



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

PLÚCIA FRANCIANE ATAÍDE RODRIGUES

CITOTOXIDADE E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS ÓLEOS VEGETAIS
DE *Carapa guianensis* aubl (ANDIROBA) E *Copaifera reticulata* benth (COPAÍBA)

VITÓRIA - ES

2023

PLÚCIA FRANCIANE ATAÍDE RODRIGUES

**CITOTOXIDADE E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS ÓLEOS VEGETAIS
DE *Carapa Guianensis* Aubl (ANDIROBA) E *Copaifera reticulata* Benth (COPAÍBA)**

Dissertação de Mestrado/apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador(a): Prof.^a. Dr.^a Hildegardo Seibert França

VITÓRIA - ES

2023

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

- R696c Rodrigues, Plúcia Franciane Ataíde, 1996-
Citotoxicidade e capacidade antioxidante dos óleos vegetais de
carapa guianensis Aubl (andiroba) e copaifera reticulata Benth
(copaíba) / Plúcia Franciane Ataíde Rodrigues. - 2023.
92 f. : il.
- Orientador: Hildegardo Seibert Franca.
Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e
Naturais.
1. Toxicidade. 2. Antioxidante. 3. Compostos fenólicos. 4.
Composição química. 5. Óleo vegetal. I. Franca, Hildegardo Seibert.
II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências
Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57



Secretaria Integrada de Programas de Pós-Graduação UNIVERSIDADE
FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO CURSO DE MESTRADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL DO CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO - ATA Nº 167 – 15/03/2023

Em sessão pública ocorrida no dia quinze de março de dois mil e vinte e três, em sessão virtual, conforme Portaria Normativa nº 08 da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/UFES de 01 de julho de 2021, procedeu-se a avaliação da dissertação da discente **Plúcia Franciane Ataíde Rodrigues**. Às oito horas e trinta minutos, o Prof. Dr. Hildegardo Seibert França, IFES (Presidente da Comissão Examinadora de Defesa de Dissertação), deu início aos trabalhos, convidando a ingressarem à sala a Profa. Dra. Viviana Borges Corte, Examinadora Interna - UFES e o Prof. Dr. Josinei Rodrigues Filho, Examinador Externo - UniFaveni. A seguir, o presidente solicitou à mestranda que fizesse uma explanação de seu trabalho intitulado **“Citotoxicidade, capacidade antioxidante dos óleos vegetais de *Carapa guianensis* Aubl (Andiroba) e *Copaifera reticulata* Benth (Copaíba)”**. Terminada a apresentação, o presidente passou a palavra aos examinadores, que procederam à arguição da candidata. Ao final, a Comissão, em sessão reservada, deliberou pela **APROVAÇÃO** da referida dissertação nos termos do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal e alertou que a aprovada somente terá direito ao título de Mestre após entrega da versão final de sua dissertação, em meio digital, à Secretaria do Programa. Encerrada a sessão, eu, Prof. Dr. Hildegardo Seibert França, presidente da Comissão Examinadora, lavrei a presente ata que vai com as devidas assinaturas.

Prof. Dr. Hildegardo Seibert França (UFES – *campus* Vila Velha)

Orientador e Presidente da Comissão

Documento assinado digitalmente



HILDEGARDO SEIBERT FRANCA
Data: 16/03/2023 08:38:53-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. Viviana Borges Corte (UFES)

Examinadora Interna

Josinei Rodrigues Filho

Prof. Dr. Josinei Rodrigues Filho (UniFaveni)

Examinador Externo

Secretaria Integrada de Programas de Pós-Graduação - SIP

Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo; situada à Av. Fernando Ferrari, 514, Goiabeiras - 29075-910- Vitória/ES. Tel.: (27) 4009-2524 - sjp.ufes2@gmail.com - www.secretaria.cchn.ufes.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
VIVIANA BORGES CORTE - SIAPE 2699666
Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN
Em 15/03/2023 às 15:37

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/668840?tipoArquivo=O>

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação à YHWH, o guarda de Israel que me cerca por trás e por diante e sobre mim põe a mão. O Senhor é a minha força e o meu escudo; nele o meu coração confia, e dele recebo ajuda. Ele me cobre com as suas penas, e de debaixo das suas asas estou segura.

AGRADECIMENTOS

Ao PPGBV pela oportunidade de cursar o mestrado na UFES, pelos professores brilhantes e compreensivos, conteúdos maravilhosos, pelo suporte e disciplinas ministradas;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) que subsidiou a minha bolsa de pesquisa e projeto de pesquisa;

Ao meu orientador Hildegardo Seibert França, que desde o início se demonstrou compreensivo e ajudador, não mediu esforços para ensinar-me tudo que naquele momento estava ao seu alcance, que teve paciência nos meus dias maus. Ninguém chega pronto no mestrado, eu cheguei bem despreparada, mas ele literalmente segura na mão e ajuda a pipetar se for preciso. Sempre respeitoso e gentil, dificilmente demonstra irritação (o que causa um pouco de medo de ver tanta paciência). O senhor é uma excelente escolha de Deus.

Às professoras que colaboraram na execução do projeto, Carine Coneglian de Farias (IFES) e Silvia Tamie Matsumoto (UFES), por todos os conselhos, pela paciência e perseverança nos experimentos, deram o melhor de si para me ajudar a concluir os testes.

Às minhas duas colegas e guerreiras de pesquisa Sara Nascimento e Iasmini Galter, porque as células foram uma verdadeira batalha (risos), e aos demais amigos do Grupo de Estudos em Mutagênese e Toxicologia (GEMUT), Mylena, Kristian e Alice. Também agradeço em especial ao Enzo que dedicou dias das suas férias no ES para ajudar-nos na batalha das células.

À Ramila Wanzeler, por me ajudar a finalizar os artigos e ajudar nas revisões, uma verdadeira maratona de escrita e correção. Amo vocês, minhas amigas e família.

Aos parceiros de pesquisa Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo (IFES), Samanta, Gabriel, Isabela, Letícia e Emily pela.

À minha família (Rosiane, Ramila, Franciane e Wasley) por existirem, por serem presentes de Deus na minha vida. Mas agradeço em especial a minha mãe, uma mulher guerreira que lutou para vencer e têm dado o seu melhor para que todos os seus filhos voem alto e se mantenham nos caminhos do Senhor, uma mãe que não desiste, mas que quando está fraca renova suas forças em Deus e nos apresenta a ele em oração.

Ao meu amado pai de criação, que desde os meus 7 anos sonhou grande para mim, me ensinou a me virar na vida, ser uma boa estudante, profissional e boa quando fosse morar sozinha, porque sempre disse que um dia eu estudaria fora do nosso estado e viajaria para fora do país “você precisa estar preparada para vida” ele dizia. Colocou-me em boas escolas, tentava me ensinar inglês mesmo eu fugindo para o ballet. Faleceu no início do mestrado e não realizou o sonho de me ver doutora, mas o meu coração sabe que o senhor teve uma grande participação na minha jornada e sabe que sou grata a Deus por ter tido os ensinamentos de alguém tão amoroso e cuidadoso na nossa criação.

Aos meus amigos de Macapá e do Espírito Santo pelas orações, conselhos, companhia, conselhos e paciência. Em especial aos amigos e líderes da Ives church pelo amparo emocional que vocês me deram nesses dois anos, vocês realmente me acolheram como uma segunda família.

Não por último, mas como fundamental. Porque Ele realmente é a base, o fundamento de tudo e todas as coisas na minha vida, quem escreve minha história e coloca cada pessoa no meu caminho, quem escolheu o estado para eu fazer mestrado e viver toda essa história que tenho vivido. Por dar o chamado e a missão e dar o sustentar: Adonai, Emanuel.

RESUMO

Carapa guianensis Aubl e *Copaifera reticulata* Benth são consideradas uma das espécies mais valiosas por ribeirinhos amazônidas por atividades biológicas, como ação analgésica, antibacteriana, anti-inflamatória, antifúngica, antialérgica, sendo eficaz contra feridas, hematomas, reumatismo, infecções de ouvido e repelente de insetos. O presente estudo teve por objetivo avaliar a composição química, a capacidade antioxidante *in vitro*, e a citotoxicidade dos óleos vegetais de andiroba e copaíba. Os óleos vegetais de *C. guianensis* e *C. reticulata* foram adquiridos com cooperados no município de Mazagão-AP, lote 02/2020. As amostras do óleo foram preparadas por diluição sucessivas nas concentrações 75, 100, 150, 200, 250 e 300 mg/mL para a realização dos testes antioxidantes ABTS e DPPH. Para fenóis totais as concentrações foram 60, 100, 200, 300 e 400 mg/mL. A atividade citotóxica foi avaliada pelo ensaio colorimétrico por MTT usando células epiteliais CHO-K1. Quanto a exposição das sementes de *Allium cepa* o óleo foi diluído em 1% de tween 80 nas concentrações 1, 5, 10 e 15 mg/mL. A análise da citotoxicidade do óleo vegetal de andiroba não resultou perda significativa da função mitocondrial em comparação ao controle negativo, já que os tratamentos apresentaram alta porcentagem de células viáveis variando de 82 a 127% da viabilidade celular. No entanto, o óleo de copaíba foi citotóxico em todas as concentrações, com porcentagem de viabilidade celular de 31 a 37,67% e inibiu a germinação de sementes de *A. cepa* em quase todas as concentrações. O óleo de *C. guianensis* apresentou IC₅₀ de 254,2 ± 10 mg/mL e 274,9 ± 6,19 mg/mL para DPPH e ABTS, respectivamente e 80,0 ± 0,01 mg TE/ g⁻¹ na avaliação de fenóis totais pelo reagen Folin-Ciocalteu. Na prospecção fitoquímica pode-se observar somente a presença de ácidos graxos com mancha no mesmo Rf do padrão de ácido oleico. Os compostos identificados por GC/EM foram derivados de ácidos graxos, como o ácido oléico, ácido palmítico, ácido esteárico e o ácido linoléico com área relativa de 32.85; 26.06; 13.28; 11.79 %, respectivamente. Já *C. reticulata* na atividade antioxidante obteve IC₅₀ de 48,30 ± 4,80 e 139,25 ± 1,86 mg/mL para ABTS e DPPH respectivamente. A avaliação de fenóis totais foi por meio do reagen Folin-Ciocalteu e obteve-se 50,05 ± 0,01 (mg trolox/g⁻¹). Foram identificados importantes grupos metabólicos, como ácidos graxos, cumarinas, alcaloides e taninos. Com esse trabalho concluímos que o óleo vegetal de andiroba apresenta atividade antioxidante *in vitro*, baixa citotoxicidade em células epiteliais CHO-K1 e com a presença de ácido oléico e palmítico representando mais de 50% da composição química do óleo. Quanto ao óleo-resina de copaíba, apesar de ter apresentado citotoxicidade, possui boa atividade antioxidante e suas propriedades biológicas podem ser importantes para combate a células cancerígenas e para aplicação no setor agrícola. Sugere-se que as sementes sejam testadas novamente com tratamento descontinuo utilizando dois indicadores para melhor avaliação da fitotoxicidade e outros parâmetros.

Palavras-chave: Andiroba. copaíba. citotoxicidade. antioxidante. compostos fenólicos. óleo-resina.

ABSTRACT

Carapa guianensis Aubl and *Copaifera reticulata* Benth are considered one of the most valuable species by Amazonian riverside dwellers for biological activities, such as analgesic, antibacterial, anti-inflammatory, antifungal, antiallergic action, being effective against wounds, bruises, rheumatism, ear infections and insect repellent. The present study aimed to evaluate the chemical composition, the antioxidant capacity in vitro, the cytotoxicity of the vegetable oils of andiroba and copaiba. The vegetable oils of *C. guianensis* and *C. reticulata* were purchased from the Cooperative of Amazonian Products (CAMAUPI), in the municipality of Mazagão-AP, lot 02/2020. The oil samples were prepared by successive dilutions in concentrations of 75, 100, 150, 200, 250 and 300 mg/mL to perform the ABTS and DPPH antioxidant tests. For total phenols, the concentrations were 60, 100, 200, 300 and 400 mg/mL. The cytotoxic activity was by MTT colorimetric assay using CHO-K1 epithelial cells. As for the exposure of *Allium cepa* seeds, the oil was diluted in 1% tween 80 at concentrations of 1, 5, 10 and 15 mg/mL. The analysis of cytotoxicity of andiroba oil did not result in significant loss of mitochondrial function compared to the negative control, since the treatments showed high percentage of viable cells ranging from 82 to 127% of cell viability. However, copaiba oil was cytotoxic in all concentrations, with percentage of cell viability ranging from 31 to 37.67% and inhibited the germination of seeds of *A. cepa* in almost all concentrations. The *C. guianensis* oil presented IC₅₀ of 254.2 ± 10 mg/mL and 274.9 ± 6.19 mg/mL for DPPH and ABTS, respectively and 80.0 ± 0.01 mg TE/ g⁻¹ in the evaluation of total phenols by the Folin-Ciocalteu reaction. In the phytochemical prospection it could be observed only the presence of fatty acids with stain in the same R_f of the oleic acid standard. The compounds identified by GC/MS were derivatives of fatty acids, such as oleic acid, palmitic acid, stearic acid and linoleic acid with relative area of 32.85; 26.06; 13.28; 11.79 %, respectively. In the antioxidant activity, *C. reticulata* obtained IC₅₀ of 48.30 ± 4.80 and 139.25 ± 1.86 mg/mL for ABTS and DPPH respectively. The evaluation of total phenols was done by Folin-Ciocalteu reaction and it was obtained 50.05 ± 0.01 (mg trolox/g⁻¹). Through CCD were identified important metabolic groups, such as fatty acids, coumarins, alkaloids and tannins. With this work we conclude that the andiroba vegetable oil presents antioxidant activity in vitro, low cytotoxicity in epithelial CHO-K1 cells and with the presence of oleic and palmitic acid representing more than 50% of the chemical composition of the oil. As for the oil-resin of copaiba, despite having shown cytotoxicity, it has good antioxidant activity and its biological properties may be important to combat cancer cells and for application in the agricultural sector. It is suggested that the seeds are tested again with discontinuous treatment using two indicators for better evaluation of phytotoxicity and other parameters.

Key-words: Andiroba. copaiba. cytotoxicity. antioxidant. phenolic compounds. oil-resin.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1: Estrutura química do DPPH e sua reação frente um antioxidante 28

Figura 2: Estabilização do radical ABTS·+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio..... 28

CAPÍTULO 1 - MÉTODO DE FOLIN CIOCALTEAU ADAPTADO PARA QUANTIFICAR FENÓIS TOTAIS EM ÓLEOS E ÓLEOS-RESINAS

Figura 1: Representação da reação de um composto fenólico 43

Figura 2: Amostra do óleo resina de copaíba na metodologia de fenóis totais 48

Figura 3: Curva padrão de ácido tânico para fenóis totais: forma de preparo convencional (PC) e preparo adaptado (PA) 50

CAPÍTULO 2 - CITOTOXIDADE E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO RESINA DE *Carapa Guianensis* AUBL (ANDIROBA)

Figura 1: Citotoxicidade (mg/mL) (média +/- desvio padrão da média) do óleo de andiroba *in natura* em células epiteliais derivadas do ovário do hamster chinês CHO-K1. CP: Controle positivo, CN: Controle negativo..... 67

CAPÍTULO 3 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADES BIOLÓGICAS, APLICAÇÃO E POTENCIALIDADES DO ÓLEO-RESINA *IN NATURA* DE *Copaifera Reticulata* BENTH

Figura 1: Citotoxicidade (mg/mL) (média +/- desvio padrão da média) do óleo-resina de copaíba (*in natura*), em células epiteliais derivadas do ovário do hamster chinês CHO-K1..... 89

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 - MÉTODO DE FOLIN CIOCALTEAU ADAPTADO PARA QUANTIFICAR FENÓIS TOTAIS EM ÓLEOS E ÓLEOS-RESINAS

Tabela 1: Substâncias identificadas no óleo de andiroba por cromatografia de fase gasosa acoplado ao espectrometro de massa (CG/EM) 71

CAPÍTULO 3 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADES BIOLÓGICAS, APLICAÇÃO E POTENCIALIDADES DO ÓLEO-RESINA *IN NATURA* DE *Copaifera Reticulata* BENTH

Tabela 1: Ensaio de germinação e crescimento de raiz para avaliação da fitotoxicidade do óleo-resina de copaíba (*in natura*) 90

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	14
2. OBJETIVO GERAL.....	15
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
4. REFERÊNCIAS	16
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1 USO TRADICIONAL DE PRODUTOS NATURAIS DE ORIGEM VEGETAL	
17	
3.2.1 Andiroba.....	18
3.2.1.1 Óleo de andiroba	20
3.2.2 copaíba.....	21
3.2.2.1 Óleo de copaíba	22
3.3 COMPOSTOS BIOATIVOS	24
3.3.1 Compostos Fenólicos	25
3.3.1.1 Determinação dos compostos fenólicos	26
3.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	26
3.4.1 Determinação da atividade antioxidante	27
3.5 MUTAGENICIDADE	Erro! Indicador não definido. 29
REFERÊNCIAS.....	29
CAPÍTULO 1 – MÉTODO DE FOLIN CIOCALTEAU ADAPTADO PARA	
QUANTIFICAR FENÓIS TOTAIS EM ÓLEOS E ÓLEOS-RESINAS	38
RESUMO.....	39
ABSTRACT.....	40
1. INTRODUÇÃO.....	41
2. MATERIAIS E MÉTODOS	43
2.1 Preparo das soluções padrões e das amostras	43
2.2 Modificações realizadas	43
2.2.1 Alteração na forma de preparo da metodologia básica	43
2.2.2 Preparo do teste - Protocolo tanto para o método convencional e adaptado	45
Análise estatística.....	45
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
Determinação do conteúdo total de fenólicos	48

4. CONCLUSÃO	50
5. REFERÊNCIAS	50
CAPÍTULO 2 - CITOTOXIDADE E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO RESINA DE <i>Carapa guianensis</i> aubl (ANDIROBA)	53
RESUMO	54
ABSTRACT	55
1. INTRODUÇÃO	56
2. MATERIAIS E MÉTODOS	57
Obtenção do óleo-resina (<i>in natura</i>) e preparação da amostra.	57
Testes biológicos	57
Teste com ABTS+: 2,2-azinobis-(3-etil-benzotiazolin-6-ácido sulfônico).....	57
Teste com DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	58
Culturas de células eucarióticas	59
Teste de viabilidade celular <i>in vitro</i> (trypan blue)	59
Ensaio de citotoxicidade - MTT	59
Ensaio químicos	60
Determinação de Fenóis totais	60
Cromatografia em camada delgada (CCD)	61
Cromatografia de fase gasosa.....	61
Análise estatística.....	62
RESULTADO E DISCUSSÃO	62
4. CONCLUSÃO	68
5. REFERÊNCIAS	68
CAPÍTULO 3 - CITOTÓXIDADE DO ÓLEO-RESINA <i>IN NATURA</i> DE <i>Copaifera reticulata</i> benth.	74
RESUMO	75
ABSTRACT	76
1. INTRODUÇÃO	77
2 MATERIAIS E MÉTODOS	78
Obtenção do óleo resina-resina de <i>Copaifera reticulata</i> Benth.	78
Teste com ABTS+.....	78
Teste com DPPH	79
Culturas de células eucarióticas	79
Teste de viabilidade celular <i>in vitro</i> (trypan blue)	79

Ensaio de citotoxicidade – MTT	79
Exposição das amostras de <i>Allium cepa</i> aos óleos resinas de copaíba	80
<i>Ensaio de germinação e de crescimento de raízes</i>	80
Quantificação de compostos Fenólicos totais	81
Cromatografia em camada delgada (CCD).....	81
3. RESULTADO E DISCUSSÃO	83
Capacidade antioxidante <i>in vitro</i>	83
Avaliação citotóxica do óleo-resina de <i>C. guianensis</i> Aubl frente a célula CHO -K1	
83	
Exposição das amostras de <i>Allium cepa</i> aos óleos-resinas de copaíba	84
<i>Ensaio de germinação e de crescimento de raízes</i>	84
4. CONCLUSÃO.....	86
5. REFERÊNCIAS.....	87

INTRODUÇÃO GERAL

Os vegetais produzem uma diversidade de substâncias ativas, seja para proteger seus frutos e folhas de pragas, suportar exposições diretas do sol, resistir a bactérias e fungos e outras variadas funções (SILVA, 2016). No entanto, os óleos vegetais têm recebido grande atenção por parte dos consumidores e da comunidade científica, em decorrência da sua composição química e atividades biológicas que são aproveitadas benéficamente para saúde humana e cuidados com o corpo. Essas práticas são fortemente observadas na região amazônica, por exemplo, onde a utilização de óleos como o extraído de *Carapa guianensis* Aubl (andiroba) e *Copaifera reticulata* Benth (copaíba), é uma prática tradicional das comunidades, principalmente na medicina popular, além de ter importante participação na economia regional (LOURENÇO et al., 2017).

Estes óleos são amplamente utilizados na medicina popular por possuir ampla atividade biológica, bem como ação de analgésico, antibacteriano, anti-inflamatório, antifúngico, antialérgico, antimalárico, sendo eficaz contra feridas, hematomas, úlceras de herpes, reumatismo, infecções de ouvido e repelente de insetos (SOUSA et al., 2018; SOUSA et al., 2019; SOUZA et al., 2019; OLIVEIRA, 2020).

O óleo de andiroba apresenta compostos como flavonoides, frequentemente referenciados por sua ação antioxidante, assim como os esteróis e polifenóis reconhecidos pela cicatrização de machucados por causa da sua eliminação de radicais livres e atuação antioxidante, agentes envolvidos na diminuição da oxidação lipídica, recuperando a vascularização e contendo a necrose celular (BUDOVSKY et al., 2015; ASSIS; LYRA, 2021). Silva (2018), avaliou no óleo fixo extraído da semente de andiroba, as propriedades físico-químicas e o perfil dos ácidos graxos, onde constatou por análise cromatográfica a presença do ácido oleico como sendo o ácido graxo insaturado majoritária (42,71%) e o ácido palmítico (31,02%) como o principal ácido graxo saturado, além de outros ácidos graxos como ácido esteárico, ácido linoleico (12,93%), ácido araquidônico e ácido behênico.

O óleo de copaíba é constituído de dois grupos de substâncias que mesmo distintas são solúveis entre si, uma parte são substâncias voláteis, correspondendo a cerca de 90% de massa do óleo e a outra constituído de substâncias não voláteis, resinosa de cor caramelo que corresponde a 10% da massa total do óleo resina (AZEVEDO et al., 2020). Compostos bioativos, presentes em plantas podem interagir com um ou mais componentes do tecido vivo, resultando em uma ampla gama de efeitos que demonstraram impactar positivamente a saúde e o bem-estar humano. Muitos dos constituintes químicos de copaíba já possuem comprovado efeito medicinal, dentre eles podemos mencionar o β -cariofileno, um

sesquiterpeno que também se encontra presente em vários óleos essenciais (MIGUEL et al., 2017).

