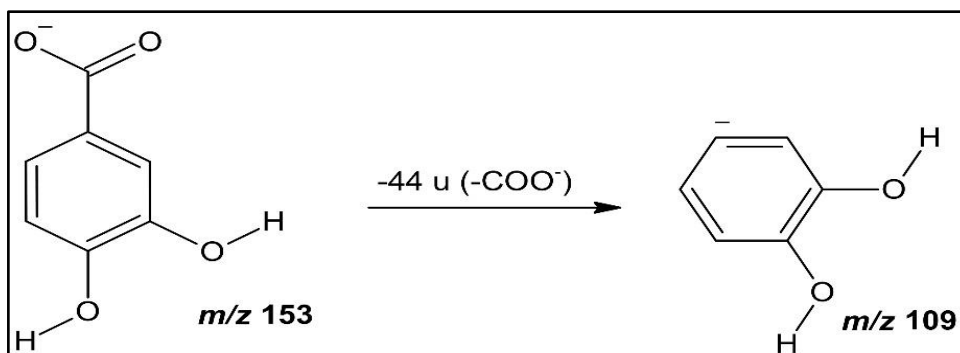
Figura 14. Espectros de massas (A) modo Fullscan da fração BEC-ACE-20% (B) espectro de fragmentação do íon m/z 153





Fonte: SOUZA, C. Jheiffison (2022).

Figura 15. Proposta de fragmentação do ácido protocatecuico presente na fração BEC-ACE-20%



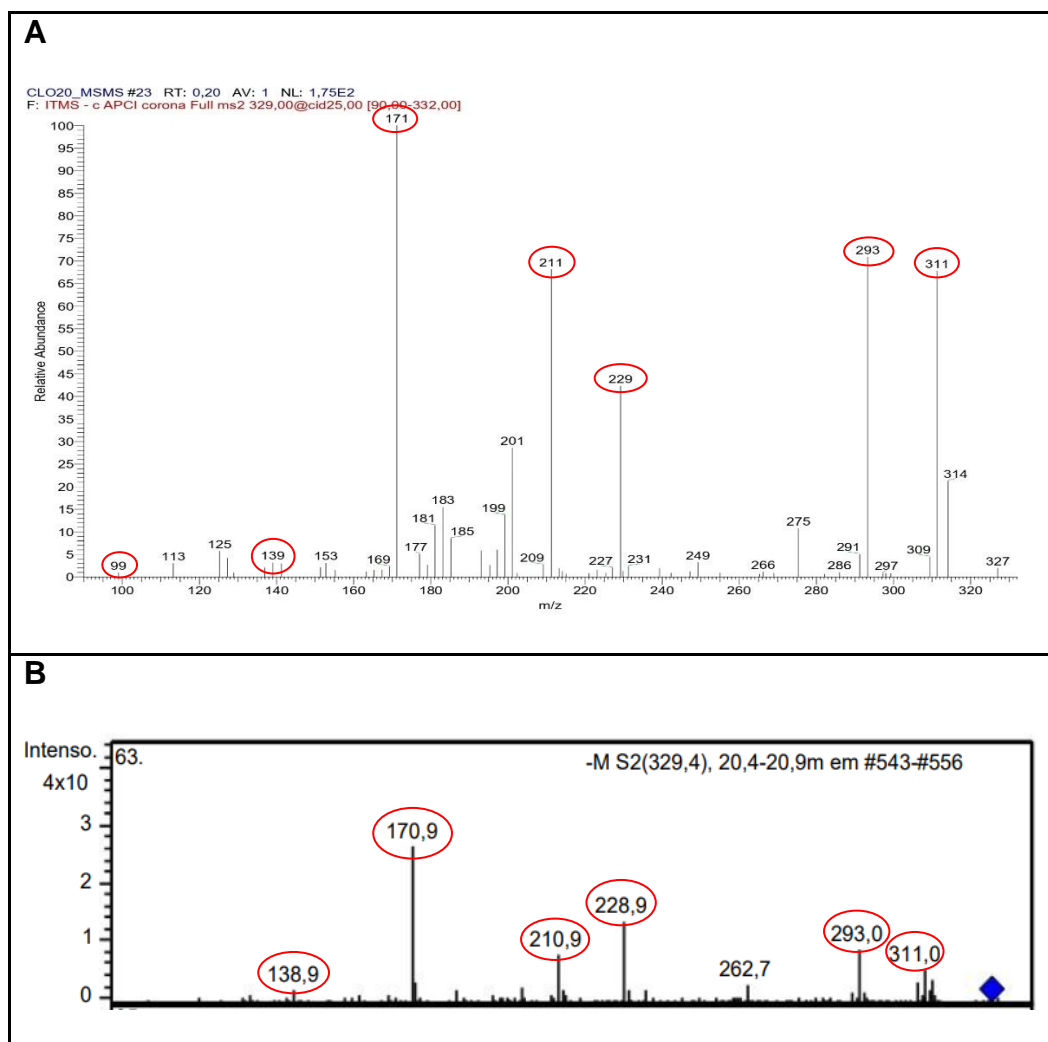
Fonte: SOUZA, C. Jheiffison (2023).

5.5.4 Oxilipina

A m/z 329 é referente ao composto de fórmula molecular ácido $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_5$ e de seus isômeros. Essa substância faz parte da família de produtos naturais oxigenados (oxilipinas), que são formados a partir de ácidos graxos via reações de oxidações. O composto sugerido neste estudo, faz parte do produto primária da oxidação do ácido graxo ácido linoléico ($279\text{ }m/z$). O **ácido 9, 12, 13-trihidroxi-10-octadecenóico**, foi caracterizado a partir do pico do íon molecular m/z 329, do pico base m/z 171 (100%), do padrão de fragmentação e da comparação com os espectros de massas de fragmentação obtidos na literatura (PUSSA; ANTON, 2016; LIANG *et al.*, 2018).