Dentre as inúmeras propriedades farmacológicas já descritas para estes óleos em virtude da sua composição química, a sua atividade antioxidante tem demonstrado um importante missão na proteção celular, por sua capacidade de sequestrar ou inibir as diversas espécies de oxigênio reativo, transferir elétrons para radicais livres, ativar enzimas antioxidantes e inibir enzimas oxidases (DUMITRIU et al., 2015; SOUZA; VIEIRA; PUTTI, 2018), protegendo assim biomoléculas como lipídios, proteínas e DNA dos danos causados, pelo estresse oxidativo, o que pode estar associado a menor incidência doenças cardiovasculares, diabetes e outras doenças crônicas não transmissíveis (SANCHO; PAVÃO; PASTOR, 2015).

No entanto, muitos compostos podem possuir tanto propriedades terapêuticas quanto tóxicas, deste modo é importante que sejam realizados testes para avaliar o potencial citotóxico de substâncias mesmo que de origem natural, visando assim a obtenção de terapias e produtos mais seguros. Esses testes toxicológicos são frequentemente realizados frente a sistemas testes animal ou vegetal (GOLÇALVES, 2021).

1. OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve por objetivo avaliar a composição química, a capacidade antioxidante *in vitro*, a citotoxicidade do óleo vegetal de andiroba e copaíba.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar capacidade antioxidante
- ✓ Validar metodologias para avaliação o teor de compostos fenólicos nos óleos óleo-resina puro (*in natura*)
- ✓ Realizar a prospecção fitoquímica dos óleos resina
- ✓ Verificar a citotoxicidade do óleo- resina de *Carapa guianensis* Aubl e o óleo *Copaifera reticulata* Benth *in natura* frente a células CHO-K1 e sementes de *Allium cepa*

3. REFERÊNCIAS

ASSIS; LYRA, 2021. A importância de estudos sobre fitoterápicos da amazônia: Seis exemplos de medicamentos extraídos da região 2021. Disponível em: <https://repositorio.faema.edu.br/handle/123456789/2935>. Acesso em: 22 fev. 2023.

BUDOVSKY, A.; YARMOLINSKY, L.; BEN-SHABAT, S. Effect of medicinal plants on wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, v. 23, n. 2, p. 171–183, 2015.

DUMITRIU, D.; PEINADO, R. A.; PEINADO, J.; LERMA, N. Grape pomace extract improves the in vitro and in vivo antioxidant properties of wines from sun light dried Pedro Ximénez grapes. *Journal of Functional Foods*, v. 17, p. 380-387, 2015.

LOURENÇO, J. N. P.; FERREIRA, L. M. M.; MARTINS, G. C.; NASCIMENTO, D. G. Produção, biometria de frutos e sementes e extração do óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.) sob manejo comunitário em Parintins, AM. Manaus: EMBRAPA Amazônia Ocidental, 2017.

MIGUEL, M. A. C. Estudo dos óleos naturais frente à *Paracoccidioides* spp.: atividade biológica de óleos de copaíba in natura e imobilizado em micelas. p. 78, 2017. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

OLIVEIRA, A. G. Ação dos óleos essenciais de *copaíba emelaleucaem* microrganismos envolvidos na mastite subclínica de vacas sob sistema orgânico de produção. 2020. Dissertação (Mestrado) - universidade brasil campus descalsado, 58 f., 2020.

SANCHO, R. A. S.; PAVAN, V.; PASTORE, G. M. Effect of in vitro digestion on bioactive compounds and antioxidant activity of common bean seed coats. *Food Research International*, v. 76, p. 74-78, 2015.

SILVA, G. F. Pesquisa e desenvolvimento de cosméticos a partir de ativos vegetais da Amazônia. 2016. 169f. Tese (Doutorado em Química) Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2016.

SOUSA, R. L.; ALMEIDA, B. B.; ROSANA PIMENTEL DA SILVA, R. P.; ALBUQUERQUE, L. C. S.; CORDEIRO, Y. E. M. ÓLEO DE ANDIROBA: EXTRAÇÃO, COMERCIALIZAÇÃO E USOS TRADICIONAIS NA COMUNIDADE MAMANGAL, IGARAPÉ-MIRI, PARÁ. *Biodiversidade* - v.18, n.1, p. 68, 2019.

SOUSA, S. F.; PAES, J. B.; ARANTES, M. D. C.; LOPEZ, Y. M.; BROCCO, V. F. Análise física e avaliação do efeito antifúngico dos óleos de andiroba, copaíba e pinhão-manso. *Floresta*, Curitiba, PR, v. 48, n. 2, p. 153-162, 2018. DOI: 10.5380/ufv.v48i2.52280

SOUZA, A. V.; VIEIRA, M. R. S.; PUTTI, F. F. Correlações entre compostos fenólicos e atividade antioxidante em casca e polpa de variedades de uva de mesa. *Braz. J. Food Technol.* 21 • 2018.

SOUZA, R. L.; MESQUITA, F. R.; ALVES, W. F. Avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais de andiroba e copaíba e suas diferentes combinações no controle do fungo *Sclerotium rolfii*. *Scientia Naturalis*, v. 1, n. 1, p. 17-25, 2019.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 USO TRADICIONAL DE PRODUTOS NATURAIS DE ORIGEM VEGETAL

Durante um espaço de tempo a industrialização, urbanização e avanço tecnológico elevou a elaboração e produção de fármacos sintéticos, o que fez com que parte da população fosse atraída por esse mercado, deixando em segundo plano as práticas tradicionais sobre produtos naturais, criando até mesmo um certo descrédito em relação as práticas da medicina popular (PANIS et al., 2010.; LEITE, 2019). No entanto, nas últimas décadas, o uso de plantas medicinais e fitoterápicos têm adquirido cada vez mais visibilidade. Isso pode estar associado aos questionamentos sobre os perigos do uso abusivo e irracional de produtos farmacêuticos (LEITE, 2019), fortalecido ainda pela demanda por produtos mais naturais, sustentáveis e ecologicamente corretos (MOTA et al, 2018; DOMINGUES et al., 2021). Essa demanda é principalmente evidenciada nos países em desenvolvimento.

Além disso, em determinadas situações, o emprego de plantas medicinais é a única opção de tratamento para inúmeros males (ALVES et al., 2015), tendo em vista que esse conjunto de informações geralmente contribui para a melhoria da qualidade de vida das populações tradicionais e dos moradores de áreas mais distantes dos centros urbanos. Isso também entra em conformidade com Albuquerque e Lucena (2004), que acreditam que os povos que fixam residência em áreas afastadas dos centros urbanos conhecem e fazem uso da vegetação local para seu sustento e sobrevivência.

No entanto, as indicações de uma espécie para determinada finalidade, depende da cultura e dos costumes de cada comunidade, seguindo etapas específicas de preparo e os alertas quanto as implicações que poderão sucedê-las caso não sejam seguidas corretamente (SANTOS et al., 2019; SILVA et al. 2021), estes saberes são construídos com base nas relações estabelecidas com a natureza no ambiente no qual os indivíduos estão inseridos, fazendo parte do patrimônio cultural dessas comunidades.

Pressupõe-se que cada povo possua um sistema único de perceber e organizar as coisas, os eventos e os comportamentos, desta forma, as indicações de usos de espécies vegetais envolvem as famílias e as comunidades, formando uma cadeia de trocas de saberes que são passados entre eles ao longo de gerações (SILVA et al., 2021; SANTOS et al., 2018). Estudos científicos podem ser valiosos para registrar esse conhecimento, desde que respeitando a legislação para o seu desenvolvimento.

A partir dessas investigações podem ser levantadas informações sobre a composição das espécies utilizadas e suas interações com os atributos socioeconômicos e culturais da população usuária (CAMPOS et al., 2015), com potencial para nortear a seleção de plantas

para futuros estudos farmacológicos. É notório o interesse científico sobre os recursos da biodiversidade, entre os quais destacam-se os produtos da sociobiodiversidade (SANTOS, 2018), que são definidos em BRASIL (2009) da seguinte forma:

Bens e serviços (produtos finais, matérias primas ou benefícios) gerados a partir de recursos da biodiversidade, voltados à formação de cadeias produtivas de interesse dos povos e comunidades tradicionais e de agricultores familiares que promovam a manutenção e a valorização de suas práticas e saberes

Sabe-se que a maior biodiversidade do planeta é encontrada em território brasileiro, isso associada a uma rica diversidade étnica e cultural que detém um valioso conhecimento tradicional sobre o uso de plantas medicinais, podem oferecer importantes resultados em pesquisas e em diversos setores da sociedade (BRASIL, 2006).

Seguindo o entendimento da importância e da contribuição social desses saberes, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, foi aprovada por meio do Decreto Nº 5.813, de 22 de junho de 2006 (BRASIL, 2006), para a implantação e implementação no Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2006; FIGUEREDO et al., 2014) sendo constituída como parte essencial das políticas públicas de saúde, meio ambiente e desenvolvimento econômico, de modo que viabilize o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos em nosso país.

E como forma de tornar esse conhecimento mais acessíveis à população, uma lista com 71 plantas de interesse do SUS está sendo divulgada pelo Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos do Ministério da Saúde, denominada “Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS” (Rennisus). Dentre algumas espécies constam a *Copaifera* e *Carapa guianensis*, indicadas popularmente e com suas propriedades confirmadas cientificamente para o tratamento de diversas doenças (MINISTERIO DA SAÚDE, 2022). As espécies listadas têm sido alvo de estudos e novas tecnologias que possam subsidiar o tratamento de determinada doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

3.2 ASPECTOS GERAIS DE COPAÍBA E ANDIROBA COM ÊNFASE EM SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA

3.2.1 Andiroba

A palavra andiroba (*ãndi'roba*) é de origem *tupi*, e significa óleo amargo (NASCIMENTO et al., 2019) o nome popular que representa duas espécies, *Carapa*

guianensis e *Carapa procera*, pertencentes a família meliaceae ocorrentes na Amazônia. No Brasil, *C. guianensis* apresenta registro de ocorrência na região norte (Acre, Amazonas, Amapá e Pará) e no nordeste do Brasil (maranhão) (FLORES, 2020). O primeiro registro para *C. guianensis* aconteceu na Guiana Francesa, no ano de 1775 (*THE PLANT LIST*, 2022). A espécie é mais recorrente em regiões com o clima tropical úmido, com precipitação entre 1.800 mm e 3.500 mm anuais (SOUZA et al., 2006), sendo amplamente encontrada em área de várzea e alagadiças, mais dificilmente em terra firme (LIMA, 2018).

C. guianensis Aubl., é considerada uma árvore de grande porte, segundo Kenfack (2011) a árvore possui em média 35m, podendo atingir até 55m de altura. Sua casca tem característica amarga e é espessa, desprendendo-se em grandes placas. As folhas são compostas, paripinadas a raramente imparipinadas, com 8 a 15 folíolos opostos a subopostos, oblongos a elípticos, coriáceo, ápice acuminado e mucronado, base obtusa a arredondada apresentando assimetria, suas margens são inteiras (RIBEIRO, 2014). A lâmina é glabra, discolor com a face abaxial verde-claro e adaxial verde-escuro.

As flores são subsésseis, coloração branca a creme, subglobosas, levemente perfumadas; a floração acontece duas vezes ao ano, em agosto-setembro e janeiro-fevereiro; o amadurecimento dos frutos ocorre nos meses de janeiro a junho, podendo se estender até julho, o fruto é do tipo cápsula globosa, que libera suas sementes após sofrer com impacto da queda ao se desprender da árvore (MAGALHÃES, 2019), sua coloração é inicialmente marrom esverdeado, tornando-se marrom ferrugíneo, deiscente, com a maturação. Quanto a semente, a testa é crustaceae, marrom, opaca, assimétrica, glabra e de consistência dura. Tégmen marrom-claro, opaco, bastante delgado. Endosperma com reserva, cotilédone fusionado, branco e carnosos e o embrião está localizado na micrópila (RIBEIRO, 2014).

O óleo extraído de suas sementes, com característica extremamente amargo, solidifica-se em temperaturas inferiores a 25°C, adquirindo uma consistência parecida com a vaselina (SOUZA et al., 2006). Frequentemente utiliza-se latas de 18 litros, sacos de ráfia ou ainda paneiro (cesto produzido de palha) como instrumentos de medidas e de coleta de sementes de andiroba por diversos, uma lata de 18 litros cheia de sementes da *C. guianensis* cabem, em média, 450 a 500 sementes, aproximadamente 11 kg (MENDONÇA, 2015).

C. guianensis Aublet (Meliaceae) é considerada uma das espécies mais valiosas pelos ribeirinhos amazônidas, sua madeira é usada na construção de casas, móveis e embarcações, enquanto suas sementes servem para extração de óleo (MENDONÇA; FERRAZ, 2007; SOUSA et al., 2019). A espécie possui diversas utilidades nas indústrias fitoterápica e cosmética, sendo muito visada para produção de sabonetes, cremes, emulsões

e produtos de proteção e regeneração da pele contra danos e queimaduras, em virtude de suas propriedades emolientes e regeneradoras. (PIRES et al, 2017; SOUZA et al., 2021).

Até mesmo o subproduto da extração do óleo da andiroba conhecido como torta que geralmente é descartado por ser considerado um rejeito agroindustrial, gerado em grandes quantidades devido à demanda do óleo de andiroba por parte das indústrias, teve seu potencial inseticida avaliado por Martin et al. (2018) e a partir do seu concentrado de limonoides obtido de extratos da torta residual constatou-se o potencial larvicida frente *Bemisia tabaci* Biótipo B, interrompendo o ciclo larva-adulto.

3.2.1.1 Óleo de andiroba

O óleo de *C. guianensis* tem despertado a atenção de diversos ramos da indústria por suas numerosas indicações biológicas. Na indústria madeireira, vários produtos vêm sendo testados visando a obtenção de substâncias eficazes que impeçam o desenvolvimento de fungos xilófagos, que levam ao apodrecimento da madeira, por isso Sousa et al. (2018), em seus estudos, realizaram o ensaio de toxidez em meio de cultura com fungos de podridão parda e branca, onde o tratamento com óleo de andiroba enriquecida com iodo apresentou ação inibitória sobre *Trametes versicolor* e *Postia placenta*.

Farias et al. (2007) observou em seus estudos a existência de atividade acaricida *in vitro* do óleo da *Carapa guianensis* sobre fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*, o que sugere seu potencial para o controle do referido parasito. Além disso, Oliveira (2008), constatou que as nanoemulsões compostas somente óleos de andiroba e óleo de andiroba adicionado de óleo de copaíba são capazes de repelir mosquitos de *Aedes aegypti*. Carvalho et al, (2019), também destaca o potencial inseticida da espécie.

Além disso, o óleo de andiroba é amplamente utilizado na medicina popular por moradores de comunidades tradicionais (LEANDRO; JARDIM; GAVILANES, 2017; OLIVEIRA; BRAGA, 2017; SOUSA et al., 2019), por possuir ampla atividade biológica, bem como ação de analgésico, antibacteriano, anti-inflamatório, antifúngico, antialérgico, antimalárico, sendo eficaz contra feridas, hematomas, úlceras de herpes, reumatismo, infecções de ouvido e repelente de insetos (SOUSA et al., 2018).

Na fitoterapia tradicional da Amazônia, o óleo bruto de andiroba é recomendado para o tratamento de doenças de pele (NAYAK et al., 2011). Há narrativas que afirmam que moradores da Amazônia fazem uso do óleo de andiroba, resquícios da casca de cacau e cinzas de outras madeiras para produção de sabão medicinal, indicado para tratar patologias da pele (ASSIS; LYRA, 2021). Os consumidores têm apresentado grande interesse pela

utilização de produtos oriundos do óleo de andiroba, isso deve-se muito pela redução do risco de enfermidades e por este possuir alta concentração de compostos químicos que atuam como promotores da saúde (SILVA, 2018).

O Óleo de andiroba apresenta compostos como flavonoides, triterpenos, esteroides, cumarinas e diglicerídeos. Os flavonoides são frequentemente referenciados por sua ação antioxidante, já os esteróis e polifenóis são mais reconhecidos pela cicatrização de machucados por causa da sua eliminação de radicais livres e atuação antioxidante, agentes envolvidos na diminuição da oxidação lipídica, recuperando a vascularização e contendo a necrose celular (BUDOVSKY et al., 2015; ASSIS; LYRA, 2021).

Silva (2018), avaliou no óleo fixo extraído da semente de andiroba, as propriedades físico-químicas e o perfil dos ácidos graxos, onde constatou por análise cromatográfica a presença do ácido oleico como sendo o ácido graxo insaturado majoritária (42,71%) e o ácido palmítico (31,02%) como o principal ácido graxo saturado, além de outros ácidos graxos como ácido esteárico, ácido linoleico (12,93%), ácido araquidônico e ácido behênico. A grande atividade biológica do óleo da andiroba mais frequentemente está relacionada à presença dos limonoides, fitoquímicos comumente associada a espécies da família Meliaceae.

3.2.2 Copaíba

Copaifera L. foi descrito por Linnaeus em 1762, pertencente à família Fabaceae Lindl. (TROPICOS, 2023) e segundo Costa (2022) é representado por aproximadamente 26 espécies e oito variedades de copaíferas, são popularmente conhecidas como “copaíba”, “copaíba angelim”, “copaíba branca”, “copaúba” e “pau-de-óleo”. Ocorrem frequentemente em floresta de terra firme, floresta de várzea, campo rupestre, cerrado (lato sensu), floresta ciliar ou galeria, floresta de Igapó, floresta estacional decidual, floresta estacional perenifólia, floresta ombrófila (Floresta Pluvial), restinga e savana amazônica. (COSTA, 2022). Geralmente são árvores de grande porte, encontrada em todos os trópicos e com maior incidência no Brasil (BARATA, 2006).

As espécies desse gênero podem ser arbustos ou árvores que chegam a atingir até cerca de 40 m de altura (MARTINS-DA-SILVA et al., 2008), apresentam estípulas precocemente caducas, mas, em geral, opostas; lineares, lanceoladas, ovais ou falciformes; membranáceas a cartáceas. Folhas 2 - 12 pares de folíolos; os folíolos são coriáceos, rígidos, ligeiramente inequiláteros, ovadooblongos, 3-6cm de comprimento, 2,5cm de largura, obtusos e retusos (frequentemente sulcados ao longo da nervura principal) no ápice, obtusos

ou ligeiramente cordados na base, a nervura principal delgada e prominente na face superior, pubescente em ambas as faces, raramente subglabras (BARATA, 2006). Panículas axilares e/ou terminais; pedúnculo ou raque da inflorescência (3,5-) 5 – 20 (-35) cm compr., glabras a densamente hirsutas; unidades secundárias ca. 1-5 cm compr., com flores dispostas alternas e disticamente (COSTA, 2022).

Flores, sésseis ou subsésseis, raramente pediceladas; sépalas 4, em geral uma, duas ou três mais larga que as demais; ovais, elípticas ou oblongas; 3-5 mm compr.; pétalas 0; androceu (8 -) 10 estames, livres entre si; anteras dorsifixas, rimosas, 1-2 mm compr.; gineceu estipitado, ovário orbicular, elíptico-orbicular, ou oblongo-orbicular, glabro, pubescente ou hirsuto; estilete glabro, estigma capitado, óvulos 2. Fruto legume curto, elíptico-orbicular, em geral com estilete persistente formando um “apêndice”; bivalvado, suculentos no processo de amadurecimento, seco após a dispersão da semente; semente 1, raramente 2, com testa preta, oblonga a orbiculares; arilo carnosos branco, amarelo, laranja, vermelho ou purpúreo (COSTA, 2022).

As espécies de *Copaifera* L., tem seu oleorresina frequentemente utilizado na medicina tradicional indígena, além disso, sua madeira é apreciada para produção de carvão, lenha ou para construção de casas, devido à sua durabilidade. No levantamento realizado por Oliveira (2019), com o objetivo de investigar o conhecimento tradicional Macuxi e usos da copaíba na comunidade indígena Darora, Terra Indígena São Marcos, em Roraima, observou-se que copaíba (*Copaifera pubiflora*) é usada para diferentes finalidades, sendo a categoria medicinal a de maior citação (47% das citações), seguida por alimentícia (7,5%), e às relacionadas ao uso madeireiro (construção, 33%, combustível, 7,5% e tecnologia 5%).

3.2.2.1 Óleo de copaíba

O produto extraído dos troncos de *Copaifera* sp. é o óleo-resina, podendo ser utilizado puro (*in natura* ou destilado) ou como componente de diversas fórmulas em cosméticos, como xampus, sabonetes, fixadores de perfumes e produtos farmacêuticos (SEBRAE, 1995). Na revisão bibliográfica realizada por Leandro (2012), ele relata uma gama de indicações etnofarmacológicas para o oleorresina de copaíba, dentre elas podemos citar bronquite, dores em geral, lombalgia, lesão, psoríase, feridas, asma, como antisséptico para feridas, úlceras de pele, dores nas articulações, cistos, mioma uterino, útero fraco, corrimento vaginal, problema ovariano, dor de garganta, infecções uterinas, inflamações gerais, como tônico e para tratar úlceras e outras doenças digestivas, câncer e leishmaniose.

Concomitantemente a isso, o óleo de copaíba mostrou-se promissor para auxiliar no tratamento de micose sistêmica Paracoccidioidomicose, pois inibem o crescimento do fungo e não apresentam efeitos citotóxicos nem hemolíticos (MIGUEL, 2017). Além disso, quando usado como creme (SANTOS et al., 2011) ou dissolvido em dimetil sulfóxido (DMSO) (SANTOS et al., 2013) mostrou em experimentos sua atividade anti-*L. amazonensis* (ALBUQUERQUE et al., 2017).

Nanoemulsões à base de copaíba e andiroba exibiram atividades contra *Leishmania infatum* e *L. amazonensis in vitro* e *in vivo*, em relação à citotoxicidade, os dados indicaram que as nanoemulsões com ou sem óleos de andiroba e copaíba apresentaram baixa toxicidade *in vitro* contra macrófagos e quando administrados oralmente em camundongos BALB/c, nanoemulsões não causaram anormalidades histológicas gastrointestinais, hepáticas, esplênicas ou renais (MORAES et al., 2018)

Numerosos estudos têm sido desenvolvidos visando confirmar cientificamente as propriedades do oleorresina de copaíba, ainda existem algumas divergências em dados sobre a sua composição química e atividade farmacológica, porém esses resultados contraditórios podem estar relacionados ao fato do oleorresina vir de diferentes fontes, sofrendo influência dos fatores ambientais levam a produção de diferentes metabolitos, o que interfere diretamente na atividade (GOBBO-NETO, 2007; LEANDRO et al., 2012).

O óleo de copaíba é constituído de dois grupos de substâncias que mesmo distintas são solúveis entre si, uma parte são substâncias voláteis, correspondendo a cerca de 90% de massa do óleo e a outra constituído de substâncias não voláteis, resinosa de cor caramelo que corresponde a 10% da massa total do óleo resina (AZEVEDO et al., 2020). A porção fixa é composta pelos diterpenos: ácido hardwíckico, colavenol, ácido copaiférico ou copaífero, ácido copaiferólico, ácido calavênico, ácido patagônico, ácido copálico entre outros, e a porção volátil é composto em grande parte por hidrocarbonetos sesquiterpênicos, β -cariofileno, óxido de cariofileno, α -humuleno, δ -cadineno, α -cadinol, α -cubebeno, α - e β -selineno, β -elemeno, α -copaeno, *trans*- α -bergamoteno e β -bisaboleno (LEANDRO, 2012).

Muitos dos constituintes químicos de copaíba já possuem comprovado efeito medicinal, dentre eles podemos mencionar o β -cariofileno, um sesquiterpeno que também encontra-se presente em vários óleos essenciais (MIGUEL et al., 2017). Dentre as inúmeras propriedades farmacológicas já descritas para estes compostos estão: antibacteriana, antitumoral, antiparasitária, larvicida, antioxidante, anti-inflamatória, anestésica.

O α -humuleno tem seu uso sugerido para tratamento de asma e outras doenças relacionadas à alergia. Por outro lado, o δ -Cadineno inibiu o crescimento de uma importante bactéria cariogênica: *Streptococcus mutans*, teve também ação inibitória sobre *Propionibacterium acnes*, uma das bactérias responsáveis pela acne (ROGÉRIO, 2019).

3.3 COMPOSTOS BIOATIVOS

Os compostos bioativos são obtidos naturalmente de plantas, algas, alimentos e subprodutos ou produzidos sinteticamente. Nos vegetais, os compostos bioativos como os do metabolismo secundário não são essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas (CHANDRAN, 2020), mas geralmente estão relacionados com os sistemas de defesa contra a radiação ultravioleta ou as agressões de insetos ou outros patógenos (OLIVEIRA et al., 2018; AMORIM, 2020). Metabólitos secundários como terpenóides, alcalóides, esteróides, fenólicos, flavonóides, saponinas e etc. são usados em muitas preparações farmacêuticas (WINK, 2015; MCMURRY, 2015; HUSSEIN; EL-ANSSARY, 2018).

Carotenóides e compostos polifenólicos, por exemplo, têm sido muito visados para proteção da pele e dos olhos, os carotenóides como a luteína, ajudam a proteger a pele e os olhos humanos de fotodanos (SHEGOKAR; MITRI, 2012). Quanto aos compostos polifenólicos, têm se destacado por suas diferentes propriedades benéficas para os seres humanos, incluindo efeitos anticancerígenos, anti-inflamatórios e antioxidante (VARGAS; BELLAVER, 2022), estes consistem em diferentes tipos: ácidos fenólicos (por exemplo, ácidos gálico e cafeico), flavonoides (por exemplo, quercetina e catequina), antocianinas, taninos e ligninas.

Compostos bioativos, presentes em plantas podem interagir com um ou mais componentes do tecido vivo, resultando em uma ampla gama de efeitos que demonstraram impactar positivamente a saúde e o bem-estar humano, por isso os produtos derivados de fontes naturais têm recebido grande demanda por parte dos consumidores, muitos deles em virtude de seu comprovado potencial antibiótico, antioxidante e anticancerígeno (SINEMOBONG, 2020). Yahya (2018), afirma que esses produtos são muitas vezes procurados pelos consumidores por seus cuidados com os cabelos e a pele humana, sendo designados ainda para produção de antioxidantes, fragrâncias, hidratantes, filtros UV, esfoliantes etc.

O mercado global de ingredientes ativos de cuidados pessoais, indicou em 2017 um consumo de produtos naturais para beleza de cerca de 25 a 30%, no entanto, com previsão para o dobro até o ano de 2023 (YAHYA, 2018). Essa previsão estatística, afirma que a

preferência por cosméticos com ingredientes naturais deve apresentar um crescimento constante, muito provavelmente pelo fato de serem menos prejudiciais à saúde humana, sua grande eficácia e a alta consciência ambiental por parte dos consumidores.

As espécies que seguem para análises mais profundas para o mercado ou outras aplicações, geralmente são selecionadas com base na literatura disponível, assim como táxons utilizados na medicina tradicional para o tratamento de várias doenças, muito provavelmente por seus compostos bioativos. As abordagens quimiotaxonômicas são de grande valor, tendo em vista que alguns compostos do metabolismo secundário são característicos de grupos específicos de plantas, mas também podem estar presentes em outras espécies taxonomicamente relacionadas (CHIKEZIE et al., 2015).

3.3.1 Compostos Fenólicos

Os compostos Fenólicos contêm um grupo fenol, ou seja, um anel aromático e um ou mais grupos hidroxila funcional, por isso são multifuncionais (COSTA; JORGE, 2011; RASERA; CASTRO 2019). Formam um importante grupo de compostos bioativos de plantas, englobando desde moléculas simples até moléculas com alto grau de polimerização, estando presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas. Dentre eles, alguns são solúveis apenas em solventes orgânicos, outros são ácidos carboxílicos e glicosídeos solúveis em água e outros são grandes polímeros insolúveis (DE LA ROSA et al., 2019).

A variedade química dos fenóis possibilita que eles desenvolvam numerosas funções no interior das plantas. Colaboram para defesa das plantas contra patógenos e herbívoros, como é o caso dos flavonoides, taninos, lignina e alguns compostos fenólicos simples (MITHÖFER e MAFFEI, 2017; MONTEIRO et al., 2021), outros compostos fenólicos apresentam efeitos alopatícos e influenciam no crescimento das plantas vizinhas. Fortalecem as paredes celulares (lignina), atraem polinizadores e dispersores de sementes (flavonóides).

Desempenham um importante papel contra estresses bióticos e abiótico, como elevada luminosidade, baixas temperaturas, deficiência de nutrientes, infecção por patógenos, herbívoros e outros (CHALKER-SCOTT; FUCHIGAMI, 2018). Ainda segundo Lattanzio (2013), sinais ambientais estimulam o fluxo de carbono das vias metabólica primária para a secundária, tendo como resposta a mudança dos recursos disponíveis em favor da síntese de produtos secundários (LATTANZIO, 2013).

Os compostos fenólicos (gliconas ou glicosídeos, monômeros ou altamente polimerizados), possuem excelente potencial antibiótico, antioxidante e anticancerígeno

(ESSIEN et al., 2020), desbravando uma importante missão na proteção celular, por sua capacidade de sequestrar ou inibir as diversas espécies de oxigênio reativo, transferir elétrons para radicais livres, ativar enzimas antioxidantes e inibir enzimas oxidases (DUMITRIU et al., 2015; SOUZA; VIEIRA; PUTTI, 2018), protegendo assim biomoléculas como lipídios, proteínas e DNA dos danos causados, pelo estresse oxidativo, o que pode estar associado a menor incidência de doenças cardiovasculares, diabetes e outras doenças crônicas não transmissíveis (SANCHO; PAVÃO; PASTOR, 2015).

Além disso, observa-se a crescente preferência dos consumidores e de empreendedores por produtos que contêm filtro solar, vitamina C, E e compostos fenólicos com atividade antioxidante, a incorporação dessas substâncias as formulações, deve-se aos seus efeitos benéficos para pele, como a redução de espécies reativas de oxigênio (EROs), subprodutos metabólicos tóxicos que podem desencadear diversas patologias como o câncer (GOUVEIA; LIMA, 2017; JOHNER; GOELZER NETO, 2021). Substâncias ativas presentes em cremes, por exemplo, atravessam a derme humana e eliminam os radicais livres, evitando assim qualquer destruição adicional da estrutura e função das células da pele (YAHYA, 2018).

Desta forma, o número e a posição de grupamentos hidroxilas nas moléculas, grau de hidroxilação, distância entre grupamento carbonil e anel aromático, assim como a quantidade de anéis aromáticos desempenham um papel importante na atividade antioxidante dos compostos fenólicos (ZHANG; TSAO, 2016). Concomitante a isso, sabe-se que antioxidantes aplicados localmente ou administrados por via oral apresentam uma perspectiva promissora de prevenção de doenças cutâneas (FRUET, 2015).

3.3.1.1 Determinação dos compostos fenólicos

O conteúdo de compostos fenólicos é normalmente avaliado pelo método colorimétrico Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965), o reagente é formado por mistura de ácidos fosfomolibidico e fosfotungstico, a técnica baseia-se na formação de um complexo de coloração azul formado pela redução do reagente Folin-Ciocalteu em presença de álcali – carbonato de sódio, com absorção máxima em 760 nm na presença de um reagente redutor (SOARES, 2015; PEREIRA et al., 2018)

3.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

O desequilíbrio entre níveis de oxidantes e antioxidantes, onde oxidantes estão em maior proporção, denomina-se estresse oxidativo, esta alteração pode surgir a partir do excesso na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (BIRBEN et al., 2012;

GOUVEIA; LIMA, 2017). Alguns radicais livres ocorrem naturalmente no corpo humano, por meio do metabolismo celular e são importantes para diversos processos fisiológicos. No entanto, a quantidade desses radicais pode ser alterada por fatores ambientais como a poluição, herbicidas, radiação e outros.

A geração de radicais livres normalmente acontece nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma. Nas mitocôndrias, essa formação ocorre por meio da cadeia transportadora de elétrons, durante a geração de energia com o uso da glicose e do oxigênio (OLIVEIRA et al., 2018). As enzimas NADPH oxidases, proteínas responsáveis pela transferência de elétrons através das membranas celulares, são também fontes produtoras de radicais livres (BARBOSA, 2010). Outro fator relevante é que no decorrer do processo normal de catalisação, as enzimas encontradas nos peroxissomas podem produzir peróxido de hidrogênio (H_2O_2), superóxido ($O_2^{\bullet -}$) ou óxido nítrico (NO^{\bullet}), que pode reagir prontamente para formar radicais livres, tais como peroxinitrito ($ONOO^-$), radical hidroxilo (OH^{\bullet}) e peróxidos de alquilo ($ROOH$) (FRANSEN, 2012; OLIVEIRA et al., 2018)

Essas espécies reativas com elétrons desemparelhados reagem com várias moléculas nas células, o que pode desencadear uma série patologias, podem promover danos a diversas moléculas, dentre as quais carboidratos proteínas e lipídios, modificando e prejudicando as funções celulares (COMINETTI et al., 2011). No DNA, lesões oxidativas podem ocasionar mutações e contribuir para a iniciação e progressão da carcinogênese em vários estágios (GOUVEIA; LIMA, 2017).

As substâncias antioxidantes são responsáveis pela inibição e redução dos danos causados pelos radicais livres, esse grupo de substâncias quando em concentrações adequadas em relação aos substratos oxidáveis, impedindo ou diminuindo o estresse oxidativo. Seus efeitos consistem na inativação dos radicais livres, na complexação de íons metálicos ou na redução dos hidroperóxidos para produtos incapazes de formar radicais livres e produtos de decomposição (SILVA, 2016)

3.4.1 Determinação da atividade antioxidante

DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

Neste método, quando o elétron desemparelhado do átomo de nitrogênio no DPPH recebe um átomo de hidrogênio proveniente de compostos antioxidantes, ocorre a mudança de coloração, conforme o número de elétrons capturados a solução vai adquirindo uma coloração cada vez mais clara (SUCUPIRA et al., 2012; CARVALHO, 2019). O DPPH $^{\bullet}$ é caracterizado por uma coloração purpura, mas com a ação do antioxidante, o DPPH é

reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H), que apresenta uma coloração amarela, é possível fazer o acompanhamento dessa reação pelo decréscimo da absorbância (BORGES et al., 2011)

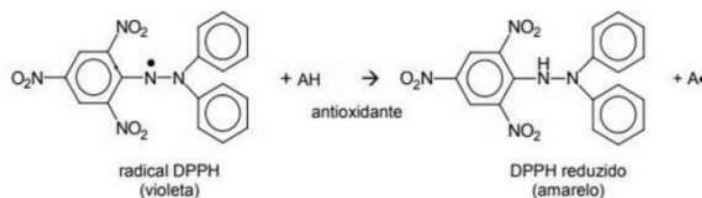


Figura 1: Estrutura química do DPPH e sua reação frente um antioxidante. Fonte: Prado, 2009.

ABTS+: 2,2-azinobis-[3-etil-benzotiazolin-6-ácido sulfônico]

Neste método a atividade antioxidante é medida por meio da captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), que pode ser gerado através de uma reação de oxidação de ABTS com persulfato de potássio e reduzida na presença de substâncias antioxidantes (Fig. 2) (RUFINO et al., 2007; AMORIM, 2020). Com essa metodologia, pode-se medir a atividade de compostos de natureza lipofílica e hidrofílica (KUSKOSKI et al., 2005).

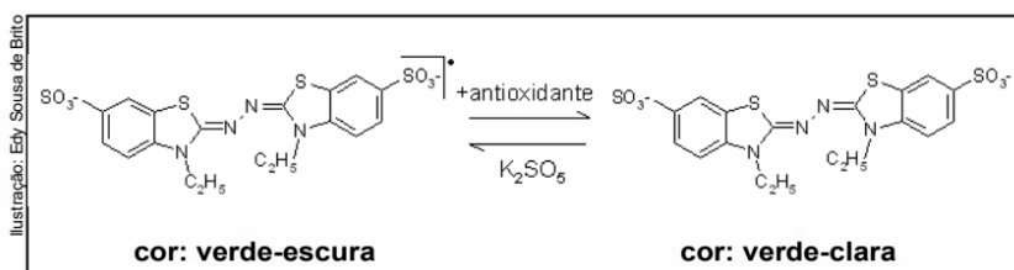


Figura 2: Estabilização do radical ABTS^{•+} por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio. Fonte: **Edy Sousa de Brito (EMBRAPA)**

3.5 MUTAGENICIDADE

O ser humano é exposto diariamente a uma série de fatores químicos e ambientais, através de alimentos, medicamentos, produto e outros. De modo que a exposição a esses agentes genotóxicos pode ocasionar mudanças no material genético (NETO, 2011), chamadas de Mutação, ou seja, qualquer alteração capaz de modificar a informação genética. Essa alteração dependerá muito da forma como a estrutura do DNA reagirá a ela, dentre as

principais alterações estão rearranjos nas sequências, deleção de fragmentos e alteração nas bases nitrogenadas (BRENSCHOT, 2008; TAVARES et al., 2017).

Sementes de cebola (*Allium cepa*) tem sido amplamente utilizada para realização de bioensaios, muito disso deve-se ao seu potencial uso como avaliação ecotoxicológica de baixo custo (COSTA, 2010). Além disso, o ensaio com *A. cepa* utiliza um modelo capaz de detectar numerosas alterações cromossômicas suscitadas por substâncias ou mistura delas, nas células em divisão (MARIN-MORALES, 2008). É possível determinar se uma amostra possui elementos em sua composição que possam inibir a germinação de sementes, o crescimento e o desenvolvimento de uma determinada planta, a esse modelo de teste chamamos de fitotoxicidade (OLESZCZUK et al., 2011).

Há também a possibilidade de avaliar a genotoxicidade, ou danos ao DNA, através da contagem de alterações cromossômicas nas várias fases do ciclo celular (VALENTE et al., 2017). Os efeitos mutagênicos podem ser avaliados pelo registro da ocorrência de micronúcleos, uma vez considerados resultados de uma ação mutagênica, gerados a partir da quebra ou perdas de cromossomos (MARIN-MORALES, 2008; TAVARES et al., 2017), formando diversos MN que são liberados no citoplasma, em decorrência de danos ocasionados pela exposição do agente mutagênico ao DNA (FRITSCH, 2012), sendo de fácil visualização em virtude da sua estrutura ser semelhante ao núcleo da célula, porém, de tamanho menor. (SOUZA, 2010).

Alguns vegetais possuem substâncias propulsoras de mutações, por serem constituídos por grupos químicos que formam uma matriz complexa, que lhes confere atividades biológicas, mas que também podem causar danos aos seres humanos e outros animais, substâncias essas que podem ser produzidas por eles como defesa natural (BRAGA, RATES, SIMÕES, 2017; SOUZA, 2017). Alguns compostos isolados de plantas com propriedades fitoterápicas possuem atividade mutagênica, por isso a importância da realização de testes dessa natureza. Por este motivo, para garantir a segurança de produtos de origem vegetal, podem ser utilizados marcadores que demonstrem se há ocorrência de possíveis danos em virtude de substâncias nocivas (FROTA et al., 2019).

REFERÊNCIAS

ALVES, J. J. P.; CORTEZ, C. L.; BEZERRA, D. S.; BEZERRA, P. D. F. Conhecimento popular sobre plantas medicinais e o cuidado da saúde primária: um estudo de caso da comunidade rural de mendes, São José de Mipibu/RN. *Revista Cultural e Científica Do UNIFACEX.*, 13(1), 1–21, 2015

AMORIM, F. E. Capacidade antioxidante, compostos bioativos e atividade antimicrobiana in vitro em amêndoa e óleo de babaçu (*orbignya oleifera*). 2020. 40 f. TCC (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Mato Grosso, Campus Universitário do Araguaia, Instituto de Ciências Exatas e da Terra, Barra do Garças, 2020.

ASSIS; LYRA, 2021. **A importância de estudos sobre fitoterápicos da amazônia: Seis exemplos de medicamentos extraídos da região 2021**. Disponível em: <https://repositorio.faema.edu.br/handle/123456789/2935>. Acesso em: 22 fev. 2023.

BARATA , F. C. A. Caracterização Palinotaxonômica das espécies de Copaifera l. (leg. Caes.) que ocorrem na Amazônia Brasileira. 2006. Tese (Ciências Biológicas (Botânica) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 149 f., 2006.

BIRBEN E, SAHINER U. M.; SACKESEN C.; ERZURUM S; KALAYCI O. **Oxidative Stress and Antioxidant Defense**. World Allergy Organization Journal, v. 5, p. 9-19, 2012.

BORGES, L. L. et al. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. Enciclopédia Biosfera, v. 7, n. 12, p.1-20, 2011.

BRAGA, F. C.; RATES, S. M. K.; SIMÕES, C. M. O. **Avaliação da eficácia e segurança de produtos naturais candidatos a fármacos e medicamentos**. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.) et al. Farmacognosia do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed. p. 53-68, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Plano Nacional de Promoção das Cadeias de Produtos da Sociobiodiversidade. Brasília: Ministério do Desenvolvimento Agrário. Ministério do Desenvolvimento Social e Combate a Fome, 2009.

BRENSCHOT, A. S. Mutagênese Visando à Aplicação da Genética Reversa em Petúnia (Petunia x hybrida). Dissertação (Mestrado) - Agricultura Tropical e Subtropical Área de concentração Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia). Instituto Agrônomo, Campinas-SP, 2008.

BUDOVSKY, A.; YARMOLINSKY, L.; BEN-SHABAT, S. Effect of medicinal plants on wound healing. Wound Repair and Regeneration, v. 23, n. 2, p. 171–183, 2015.

CAMPOS L.Z.; Albuquerque U.P.; Peroni N; Araújo E.L. Do socioeconomic characteristics explain the knowledge and use of native food plants in semiarid environments in Northeastern Brazil? Journal of Arid Environments 115: 53-61, 2015.

CARVALHO, C. R. S. Potencial antioxidante e teor de compostos fenólicos dos chás de hortelã (*Mentha spicata*), camomila (*Matricaria chamomilla*) e capim-cidreira

(*Cymbopogon citratus*). Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 43 f. 2019.

CARVALHO, S. B. A. et al. Estudo em bases de patentes sobre a andiroba e suas propriedades anti-inflamatórias. Universidade do Estado do Pará, Belém, PA. 2019.

CHALKER-SCOTT, L.; FUCHIGAMI, L. H. The role of phenolic compounds in plant stress responses. In: Low temperature stress physiology in crops. CRC Press, p. 67-80, 2018.

CHANDRAN, Hema; ansukh Barupal; Kanika Sharma . Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds, Biotechnology Reports, v.26, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00450>

CHIKEZIE P.C.; IBEGBULEM C.O; MBAGWU F.N. Bioactive principles from medicinal plants. Research Journal of Phytochemistry, v. 9, p. 88-115, 2015.

COMINETTI C.; Bortoli M. C.; Abdalla D. S. P.; Cozzolino SM F. Considerações sobre estresse oxidativo, selênio e nutrigenética. Nutrire: Revista Sociedade Brasileira Alimentos Nutrição, v. 36, n. 3, p. 131-153, 2011.

COSTA, J.A.S. *Copaifera* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB22895>>. Acesso em: 11 abr. 2022

COSTA, T. C. Atividade mutagênica em bacia hidrográfica influenciada por sítio de contaminação de solos. 2010. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

DOMINGUES, J. de J.; OLIVEIRA, L. T. A.; COSTA, M. D. M. de A.; SILVA, L. de A. M.; NASCIMENTO, F.; DIETRICH, L. Use of phytotherapy and other vegetable and mineral components in the manufacture of natural dental products: Literature review. Research, Society and Development, [S. l.], v. 10, n. 3, p. e57610313678, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i3.13678.

DUMITRIU, D.; PEINADO, R. A.; PEINADO, J.; LERMA, N. Grape pomace extract improves the in vitro and in vivo antioxidant properties of wines from sun light dried Pedro Ximénez grapes. Journal of Functional Foods, v. 17, p. 380-387, 2015.

ESSIEN S. O.; YOUNG B.; BAROUTIAN S. Tendências em Ciência e Tecnologia de Alimentos. v. 97, p. 156-169. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.014>

FARIAS, M.P.O.; SOUSA, D.P.; ARRUDA, A.C.; ARRUDA, M.S.P.; WANDERLEY, A.G.; ALVES, L.C.; FAUSTINO, M.A.G. Eficácia in vitro do óleo da *Carapa guianensis* Aubl. (andiroba) no controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). Ver. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.9, n.4, p.68-71, 2007.

FIGUEREDO, C. V.; GURGEL, I. G. D.; GURGEL JUNIOR, G. D. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios Physis: Revista de Saúde Coletiva, v. 24, n. 2, p. 381-400, 2014.

FLORES, T.B. 2020. Meliaceae in Flora do Brasil 2020 Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB19737>>. Acesso em: 11 fev. 2022.

FRANSEN, M. et al. Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: implications for human disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, v. 1822 (9), p. 1363-1373, 2012.

FRITSCH, Elisiane. Análise antimutagênica do látex da *Euphorbia tirucalli* em teste de *Allium cepa*. Elisiane Fritsch – Ariquemes: [s.n], 2012. 38 f.il.; 30cm. Monografia de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA.