O pico do íon molecular m/z 329 é visto majoritariamente, nos espectros de massas das frações BEC-CLO-20% e BEC-ACE-20%, e de forma minoritária nas frações BEC-CLO-80%, BEC-ACE-80% e BEC-BUT-20%, e nos extratos brutos BEC-EXT.B-20% e BEC-EXT.B-80%. A **Figura 16-A** a seguir, ilustra o espectro de fragmentação relativo, a m/z 329 obtido pôr EM no modo negativo. Já a **Figura 16-B**, ilustra um espectro de massas semelhante a fragmentação do mesmo íon molecular, obtido pôr Pussa e Anton (2016).

Figura 16. Espectros de massas (A) fragmentação da m/z 329 (B) fragmentação da m/z 329 encontrada na literatura

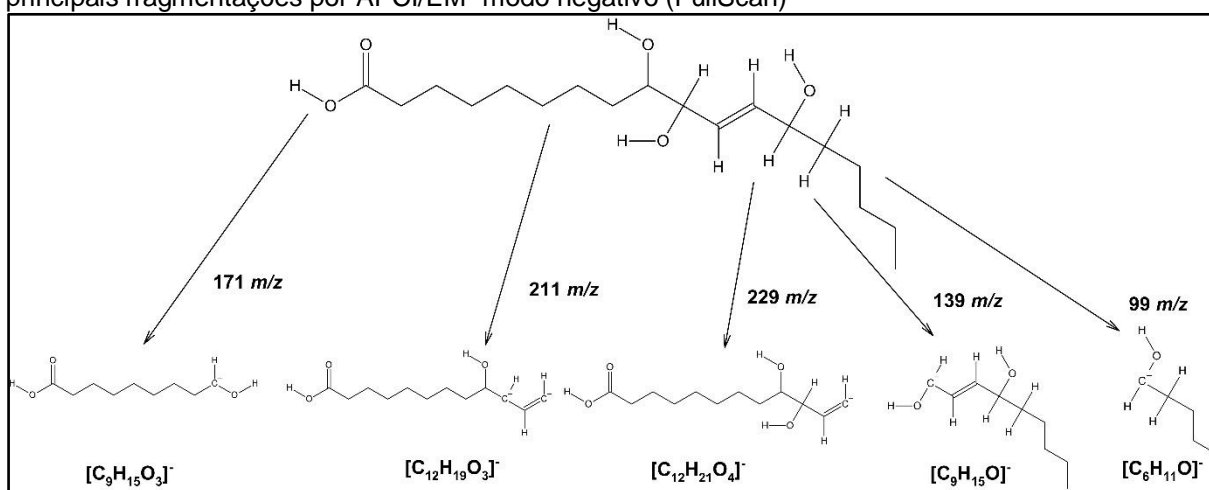


Fonte: Adaptado de PUSSA e ANTON (2016).

Ao comparar os espectros da **Figura 16**, foi observado similaridade entre eles. A comparação visual entre os dois espectros, a presença do pico base e o padrão de fragmentação, levou-se a caracterização do ácido 9, 12, 13-trihidroxi-10-

octadecenoico ilustrado na **Figura 17**. De acordo com Liang (2018) e seus colaboradores, a ***m/z* 171** (100%) é referente a perda de $[C_9H_{15}O_3]^-$; a ***m/z* 211** (68%) é referente a perda de $[C_{12}H_{19}O_3]^-$; a ***m/z* 229** (42%) é referente a perda de $[C_{12}H_{21}O_4]^-$; a ***m/z* 139** (2%) é referente a perda de $[C_9H_{15}O]^-$ e a ***m/z* 99** (1%) é referente a perda $[C_6H_{11}O]^-$. Portanto, a caracterização dessa substância reforça ainda mais a presença de derivados de ácidos graxos nas amostras BEC, observado nesse estudo e em outros já publicados.

Figura 17. Fórmula molecular do ácido graxo (ácido 9, 12, 13-trihidroxi-10-octadecenoico) e suas principais fragmentações por APCI/EM² modo negativo (FullScan)



Fonte: Adaptado de LIANG *et al.*, (2018).

6. CONCLUSÃO

- O extrato etanólico 20% apresentou rendimento de 1,9 %, enquanto o extrato etanólico 80%, apresentou rendimento de 1,8 %. Ambos, apresentaram maiores rendimentos para as frações polares em relação às apolares, indicando maior concentração de compostos com essas propriedades, nos extratos.
- A prospecção fitoquímica em tubos de ensaio, indicou a presença de triterpenos pentacíclicos, esteróides, saponinas, flavonóis e flavanonas. A análise por CCD, sugeriu as presenças de compostos fenólicos; flavonóides e terpenos. Os resultados obtidos pela técnica de CCD corroboram com os testes de prospecção fitoquímica em tubos. Além disso, apontaram, através do ensaio

de capacidade antioxidante, quais as classes químicas estão relacionadas com a atividade biológica apresentada.

- A técnica de EM, permitiu caracterizar a presença de oito substâncias lipídicas: ácido palmitolêico (253 *m/z*), palmítico (255 *m/z*), linolênico (277 *m/z*), linoleico (279 *m/z*), oleico (281 *m/z*), esteárico (283 *m/z*), araquídico (311 *m/z*) e ácido 9,12, 13-THODE (329 *m/z*); o fenólico ácido protocatecuico (153 *m/z*) e uma ariltetralina lignana (419 *m/z*) de nomenclatura NCGC00381126-01!6,7-bis(hidroximetil)-1-metoxi-8-(3,4,5-trimetoxifenil)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-2,3-diol. Esses resultados foram condizentes com a literatura, indicando os lipídios e seus derivados como compostos majoritários presente na espécie.
- Os resultados obtidos pelas técnicas utilizadas são promissores, pois, as análises apontam não apenas para a presença de substâncias lipídicas, mas também, para caracterização de compostos fenólicos que podem ser os responsáveis pela atividade antioxidante. Não foi possível observar a presença de outros ácidos fenólicos, terpenos e flavonoides nas análises de EM. Essas classes foram sugeridas através dos ensaios cromáticos por CCD e pelos testes em tubos. Este fato, pode estar relacionado a supressão das massas dessas substâncias na presença dos lipídeos majoritários.
- Esses resultados demonstram o potencial para a valorização das cascas de *B. excelsa* com possibilidades de aplicações tecnológicas, como fonte de compostos ativos com capacidade antioxidante. Além disso, o estudo presente contribui para o conhecimento fitoquímico da espécie. Este trabalho deverá ser continuado, para isolar e identificar as substâncias ativas responsáveis pela atividade antioxidante apresentada.

REFERÊNCIA

A AMAZÔNIA em números. **IMAZON: Instituto do Homem e Meio Ambiente da Amazônia** 2009. Disponível em: < <https://imazon.org.br/imprensa/a-amazonia-em-numeros/> >. Acesso em 16 fev. 2023.

ALVES, T. C. V.; SILVA, K. E.; AGUIAR, A. L. S. Análise da relação entre precipitação e produção de Castanha-da-Amazônia em uma comunidade agroextrativista no município de Tefé-AM. In: V SEMINÁRIO INTERNACIONAL EM CIÊNCIAS DO AMBIENTE E SUSTENTABILIDADE NA AMAZÔNIA (5º SICASE), 5, 2018, Manaus/AM. **Anais**. Manaus/AM: EDUA, 2018, p. 1-10.

ALVES, T. S. **Estudo Químico e Avaliação da Atividade Antioxidante de *Diploptropis racemosa* (Hoehne), Resíduo Madeireiro do Médio Amazonas**. 2020. 152 f. Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos da Universidade Federal do Amazonas, Itacoatiara/AM, Brasil.

AKSAY, O.; SELLI, S.; KELEBEK, H. LC-DAD-ESI-MS/MS-based assessment of the bioactive compounds in fresh and fermented caper (*Capparis spinosa*) buds and berries. **Food Chemistry**, Adana, Turquia, v. 337, n. 1, p. 127959, fev. 2021.

BARBEIRO, L. S. S. **Sistema de Amostragem Para Quantificar a Produção de Sementes de *Bertholletia Excelsa* H.B.K (Castanha do Brasil) na Região de Oriximiná – PA**. 2012. 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR, Brasil.

BARBOSA, E. B.; VIDOTTO, A.; POLACHINI, G. M.; HENRIQUE, T.; MARQUI, A. B. T.; TAJARA, E. H. Proteomics: Methodologies and applications to the study of human diseases. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São José do Rio Preto/SP, Brasil. 58, n. 3, p. 366–375, 2012.

BENTES, E. S. **Extrativismo da castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* hubl.) na reserva de desenvolvimento sustentável Piagaçu-Purus**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Sustentabilidade na Amazônia), Faculdade de ciências agrárias, Universidade Federal do Amazonas, Manaus/AM, Brasil.

BESSA, N. G. F.; BORGES, J. C. M.; BESERRA, F. P.; CARVALHO, R. H. A.; PEREIRA, M. A.B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S. L.; RIBEIRO, L. U.; QUIRINO, M. S.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. **Rev. Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas/SP, Brasil, v. 15, n. 4, p. 692-707, ago. 2013.

BIASEBETTI, M. B. C.; RODRIGUES, I. D.; MAZUR, C. E. Relação do consumo de vitaminas e minerais com o sistema imunitário: uma breve revisão. **visão acadêmica**, curitiba/PR, Brasil, v. 19, n. 1, p. 130-136, mar. 2018.

BORELLA, D. R. **Caracterização Morfo-física de Frutos e Curva de Embebição de Sementes da *Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.** 2016. 70 f. Monografia

(Graduanda em Engenharia Florestal), Curso de Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Mato Grosso, Mato Grosso/MT, Brasil.

BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. Metabólitos Secundários de Plantas. **Agrotecnologia**, Ipameri/GO, Brasil, v.11, n.1, p. 54-67, fev. 2020.

BURATTO, A.P.; CARPES, S. T.; VECCHIA, P. D.; LOSS, E. M. S.; APPELT, P. Determinação da Atividade Antioxidante e Antimicrobiana em Castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*). **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Campo Mourão/PR, Brasil, v. 2 n. 1, p 60-65, jun. 2011.

CABRAL, E. C. **Utilização da Técnica de *Fingerprinting* por Espectrometria de Massas para a Análise de Extratos de Produtos Naturais**. 2010. 121 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica), Instituto de Química da Universidade de São Paulo, Departamento de Química Fundamental, São Paulo/SP, Brasil.