FRUET, 2015. Avaliação do efeito fotoprotetor de compostos fenólicos sobre culturas de células da pele irradiadas por UVA e UVB. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2015. 10.11606/T.9.2015.tde-28052015-083539

GOBBO-NETO, L.; Lopes, N.P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova*, 30, 374–381, 2007.

GOUVEIA, S. S.; LIMA, A. A. Relação entre espécies reativas de oxigênio e a promoção carcinogênica. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR*. Vol.20, n.3, pp.174-179, 2017.

HUSSEIN, R. A. A. Plants secondary metabolites: The key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. P. Builders (Ed.), *Herbal Medicine*. Intech Open, pp. 11-30, 2018. DOI: 10.5772/intechopen.76139

JOHNER, K.; GOELZER N.; FERNANDO, C. Análise dos fatores de risco para o envelhecimento da pele: aspectos nutricionais. Disponível em: *Brazilian Journal of Health Review*, Curitiba, v.4, n.3, p.10000-10018, 2021.

KENFACK, D. A. Synoptic Revision of *Carapa* (Meliaceae). *Harvard Papers in Botany*, Vol. 16, No. 2, p 171-231. 2011.

KENFACK, D. Resurrection in *Carapa* (Meliaceae): a reassessment of morphological variation and species boundaries using multivariate methods in a phylogenetic context. *Botanical Journal of the Linnean Society*, London, v. 165, n. 2, p. 186–221, 2011.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n.4, p.726-732, 2005.

LATTANZIO V. Phenolic Compounds: Introduction. In: RAMAWAT K; MÉRILLON, J. M. (eds) *Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes*, p. 1543-1580, 2013.

LEANDRO, L. M. et al. Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. *Molecules*, v.17, n.4, p. 3866-3889, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014489417306306>.

LEANDRO, Y. A. S.; JARDIM, I. N.; GAVILANES, M. L. Uso de plantas medicinais nos cuidados de saúde dos moradores de assentamento no município de Anapu, Pará, Brasil. *Biodiversidade*, Rondonópolis, MT, v. 16, n. 2, p. 30-44, 2017.

LEANDRO, L. M.; VARGAS, F. S.; BARBOSA, P. C. S.; NEVES, J. K. L.; SILVA, J. A.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Química e Atividades Biológicas de Terpenóides de Oleorresinas de Copaíba (*Copaifera spp.*) *Molecules* 17 (4), 3866-3889, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules17043866>

LEITE, N. A. A utilização da etnobotânica na fisioterapia: conhecimentos e práticas do uso de plantas medicinais e fitoterápicos. 2019. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Sistemas Agroindustriais do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/xmlui/handle/riufcg/8595>. Acesso em: 22 fev. 2023.

LIMA J. S. Formulações cosméticas contendo óleo de andiroba. 2018. Disponível em: <http://www.uezo.rj.gov.br/tcc/farmacia/J%C3%A9ssica-dos-Santos-Lima.pdf>. Acesso em: 09 mar. 2022.

MAGALHÃES, P. R. Extração tradicional do óleo das sementes de *Carapa guianensis* Aubl. "andiroba" para usos medicinais por moradores da comunidade de Tupi II- município de São Paulo de Olivença-AM. 2019. Disponível em: <http://177.66.14.82/handle/riuea/3164>. Acesso em: 20 fev. 2023.

MARIN-MORALES, M. A. A Utilização de *Allium cepa* como Organismo Teste na Detecção da Genotoxicidade Ambiental. Rio Claro - SP: Instituto de Biociências - Unesp, 54 p., 2008.

MARTIN, B. S. S.; SANTOS J. P. G.; KASPER, A. A. M.; CASTRO K. C. F.; BARATA, L. E. S. Controle alternativo de *Bemisia tabaci* biótipo b e toxicidade preliminar do concentrado de limonoides obtidos do resíduo industrial de sementes de *Capara guianensis*. *Gl. Sci Technol*, Rio Verde, v.11, n.03, p.187-201, set/dez. 2018.

MARTINS-DA-SILVA, R. C. V; PEREIRA, J. F.; LIMA, H. C. O gênero copaiifera (leguminosae – caesalpinioideae) na amazônia brasileira . *Rodriguésia* 59 (3): 455-476. 2008.

MCMURRY, J. E. Organic chemistry with biological applications. Secondary Metabolites: An Introduction to Natural Products. Chemistry Stamford, USA, p. 1016-1046, 2015.

MENDONÇA, A. P. Secagem e extração do óleo das sementes de andiroba (*carapa surinamensis* miq. e *carapa guianensis* aubl.). Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, 2015.

MENDONÇA, A. P.; FERRAZ, I. D. K. Óleo de andiroba: processo tradicional de extração, uso e aspectos sociais no Estado do Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, Manaus, v. 37, n. 3, p. 353-64, 2007.

MIGUEL, M. A. C. Estudo dos óleos naturais frente à Paracoccidioides spp.: atividade biológica de óleos de copaíba in natura e imobilizado em micelas. p. 78, 2017. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Plantas Medicinais de Interesse ao SUS – **Renisus**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sctie/daf/pnppmf/ppnppmf/plantas-medicinais-de-interesse-ao-sus-2013-renisus>. Acesso em: 24 ago. 2022.

MITHÖFER, A.; MAFFEI, M. E. General Mechanisms of Plant Defense and Plant Toxins. In: GOPALAKRISHNAKONE P., CARLINI C., LIGABUE-BRAUN R. (eds) Plant Toxins. Toxinology. Springer, Dordrecht, p. 3-24, 2017.

MONTEIRO, E. W. S. et al. Estudo fitoquímico do extrato etanólico das folhas de Moringa oleifera Lam. Disponível em: <https://www.editoracientifica.org/articles/code/210504518>. Acesso em: 16 mar. 2022.

MOTA, I. B. de O.; CUNHA, L. S.; BRAGA, L. L. A.; LIMA, C. C.; DIETRICH, L. Fitoterapia na odontologia: levantamento dos principais produtos fitoterápicos usados para a saúde bucal. Psicologia e Saúde em debate, [S. l.], v. 4, n. Suppl1, p. 71–71, 2018. Disponível em: <http://psicodebate.dpgpsifpm.com.br/index.php/periodico/article/view/417>. Acesso em: 25 set. 2022.

NASCIMENTO, G. O.; SOUZA, D. P.; SANTOS, A. S.; BATISTA, J. F.; RATHINASABAPATHI, B.; GAGLIARDI, P. R., & GONÇALVES, J. F. C. (2019). Perfis lipídômicos do óleo da semente de *Carapa guianensis* Aubl. e *Carapa vasquezii* Kenfack e implicações para o controle de fungos fitopatogênicos. Culturas e produtos industriais. v. 129, p. 67-73, 2019.

NAYAK, B.S; J. KANHAI, D.M.; MILNE, L.; PINTO P. W.H. Experimental evaluation of ethanolic extract of *Carapa guianensis* L. Leaf for its wound healing activity using three wound models Evid. Compl. Alt. Med., 2011.

OLESZCZUK, P.; HOLLERT, H. Comparison of sewage sludge toxicity to plants and invertebrates in three different soils. Chemosphere, 83 (4):502- 509,2011.

OLIVEIRA, P. C.; BRAGA, J. Ethnobotany of Borari-Arapiunn indigenous people, Amazon, Brazil. Journal Medicinal Plants Studies , v. 5, n. 1, p. 164-70, 2017.

OLIVEIRA R. L. C.; ALMEIDA, L. F. P.; DURIGAN, M. F. B.; SCUDELLER, V. V.; BARBOSA, R. I. Conhecimento tradicional e usos de Copaíba pela comunidade makuxi Darora na Savana de Roraima. 2019. Disponível em: <https://periodicos.ufpb.br/ojs/index.php/gaia/article/view/46242/27405>. Acesso em: 24 fev. 2023.

PANIS, C. et al. Caracterização do uso popular de plantas medicinais em Londrina, Paraná, Brasil. Infarma. v. 22, n. 7/8, 2010.

PEREIRA, P. H. M., Marquardt, L., Corbellini, V. A., Baccar, N. de M., & Rohlfes, A. L. B. Resíduos cítricos: uma breve revisão. *Revista Jovens Pesquisadores*, 8(2), 11-19, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.17058/rjp.v8i2.12589>.

PIRES, L. K. S.; GRISOTTO, M. G.; GRISOTTO, R. F. O uso de plantas da Amazônia na produção de bioprodutos para tratamentos de pele. *Rev. Investig. Bioméd.* v.9 p:78-88, 2017.

RASERA, G. B.; CASTRO, R. J. S. Germinação de grãos: uma revisão sistemática de como os processos bioquímicos envolvidos afeta o conteúdo e o perfil de compostos fenólicos e suas propriedades antioxidantes. *Brazilian Journal of Natural Sciences*. v.3 N.1, p. 287 - 300 2019.

RIBEIRO. Dissertação (Mestrado) - Biodiversidade Tropical na Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Tropical. 109 f. Macapá, 2014.

ROGÉRIO, A. P; ANDRADE, E. L; LEITE, D. F. P; FIGUEIREDO, C. P; CALIXTO, J. B. Propriedades anti-inflamatórias preventivas e terapêuticas do sesquiterpeno α -humuleno na inflamação alérgica experimental das vias aéreas. *Brit. J. Pharmacol.* 158, 1074-1087, 2009.

SANCHO, R. A. S.; PAVAN, V.; PASTORE, G. M. Effect of in vitro digestion on bioactive compounds and antioxidant activity of common bean seed coats. *Food Research International* , v. 76, p. 74-78, 2015.

SANTOS, E. Q., COSTA, J. F. S., PEREIRA, M. G. S., COSTA, J. M., SOUSA, R. L. Etnobotânica da flora medicinal de quintais na comunidade Mamangal, Igarapé-Miri, PA. *Scientia Plena*, 15 (5), 1-11, 2019. <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2019.051202>

SHEGOKAR, R.; MITRI, K. Carotenoid lutein: a promising candidate for Pharmaceutical and nutraceutical applications *J. Diet. Suppl.*, 9 pp. 183-210, 2012.

SILVA A. F.; SOUSA R. L.; SILVA, S. G; COSTA, J. M.; ALBUQUERQUE , L. C. S.; PEREIRA, M. G. S.; MESQUITA, S. S; SILVA, E. C.; CORDEIRO, Y. E. M. Ethnobotany of aromatic medicinal plants: preparations and uses of local flora in five rural communities located in the region of Baixo Tocantins, Pará, Brazil. *Research, Society and Development*, [S. l.], v. 10, n. 1, p. e9510111284, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i1.11284.

SILVA V.J.V.; BRIGIDO H.P.; FERREIRA E.P.; COSTA E.V.; MARINHO A.M.; PERCÁRIO S.; DOLABELA M.F. Brazilian Amazon traditional medicine and the treatment of difficult to heal leishmaniasis wounds with *Copaifera*. *Evid. Compl. Alt. Med.* 2017.

SILVA, G. F. Pesquisa e Desenvolvimento de Cosméticos a Partir de Ativos Vegetais da Amazônia 2016. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Amazonas. f. 169, 2016.

SILVA, L. R. Propriedades físico-químicas e perfil dos ácidos graxos do óleo da andiroba. *Nativa*, 6(2), 147-152. 2018. <https://doi.org/10.31413/nativa.v6i2.4729>.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, p. 144-158. 1965.

SOARES E. R. et al. Compostos Bioativos em Alimentos, Estresse Oxidativo e Inflamação: Uma Visão Molecular da Nutrição. *Revista hospital Universitário Pedro Ernesto*, Rio de Janeiro, n.3, v.14, 2015. <https://doi.org/10.12957/rhupe.2015.19942>.

SOUSA et al. Extração e comercialização do óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.) na comunidade da Ilha das Onças, no município de Barcarena, Pará, Brasil. *Interações*, Campo Grande, MS, v. 20, n. 3, p. 879-889, 2019.

SOUZA, A. V.; VIEIRA, M. R. S.; PUTTI, F. F. Correlações entre compostos fenólicos e atividade antioxidante em casca e polpa de variedades de uva de mesa. *Braz. J. Food Technol.* 21 • 2018.

SOUZA, C. R.; LIMA, R. M. B.; AZEVEDO C. P. ROSSI R. M. B. Manaus: **Embrapa Amazônia ocidental**, 2006. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/681495/andiroba-carapa-guianensis-aubl>. Acesso em: 11 fev. 2022.

SOUZA, J. A. L. Caracterização físico-química e cromatográfica de drogas vegetais de uso tradicional no nordeste brasileiro. Teses (Doutorado) - Ciências Farmacêuticas na Universidade Federal de Pernambuco, p. 112, 2017.

SOUZA, R. C.; SALES, L. A.; DIAS, S. V. Empreendedorismo de base sustentável na amazônia: agregando valor ao óleo de andiroba em comunidade ribeirinha do Amapá. 2021. Disponível em: <http://repositorio.ifap.edu.br:8080/jspui/bitstream/prefix/474/1/LEITE%2C%20SALES%20e%20DIAS%20%282021%29%20Empreendedorismo%20de%20base%20sustent%20C3%A1vel.pdf>. Acesso em: 09 mar. 2022.

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. *Unopar Científica. Ciências biológicas e da saúde*, Londrina, p. 263-269, 2012.

TAVARES H. G. S.; SILVA B. C. R; CERAGIOLI; IRAZUSTA S. P. Avaliação de fitotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade do óxido de grafeno reduzido (RGO) em *Allium cepa*. 2017. Disponível em: <http://www.pos.cps.sp.gov.br/files/artigo/file/230/7c4e1d019afee7815c5f5b7d21b6ad05.pdf> f Acesso em: 08 Ago. 2022.

THE PLANT LIST. Disponível em: <http://www.theplantlist.org/tp1.1/record/kew-2699327>. Acesso em: 11 fev. 2022.

TRÓPICOS. *Copaifera* L. 2023. Disponível em: <https://tropicos.org/name/40013764>. Acesso em: 20 fev. 2023.

VALENTE, D. et al. Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, 42 (1): 1-21, 2017.

WINK, M. Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites *Medicines*, p. 251-286. 2 (3), 2015.

YAHYA N. A. ; NURSYAFREENA A.; ROSWANIRA A. An overview of cosmeceutically relevant plant extracts and strategies for extraction of plant-based bioactive compounds. *Food and Bioproducts Processing*. v. 112, p. 69-85, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.09.002>.

CAPÍTULO 1 – MÉTODO DE FOLIN CIOCALTEAU ADAPTADO PARA QUANTIFICAR FENÓIS TOTAIS EM ÓLEOS E ÓLEOS-RESINAS

Plúcia Franciane Ataíde Rodrigueis¹, Carine Coneglian de Farias Colman², Ramila Tainara de Araújo Ataíde Wanzeler³, Hildegardo Seibert França²

⁽¹⁾ Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil. Pluciargds12@gmail.com

⁽²⁾ Instituto Federal do Espírito Santo, colegiado do curso de bacharelado em Biomedicina, CEP 29056-264, Vila Velha, ES, Brasil.

⁽³⁾ Faculdade de Macapá, colegiado de enfermagem, CEP 68906-720, Macapá, AP, Brasil.

Submetido: Acta Biológica Colombiana, ISSN: 0120-548X em 22 de fevereiro de 2023.

RESUMO

O método de quantificação de fenóis totais por meio do reagente Folin-Ciocalteu é conhecido internacionalmente por sua eficiência em diferentes extratos. No entanto a metodologia de fenóis totais frequentemente é a base de água, todavia alguns óleos e óleos-resinas *in natura*, como de *Copaifera* sp. (copaíba) e *Carapa guianensis* Aublet (andiroba), quando são utilizados em meio de preparo aquoso, não solubilizam no meio ou tornam-se turvos e esbranquiçados, inviabilizando leituras que tenham por base a turbidez. Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar diversas condições de reação de Folin_Ciocalteu com a finalidade de ajustar o método para aplicação em substâncias resinosas como óleo-resina de copaíba e andiroba puros (*in natura*). Para isso, três formas de alterações foram testadas, I - adição de tween 80, II - substituição de metanol por solventes de várias polaridades e III – ajuste do procedimento de preparo da metodologia padrão. Os resultados constataram que a melhor forma de ajustar a metodologia de fenóis totais, com reagente Folin-Ciocalteu, para aplicação em óleos e substâncias resinosas foi modificando levemente a forma de preparo da metodologia básica substituindo progressivamente a água por solvente apolar, possibilitando a análise quantitativa de fenóis totais presentes nos óleos-resinas testados, podendo ser viável para outros trabalhos com compostos de difícil adaptação em metodologias realizadas em meio aquoso.

Palavras-chave: Fenóis totais. atividade antioxidante. adaptação metodológica. Folin-Ciocalteu.

ABSTRACT

The method for quantification of total phenols by means of the Folin-Ciocalteu reagent is internationally known for its efficiency in different extracts. However, the methodology of total phenols is often water-based, but some oils and oil-resins *in natura*, such as *Copaifera* sp. (copaiba) and *Carapa guianensis* Aublet (andiroba), when used in aqueous preparation medium, do not solubilize in the medium or become turbid and whitish, preventing readings based on turbidity. Thus, the aim of this study was to evaluate various conditions of the Folin-Ciocalteu reaction in order to adjust the method for application in resinous substances such as oil-resin of copaiba and andiroba pure (*in natura*). For this, three forms of changes were tested, I - addition of tween 80, II - replacement of methanol by solvents of various polarities and III - adjustment of the preparation procedure of the standard methodology. The results showed that the best way to adjust the total phenols methodology, with the Folin-Ciocalteu reagent, for application in oils and resinous substances was to slightly modify the basic methodology preparation method by progressively replacing water with an apolar solvent, enabling the quantitative analysis of total phenols present in the tested oil-resin.

Keywords: Total phenols. antioxidant activity. methodological adaptation. Folin-Ciocalteu.

1. INTRODUÇÃO

Os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, são normalmente encontrados nos vegetais, atuando no mecanismo de defesa contra herbívoros, patógenos e radiação ultravioleta, outros tem a capacidade de atrair polinizadores ou dispersores de frutos, podendo ainda influenciar no crescimento de plantas adjacentes, controle de germinação de sementes e atuar como antioxidantes (VERRUCK et al., 2018, CARDOSO, 2022).

Dentre os numerosos grupos de substâncias antioxidantes que ocorrem na natureza, os compostos fenólicos têm se destacado por combaterem espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como o radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e o radical hidroxila (HO^{\bullet}), que causam danos ao DNA ou podem oxidar lipídios e proteínas (VELLOSA et al., 2021). São importantes nos processos de prevenção de doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, câncer (LIMA, 2018), osteoporose, doenças cardiovasculares, diabetes tipo II e doenças crônicas (SAUTHIER, et al., 2021) e disfunções cerebrais (GRODZICKI; DZIENDZIKOWSKA, 2020). Por suas inúmeras utilidades, esses compostos acabam desempenhando uma ampla utilização por comunidades tradicionais, na agricultura, em indústrias farmacêuticas e de cosméticos.

A quantificação do teor de fenóis totais presentes nas amostras pode ser realizada por meio de uma variedade de técnicas, no entanto, a mais utilizada é por meio do reagente de Folin-Ciocalteu (Fig. 1). É um método espectrofotométrico simples e baseia-se na interação das substâncias redutoras com o reagente de Folin-Ciocalteu, que é composto pelo ácido fosfotúngstico e ácido fosfomolibdico de coloração amarela, que são reduzidos a partir dos extratos ou substâncias testadas (PIRES et al., 2017). Koivikko (2008) demonstrou que há uma correlação positiva entre a concentração de carbonato de sódio no ensaio e o valor de absorvância, tornando o método mais ou menos sensível conforme a quantidade utilizada, o que já era esperado por ser o catalisador do reagente de Folin-Ciocalteu.

O método de quantificação de fenóis totais por meio do reagente Folin-Ciocalteu é conhecido internacionalmente por sua eficiência em diferentes extratos. No entanto, seus resultados podem sofrer interferência de outros produtos químicos ou de variáveis nas metodologias, como quantidade de reagente e o comprimento de onda, uma vez que, a intensidade da coloração azul depende da quantidade de fenóis na solução, sendo necessário identificar o melhor comprimento de onda para realização da leitura. Em decorrência disto, Blainski, et al (2013), em sua pesquisa buscou otimizar e padronizar este método espectrofotométrico, analisando três parâmetros: (1) cinética da reação, (2) comprimento de

onda máximo de absorção e (3) o padrão que melhor caracteriza a espécie alvo. Dini et al. (2020), realizaram uma extração em fase sólida para isolar polifenóis do azeite e utilizou o ensaio colorimétrico tradicional (método de Folin-Ciocalteu) para quantificá-los.

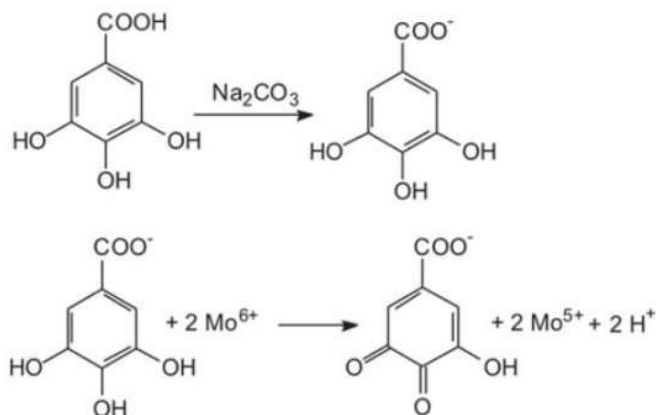


Figura 1: Representação da reação de um composto fenólico. No exemplo, o ácido gálico, em condição alcalina propicia que substâncias redutoras, como as substâncias fenólicas, dissociem um próton, levando à formação do ânion fenolato, que reage com o complexo fosfomolibdico do reagente de Folin-Ciocalteu. Fonte: Ribeiro (2019).

Castelo-Branco e Torres (2011), já falavam sobre o desafio para reproduzir certos métodos em óleos, uma vez que a maioria deles foram desenvolvidas para análises em amostras aquosas. É importante lembrar que a metodologia de fenóis totais frequentemente é a base de água, no entanto alguns óleos e óleos-resinas *in natura*, como de *Copaifera* sp. e *Carapa guianensis* Aublet, quando são utilizados em meio de preparo aquoso, esses se tornam turvos e esbranquiçados, inviabilizando leituras que tenham por base a turbidez ou não solubilizam.

A análise dessas resinas (*in natura*) e outros óleos de difícil avaliação de seu conteúdo fenólico é de grande importância, tendo em vista que em muitas regiões do Brasil o óleo-resina puro é amplamente utilizado para o tratamento de diversos males (PIRES; GRISOTTO; GRISOTTO, 2017; LEANDRO; JARDIM; GAVILANES, 2017), sendo os produtos de origem naturais muitas vezes o único meio de tratamento de enfermidades por comunidades tradicionais que vivem em áreas afastadas dos centros urbanos (RODRIGUES et al., 2019; SILVA; SANTOS, 2022). Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar diversas condições de reação de Folin_Ciocalteu, com a finalidade de ajustar o método para aplicação em substâncias resinosas como óleo-resina de copaíba e andiroba puros (*in natura*).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 onde os experimentos foram conduzidos

2.1 Preparo das soluções padrões e das amostras

- Solução de ácido tânico 200 µg/mL (ácido 3,4,5-triidroxibenzoico; MM = 170,12 g/mol): dissolver 2 mg de ácido tânico em 10 mL etanol (99,6%). A partir da solução mais concentrada foram realizadas diluições sucessivas nas concentrações 32, 48, 64, 80, 96, 128 e 160 µg/mL.
- Copaíba: 500 mg/mL (óleo resina) em um balão de 10 mL foi pipetada e pesado 5g de copaíba e o volume completado com etanol (99,6%). A partir da solução mais concentrada foram realizadas diluições sucessivas para as concentrações 30, 60, 100, 200 e 300 mg/mL
- Andiroba: 500 mg/mL (óleo resina) em um balão de 10 mL foi pipetada e pesado 5g de andiroba e o volume completado com Isopropanol (99,6%). A partir da solução mais concentrada foram realizadas diluições sucessivas para as concentrações 60, 100, 200 e 300 mg/mL

2.2 Modificações realizadas

O ensaio foi adaptado e modificado para óleos ou óleo-resinas em três partes experimentais:

- I) Solubilização e diluição das amostras oleosas por etanol, dimetilsulfóxido, isopropanol e acetato de etila. Solventes frequentemente usados para resinas e alguns óleos (Wojtunik-Kulesza, 2020; Shigihara et al., 2022).
- II) Adição de Tween 80: Uma vez que as amostras em estudo demonstraram fraca solubilidade em meio aquoso e se tornaram turvas, foi utilizado tween 80 buscando solucionar esta interferência.
- III) Alteração na forma de preparo da metodologia básica: Após as tentativas I e II, foi então realizada uma modificação na forma de preparo dos reagentes que compõem a metodologia básica (Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio), por meio da substituição de parte da água por solventes mais apolares.

IV)

2.2.1 Alteração na forma de preparo da metodologia básica

Quando concentrações mais elevadas de óleo de copaíba e andiroba são utilizados em meio de preparo aquoso, esses se tornam turvos e esbranquiçados, inviabilizando leituras

que tenham por base a turbidez (MUSSI, 2011). É importante lembrar que a metodologia de fenóis totais frequentemente é a base de água, como descrito por Santos et al, (2017), no entanto para que fosse possível avaliar a presença deles nas resinas, foram necessárias alterações na forma convencional de preparo. A fim de conferir se as alterações na metodologia básica iriam afetar ou resultar em efeito falso-positivo, as soluções necessárias para metodologia de fenóis totais foram realizadas duas formas distintas aqui denominadas de preparo convencional (PC) e preparo adaptado (PA) (quadro 1), possibilitando compará-las.

Forma de preparo convencional

A forma convencional (PC) seguiu a instrução a base de água de preparar a solução, assim como é descrito por Singleton e Rossi (1965) e Santos (2017), porém, com o aumento do volume nos tubos para fim de comparação com as demais amostras que precisaram passar pela adaptação da metodologia, centrifugação e utilização somente do sobrenadante. Nela o Folin-Ciocalteu foi preparado com água na proporção 1:1 (v/v), o carbonato de sódio 5%, pesando 2g para 40 mL de água. Em tubos foram adicionados 0,1mL do padrão diluído nas concentrações, em seguida foram adicionados 0,1 mL de água, 0,1 mL de Folin-Ciocalteu e 0,5 mL de carbonato de sódio, deste modo o volume final no tubo de ensaio foi 0,8mL. Por fim centrifugou-se a solução em 3000 rpm por 10 min e o sobrenadante foi lido em 732 nm.

Forma de preparo adaptada

O preparo adaptado (PA) se deu da seguinte forma: O reagente Folin-Ciocalteu manteve uma proporção já citada na literatura convencional 1:1 (v/v), que corresponde ao Folin diluído no solvente (água), no entanto para reduzir a quantidade de água no sistema foram utilizados dois solventes nessa diluição, água e metanol, utilizando 50% de cada um (ex.: 8 mL de Folin: 4 mL de H₂O e 4 mL de metanol).

A solução de carbonato de sódio 5% foi preparada pesando 2g e diluído em água e metanol na proporção 1:1 (20 mL de água e 20 mL de metanol), sendo necessário aguardar a formação de precipitado e filtrar a solução em filtro de papel. A proporção de água e metanol foi testada até um ponto em que interferisse minimamente na amostra, mas que também conseguisse diluir o carbonato de sódio, por fim a solução foi centrifugada.

Em tubos de ensaio foram adicionados 0,1mL do padrão diluído em diferentes concentrações, 0,1 mL de isopropanol, 0,1 mL de folin e 0,5 mL, finalizando com a centrifugação e leitura do sobrenadante em 732 nm. Todas as análises foram realizadas em

triplicata, as curvas das formas de preparo também foram testadas em triplicatas em dias diferentes e comparadas estatisticamente.

2.2.2 Preparo do teste - Protocolo tanto para o método convencional e adaptado

- 1- Adicionou-se o padrão nas seguintes concentrações 32, 48, 64, 80, 96, 128 e 160 $\mu\text{g/mL}$ de ácido tânico, completando a série de tubos para 1mL com seu respectivo solvente.
- 2- adicionou-se 100 μL do folin;
- 3- Adicionou-se 100 μL de isopropanol ou água, dependendo da forma de preparo que se estava seguindo
- 4- adicionou-se 500 μL de carbonato;
- 5- **Branco:** 200 μL de água destilada + 100 μL de Folin + 500 μL Na_2CO_3
- 6- Agitar os tubos para uniformizar a solução e esperar e mantê-los ao abrigo da luz até o momento da leitura:
- 7- Centrifugar em 3000 rpm por 10 min:
- 8- Pipetar 300 μl do sobrenadante das amostras em triplicata para microplaca de 96 poços:
- 9- Realizar leitura do sobrenadante no leitor de microplacas em 732 nm, 40 minutos após a mistura dos reagentes e amostras nos tubos de ensaio.

Através da interpolação da absorbância final em curva padrão de ácido tânico, os resultados foram expressos em μg de equivalentes em ácido tânico (EAT) por mg do óleo resina (*in natura*). Além disso, para garantir a replicabilidade, estabilidade, e confiabilidade os testes foram repetidos três vezes.

Análise estatística

Os dados avaliados foram expressos em média \pm desvio padrão. Para obtenção e comparação das médias foram utilizados o teste de Kruskal Wallis e teste de Tukey ($P < 0,05$), a partir do programa Infostat (DiRienzo et al. 2010).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeira etapa do experimento teve por objetivo aumentar a solubilidade do óleo resina com solventes de diferentes polaridades, substituindo o metanol por outros solventes mais apolares como etanol, DMSO e álcool isopropílico, levando em conta estudos anteriores (WOJTUNIK-KULESZA, 2020; SHIGIHARA et al., 2022). O óleo de copaíba diluiu muito bem em todos os solventes testados, porém, andiroba somente foi solúvel em

álcool isopropílico (fig. 2A). Solventes de diferentes polaridades foram testados no ensaio de fenóis totais, no entanto, apesar da mudança não foi possível obter a melhoria esperada na qualidade da solução, uma vez que independente do solvente utilizado para diluir os dois óleos, observou-se uma forte turvação quando em contato com os reagentes que compõem a metodologia básica (fig. 2B), se agravando ainda pela formação de fases e bolhas de óleo ao misturá-los. Sendo assim, mesmo que os solventes testados sejam favoráveis para diluição dos óleos-resinas o resultado foi uma turvação extensa.

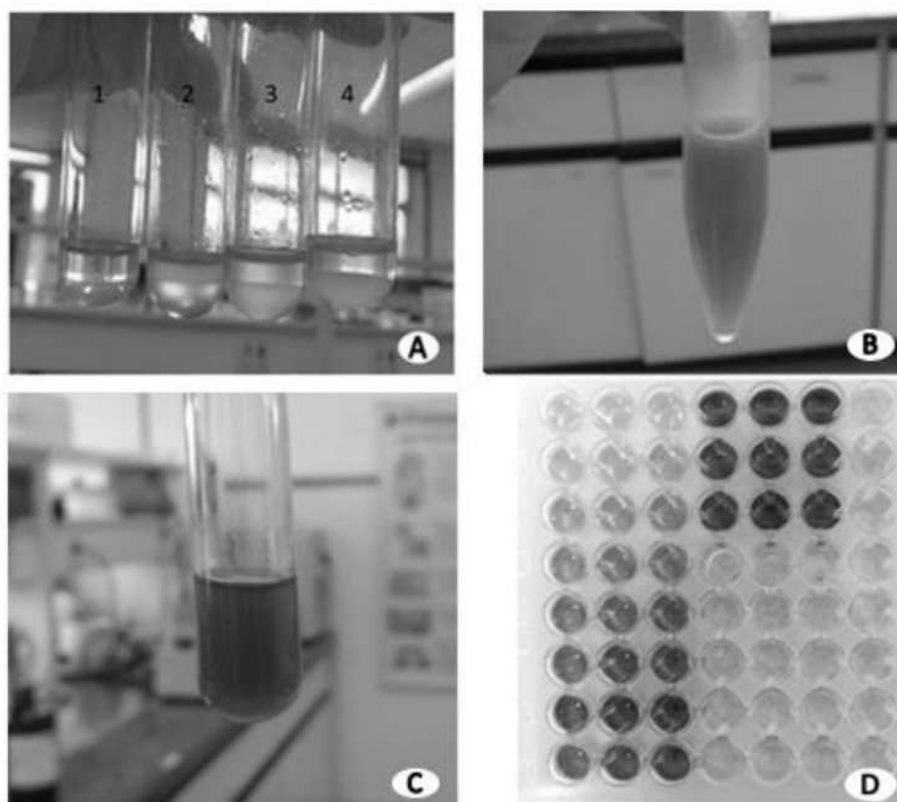


Figura 2: Amostra do óleo resina de copaíba na metodologia de fenóis totais. A – Teste de diluições do óleo de andiroba e formação de fases diferentes reagentes: isopropanol (1), DMSO (2), metanol (3), etanol (4); B - turvação do óleo de copaíba quando em contato com os reagentes da metodologia básica; C – Sobrenadante após centrifugação da amostra com os reagentes da metodologia de fenóis totais; D – amostra após pipetada na placa de 96 poços para leitura. Fonte: Acervo pessoal (2021).

Para obter uma solução límpida e resultados de ensaio confiáveis, foi então diluído o óleo utilizando 1% de tween 80, caracterizado por uma baixa ação tóxica e por ser usado em vários ramos da química e da farmácia (HAMZA et al., 2020). Wojtunik-Kulesza (2020), em sua pesquisa visando otimizar a metodologia FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) para testes em monoterpenos, descreve que em alguns casos, a adição de Tween 20 melhorou a solubilidade e o potencial de estudo de certos terpenos investigados, obtendo a

redução ou desaparecimento da turvação. No entanto, nestes resultados as medições preparadas com o surfactante demonstraram turvação e conseqüentemente induziu um aumento no valor de absorvância.

Foi então realizada uma modificação na forma de preparo dos reagentes que compõem a metodologia básica (carbonato de sódio e Folin-Ciocalteu), por meio da substituição de parte da água por solventes mais apolares. Notou-se que quanto menor a polaridade dos solventes utilizados para adaptar a metodologia, maior era a quantidade de corpo de fundo no tubo ao misturar todos os componentes necessários para o teste, mas o aumento da polaridade influenciaria negativamente na diluição do óleo, após testar diferentes combinações mantivemos então uma proporção de 1:1 v/v, ajustando os solventes utilizados na diluição, buscando manter um equilíbrio benéfico para diluição do óleo e do carbonato de sódio (onde anteriormente se fazia somente água, agora se faz ex. 20mL de água e 20mL metanol), obtendo um bom resultado para alteração. A mesma lógica de combinações e testes de diluição foi realizada para o reagente folin, como já descrito em materiais e métodos, buscou-se manter a proporção citada em trabalhos como o de Anjos et al. (2017), porém ajustando o solvente utilizado para diluir o folin, a fim de reduzir a quantidade de água final no sistema.

Após está terceira opção de modificação, foi possível observar uma pequena turbidez e certa quantidade de corpo de fundo, provavelmente resultante de grandes diferenças de polaridade entre o tampão água/carbonato de sódio e o solvente orgânico, mas que após centrifugação não interferia na leitura das amostras (Fig. 2C e D). A alteração foi testada em dois óleos vegetais (*in natura*) e para que não houvesse dúvidas se o ajuste na metodologia estava realmente nos dando um resultado real e não um falso-positivo, foi então utilizado uma substância padrão que poderiam ser aplicados tanto no preparo convencional (PC) e preparo adaptado (PA).

O padrão trolox (6-hydroxy-2,5,7-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) foi testado nas mesmas concentrações nas duas formas de preparo, PC e PA sem qualquer interferência, porém não foi possível realizar as análises das amostras em PC devido à baixa solubilidade dos óleos com a solução preparada de carbonato de sódio e o reagente Folin-Ciocalteu, necessárias para o teste de fenóis totais. Sendo possível avaliar as amostras de óleos-resinas somente com o preparo adaptado, onde obtivemos um resultado satisfatório.

Determinação do conteúdo total de fenólicos

O reativo de Folin-Ciocalteu, quando na presença de compostos fenólicos, muda sua coloração de amarela para azul, e a intensidade da coloração azul é maior quanto mais compostos fenólicos houver na solução, assim como a maior absorvância. O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorvância das amostras com uma curva de calibração construída com padrão de ácido tânico e expressos em mg de equivalentes de ácido tânico em g da amostra diluída (mg EAT/g).

O experimento obteve uma boa capacidade de repetibilidade, que se caracteriza pela repetição de um determinado experimento, pelos mesmos pesquisadores, em dias distintos, no mesmo local de origem, com os mesmos insumos, onde os resultados iniciais são obtidos, dentro de uma faixa de variação aceitável, determinada em função do tipo da pesquisa (COSTA; COSTA, 2021). Deste modo, foram preparadas duas curvas de calibração uma para cada modo de preparo (Fig. 3), cada concentração foi testada em triplicatas e cada curva também foi testada em triplicada em dias distintos, como não houve diferença estática entre as triplicatas de curva de um mesmo modo de preparo, foram escolhidas aquelas com melhores R^2 .

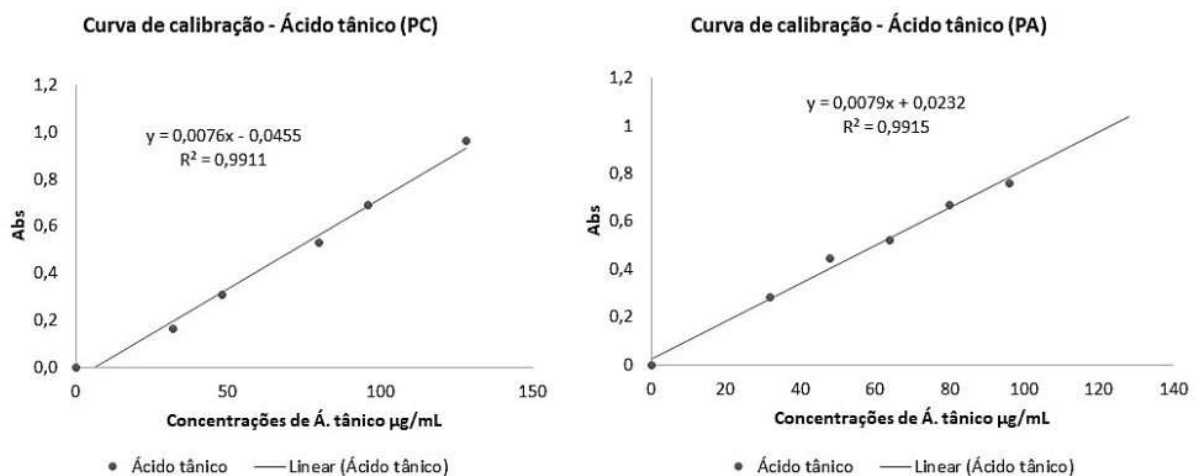


Figura 3: Curva padrão de ácido tânico para fenóis totais: forma de preparo convencional (PC) e preparo adaptado (PA). Curva padrão ácido tânico nas concentrações de 0 a 128 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}$ versus as absorvâncias lidas a 732 nm.

Para interpolação das absorvâncias das amostras foi construída uma curva analítica com solução padrão de ácido tânico (32, 48, 64, 80, 96, 128 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}$). A Equação de regressão linear obtida para ácido tânico foram $y = 0,0079x - 0,0232$ (PA) e $0,0076x - 0,0455$ (PC), e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9915$ (PA) e $0,9911$ (PC).

Após construir a curva padrão de ácido tânico em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}$ para cada uma das formas de preparo, foi substituído o valor de Y na equação da reta da curva padrão pela absorvância

da amostra e calcular o valor de X correspondente à equivalência da absorvância da amostra em μg de ácido tânico. A seguir, calculou-se a massa de amostra em grama na mistura de reação e, por fim, foi dividido o valor da amostra em equivalente de ácido gálico pela sua massa (g equivalentes de ácido tânico/mg de amostra) (HARB et al., 2016).

Não houve diferença estatística para o valor obtido entre as duas formas de preparo, sendo $3,00 \pm 0,01$ PA e $3,03 \pm 0,01$ PC mg EAT/ g de óleo-resina de andiroba e $1,52 \pm 0,03$ PA e $1,48 \pm 0,03$ PC mg EAT/ g de copaíba, o que demonstra que independente da forma de preparo escolhido não haverá interferência na avaliação correta de fenóis totais

Artigos e pesquisas científicas falam sobre a importância dos compostos fenólicos, isso deve-se muito ao fato deles apresentarem inúmeros benefícios já confirmados cientificamente, a exemplo de sua significativa contribuição para o potencial antioxidante, tendo em vista que os constituintes fenólicos podem reagir com espécies reativas de oxigênio (NUNES, 2019). Cardoso (2022), reafirma isso ao estabelecer uma correlação entre eles, associando o perfil de fenóis totais à atividade antioxidante. Pereira et al. (2018), reconhece essa relação, e afirma ainda que os compostos fenólicos com atividades antioxidantes seriam responsáveis pela ação contra a atividade antimicrobiana. Tungmunnithum et al (2018) menciona o uso de compostos fenólicos como um potencial candidato a agentes bioativos nos setores farmacêutico e medicinal para promover a saúde humana, prevenir e tratar diversas doenças.

As concentrações dos componentes químicos presentes nos óleos-resinas podem ser influenciadas por diversos fatores, como a diferença de táxons, características do solo, condições climáticas e a estação ou período do ano em que são extraídas (TEIXEIRA et al., 2017; SANTOS et al., 2022). Desta forma, por sua rica composição química e importantes alternativas de aplicações farmacêuticas e medicinais, os óleos-resinas de copaíba e andiroba são importantes fontes de princípio ativo em farmacologia, o que também é evidenciado por Miranda, Muniz e Silva (2016).

No entanto, apesar da extensa literatura sobre óleo de copaíba e andiroba são poucos os dados sobre compostos fenólicos nas resinas *in natura*, que frequentemente é analisado a partir da extração do óleo por meio de solvente de diferentes polaridades como por Liviac et al. (2019), o que possibilita a sua diluição e análises por diferentes metodologias. No entanto, são frequentemente utilizados *in natura*, principalmente na região norte do Brasil (MAURMANN et al., 2022) e a partir da adaptação da metodologia foi possível quantificar os compostos fenólicos totais, o que pode ser proveitoso também para outras resinas e óleos com difícil adaptação em metodologias realizadas em meio aquoso. A alteração na

metodologia não impossibilitar a comparação com outros trabalhos que utilizam o preparo convencional de quantificação de fenóis totais, uma vez que não houve diferença estatística entre elas.

4. CONCLUSÃO

Os resultados desta pesquisa constataram que a melhor forma de ajustar a metodologia de fenóis totais, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, para aplicação em óleos e substâncias resinosas foi a alterando levemente a forma de preparo da metodologia básica. Foi possível observar uma melhora no procedimento, possibilitando a análise quantitativa de fenóis totais presentes no óleo-resina andiroba e óleo de copaíba *in natura*, podendo ser viável para outros trabalhos com compostos de difícil adaptação em metodologias realizadas em meio aquoso. Além disso o experimento obteve uma boa capacidade de repetibilidade e não houve diferença estatística entre as formas de preparo com alteração e a convencionalmente utilizada na literatura.

5. REFERÊNCIAS

ANJOS J. C.; MUNHOZ M. P.; SILVA, V. N.; TIRAPELI, K. G.; PEREIRA, A. A. F.; NAKAMUNE, A. C. M. S. Estudo in vitro da atividade antioxidante de *Hibiscus Sabdariffa* L. Revista Saúde Unioledo, v. 1, n. 1 (2017).

BLAINSKI A.; LOPES G. C.; PALLAZO DE MELLO J. C. Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium Brasiliense* L. Molecules 18: 6852– 6865, 2013. <https://doi.org/10.3390/molecules18066852>

CARDOSO, R. H. F. Levantamento bibliográfico da atividade antioxidante da Siriguela (Spondias Purpurea L.). / Ruth Helly Ferreira Cardoso. 2022. Disponível em: . Acesso em: 22 nov. 2022.

CASTELO-BRANCO, V. N.; TORRES, A. G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Comunicação** • Rev. Nutr. 24 (1) , 2011 • <https://doi.org/10.1590/S1415-52732011000100017>

DINI, I.; SECCIA, S.; SENATORE, A. *et al.* Desenvolvimento e Validação de Método Analítico para Quantificação de Polifenóis Totais em Azeites de Oliva Extra Virgem. *Análise Alimentar. Métodos* 13, p.457–464, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01657-7>

GRODZICKI, W.; DZIENDZIKOWSKA, K. The Role of Selected Bioactive Compounds in the Prevention of Alzheimer's Disease. *Antioxidants* 9(3), 229, 2020.

HAMZA, M. A.; ABOU-GAMRA, Z. M., AHMED, M. A *et al.* O papel crítico do Tween 80 como modelo 'verde' nas propriedades físicas e no desempenho fotocatalítico de

nanopartículas de TiO₂ para fotodegradação de rodamina B. *J Mater Sci: Mater Electron* 31, p. 4650–4661, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10854-020-03017-2>

HARB, T. B.; TORRES, P. B.; PIRES, J. S.; SANTOS D. Y.A.C.; CHOW, F. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do sistema quelante de metais para extratos de algas. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. 2016. DOI:10.13140/RG.2.2.35838.69446

KOIVIKKO, R. Brown algal phlorotannins. Improving and applying Chemical Methods. University of Turku. 2008. Disponível em: Acesso em: 02 dez 2022.