CAMARGO, F. F.; DA COSTA, R. B.; RESENDE, M. D. V.; ROA, R. A. R.; RODRIGUES, N. B.; DOS SANTOS, L. V.; DE FREITAS, A. C. A. Variabilidade genética para caracteres morfométricos de matrizes de castanha-do-brasil da Amazônia Mato-grossense. **Acta Amazônica**. Mato Grosso/MT, Brasil, v. 40, n. 4, p. 705 – 710, dez. 2010.

CAMARGO, I. P.; DE CASTRO, E. M.; GAVILANES, M. L. Aspecto da anatomia e morfologia de amêndoas e plândulas de Castanha-do-Brasil. **CERNE**, Labras/MG, Brasil, v. 6, n. 2. p. 011-018, 2000.

CAMPOS, F. R.; JANUÁRIO, A. H.; ROSAS, L. V.; NASCIMENTO, S. K. R.; PEREIRA, P. S.; FRANÇA, S. C.; CORDEIRO, M. S. C.; TOLDO, M. P. A.; ALBUQUERQUE, S. Trypanocidal activity of extracts and fraction of *Bertholletia excelsa*. **Fitoterapia**, Manaus/AM, Brasil, v. 76, n. 1, p. 26-29, jan. 2005.

CARDOSO, B. R.; DUARTE, G. B. S.; REIS, B. Z.; COZZOLINO, S. M. F. Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. **Food Research International**, São Paulo/SP, Brazil, v. 100, n. 2, p. 9–18, ago. 2017.

CARDOSO, M. Z. C. **Manual de controle de matérias-primas vegetais para farmácia magistral**. 1º Ed. São Paulo: Pharmabooks, 2009.

CARNEIRO, A. S. **Uso de Plantas Medicinais Pela População do Município de Araçagi-Paraíba**. 2019. 29 f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) Curso de bacharelado em farmácia, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité/PB, Brasil.

CARVALHO, M. G.; VELANDIA, J. R.; OLIVEIRA, L. F.; BEZERRA, F. B. Triterpenos Isolados de *Eschweilera Longipes Miers* (Lecythidaceae). **Química Nova**, Itaguaí, RJ, Brasil, v. 21, n. 6, p. 740–743, jan. 1998.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. v. 5, Brasília/DF: Embrapa, 2014.

CHUNHIENG, T.; GOLI, T.; PIOMBO, G.; PIOCH, D.; BROCHIER, J.; MONTET, D. Recent analysis of the composition of Brazil nut *Bertholletia excelsa*. **Bois Et Forêts Des Tropiques**, v. 2, n. 280, p. 91-98, 2004.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Introdução a Métodos Cromatográficos. 7^o Ed. Campinas/SP, Brasil: Editora da UNICAMP, 1997.

CORREIA, V. T. V.; D'ANGELIS, D. F.; MACEDO, M. C. C.; RAMOS, A. L. C. C.; VIEIRA, A. L. S.; QUEIROZ, V. A. V.; AUGUSTI, R.; FERREIRA, A. A.; FANTE, C. A.; MELO, J. O. F. Perfil Químico da farinha extrusada de sorgo do genótipo BRS 305 por *paper spray*. **Research, Society and Development**, Minas Gerais/MG, Brasil, v. 10, n. 1, p. 1-11, jan. 2021.

CUNHA, A. L.; MOURA, K. S.; BARBOSA, J. C.; SANTOS, A. F. Os Metabólitos Secundários e Suas Importâncias Para o Organismo. **Diversitas Journal**. Santana do Ipanema/AL, Brasil, v. 1, n. 2, p. 175-181, ago. 2016.

DA COSTA, L. M.; DE MOURA, N. F.; MARANGONI, C.; MENDES, C. E.; TEXEIRA, A. O. Atividade Antioxidante de Pimentas do Gênero *Capsicum*. **Food Science and Technology**. Campinas/SP, Brasil, v. 30, n. 1, p. 1-9, mai. 2010.

DA COSTA, P. M. **Triterpenos, Saponinas e Flavonoídes de *Licania Arianaeae* (Chrysobalanaceae) e *Eschweilera Longipes* (Lecythydaceae)**. 2003. 142 f. Tese (Doutorado no Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica), Instituto de Ciências Exatas (ICE) na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica/RJ, Brasil.

DA COSTA, P. R. F.; MONTEIRO, A. R. G. Benefícios dos Antioxidantes na Alimentação. **Saúde de pesquisa**, Maringá/PR, Brasil, v. 2, n. 1, p. 87-90, abr. 2009.

DA SILVA, A. J. M.; KLUCZKOVSKI, M. A.; LIMA, S. E. Características botânicas, importância socioeconômica e usos em saúde da castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*): Uma revisão. **Conjecturas**. Manaus/AM, Brasil, v. 22, n. 2, p. 574-590, mar. 2022.

DA SILVA, M. A. F.; HANNA, S. A. C.; DE SOUZA, A. A.; DA SILVA FILHO, A. F.; CANHOTO, M. F. O.; MAGALHÕES, A.; BENEVIDES, J. C. P.; AZEVEDO, B. M. M.; SIANI, C. A.; POHLIT, M. A.; DE SOUZA, D. L. A.; KOOLEN, H. F. H. Integrative Analysis Based on HPLC-DAD-MS/MS and NMR of *Bertholletia excelsa* Bark Biomass Residues: Determination of Ellagic Acid Derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Manaus/AM, Brazil, v. 30, n. 4, p. 830-836, 2019.

DA SILVA, M. I.; DE OLIVEIRA, H. B.; VICENTE, M. V. P. Resgate Etnobotânico de Plantas Medicinais dos Discentes do IFSULDEMINAS, Campus Muzambinho-MG. **Brazilian Applied Science Review**, Curitiba/PR, Brasil, v. 2, n. 3, p. 1087-1091, set. 2019.