LEANDRO Y. A. S.; JARDIM I. N.; GAVILANES M. L. uso de plantas medicinais nos cuidados de saúde dos moradores de assentamento no município de Anapu, Pará, Brasil. *Biodiversidade* - v.16, n2, 2017.

LIMA, J. S. Formulações cosméticas contendo óleo de andiroba. 2018. Disponível em: Formulações cosméticas contendo óleo de andiroba. Acesso em: 06 dez 2022.

LIVIA D.; RAUNELLI P.; ALVIS R.; PUENTE S.; BEST I; OSCAR REATEGUI O. Phytochemical Analysis, in vitro Antioxidant Capacity and Toxicity Assessment of *Copaifera paupera* Oleoresin. *Pharmacognosy Journal*, v.11 (2), 2019.

Maurmann N.; Lund D. G.; Pereira D. P.; Pranke P. Evaluation of the chemical composition of a copaiba oil (*Copaifera* spp.) and its effect on mesenchymal stem cells. *Rev Med (São Paulo)*, 101(5), 2022.

MIRANDA D. H. S.; MUNIZ J. W. C.; SILVA D. P. Estudo comparativo da ação anti-inflamatória do óleo-resina da *copaifera reticulata* em modelos farmacológicos experimentais em camundongos. *Fisioterapia Brasil* v17, n4, 2016.

MUSSI, M. C. M. Análise da atividade antimicrobiana dos óleos de dopaíba (*Copaifera officinalis*) e da melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) sobre *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas gingivalis*: força das concentrações inibitórias e bactericidas mínimas e efeito de concentrações subinibitórias sobre a agregação. 2011. Dissertação (Mestrado em Patologia Bucal) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2011. doi:10.11606/D.25.2011.tde-06122011-101438.

NUNES, J. S. N. Contribuições em morfoanatomia foliar, fitoquímica, alelopatia e caracteres farmacognósticos preliminares de *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae), de Itacoatiara, médio Rio Amazonas. Dissertação (Mestrado) - Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos, Universidade Federal do Amazonas. p. 98, 2019.

PEREIRA, E. S. et al. *Psidium cattleianum* fruits: a review on its composition and bioactivity. *Food Chemistry*, v. 258, p. 95-103, 2018.

PIRES L. K. S.; GRISOTTO M. G.; GRISOTTO R. F. O uso de plantas da Amazônia na produção de bioprodutos para tratamentos de pele. *Rev. Investig. Bioméd. São Luís*, 9:78-88, 2017.

RODRIGUES P. F. A.; FACUNDES A. S.; SANTOS M. S.; BRITO A. C.; PEREIRA L. P. Valor de uso de planta da família Araceae na região de Munguba/Porto Grande/ AP. in: Botânica aplicada 2 [recurso eletrônico] / Organizador André Luiz Oliveira de Francisco. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019.

SANTOS, V. R. N.; MOTTA J. V. S.; FRAZÃO D. R.; RAILSON DE OLIVEIRA FERREIRA R. O.; SOUZA-MONTEIRO D.; BAIA-DA-SILVA D. C.; MENDES P. F. S.; BITTENCOURT L. O.; MOURA J. D. M.; LAMEIRA O. L.; BALBINOT G. S.; COLLARES F. M.; RÖSING C. K.; LIMA R. R. Biological Activity of Copaiba in Damage to the Alveolar Bone in a Model of Periodontitis Induced in Rats. *Molecules*, 27(19), 6255, 2022.

SAUTHIER, MC DA S; SILVA, M. D.; MIRANDA, O. C.; SENA, A. C; CARMO, L. S; CASSIANO, J. S. Determinação espectrofotométrica de bioativos fenólicos em manga (*mangifera indica* L) comercializada em governador Mangabeira-Bahia / Determinação espectrofotométrica de bioativos fenólicos em manga (*mangifera indica* L) comercializada em governador Mangabeira-Bahia. *Brazilian Journal of Development* , 7 (4), 2021.

SHIGIHARA T. H.; PIRES E. F.; JUSTO D. A.; SILVA J. A.; ZARA R. F.; MARTIN C. A.; COTTICA S. M.; TIUMAN T. S. OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE PRÓPOLIS VERDE PELA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E INCORPORAÇÃO EM BIOFILME DE QUITOSANA. *Revista Univap - São José dos Campos-SP-Brasil*, v. 28, n. 59, 2022.

SILVA, R.; BISPO DOS SANTOS, C. Levantamento das plantas medicinais utilizadas contra parasitoses intestinais no município de Santana do Ipanema/AL. *Diversitas Journal*, 7(2), 2022.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158. 1965.

TEIXEIRA, F.B.; SILVA, R. B.; LAMEIRA, O.A.; WEBBER, L.P.; D'ALMEIDA COUTO, R.S.; MARTINS, M.D.; LIMA, R.R. Copaiba oil-resin (*Copaifera reticulata* Ducke) modulates the inflammation in a model of injury to rats tongues. *BMC Complement. Altern. Med.* 14, 313, 2017.

TUNGMUNNITHUM D.; THONGBOONYOU A.; PHOLBOON A.; YANGSABAI A. Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. *Medicines*, 5(3), 9, 2018.

VELLOSA, J. C. R; BIAVATTI, M.; FRANÇÓIA, P.C.O, MELLO, B.J.; ALMEIDA, A. C.; BUENO, G. E. Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte / Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte. *Brazilian Journal of Development*. 7 (1), 10152–10168, 2021.

VERRUCK S.; PRUDENCIO E. S.; SILVEIRA S. M. Compostos bioativos com capacidade antioxidante e antimicrobiana em frutas. *Revista CSBEA* –v. 4, n. 1, 112, 2018.

WOJTUNIK-KULESZA, K.; DRASAR, P. B.; KHRIPACH, V. A. Approach to Optimization of FRAP Methodology for Studies Based on Selected Monoterpenes. *Molecules*. 25(22), 2020. doi: 10.3390/molecules25225267.

CAPÍTULO 2 - CITOTOXIDADE E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO RESINA DE *Carapa guianensis* aubl (ANDIROBA)

Plúcia Franciane Ataíde Rodrigues¹; Sara Nascimento dos Santos²; Iasmini Nicoli Galter²; Ramila Tainara de Araújo Ataíde Wanzeler³; Enzo Zini Moreira Silva²; Carine Coneglian de Farias Colman⁴; Silvia Tamie Matsumoto²; Hildegardo Seibert França⁴

⁽¹⁾ Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil. Pluciargds12@gmail.com

⁽²⁾ Universidade Federal do Espírito Santo, Laboratório de Mutagênese e Toxicologia Ambiental (GEMUT), CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

⁽³⁾ Faculdade de Macapá, colegiado de enfermagem, CEP 68906-720, Macapá, AP, Brasil.

⁽⁴⁾ Instituto Federal do Espírito Santo, colegiado do curso de bacharelado em Biomedicina, CEP 29056-264, Vila Velha, ES, Brasil.

A ser submetido: 1677-941X - *Acta Botânica Brasilica*, em 25 março de 2023.

RESUMO

O óleo de *Carapa guianensis* Aubl é utilizado para inúmeras indicações populares, frequentemente as comunidades utilizam esse óleo puro e extraído de forma tradicional, sendo considerada uma das espécies mais valiosas pelos ribeirinhos da região amazônica. O presente estudo teve por objetivo avaliar a composição química, a capacidade antioxidante *in vitro*, a citotoxicidade do óleo vegetal de andiroba. O óleo vegetal de *C. guianensis* foi adquirido com cooperados no município de Mazagão-AP, lote 02/2020. Para os testes de capacidade antioxidante foram realizadas pelos métodos de DPPH e ABTS. A atividade citotóxica foi pelo ensaio colorimétrico por MTT usando células epiteliais CHO-K1. Análises químicas foram realizadas pela quantificação de fenóis totais, além da prospecção fitoquímica por cromatografia em camada delgada (CCD) e identificação pela cromatografia de fase gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (GC/EM). O óleo de *C. guianensis* apresentou IC₅₀ de 254,2 ± 10 mg/mL e 274,9 ± 6,19 mg/mL para DPPH e ABTS, respectivamente, ao analisar os fenóis totais obteve-se um valor de 80,0 ± 0,01 mg TE/ g⁻¹ do óleo de andiroba *in natura*. A análise da citotoxicidade do óleo vegetal de andiroba não resultou perda significativa da função mitocondrial em comparação ao controle negativo, já que os tratamentos apresentaram alta porcentagem de células viáveis variando de 82 a 127% da viabilidade celular. Na prospecção fitoquímica pode-se observar somente a presença de ácidos graxos com mancha no mesmo R_f do padrão de ácido oleico. Os compostos identificados por cromatografia de fase gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (GC/EM) foram derivados de ácidos graxos, como o ácido oléico, ácido palmítico, ácido esteárico e o ácido linoléico com área relativa de 32.85; 26.06; 13.28; 11.79 %, respectivamente. Com esse trabalho concluímos que o óleo vegetal de andiroba apresenta atividade antioxidante *in vitro*, baixa citotoxicidade em células epiteliais CHO-K1 e com a presença de ácido oléico e palmítico representando mais de 50% da composição química do óleo.

Palavras-chave: Antioxidante. fenóis totais. produtos naturais. Óleo-resina. andiroba.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the chemical composition, antioxidant capacity in vitro, cytotoxicity of andiroba vegetable oil. The vegetable oil of *C. guianensis* was acquired from cooperative members in the municipality of Mazagão-AP, lot 02/2020. For the antioxidant capacity tests were performed by the DPPH and ABTS methods. Already the cytotoxic activity was by colorimetric assay by MTT using CHO-K1 epithelial cells. The *C. guianensis* oil presented IC₅₀ of 254.2 ± 10 mg/mL and 274.9 ± 6.19 mg/mL for DPPH and ABTS, respectively. When analyzing the total phenols, a value of 80.0 ± 0.01 mg TE/ g⁻¹ of andiroba oil in natura was obtained. The analysis of cytotoxicity of andiroba oil did not result in significant loss of mitochondrial function compared to the negative control, since the treatments showed a high percentage of viable cells ranging from 82 to 127% of cell viability. In the phytochemical prospection it could be observed only the presence of fatty acids with staining in the same R_f of the oleic acid standard. The compounds identified by GC/MS were derivatives of fatty acids, such as oleic acid, palmitic acid, stearic acid and linoleic acid with relative area of 32.85; 26.06; 13.28; 11.79 %, respectively. With this work we conclude that the andiroba vegetable oil presents antioxidant activity in vitro, low cytotoxicity in epithelial CHO-K1 cells and with the presence of oleic and palmitic acid representing more than 50% of the chemical composition of the oil

Key-words: Antioxidant. total phenols. natural products. oil-resin. andiroba.

1. INTRODUÇÃO

Os vegetais produzem uma diversidade de substâncias ativas, seja para proteger seus frutos e folhas de pragas, suportar exposições diretas do sol, resistir a bactérias e fungos e outras variadas funções (SILVA, 2016). No entanto, os óleos vegetais têm recebido grande atenção por parte dos consumidores e da comunidade científica, em decorrência da sua composição química e atividades biológicas que são aproveitadas benéficamente para saúde humana e cuidados com o corpo. Essas práticas são fortemente observadas na região amazônica, por exemplo, onde a utilização de óleos como o extraído de *Carapa guianensis* Aubl (Meliaceae), conhecida como andiroba, uma prática tradicional das comunidades, principalmente na medicina popular, além de ter importante participação na economia regional (LOURENÇO et al., 2017).

O óleo é amplamente utilizado na medicina popular por possuir ampla atividade biológica, bem como ação de analgésico, antibacteriano, anti-inflamatório, antifúngico, antialérgico, antimalárico, sendo eficaz contra feridas, hematomas, úlceras de herpes, reumatismo, infecções de ouvido e repelente de insetos (SOUSA et al., 2018). Segundo (SOUSA et al., 2019), moradores da comunidade Mamangal, Igarapé-Miri -PA, utilizam o óleo puro ou misturado com mel de abelha, limão, laranja da terra, óleo de mamona e sal de cozinha, para tratar problemas respiratórios: gripe, tosse seca ou produtiva, sinusite e dores em geral: garganta, inchaço, machucado, massagem muscular, assim como para cosmético: hidratação dos cabelos, repelente e tratamento de ferimentos de animais domésticos.

O Óleo de andiroba apresenta compostos como flavonoides, frequentemente referenciados por sua ação antioxidante, assim como os esteróis e polifenóis reconhecidos pela cicatrização de machucados por causa da sua eliminação de radicais livres e atuação antioxidante, agentes envolvidos na diminuição da oxidação lipídica, recuperando a vascularização e contendo a necrose celular (BUDOVSKY et al., 2015; ASSIS; LYRA, 2021). No entanto, muitos compostos podem possuir tanto propriedades terapêuticas quanto tóxicas, deste modo é importante que sejam realizados testes para avaliar o potencial citotóxico de substâncias mesmo que de origem natural, visando assim a obtenção de terapias e produtos mais seguros. Esses testes toxicológicos são frequentemente realizados frente a sistemas testes animal ou vegetal (GOLÇALVES, 2021).

Silva (2018), avaliou no óleo fixo extraído da semente de andiroba, as propriedades físico-químicas e o perfil dos ácidos graxos, onde constatou por análise cromatográfica a presença do ácido oleico como sendo o ácido graxo insaturado majoritária (42,71%) e o

ácido palmítico (31,02%) como o principal ácido graxo saturado, além de outros ácidos graxos como ácido esteárico, ácido linoleico (12,93%), ácido araquidônico e ácido behênico. A grande atividade biológica do óleo da andiroba mais frequentemente está relacionada à presença dos limonoides, grupo químico comumente associado a espécies da família Meliaceae. Deste modo, o presente estudo teve por objetivo avaliar a composição química, a atividade sequestradora de radicais livres, a citotoxicidade e as indicações de uso por comunidades tradicionais do óleo puro de andiroba (*in natura*).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do óleo-resina (*in natura*) e preparação da amostra.

O óleo-resina foi adquirido com cooperados do município de Mazagão/AP lote 02/2020. A extração do óleo-resina segue a prática tradicionalmente aplicada pela comunidade e outros pesquisadores e descrita por Lima (2022), como obtida a partir da exsudação do tronco de árvores, logo após o término da coleta o furo é vedado com uma rolha de madeira. As amostras do óleo foram preparadas por diluição sucessivas nas concentrações 75, 100, 150, 200, 250 e 300 mg/mL para a realização dos testes antioxidantes. Já para fenóis totais as concentrações foram 60, 100, 200, 300 e 400 mg/mL. No teste de citotoxicidade as concentrações foram 50, 100, 200, 250, 300, 350, 400 mg/mL.

Testes biológicos

Teste com ABTS+: 2,2-azinobis-(3-etil-benzotiazolin-6-ácido sulfônico)

A metodologia para determinação da atividade antioxidante das amostras pela Captura do Radical Livre ABTS seguiu a metodologia de Rufino et al. (2007). No preparo da solução estoque de ABTS, foi dissolvido 192 mg de ABTS em água destilada e o volume foi completado para 50 mL com água destilada. Para solução de persulfato de potássio, foi diluído 378,4 mg de persulfato de potássio em água destilada e completando o volume para 10 mL com água destilada. O radical ABTS^{•+} é preparado a partir da reação de 5 mL da solução estoque de ABTS com 88 µL da solução de persulfato de potássio, a mistura foi mantida no escuro por 16h em temperatura ambiente. Em seguida, diluiu-se 1 mL desta mistura em álcool etílico até obter uma absorbância de 0,70 nm ± 0,05 nm a 732 nm. A mistura foi preparada e utilizadas no dia da análise.

Em ambiente escuro, pipetou-se 250 µL de solução de ABTS^{•+} diluída e adicionou-se 30 µL do óleo puro de andiroba nas seguintes concentrações 75, 100, 150, 200, 250 e 300

mg/mL e o padrão foi Trolox nas concentrações 12, 24, 32, 40, 48 e 56 µg/mL. A placa foi mantida durante 6 minutos em ambiente escuro e em seguida lida em 732nm. O resultado foi expresso em valor de em equivalência do padrão e foi calculado a porcentagem de inibição do radical livre através da equação 1.

$$\% AA \text{ ABTS} = \frac{A_{m\acute{a}x} - A_{amostra}}{A_{m\acute{a}x}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Em que: $A_{m\acute{a}x}$ é a absorbância do ABTS^{•+} em 732 nm na ausência de amostra (controle), $A_{amostra}$ é a absorbância do ABTS^{•+} em 732 nm na presença de amostra

Onde a porcentagem de atividade antioxidante (%AA), é calculada pela absorbância da solução com o radical formado sem a presença de uma amostra $A_{m\acute{a}x}$ e $A_{amostra}$ é a absorbância observada na presença do radical com o analito. Para então calcular o IC₅₀ que é a quantidade de óleo em mg/mL das amostras testadas necessária para diminuir a concentração inicial de ABTS em 50%.

Teste com DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

As amostras foram analisadas utilizando o reagente de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) seguindo o método de Lee et al. (1998). Para preparar a solução mãe de DPPH 500µM, foi necessário pesar 0,0049 g de DPPH e transferir para balão volumétrico de 25 mL, adicionar aproximadamente 15 mL de etanol absoluto, colocar no ultrassom por 2 minutos e após isso completar o volume com etanol e transferir para frasco âmbar de 50 mL. A solução de uso de DPPH precisa estar em 250µM, então a solução mãe foi diluída na proporção 1:1 v/v (uma parte de DPPH 500µM e uma parte de etanol), para deixá-la na concentração de 250µM. As amostras andiroba foram diluídos em isopropanol e testadas nas concentrações 75, 100, 200 e 300 mg/mL. O trolox (10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60 µg/mL) foi utilizado como padrão para estabelecer a curva de calibração para a quantificação. As amostras em diferentes concentrações foram misturadas com a solução de DPPH e essa mistura foi agitada suavemente e deixada em repouso por 30 min no escuro à temperatura ambiente. Mediu-se a absorbância então em 517 nm usando espectrofotômetro (GHAFOOR, 2020). Para calcular o percentual de captação do radical DPPH em termos de atividade antioxidante, foi utilizada a equação 2 e depois foi calculado a concentração de óleo necessária para capturar 50% do radical livre DPPH (IC₅₀).

$$AA (\%) = 100 - \frac{(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \cdot 100}{Abs_{controle}} \quad \text{Equação 2}$$

Onde: AA (%) = percentagem de atividade antioxidante; Ab_{amostra} = absorbância da amostra; Ab_{branco} = absorbância do branco e Ab_{controle} = absorbância do controle.

Culturas de células eucarióticas

Células epiteliais derivadas do ovário do hamster chinês (CHO-K1), foram obtidas no laboratório de Laboratório de Mutagênese *in vitro* e *in vivo* da Universidade Federal do Espírito Santo, cultivadas em meio de cultura HAM-F10:D-MEN (1:1), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) mantidas em estufa de cultura a 37°C, sob uma atmosfera de 5% de CO₂. Os testes de citotoxicidade foram realizados em triplicata.

Teste de viabilidade celular in vitro (trypan blue)

A viabilidade foi determinada pelo teste de quantificação com corante azul de trypan. Utilizou-se 20µL de células para 20µL azul de trypan. Em seguida, uma alíquota de 10µL dessa solução de célula e azul de trypan foi transferida para a Câmara de Neubauer, para quantificação. Deste modo, é possível contabilizar o total de células vivas e mortas, uma vez que células viáveis são impermeáveis a este corante, e que sua penetração na célula indica a perda da integridade de sua membrana.

Ensaio de citotoxicidade - MTT

A citotoxicidade dos óleos em células CHO-K1 foi avaliada através do ensaio colorimétrico MTT. Nele é observado o estado metabólico da célula através da conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5- difenil-2H-brometo de tetrazólio (MTT) de coloração amarela, em cristais de formazan de cor roxa, a partir dos substratos de enzimas microssomais e mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativa, enquanto que as células mortas ou de crescimento lento têm baixo metabolismo, resultando em níveis mais baixos de redução do MTT (ADAN; KIRAZ; BARAN, 2016) deste modo é possível determinar o número de células viáveis.

As suspensões de células CHO-K1 foram semeadas 1×10^5 em placas de 96 poços, conteúdo meio F12/DMEN suplementado com 10% de soro bovino fetal e posteriormente mantidas em estufa BOD a 37°C por um período de 12 horas para a estabilização. Após este período, descartou-se o meio completo de cada poço da placa para adição do novo meio e do tratamento, onde foram adicionados 100 µl da amostra vegetal nas concentrações (50, 100, 200, 250, 300, 350, 400 mg/mL), diluídas em 1% de tween 80, a placa com tratamento foi mantida na estufa por mais 12h. Por fim, os tratamentos foram removidos e adicionou-se

100 µl de solução de MTT (5,0 mg/ml diluído em meio incompleto) para incubação por 4 horas (BRANDÃO et al., 2021).

O controle positivo (CP) foi Triton X-100 e foi negativo (CN) foi meio complementado soro. Passando este tempo o meio foi retirado e adicionou-se 200 µL de DMSO 100% em cada poço, para dissolver os cristais de formazan, a placa então é protegida da luz e agitada em 300 rpm por aproximadamente 4 minutos e em seguida lida a absorbância no espectrofotômetro em 570 nm, por fim calculou-se a viabilidade celular em porcentagem (GALTER, 2016).

A absorbância obtida das células controle (não tratadas) foi considerada como 100% de viabilidade celular (ANDRIGHETT-FROHNER et al., 2003). A citotoxicidade celular do extrato foi calculada da seguinte forma:

$$\text{Células viáveis} = \frac{\text{Média da absorbância de cada concentração do extrato}}{\text{Média da absorbância do controle}}$$

Ensaio químicos

Determinação de Fenóis totais

O conteúdo fenólico total foi determinado por meio do reagente de Folin-Ciocalteu de acordo com um procedimento descrito por Singleton e Rossi (1965) com adaptação de Rodrigues et al (2023, dados não publicados) para óleos e óleos resinas (*in natura*). Para isso as amostras foram diluídas e testadas em diferentes concentrações. Porém, quando o óleo *in natura* de andiroba é utilizado em meio de preparo aquoso, esse se torna turvo e esbranquiçado, inviabilizando leituras que tenham por base a turbidez, deste modo foi utilizada a metodologia com adaptação descrita por (RODRIGUES et., al dados não publicados) para óleo resina. O teste só foi realizado após está modificação na metodologia que possibilitou ser usado puro, uma vez que em outros trabalhos frequentemente usa-se o óleo em diferentes frações ou óleo essencial, o que viabiliza sua diluição em variados solventes, porém pode interferir na sua composição química.