DA SILVA, P. C. B. P. **Avaliação das Características Físico-Químicas das Amêndoas da Castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*) e da Castanha Portuguesa (*Castanea Sativa Mill*)**. 2019. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Agronomia), Faculdade de Agronomia, Ciências Agrárias, Universidade Federal Rural da Belém, Belém/PA, Brasil.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia um breve ensaio. **Química Nova na Escola**, São Carlos/SP, Brasil, n. 7, p. 21–25, mai. 1998.

DOS SANTOS, R. R. **O Extrativismo de Castanha-do-Brasil *Bertholletia excelsa* (HUMBL & BONPL.) no Rio Madeira, Rondônia: Bases Para Uma Gestão Ambiental Participativa**. 2011. 151 f. Dissertação (mestranda em Ecologia e Recursos Naturais), Curso de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos/SP, Brasil.

DUMONT, E.; DE PAUW, L.; VANHAECKE, F.; CORNELIS R. Speciation of Se in *Bertholletia excelsa* (Brazil nut): A hard nut to crack? **Food Chemistry**, Bélgica, v. 95, n. 4, p. 684–692, abr. 2006.

ENGWA, G. A. Free Radicals and the Role of Plant Phytochemicals as Antioxidants Against Oxidative Stress-Related Diseases. *In*: ASAO, T.; ASADUZZAMAM, M. **Phytochemicals – Source of Antioxidants and Role In Disease Prevention**. 1º Ed. London: IntechOpen, 2018.

FERRO, A. F. P.; BONACELLI, M. B. M.; ASSAD, A. L. D. Technological opportunities and competitive strategies of environmental management: The sustainable use of the Brazilian biodiversity. **Gestão e Produção**, Campinas/SP, Brasil, v.13, n.3, p. 489-501, dez. 2006.

FLORES, S. L. G. **Estudo Fitoquímico do Resíduo Madeireiro de *Sextonia Rubra* (Lauraceae) e Investigação do Potencial Antioxidante**. 2022. 153 f. Dissertação (mestrado em química orgânica), Instituto de Ciências Exatas, Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Amazonas, Manaus/AM, Brasil.

FRANCO, J. L. A. O conceito de biodiversidade e a história da biologia da conservação: da preservação da wilderness à conservação da biodiversidade, **História (São Paulo)**, Brasília/DF, Brasil, v.32, n. 2, p. 21-48, dez. 2013.

GANESH, N. S.; GAURAV, G.; SHARMAB, P. A Comprehensive Review of Free Radicals, Antioxidants, and Their Relationship with Human Ailments. **Begell House**. Índia, v. 28, n. 2 p. 139-154, 2018.

GOMES, S.; TORRES, A. G. Optimized extraction of polyphenolic antioxidant compounds from Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) cake and evaluation of the polyphenol profile by HPLC. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Rio de Janeiro/RJ, Brazil, v. 96, n. 8, p. 2805-2814, set. 2015.

GUERRA, C. I. **Caracterização Fitoquímica e Atividades biológicas de *Crithmum Maritimum* L.** 2018. 87 f. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar); Ciências Em Tecnologia e Saúde; Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. Coimbra, Portugal.

GUIMARÃES, A. C. **Estudo químico e biológico de *Cladocolea micrantha* (Loranthaceae), uma planta medicinal da região Amazônica**. 2005. 305 f. Tese de Doutorado em Ciências; Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais; Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ, Brasil.

HAM, B. M. **Even Electron Mass Spectrometry with Biomolecule Applications**. 1^o Ed. New Jersey, USA: Wiley Online Library, April. 2008.

HARRIS, D. C.; LUCY, C. A. Espectrometria de Massas. In: **Análise Química Quantativa**. 8^o Ed., Rio de Janeiro: Editora LTC, 2012.

HAYASIDA, W. **Estudo Químico de Resíduos Madeireiros de *Bagassa guianensis* (Aubl.)**. 2015, 162 f. Tese (Doutorado de pós-graduação em química), do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM, Brasil.

IQBAL, E.; SALIM, A. K.; LIM, B. L. L. Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. **Journal of King Saud University – Science**. Brunei Darussalam, v. 27, n. 3, p. 224–232, jul. 2015.

ISMAIL, M. A.; MOHAMED, A. E.; MARWA, R. M.; ABDEL-MOTAAL, F. F.; ABDEL-FARID, B. I.; EI-SAYED, A. M. Preliminary phytochemical screening, plant growth inhibition and antimicrobial activity studies of *Faidherbia albida* legume extracts. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, Aswan, Egito, v.15, n. 2, p. 112-117, jun. 2016.

JANOVİK, V. **Avaliação Química e Atividade Antioxidante das Cascas e Triterpenóides Obtidos de *Cariniana Domestica* (Mart) Miers**. 2011. 101 f. Dissertação (Mestrado de pós-graduação em ciência Farmacêutica), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS, Brasil.

JAYASINGHE, S. B.; CARUSO, J. A. Investigation of Se-containing proteins in *Bertholletia excelsa* H.B.K. (Brazil nuts) by ICPMS, MALDI-MS and LC–ESI-MS methods. **International Journal of Mass Spectrometry**, United States, v. 307, n. 3, p. 16-27, out. 2011.

JOHN, J. A.; SHAHIDI, F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of Functional Foods**, Newfoundland, Canadá, v. 2, n. 3, p. 196–209, jul. 2010.

JONOVİK, V.; BOLIGON, A. A.; FROHLICH, J. K.; SCHWANZ, T. G.; POZZEBON, T. V.; ALVES, S. H.; ATHAYDE, M. L. Isolation and chromatographic analysis of bioactive triterpenoids from the bark extract of *Cariniana domestica* (Mart) Miers. **Natural Product Research**, London, v. 26, n. 1, p. 66-71, jan. 2012.

KARACAOĞLU, M.; İLERİ, H. K.; SALTANIŞCAN, G. Gündemde Bir Bitki: Brezilya Fındığına Bilimsel Yaklaşım. **FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences**, Ankara, Turquia, v. 45, n. 1, p. 65-75, nov. 2020.

KHAN, A. M.; SHIVASHANKARA, K. S.; ROY, T. K. Determining Composition of Volatiles in *Couroupita quianensis* Aubl. Through Headspace-solid Phase Micro-extraction (HS-SPME). **National Research Centre for Orchids**, Índia, v. 9, n. 2, p. 161-165, nov. 2014.

KLUCZKOVSKI, A. M.; MARTINS, M.; MUNDIM, S. M.; SIMÕES, R. H.; NASCIMENTO, K. S.; MARINHO, H. A.; KLUCZKOVSKI JUNIOR, A. Propertes of

Brazil nuts: A review. **African Journal of Biotechnology**, Manaus/AM, Brasil, v. 14, n. 8, p. 642-648, feb. 2015.

LEMIRE, M.; FILLION, M.; BARBOSA, F. Jr.; GUIMARÃES, J. R.; MERGLER, D. Elevated levels of selenium in the typical diet of Amazonian riverside populations. **Science of the Total Environment**, Canadá, v. 408, n. 19, p. 4076–4084, set. 2010.

LIANG, T.; YAN, G.; WU, J.; ZONG, X.; LIU, Z.; ZHOU, H.; LIU, L.; LI, N. Qualitative and quantitative analysis of lipo-alkaloids and fatty acids in *Aconitum carmichaelii* using LC–MS and GC–MS. **Phytochemical Analysis**. Taipa - Macau, China, v. 29, n. 4, p. 398-405, ago. 2018.

LIMA, F. O.; BEZERRA, A. S. Flavonoides e Radicais Livres. **Disciplinarum Scientia**, Santa Maria/RS, Brasil, v. 13; n. 1, p. 111-124, set. 2012.

LIMA, R. B.; SILVA, M. A. F.; KOOLEN, H. F. H.; ALMEIDA, A. R.; SOUZA, D. L. A. Solid phase extraction of phospholipids from brazil nut (*Bertholletia excelsa*) and their characterization by mass spectrometry analysis. **Mass Spectrometry Letters**, Manaus/AM, Brazil, v. 5, n. 4, p. 115-119, dez. 2014.

LOCATELLI, M.; VIEIRA, A. H.; SOUZA, V. F. **Aspecto do Cultivo de Castanha-do-Brasil**. Porto Velho/RO: EMBRAPA-SPI, 2010. 2 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4ª Ed., Nova Odessa/SP: Instituto Plantarum, 2002.

LUNA, M. S. M. **Bioprospecção de metabólitos Secundários de *Libidibia ferrea* var. *ferrea***. 2016. 94 f. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia), Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências. Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia, Recife/PE, Brasil.

MAKAROV, A.; SCIGELOVA, M. Coupling liquid chromatography to Orbitrap mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Bremen, Germany, v. 1217, n. 25, p. 3938–3945, jun. 2010.

MASSBANK of North America. **Spectrum CCMSLIB00000845914 for NCGC00381126-01!6,7-bis(hydroxymethyl)-1-methoxy-8-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaphthalene-2,3-diol**. 2022. Disponível em: <<https://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/CCMSLIB00000845914>>. Acesso em: 25 nov. 2022.

MATOS, A. Francisco de José. **Introdução a fitoquímica experimental**. 3º ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009.

MOZOMBITE, D. M. S. **Isolamento de substâncias ativas, atividade antimalárica in vitro e antioxidante da *Bertholletia excelsa* Bonpl. (castanha-do-Brasil)**. 2020. 159 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia), Universidade Federal do Amazonas, Programa Multi-institucional de Pós-graduação em Biotecnologia, Manaus/AM, Brasil.

MUSHTAQ, A.; AKBAR, S.; ZARGAR, A. M.; WALI, F. A.; MALIK, H. A.; DAR, Y. M.; HAMID, R.; GANAI, A. Bashir. Phytochemical Screening, Physicochemical Properties,

Acute Toxicity Testing and Screening of Hypoglycaemic Activity of Extracts of *Eremurus himalaicus* Baker in Normoglycaemic Wistar Strain Albino Rats. **BioMed Research International**, Índia, v. 2014, n. 2, p. 1-6, abr. 2014.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehniger**. 6° ed. Porto Alegre/RS: Artmed, 2014.

OGBUANU, C. C.; EHIRI, R. C.; OGAH, S. P. I. Phytochemical Screening and Preliminary TLC Characterization of Alkaloids in *Sabicea brevies* Root. **Research Journal of Phytochemistry**, Nigéria, v. 8, n. 1, p. 1-8, jan. 2014.

PACHECO, A. M.; SCUSSEL, V. M. **Castanha-do-Brasil: da floresta tropical ao consumidor**. Florianópolis/SC: Editograf, 2006.