As amostras de óleo puro de andiroba foram diluídas em álcool isopropílico e analisadas nas concentrações 60, 100, 200 e 300 mg/mL. Os padrões foram testados nas seguintes concentrações: 32, 48, 64, 80, 96, 128 e 160 µg/mL de ácido tânico e nas concentrações 48, 64, 80, 96, 128, 160 e 192 µg/mL de trolox. Em tubos de ensaio foram acrescentados 0,1 da amostra ou padrões nas diferentes concentrações, 0,1 mL de isopropanol, 0,1 mL de Folin e 0,5 mL de carbonato de sódio a 5%. Foi necessário

centrifugar a solução em 3000 rpm por 10 min e o sobrenadante foi lido em 732 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Cromatografia em camada delgada (CCD)

A cromatografia em camada delgada (CCD), foi realizado para caracterização do perfil de ácidos graxos no óleo de andiroba. Para isso foi aplicado sobre as placas aproximadamente 5µl da amostra do óleo diluído em isopropanol. Foram usadas cromatoplas de alumínio TLC de sílica gel 60 F254 (Merck, Darmstadt, Alemanha). Os cromatogramas foram observados sob luz visível e ultravioleta 365nm UV-A e 254nm UV-C antes e após os reveladores químicos. Foi utilizado padrão de ácido esteárico e ácido oléico avaliar o perfil de ácidos graxos, sendo a fase móvel tolueno e acetato de etila (93:7) e o revelador solução de vanilina 1% e ácido sulfúrico 5%. As placas foram aquecidas em 110°C em um período de 5–10 min (Sobreira,2019).

Cromatografia de fase gasosa

As análises por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) foram realizadas no Laboratório de Cromatografia do LabPetro, da Universidade Federal do Espírito Santo.

O óleo de andiroba sofreu metilação, onde 3 mg do óleo foram solubilizados em 300uL de KOH/MeOH 0.5M e deixado em refluxo com agitação por 30 minutos, a 60°C. Logo após foi resfriado e adicionou-se 300uL de BF₃/MeOH, deixado em refluxo por 30 minutos, a 60°C. A solução foi resfriada e extraída com 400 µL de hexano e 300 µL de água destilada. A fase orgânica foi recuperada e injetada diretamente em um Cromatógrafo Gasoso acoplado a um Espectrômetro de Massas da Agilent 7890B (Agilent, California, USA) e detector massa modelo 5977A MSD com ionização eletrônica de 70eV. A coluna utilizada foi uma HP-5 de 30 m x 250 µm x 0,25 µm. O injetor foi ajustado para uma temperatura de 290 °C e o detector para 310 °C. A eluição foi iniciada numa rampa de aquecimento iniciando a 40 °C com taxa de aquecimento de 5°C/min até 280 °C, seguido com taxa de aquecimento de 15°C/min até 310 °C permanecendo nessa temperatura por 10min.

Para caracterização foi utilizado padrão de alcano de C10 a C40 que foram submetidos às mesmas condições cromatográficas. Os compostos foram identificados através da comparação com a biblioteca da base NIST seguido pela comparação dos índices de retenção da literatura (EL-SAYED, 2018; NIST CHEMISTRY WEBBOOK, 2018).

Análise estatística

Os dados avaliados foram expressos em média \pm desvio padrão. Para obtenção e comparação das médias foram utilizados o teste de Kruskal Wallis e teste de Tukey ($P < 0,05$), a partir do programa Infostat (DiRienzo et al. 2010).

RESULTADO E DISCUSSÃO

O potencial antioxidante foi expresso como porcentagem de atividade antioxidante, mg de equivalência de trolox por g de extrato bruto e/ou IC₅₀ (PIRES et al., 2017). Neste trabalho, o óleo fixo de andiroba analisado pelos métodos DPPH e ABTS, apresentou atividade antioxidante total de $48,0 \pm 0,01$ (mg trolox/g⁻¹ DPPH) e $21,4 \pm 0,07$ (mg trolox/g⁻¹ ABTS) e o IC₅₀ foi $254,2 \pm 10$ DPPH e $274,9 \pm 6,19$ ABTS.

No ABTS a atividade antioxidante é medida por meio da captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), ou seja, o método ABTS está baseado na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion ABTS^{•+}, o que pode ser gerado por meio de uma reação de oxidação de ABTS com persulfato de potássio e reduzida na presença de substâncias antioxidantes (RUFINO et al., 2007; AMORIM, 2022). Com essa metodologia, pode-se medir a atividade de compostos de natureza lipofílica e hidrofílica (KUSKOSKI et al., 2005).

Embora os dois métodos tenham como princípios básicos a reação de oxirredução, sabe-se que ação dos radicais desses métodos é distinta (SOUZA et al., 2021). Na maioria das vezes, o perfil de compostos apresentado por cada amostra pode gerar resultados distintos em cada metodologia específica utilizando a mesma matriz. Souza (2015) relata os resultados de sua pesquisa e menciona outros trabalhos que assim como o dele apresentaram variação no teste de antioxidantes. Desta forma, é razoável que haja diferença de respostas frente aos radicais DPPH e ABTS.

Também houve diferenças para os valores obtidos para DPPH e ABTS no IC₅₀, além de elevados quando comparados a ao estudo de Marinho (2014), onde a capacidade de sequestro do radical DPPH foi calculada com a concentração dos extratos na ordem de $\mu\text{g}/\text{mL}$ e obteve-se os resultados para %CS₅₀ de 24,84 para o óleo da amêndoa. No entanto, Milhomem-Paixão (2016) ao analisar a atividade antioxidante de 21 óleos obtidos a partir de sementes de andiroba coletadas em 21 locais no estado do Pará - BR, obteve valores de IC₅₀ para as amostras entre 8913 e 43,56 $\mu\text{L}/\text{mL}$,

Estudos demonstram a importância de espécies do gênero *Carapa* Aubl, abordando a atividade antioxidante de diferentes partes da planta, como cascas, frutos, folhas e outros

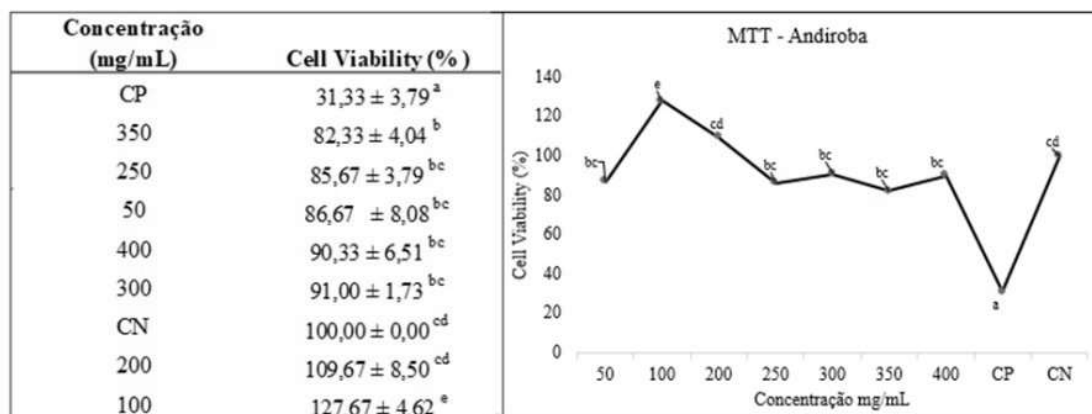
constituintes. Dentre eles, Seck et al. (2021) determinou a capacidade do macerado hidroalcoólico da casca de *Carapa procera* de eliminar o radical ABTS, em equivalência com o padrão Trolox, onde a capacidade antioxidante do extrato foi de 125,15 mg Trolox/g de *C. guianensis* seca. Utilizando DPPH, ele obteve o valor de 10,45 mg equivalentes de vitamina C/g de *C. guianensis*, o autor supõe que esse potencial de eliminação de radicais livres pode ser em decorrência do seu conteúdo fenólico. O que está em conformidade com Mbaebie et al. (2012) e Olugbami et al. (2015) que atribuem atividade antioxidante das plantas analisadas ao seu alto teor de fenólicos.

Araújo-Lima (2018) avaliou a atividade sequestradora de radicais livres de óleos de *C. guianensis* obtidos por três diferentes métodos de extração, constatando que não houve diferenças estatísticas entre os três óleos na determinação do composto fenólico, no entanto o óleo 1, extraído sem o uso de altas temperaturas, apresentou maior atividade sequestradora contra o radical DPPH (EC_{50} de $89,07 \pm 3,67 \mu\text{L/mL}$), ao contrário o observado para os óleos 2 e 3. Sugerindo que os compostos fenólicos extraíveis não são os únicos associados a sequestradores de radicais livres, isso demonstra que a ausência de alta temperatura para extração associada ao menor tempo de processamento evitou que componentes ativos dos extratos fossem degradados, uma vez que a extração sem calor contém maior quantidade de compostos antioxidantes como compostos fenólicos extraídos com água presente no material ou compostos voláteis nas sementes.

Milhomem-Paixão (2016), com base nas informações disponíveis até o momento, ainda não é possível atribuir a atividade antioxidante a um composto específico do óleo de andiroba. No entanto, Wu e colaboradores (2013) acreditam que a atividade antioxidante de um óleo pode ser atribuída aos constituintes que estão presentes nele em maior quantidade, embora não exclua o fato de que mecanismos sinérgicos ou antagônicos também possam estar envolvidos.

Ao analisar a citotoxicidade do óleo fixo de andiroba, sob uma linha de células epiteliais derivadas do ovário do hamster chinês CHO-K1, não resultou em perda significativa da função mitocondrial em comparação ao controle negativo, já que os tratamentos apresentaram alta porcentagem de células viáveis (Fig. 1). Com isso, podemos afirmar que as concentrações de 50 mg/mL a 400 mg/mL do óleo fixo de andiroba não apresentaram efeito citotóxico.

Figura 1: Citotoxicidade (mg/mL) (média +/- desvio padrão da média) do óleo de andiroba *in natura* em células epiteliais derivadas do ovário do hamster chinês CHO-K1. CP:



Controle positivo, CN: Controle negativo. Medias com uma letra comum não são significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Isso está em conformidade com Milhomem-Paixão (2016), que ao analisar a segurança no uso do óleo de andiroba para averiguar efeitos tóxicos adversos e os potenciais usos fitoterápicos do óleo de andiroba, tendo como organismos testes camundongos Swiss fêmeas, observou que nas condições experimentais utilizadas, o óleo de andiroba (500, 1000 e 2000 mg/kg/dia) não foi hematotóxico, genotóxico, mutagênico ou citotóxico. Acreditando ainda, que a atividade antioxidante do óleo tenderia a proteger o DNA celular do dano oxidativo.

Os resultados condizem com os achados de Wanzeler et al. (2018), que investigou a atividade cicatrizante do óleo de *C. guianensis* Aubl. contra a mucosite oral (MO) em hamsters sírios dourados e observou que o tratamento utilizando 100% de óleo de andiroba reduziu o grau de mucosite oral em relação aos demais grupos (óleo de andiroba 10% e óleo de andiroba 10% refinado), o óleo de andiroba em ambas as concentrações não foi citotóxico. No entanto, o uso desse óleo na concentração de 100% por 15 dias consecutivos demonstrou potencial genotóxico nos hamsters sírios, embora a frequência de PCE/NCE não tenha apresentado citotoxicidade em todos os grupos de andiroba.

Além disso, Lemes et al. (2017), avaliou a possível proteção do óleo de *C. guianensis* contra mitomicina C (MMC) e ciclofosfamida, que são agentes químicos mutagênicos de ação direta e indireta, por meio do teste de micronúcleo. Por meio de três experimentos. No primeiro, doses de o óleo de *C. guianensis* foi co-administrado a camundongos nas doses de 250, 500 e 1000 mg/kg com 4 mg/kg de de MMC ou 50 mg/kg de CP. No segundo, foi administrada 50 mg/kg de ciclofosfamida e após 6 e 12 horas foram administrados 250 e 500 mg/kg de óleo de *C. guianensis*. No terceiro, foi administrado óleo de *C. guianensis* (250 e 500 mg/kg pc) durante cinco dias e após administrou-se 50 mg/kg

de CP. Os resultados demonstraram ausência de citotoxicidade e genotoxicidade do óleo para medula óssea de camundongos. Ainda por cima, todas as doses do óleo foram efetivas na redução de eritrócitos policromáticos micronucleados, quando comparadas com MMC ou CP, o que sugere que o óleo de *C. guianensis* apresenta potencial medicinal como agente antimutagênico, modulando a mutagenicidade causada por mutagênicos químicos de ação direta e indireta, em modelo mamífero.

No entanto, quando testado em células ACP02 (linha celular de câncer gástrico), foi observada a evidência de citotoxicidade apenas na maior concentração testada (1 mg/mL), sem exercer efeitos mutagênicos, o que sugere que o *C. guianensis* pode ser útil como agente terapêutico alternativo para tumores primários de câncer de estômago (PORFÍRIO-DIAS et al., 2020).

Na pesquisa desenvolvida por Araújo-Lima et al. (2018), com três óleos de andiroba extraídos por diferentes metodologias, foi feito o ensaio da viabilidade das células CHO-K1 e RAW264.7, onde constatou-se que as células foram afetadas pelos óleos 1, 2 e 3 após 3 e 24 horas de exposição. Foi realizado o ensaio de MN e com exceção do óleo 1, os óleos de andiroba induzem efeitos clastogênicos e aneugênicos em ovários de hamster chinês e macrófagos. Óleo 1 obtido sem o uso de altas temperaturas na extração, mostrou ser o produto mais seguro para uso e o mais promissor em relação aos demais óleos, pois não foi mutagênico ou genotóxico. Essa descoberta indica que a temperatura de extração mais alta associada ao tempo de processamento mais longo leva a um aumento de compostos que induzem danos ao DNA.

Miranda Junior (2012) fala sobre a atividade antiplasmodial significativa do óleo de andiroba e sua fração rica em limonóides, ambos derivados de *C. guianensis*, contra os clones W₂ e Dd₂ de *Plasmodium falciparum*, onde a toxicidade aguda indicou que o óleo de andiroba por via oral na dose única de 2,0 g/kg não produziu nenhum sinal de efeito tóxico ou morte em camundongos durante 14 dias de observação.

O óleo de andiroba é utilizado para diversos fins medicinais, cosméticos e no controle de pragas e parasitas, sendo em muitos casos a única opção de tratamento por comunidades tradicionais que residem longe dos centros urbanos, desejado até mesmo por aqueles que buscam métodos mais confiáveis de tratamento, com isso torna-se importante compreender até que ponto um produto natural é seguro. No presente trabalho, o óleo de andiroba não apresentou atividade citotóxica, mas observa-se na literatura que dependendo da concentração utilizada e do modo de extração do óleo, ele pode apresentar toxicidade.

Neste estudo, também foi avaliado teor de fenóis totais do óleo de andiroba extraído pelo processo tradicional com o óleo fixo, seguindo a adaptação da metodologia descrita por Rodrigues et al. (a ser publicado), para óleos e obteve-se um valor de $80,0 \pm 0,01$ mg TE/ g⁻¹ do óleo de andiroba *in natura*. Muitos trabalhos são realizados com o óleo de andiroba, no entanto frequentemente são utilizadas suas frações em experimentos ou são extraídos com solventes orgânicos, de modo a facilitar sua diluição em solventes de menor polares.

O valor aqui encontrado para o óleo de andiroba é superior aos encontrados por Novello et al. (2015), que avaliou o teor de compostos fenólicos em sete amostras de óleo andiroba, obtendo valores entre 0,11 e 0,35 mg GAE/ g de amostra seca. E bem próximos ao descrito por Seck et al. (2021), para o extrato da casca de *C. guianensis* com 8,2 mg GAE/g da amostra, que é um teor maior em comparação com o obtido nas sementes de *C. procera* por Bienvenu e Marcel (2014) e Diby et al. (2019).

Além da capacidade antioxidante reconhecidamente indicada à compostos fenólicos e já discutida anteriormente, existem várias outras propriedades biológicas que estão associadas principalmente à presença de compostos fenólicos, assim como a outros constituintes do óleo de andiroba e os demais compostos antioxidantes naturais que estão intimamente relacionados com a estabilidade do óleo (NOVELLO et al., 2015). A análise do perfil químico, pode-se observar a presença de ácidos graxos com uma mancha de mesmo Rf referente ao padrão de ácido oleico (Figura2).



Figura 2: Placa revelada de cromatografia em camada delgada para óleo de andiroba. Padrões e amostra para ácidos graxos: andiroba (A), esteárico (B), oleico (C). Fonte: Acervo pessoal (2021).

Um dos padrões utilizados para detecção de ácido graxos foi o ácido oleico, que apresentou presença confirmada neste estudo por CCD e na literatura por outros métodos cromatográficos (RODRIGUES et al., 2016). O ácido oleico é reconhecido por provocar efeitos benéficos na sensibilidade à insulina, o que pode ajudar a explicar os efeitos protetores da dieta mediterrânea contra a obesidade e o diabetes mellitus tipo 2 (PALOMER et al., 2018). Ácido oleico é muito empregado em cremes e emulsões cosméticas pelas suas propriedades emolientes e para recompor a oleosidade em peles ressecadas e com problemas de escamação (RANI et al., 2015).

Na análise por CG/EM foi possível observar no cromatograma picos com tempo de retenção a partir de 29 minutos e que representam mais de 88% da área relativa do cromatograma, sendo identificados conforme Tabela 1 e Figura 3. A substância em proporções maiores é o ácido oleico seguido pelo ácido palmítico, esteárico e linoléico.

Tabela 1 – Substâncias identificadas no óleo de andiroba por cromatografia de fase gasosa acoplado ao espectrometro de massa (CG/EM).

Pico	Tempo de retenção	% área relativa	Substâncias identificadas
1	29.714	1.69	ácido 9-hexadecenoico
2	30.201	26.06	1- ácido palmítico
3	33.292	11.79	ácido linoleico
4	33.483	32.85	ácido oleico
5	33.904	13.28	ácido esteárico
6	37.312	2.36	ácido 18-metil nonadecanóico

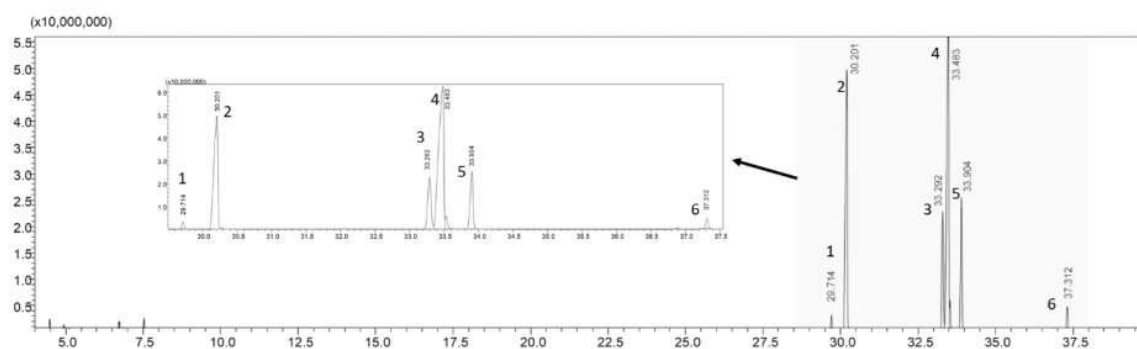


Figura 3: Cromatograma do óleo de Andiroba por cromatografia de fase gasosa acoplado ao espectrometro de massa (CG/EM) mostrando as substâncias identificadas. 1- ácido 9-hexadecenoico; 2- ácido palmítico; 3- ácido linoleico; 4- ácido oleico; 5- ácido esteárico; 6- ácido 18-metil nonadecanóico

Silva et al. (2018), avaliou no óleo fixo extraído da semente de andiroba, as propriedades físico-químicas e o perfil dos ácidos graxos, onde constatou, por análise cromatográfica, a presença do ácido oleico como sendo o ácido graxo insaturado majoritário (42,71%) e o ácido palmítico (31,02%) como o principal ácido graxo saturado, além de outros ácidos graxos como ácido esteárico, ácido linoleico (12,93%), ácido araquidônico e ácido behênico. O conhecimento das propriedades químicas do óleo de andiroba são fundamentais para o direcionamento na aplicação do mesmo em indústrias de cosméticos e fármacos e até mesmo para utilização segura por comunidades tradicionais.

Milhomem-Paixão et al (2016), ao analisar o óleo de andiroba observou que os compostos saponificados representaram > 97% da amostra e os compostos não saponificados consistiram de esteróides e derivados triterpenóides. Mais de 97% dos ácidos graxos foram representados pelos ácidos oleico, palmítico, esteárico, linoleico e araquidônico. Santos et al. (2022), também indicaram a predominância dos ácidos oleico e palmítico na composição do óleo de andiroba, seguida de outros ácidos graxos minoritários, dentre eles os ácidos linoléico, esteárico, palmitoleico, mirístico e láurico. Algumas variações encontradas geralmente estão relacionadas ao processo de extração e às características naturais desses recursos, como amadurecimento dos frutos, origem geográfica e condições climáticas durante o cultivo.

4. CONCLUSÃO

No nosso estudo podemos concluir que o óleo de andiroba apresenta potencial capacidade antioxidante. Não foi observada a ação tóxica do óleo, o que comprova que o óleo puro pode ser utilizado de forma segura e indica sua utilização para o desenvolvimento de outros produtos naturais. Sua composição química indica valores elevados de compostos fenólicos, sendo o ácido oleico presente em quantidade.

5. REFERÊNCIAS

ADAN, A.; KIRAZ, Y.; BARAN, Y. Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, v. 17, n. 14, p. 1213-1221, 2016.

AMORIM, H. C.; VIANNA, L. V.; NOGUEIRA, V. B. Avaliação de atividade antioxidante em nanoemulsão de óleo essencial de Alecrim. 2022. 106 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2022.

ARAÚJO-LIMA, C. F.; FERNANDES, A. S.; GOMES, E. M.; OLIVEIRA, L. L.; MACEDO, A. F.; ANTONIASSI, S.; WILHELM, A. L.; A. F. AIU C. A. F.;

FELZENSZWAL, I. Antioxidant Activity and Genotoxic Assessment of Crabwood (Andiroba, *Carapa guianensis* Aublet) Seed Oils. *Medicina Oxidativa e Longevidade Celular*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/3246719>

BERTOLDI, G. M.; BEBER, S. C.; FELL, A. P. W.; MELO, V. F.; MULLER, B. T.; COLET, C. F. rendimento do óleo essencial das inflorescências de *lavandula dentata* L. influenciados por diferentes agentes estressores. XXIII Jornada de extensão. Disponível em: <https://publicacoeseventos.unijui.edu.br/index.php/salaconhecimento/article/view/22455/20949>. Acesso em: 24 dez 2022.