PAREKH, P. P.; KHAN, A. R.; TORRES, M. A.; KITTO, M. E. Concentrations of selenium, barium, and radium in Brazil nuts. **Journal of Food Composition and Analysis**. New York/USA, v. 21, n. 4, p. 332-335, jun. 2008.

PEREIRA, E.; FERREIRA, M. C.; SAMPAIO, K. A.; GRIMALDI, R.; MEIRELLES, A. J. A.; MAXIMO, G. J. Physical properties of Amazonian fats and oils and their blends. **Food Chemistry**, Campinas/SP, Brazil, v. 278, n. 1, p. 208-2015, abr. 2019.

PERES, C. J. **Chemical Profiling of Drugs and Metabolites from Complex Biological Matrices by Atmospheric Pressure and Ambient Ionization Mass Spectrometry**. 2020. 169 f. Dissertation (Doctor of Philosophy), Graduate Program in Chemistry York University Toronto, Ontario.

PUSSA, T.; ANTON, D. Dynamics of Sun-dried Tomato Fruit Polyphenols and Oxylipins During Cooking of Enriched Grill Sausages. In: ⁶²ND INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 2016, Bangkok, Tailândia. **Anais**. Bangkok, Tailândia: ICOMST, 2016. p. 1-3.

RAMOS, A. L. C. C.; MENDES, D. D.; SILVA, M. R.; AUGUSTI, R.; MELO, J. O. F., ARAÚJO, R. L. B.; LACERDA, I. C. A. Chemical profile of *Eugenia brasiliensis* (Grumixama) pulp by PS/MS paper spray and SPME-GC / MS solid-phase microextraction. **Research, Society and Development**, Minas Gerais/MG, Brazil, v. 9, n. 7, p. 1-35, mai. 2020.

REMPEL, C.; MACIEL, M. J.; BERGMANN, P. C.; MORÁS, A. P. B.; GOETTENS, C. Efeito antimicrobiano de plantas medicinais: uma revisão de estudos científicos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, Lajeado/RS, Brasil, v.10, n.4, p. 57-82, jul. 2019.

REZENDE, F. M.; ROSADO, D.; MOREIRA, F. A.; CARVALHO, W. R. S. Vias de Sínteses de Metabólitos secundários em Plantas. In: org. MIGUEL, P. H. [et al.]. **IV Botânica no Inverno**. São Paulo: Instituto de Biociência da Universidade de São Paulo, Departamento de botânica; 2016. p. 93-104.

REZENDE, G. A. A.; TERRONES, M. G. H.; REZENDE, D. M. L. C. Estudo Do Potencial Alelopático Do Extrato Metanólico De Raiz E Caule De *Caryocar brasiliense*

Camb. (Pequi). **Bioscience Journal**. Uberlândia/MG, Brasil, v. 27, n. 3, p. 460-472, mai. 2011.

RYAN, E.; GALVIN, K.; O'CONNOR, T. P.; MAGUIRE, A. R.; O'BRIEN, N. M. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of Brazil, pecan, pine, pistachio and cashewnuts. **International Journal of Food Science & Nutrition**, Cork, Irlanda, v. 57, n. (3-4), p. 219–228, jun. 2006.

SÁ-FILHO, G. F.; da SILVA, A. I. B.; da COSTA, E. M.; NUNES, L. E.; RIBEIRO, L. H. F.; CAVALCANTI, J. R. L. P. GUZEN, F. P. OLIVEIRA, L. C.; CAVALCANTE, J. S. Plantas medicinais utilizadas na caatinga brasileira e o potencial terapêutico dos metabólitos secundários: uma revisão. **Research, Society and Development**, Rio Grande do Norte/RN, Brasil, v. 10, n. 13, p. 1-15, out. 2021.

SANTOS, C. I.; ANDRADE, G. L. O Papel dos Antioxidantes na Prevenção de Doenças. **Ibero-Americana de Humanidades., Ciências e Educação-REASE**. São Paulo/SP, Brasil, v. 8, n. 3, p. 906-917, mar. 2022

SANTOS, M. G. **Avaliação de estabilidade do extrato hidrossolúvel de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*)**. 2015. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Escola de agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia/GO, Brasil.

SANTOS, O. V.; CORRÊA, N. C. F.; CARVALHO Jr. R. N.; COSTA, C. E. F.; FRANÇA, L. F. F.; LANNES, S. C. S. Comparative parameters of the nutritional contribution and functional claims of Brazil nut kernels, oil and defatted cake. **Food Research International**, São Paulo, SP, Brazil, v. 51, n. 2, p. 841–847, jan. 2013.

SCHOTT, K. L.; ASSMANN, C. E.; TEIXEIRA, C. F.; BOLIGON, A. A.; WAECHTER, S. R.; DUARTE, F. A.; DA CRUZ, I. B. M. Brazil nut improves the oxidative metabolism of superoxide-hydrogen peroxide chemically-imbalance human fibroblasts in a nutrigenomic manner. **Food and Chemical Toxicology**, Santa Maria/RS, Brazil, v. 121, p. 519–526, set. 2018.

SILVA, A. C. O.; LIMA, R. A. Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. **Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria/RS, Brasil, v. 20, n. 1, p. 381–388, abr. 2016.

SILVA, D. N. P. B. **Avaliação do Mecanismo de Ação Anti-inflamatória do Extrato Metanólico e Fração Hexânica de *Cariniana rubra* Gardner ex Miers**. 2014. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Saúde), Programas de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá/MT, Brasil.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, Paredes, Portugal, v. 22, n. 1, p. 94-103, fev. 1999.

SILVA, L. A.; RAPOSO, J. D. A.; CAMPOS, L. P. G.; CONCEIÇÃO, E. C.; OLIVEIRA, R. B.; MOURÃO, R. H. V. Atividade Antioxidante do Óleo Essencial de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. Por diferentes Métodos de Análises Antioxidantes (ABTS, DPPH,

FRAP, β -caroteno/ácido linoleico). **FITOS**; Rio de Janeiro/RJ, Brasil, v. 12, n. 2, p. 117-126, jul. 2018.

SILVA, P. A. **Estudo Químico e Avaliação da Atividade Biológica de Extratos de *Minquartia guianensis* AUBL. (OLACACEAE)**. 2018, 75 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais), Universidade do Estado do Amazonas, Manaus/AM, Brasil.

SILVA, S. M. P. Estado e políticas públicas no mercado de castanha-do-brasil no Estado do Acre: uma análise pela abordagem do desenvolvimento local. **Interfaces em Desenvolvimento, Agricultura e Sociedade**, Rio Branco/AC, Brasil, v. 4, n. 1, p. 103-128, jul. 2010.

SILVEIRA, C. S. **Caracterização Físico-Química e Avaliação Biológica de Produtos da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)** 2015. 146 f. Tese (Doutorado em Agronomia), Faculdade de Agronomia, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS, Brasil.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do Produto Natural ao Medicamento**. 1º Ed., Porto Alegre: Artmed Editora Ltda; 2017.

SIMÕES, O. C. M.; GUERRA, M. P.; SCBENKEL, P. E.; GOSMANN, G.; DE MELLO, P. J.; MENTZ, A. L.; PETROVICK; R. P. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5º Ed. Porto Alegre - Florianópolis: Editora da UFSC, 2004.

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

STAROSTA, J. A.; ANJOS, M. C. R. "Cantos e saberes": processo de construção de um documentário sobre plantas medicinais. **Rev. Eletron Comun Inf Inov Saúde**; Curitiba/PR, Brasil, v. 14, n. 1, p. 199-211, mar. 2020.

SUMAN, R. K.; VENKATESHWAR, C.; SAMUEL, G. S.; GANGADHAR S. R. Phytochemical Screening of some compounds from plant leaf extracts of *Holoptelea integrifolia* (Planch.) and *Celestrus emarginata* (Grah.) used by Gondu tribes at Adilabad District, Andhrapradesh, India. **International Journal of Engineering Science Invention**, Índia, v. 2, n. 8, p. 65-70, ago. 2013.

TAVARES, C. C. **Caracterização Química do Extrato Hexânico das Folhas, Galhos e Frutos de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied. (Lecythidaceae)**. 2014. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Amazonas, Manaus/AM, Brasil.

THOMSON, D. C. Brazil Nuts (*Bertholletia excelsa*): Improved Selenium Status and Other Health Benefits. In: *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. Nova Zelândia, **AcademicPress**. p. 245–252, 2011.

TOLEDO, Karina. Ao menos 70% das espécies da Terra são desconhecidas. **Agência FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo**. 2013. Disponível em <<https://agencia.fapesp.br/ao-menos-70-das-especies-da-terra-sao-desconhecidas/16867/>>. Acesso em: 14 jan. 2023.

UKACHUKWU, R.; EFFIOM, E. O.; E. UCHECHUKWU, M. Characterization of alkaloid and flavonoid bioactive compounds in methanolic root extract of *Napoleona imperialis*. **International Journal of Science and Research (IJSR)**, Nigéria, v. 4, n. 1, p 2817-2819, jan. 2015.

VASCONCELOS, T. B.; CARDOSO, A. R. N. R.; JOSINO, J. B.; MACENA, R. H. M.; BASTOS, V. P. D. Radicias Livres e Antioxidante: Protenção ou Perigo? **UNOPAR Cient ciênc Biol Saúde**, Ceará/CE, Brasil, v. 16, n. 3, p. 213-219, jun. 2014.

VEIGA Jr., V. F.; PINTO, A. C., MACIEL, A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, Rio de Janeiro/RJ, Brasil, v. 28, n. 3, p. 519-528, fev. 2005.

VEIGA Jr., V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: Aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Rev. Brasileira de Farmacognosia**, Manaus/AM, Brasil, v. 18, n. 2, p. 308-313, jun. 2008.

WANG, J., JIA, Z.; ZHANG, Z., WANG, Y.; XI, L.; WANG, L.; LIN, R. Analysis of Chemical Constituents of *Melastoma dodecandrum* Lour. by UPLC-ESI-QExactive Focus-MS/MS. **Molecules**, Beijing, China, v. 22, n. 3, p. 1-20, mar. 2017.

YADAV, M.; CHATTERJI, S.; GUPTA, K. S.; WATAL, G. PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL SCREENING OF SIX MEDICINAL PLANTS USED IN TRADITIONAL MEDICINE. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**; Índia, v. 6, n. 5, p. 539-542, jan. 2014.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: a review. **LTW-Food Science and Technology**, United States, v. 42, n. 10, p. 1573-1580, dez. 2009.

YANG, J.; LIU, R. H.; HALIM, L. Antioxidant and antiproliferative activities of common edible nut seeds. **LWT - Food Science & Technology**. United States, v. 42, n. 1, p. 1–8. jul. 2009.

ZHOU, Y.; WU, Z.; LI, C.; WANG, N.; ZHANG, X.; CHEN, H.; XIAO, S. Coupling neutral desorption sampling to dielectric barrier discharge ionization mass spectrometry for direct oil analysis. **Anal. Methods**. v. 6, n. 5, p. 1538-1544, mar. 2014.