BIENVENU, M. J.; MARCEL, A. Evaluation of proximate, mineral and phytochemical compositions of *Carapa procera* (family Meliaceae). *Pakistan Journal of Nutrition*, 13 (6), p. 359-365, 2014.

BLOCK, J. M. Estudo da atividade antioxidante, hipolipidemiante, hipoglicemiante e antiobesidade de extratos de casaca de noz-pecã (*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch). Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2015.

BRANDÃO, C. M. M.; HASS, V.; ZAGO, P. W.; GALVÃO, L. C. C.; DIBAI, D. B.; SILVA, F. B.; MALHEIROS, A. S.; SIMAMOTO JÚNIOR, P. C.; TAVAREZ, R. R. J. Action of *Arrabidaea chica* extract on *Candida albicans* biofilms, cytotoxic effect on fibroblasts and keratinocytes, and on physical/mechanical properties of poly(methylmethacrylate) resin. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e292101320667, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i13.20667.

DIBY, L. A.; KATOU, S. Y.; DERE L.A.K.; N'DA, P.K.; TIAHOU, G.G. **Biochemical composition of the seed of *Carapa procera* (meliaceae) of Côte d'Ivoire**. *International Journal of Green and Herbal Chemistry*, 8 (3) (2019), pp. 333-342.

GALTER, I. N. Avaliação da água do Rio Itapemirim/ES: aspectos abióticos e toxicogenéticos / Iasmini Nicoli Galter. 2016. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, 93 f. : il., 2016.

GHAFOOR, K.; JUHAIMI, F. A.; ÖZCAN, M. M.; USLU, N.; BABIKER, E. E.; AHMED, I. A. M. LWT. Total phenolics, total carotenoids, individual phenolics and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) rhizome as affected by drying methods. Volume 126, May 2020, p. 109354. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109354>

GONÇALVES, S. Toxicidade de efluentes têxteis em células animais e vegetais pelo teste de micronúcleos e alterações morfológicas nucleares. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2021.

JACYNTHO, P. G. F.; NUNEZ, C. V. Isolamento e identificação de fungos endofíticos de *Carapa guianensis* e *Duroia macrophylla*. II Congresso de Iniciação Científica PIBIC/CNPq - PAIC/FAPEAM. 2013. Disponível em: https://repositorio.inpa.gov.br/bitstream/1/4209/1/pibic_inpa.pdf. Acesso em: 27 dez 2022.

LEMES, S. R.; CHAVES, D. A.; SILVA JÚNIOR, N. J.; CARNEIRO, C. C.; CHEN-CHEN, L.; ALMEIDA, L. M.; GONÇALVES, P. J.; MELO-REIS, P. R. Antigenotoxicity protection of *Carapa guianensis* oil against mitomycin C and cyclophosphamide in mouse bone marrow. *Biological Sciences. An. Acad. Bras. Ciênc.* 89 (3). 2017. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720150797>

LOURENÇO, J. N. P.; FERREIRA, L. M. M.; MARTINS, G. C.; NASCIMENTO, D. G. Produção, biometria de frutos e sementes e extração do óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.) sob manejo comunitário em Parintins, AM. Manaus: EMBRAPA Amazônia Ocidental, 2017.

MARINHO, Oziel Ribeiro. Determinação da atividade antioxidante de óleos de plantas amazônicas utilizando imagens digitais. 2014. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2014.

MBAEBIE, B. O.; EDEOGA, H. O.; AFOLAYAN, A. J. **Análise fitoquímica e atividades antioxidantes do extrato aquoso da casca do caule de *Schotia latifolia* Jacq.** *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v.2 (2), p . 118 – 124, 2012.

MELO-SILVEIRA, F.; VIANA, R. C. S.; SABRY, D. A.; SILVA, R. A.; MACHADO, D.; NASCIMENTO, A. K. L.; SCORTECCI, K. C.; FERREIRA-HALDER, C. V.; SASSAKI, G. L.; ROCHA, H. A. O. Antiproliferative xylan from corn cobs induces apoptosis in tumor cells,. *Carbohydrate Polymers*, v. 210, p. 245-253, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.073>.

MENDONÇA, A. P.; FERRAZ, I. D. K. Óleo de andiroba: processo tradicional da extração, uso e aspectos sociais no estado do Amazonas, Brasil. *Ciências Florestais • Acta Amaz.* 37 (3), 2007. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672007000300006>.

MILHOMEM-PAIXÃO, S. S. R.; FASCINELI, M. L.; ROLL, M. M.; LONGO, J. P. F.; AZEVEDO, R. B.; PIECZARKA, J. C.; SALGADO, H. L. C.; SANTOS, A. S.; GRISOLIA, C. K. The lipidome, genotoxicity, hematotoxicity and antioxidant properties of andiroba oil from the Brazilian Amazon. *Mutagenese. Genet. Mol. Biol.* 39 (2), 2016. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2015-0098>

MIRANDA JÚNIOR, R. N. C.; DOLABELA, M. F.; SILVA, M. N.; PÓVO, M. M.; MAIA, J. G. S. Atividade antiplasmodial do óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl., Meliaceae) e sua fração rica em limonóides. *Revista de Etnofarmacologia. Volume 142, ed. 3, p. 679-683, 2012.* <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.05.037>

NOVELLO, Z.; SCAPINELLO, J.; DAL MAGRO J.; ZIN, G.; LUCCIO M; TRES, M. V.; OLIVEIRA, J. V. Extraction, chemical characterization and antioxidant activity of andiroba seeds oil obtained from pressurized *n*-butane. *Industrial Crops and Products*, 76 (12), p . 697 – 701, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.075>

OLUGBAMI, J. O.; GBADEGESIN M. A.; ODUNOLA O. A. Sequestrador de radicais livres in vitro e propriedades antioxidantes do extrato etanólico de *Terminalia glaucescens*. *Pharmacognosy Research* , 7 (1), pp . 49 – 56, 2015.

PALOMER, X.; PIZARRO-DELGADO, J.; BARROSO, E.; VÁZQUEZ-CARRERA, M. Palmitic and Oleic Acid: The Yin and Yang of Fatty Acids in Type 2 Diabetes Mellitus. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. v. 29, n. 3, p. 178-190, 2018.

PIRES, J. S.; TORRES, P.; CHOW, F.; SANTOS, D. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2017. DOI: 10.13140/RG.2.2.27450.08640

PORFÍRIO-DIAS, C. L.; MELO, K. M.; BASTOS, C. E. M. C.; FERREIRA, T. A. A.; AZEVEDO, L. F. C.; SALGADO, H. L.; SANTOS, A. S.; RISSINO, J. D.; NAGAMACHI, C. Y.; PIECZARKA, J. C. Andiroba oil (*Carapa guianensis* Aubl) shows cytotoxicity but no mutagenicity in the ACPP02 gastric cancer cell line. 2020. <https://doi.org/10.1002/jat.3966>

PRASANNA RANI, K.N.; NEEHARIKA, T.S.V.R.; KUMAR T. P.; SATYAVATHI, B.; SAILU, C.; PRASAD, R. B. N. Kinetics of enzymatic esterification of oleic acid and decanol for wax ester and evaluation of its physico-chemical Properties. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. v. 55, p. 12-16, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.04.011>

PRIOR, R.L.; CAO, G. Antioxidant capacity and polyphenolic components of teas: implications for altering in vivo antioxidant status. *Proc Soc Exp Biol Med*: 220:255-261, 1999.

PROPHIRO, J. S.; SILVA, M. A. N.; KANIS, L. A.; SILVA, B. M.; DUQUE-LUNA, J. E.; SILVA, O. S. 2012. Avaliação da toxicidade temporal, efeito residual e propriedade inibidora do crescimento de *Carapa guianensis* e *Copaifera* sp. em *Aedes aegypti*. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-011-2547-5>. Acesso em: 03 nov. 2022.

ROMA, G. C.; MATHIAS, M. I. C.; FARIA, A. U.; OLIVEIRA, P. R.; FURQUIM, K. C. S.; BECHARA, G. H. Morphological and cytochemical changes in synganglion of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) female ticks from exposure of andiroba oil (*Carapa guianensis*). v. 76, 7, p. 687-696, 2013. <https://doi.org/10.1002/jemt.22219>

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de; MORAIS, S. M. de; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: exploração da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS^{o+}. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). 2007. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/426954/metodologia-cientifica-determinacao-da-atividade-antioxidante-total-em-frutas-pela-captura-do-radical-livre-abts>. Acesso em: 17 jan. 2022

SANTOS, L. H. et al. Application of andiroba oil as a novel collector in apatite flotation. *Minerals Engineering*, v. 185, p. 107678, 1 jul. 2022.

SECK, I.; HOSU, A.; CIMPOIUC, C.; NDOYEAL, S. F.; BA, L. A.; SALLA, C.; SECKA, M. Phytochemicals content, screening and antioxidant/pro-oxidant activities of *Carapa*

procera (barks) (Meliaceae). South African Journal of Botany. v. 137, p. 369-376, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.11.019>

SILVA, G. F. Pesquisa e desenvolvimento de cosméticos a partir de ativos vegetais da Amazônia. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 169 f., 2016.

SILVA, L. R. (2018). PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E PERFIL DOS ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DA ANDIROBA. *Nativa*, 6 (2), p. 147-152. <https://doi.org/10.31413/nativa.v6i2.4729>

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, p. 144-158. 1965.

SOBREIRA, R. C. B. *Piptadenia stipulacea* (BENTH) Ducke : investigação fitoquímica e ensaios toxicológicos *in vitro* e *in vivo* / RHNatha Claudia Barros Sobreira. –2019. 61 f. : il. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia, Recife, 2019.

SOUSA, R. L. DE, MIRANDA, A. U. DA S., CORDEIRO, Y. E. M., & PEREIRA, M. DAS G. Extração e comercialização do óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.) na comunidade da Ilha das Onças, no município de Barcarena, Pará, Brasil. *Interações (Campo Grande)*, 20(3), p. 879–889, 2019. <https://doi.org/10.20435/inter.v0i0.1826>

SOUSA, R. L.; ALMEIDA, B. B.; ROSANA PIMENTEL DA SILVA, R. P.; ALBUQUERQUE, L. C. S.; CORDEIRO, Y. E. M. ÓLEO DE ANDIROBA: EXTRAÇÃO, COMERCIALIZAÇÃO E USOS TRADICIONAIS NA COMUNIDADE MAMANGAL, IGARAPÉ-MIRI, PARÁ. *Biodiversidade - v.18, n.1, p. 68, 2019.*

SOUSA, S. F.; PAES, J. B.; ARANTES, M. D. C.; LOPEZ, Y. M.; BROCCO, V. F. Análise física e avaliação do efeito antifúngico dos óleos de andiroba, copaíba e pinhão-manso. *Floresta, Curitiba, PR*, v. 48, n. 2, p. 153-162, 2018. DOI: 10.5380/rf.v48 i2.52280

SOUZA, D. S. 2015. CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DA POLPA LIOFILIZADA ENRIQUECIDA COM O EXTRATO AQUOSO DA SEMENTE DE TAMARINDO (*Tamarindus indica*). Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), 160 f. 2015.

SOUZA, MEAO de .; GOMES, M. da R. .; ALBUQUERQUE JÚNIOR, N. de M. .; CANDEIAS, VMS.; LIMA, D.; VILAR , SB de O. .; SILVA, ABM da . Influência de diferentes técnicas de extração na capacidade antioxidante da casca de melancia desidratada. **Investigação, Sociedade e Desenvolvimento** , [S. l.] , v. 10, n. 13, pág. e323101321333, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i13.21333. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/21333>. Acesso em: 10 fev. 2023.

TAIZ L.; ZEIGER E.; Fisiologia vegetal. Porto Alegre: Artmed, 2013.

WANZELER, A. M. V.; ALVES JÚNIOR, S. M.; GOMES, J. T.; GOUVEIA, A. H. H.; HENRIQUES, H. Y. B. CHAVES, R. H.; SOARES, B. M SALGADO, H. L. C.; SANTOS, A. S.; TUJI, F. M. **Clinical Oral Investigations** v. 22, p. 2069–2079, 2018.

WU, Z.; LI, H.; YANG, Y.; ZHAN, Y.; TU, D.W. Variation in the components and antioxidant activity of *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* essential oils at different stages of maturity. *Ind Crop Prod* 46:311-316, 2013.

CAPÍTULO 3 - CITOTÓXIDADE DO ÓLEO-RESINA *IN NATURA* DE *copaifera reticulata benth.*

Plúcia Franciane Ataíde Rodrigues¹; Sara Nascimento dos Santos²; Iasmini Nicoli Galter²;
Ramila Tainara de Araújo Ataíde Wanzeler³; Silvia Tamie Matsumoto²; Hildegardo
Seibert França⁴

⁽¹⁾ Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil. Pluciargds12@gmail.com

⁽²⁾ Universidade Federal do Espírito Santo, Laboratório de Mutagênese e Toxicologia Ambiental (GEMUT), CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

⁽³⁾ Faculdade de Macapá, colegiado de enfermagem, CEP 68906-720, Macapá, AP, Brasil.

⁽⁴⁾ Instituto Federal do Espírito Santo, colegiado do curso de bacharelado em Biomedicina, CEP 29056-264, Vila Velha, ES, Brasil.

Periódico a ser submetido: Acta Scientiarum. Agronomy - ISSN 1679-9275, em 30 de março de 2023.

RESUMO

O óleo de copaíba possui um amplo histórico de indicações medicinais e utilizações por populares, como medicinal, anti-inflamatório, antifúngico e para o tratamento de doenças como gripe e bronquite. Os bons resultados do uso do óleo de copaíba na medicina humana impulsionaram pesquisas buscando aplicar os benefícios do óleo em outras áreas. Deste modo, o presente estudo teve por objetivo avaliar a composição química, atividades biológicas, aplicação e potencialidades do óleo-resina in natura de *Copaifera reticulata* Benth. O óleo vegetal de *C. reticulata* foi adquirida na cooperados no município de Mazagão-AP, lote 02/2020. Nas análises químicas, foi realizada a quantificação de fenóis totais e a prospecção fitoquímica foi por cromatografia em camada delgada (CCD). O óleo-resina apresentou $50,05 \pm 0,01$ (mg trolox/g⁻¹) para fenóis totais. Na atividade antioxidante obteve-se IC₅₀ de $48,30 \pm 4,80$ e $139,25 \pm 1,86$ mg/mL para ABTS e DPPH respectivamente. O óleo foi citotóxico em todas as concentrações, com porcentagem de viabilidade celular de 31 a 37,67% e inibiu o a germinação de sementes de *Allium cepa* em quase todas as concentrações. No entanto, as propriedades biológicas dos óleos de copaíba podem ser importantes para as indústrias de alimentos, combate a células cancerígenas e aplicação no setor agrícola. Sugere-se que as sementes sejam testadas novamente com tratamento descontínuo utilizando dois indicadores para melhor avaliação da fitotoxicidade e outros parâmetros. Recomenda-se ainda, novos estudos que investiguem o uso do óleo-resina como uma medida de controle no manejo espécies invasoras.

Palavras-chave: Óleo-resina. copaíba. fenóis totais. antioxidante. produtos naturais.

ABSTRACT

Copaiba oil has a wide history of medicinal indications and popular uses, such as medicinal, anti-inflammatory, antifungal and for the treatment of diseases like flu and bronchitis. The good results of the use of copaiba oil in human medicine have encouraged research seeking to apply its benefits in other areas. Thus, the present study aimed to evaluate the chemical composition, biological activities, application and potential of the in natura oil-resin of *Copaifera reticulata* Benth. The vegetable oil of *C. reticulata* was acquired from cooperative members in the municipality of Mazagão-AP, lot 02/2020. In the chemical analyses, the quantification of total phenols was performed and the phytochemical prospection was by thin layer chromatography (CCD). The oil-resin presented 50.05 ± 0.01 (mg trolox/g-1) for total phenols. In the antioxidant activity was obtained IC₅₀ of 48.30 ± 4.80 and 139.25 ± 1.86 mg/mL for ABTS and DPPH respectively. The oil was cytotoxic in all concentrations, with cell viability percentage of 31 to 37.67% and inhibited the germination of *Allium cepa* seeds in almost all concentrations. However, the biological properties of copaiba oils may be important for food industries, fighting cancer cells and application in the agricultural sector. It is suggested that the seeds be tested again with discontinuous treatment using two indicators for better evaluation of phytotoxicity and other parameters. Further studies investigating the use of oil-resin as a control measure in the management of invasive species are also recommended.

Key-words: oil-resin. copaiba. total phenols. antioxidant. natural products.

1. INTRODUÇÃO

O óleo-resina de copaíba é amplamente utilizado na medicina tradicional, seu uso é mais frequente na região norte, no entanto o gênero apresenta ampla distribuição no território nacional (COSTA, 2023). O óleo é extraído por meio de uma incisão no tronco da árvore onde estes canais são formados pela dilatação de espaços intercelulares, axiais, dispostos em faixas de parênquima axial marginal e concêntricas que se intercomunicam no meristema, chamados de canais esquizógenos (COSTA; BENATHAR et al., 2019).

O óleo de copaíba é constituído de dois grupos de substâncias que mesmo distintas são solúveis entre si, uma parte são substâncias voláteis, correspondendo a cerca de 90% de massa do óleo e a outra constituído de substâncias não voláteis, resinosa de cor caramelo que corresponde a 10% da massa total do óleo resina (AZEVEDO et al., 2020). Compostos bioativos, presentes em plantas podem interagir com um ou mais componentes do tecido vivo, resultando em uma ampla gama de efeitos que demonstraram impactar positivamente a saúde e o bem-estar humano. Muitos dos constituintes químicos de copaíba já possuem comprovado efeito medicinal, dentre eles podemos mencionar o β -cariofileno, um sesquiterpeno que também se encontra presente em vários óleos essenciais (MIGUEL et al., 2017).

Dentre as inúmeras propriedades farmacológicas já descritas para estes compostos a sua atividade antioxidante tem demonstrado uma importante missão na proteção celular, por sua capacidade de sequestrar ou inibir as diversas espécies de oxigênio reativo, transferir elétrons para radicais livres, ativar enzimas antioxidantes e inibir enzimas oxidases (DUMITRIU et al., 2015; SOUZA; VIEIRA; PUTTI, 2018), protegendo assim biomoléculas como lipídios, proteínas e DNA dos danos causados, pelo estresse oxidativo, o que pode estar associado a menor incidência doenças cardiovasculares, diabetes e outras doenças crônicas não transmissíveis (SANCHO; PAVÃO; PASTOR, 2015).

O óleo de copaíba tem despertado a atenção de diversos ramos da indústria por suas numerosas indicações biológicas. Além disso, o óleo de andiroba é amplamente utilizado na medicina popular por moradores de comunidades tradicionais por possuir ampla atividade biológica, como ação anti-inflamatório, cicatrizante, antibacteriana (OLIVEIRA, 2020), antifúngica (SOUZA et al., 2019), antimalárica (PEREIRA et al., 2014), antialérgica (FERRARIS et al., 2011), além de cicatrização de feridas (SOUSA et al., 2019; KNOP et al., 2021), tratamento de infecções e reumatismo. Os bons resultados do uso do óleo de copaíba

na medicina humana impulsionaram pesquisas, buscando aplicar os benefícios do óleo em outras áreas.

No entanto, por serem constituídos por grupos químicos que formam uma matriz complexa, alguns vegetais possuem substâncias que podem causar danos aos seres humanos e outros animais (BRAGA; RATES; SIMÕES, 2017; SOUZA, 2017). Alguns compostos isolados de plantas com propriedades fitoterápicas possuem atividade mutagênica, por isso a importância da realização de testes para investigar possíveis atividades toxicológicas. Por este motivo, para garantir a segurança de produtos de origem vegetal, podem ser utilizados marcadores que demonstrem se há ocorrência de possíveis danos em virtude de substâncias nocivas (FROTA et al., 2019). Deste modo, o presente estudo teve por objetivo avaliar a composição química, atividades biológicas, aplicação e potencialidades do óleo-resina *in natura* de *Copaifera reticulata* Benth.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do óleo resina-resina de *Copaifera reticulata* Benth.

O óleo-resina foi proveniente da produção de cooperados do município de Mazagão/AP lote 02/2020.

Testes de capacidade antioxidante do óleo resina de copaiba

Teste com ABTS+

A determinação da atividade antioxidante foi executada pela captura do radical livre do ABTS, seguindo a metodologia descrita no roteiro de Rufino et al., (2007). Para montagem do teste, pipetou-se 250 µL de solução de ABTS^{•+} diluída e adicionou-se 30 µL do óleo-resina puro de copaíba nas seguintes concentrações 75, 100, 150, 250 e 300 mg/mL e o padrão de trolox em concentrações de 12, 24, 32, 40, 48 e 56 µg/mL. A placa foi mantida por 6 minutos em ambiente escuro e seguida lida em 732nm. O resultado foi expresso em valor de em equivalência de trolox e ácido tânico e porcentagem de inibição do radical livre através da equação 1.

$$\% AA ABTS = \frac{A_{m\acute{a}x} - A_{amostra}}{A_{m\acute{a}x}} \times 100$$

Equação 1

Em que: $A_{m\acute{a}x}$ é a absorvância do ABTS• em 734 nm na ausência de amostra (controle).

A_{teste} é a absorvância do ABTS• em 734 nm na presença de amostra

Deste modo é possível calcular a porcentagem de atividade antioxidante (%AA), para o cálculo do IC₅₀ que é a quantidade de óleo em mg/mL das amostras testadas necessária para diminuir a concentração inicial de ABTS em 50%.

Teste com DPPH

A atividade antioxidante foi avaliada utilizando o reagente de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) seguindo o método de Lee et al. (1998). As amostras foram diluídas em isopropanol e testadas nas concentrações 75, 100, 200 e 300 mg/mL e o padrão Trolox em 10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60 µg/mL para estabelecer a curva de calibração para a quantificação. A mistura de 50 µl de amostra e 250µl da solução de DPPH 250µM foi misturada, agitada suavemente e deixada em repouso por 30 minutos no escuro à temperatura ambiente. A absorbância então foi medida a 517 nm usando espectrofotômetro (GHAFOOR, 2020).

Culturas de células eucarióticas

Para a realização do ensaio foi utilizado linhagem de células de ovário de Hamster chinês (CHO-K1), obtidas no de Laboratório de Mutagênese *in vitro* e *in vivo* da Universidade Federal do Espírito Santo. As células foram cultivadas em meio contendo DMEN + HAM-F12 (1:1) suplementado com 10% de soro bovino fetal e 0,1% de solução antibiótica-antimicótica (meio completo), sendo mantidas em frascos de cultura (25cm²) na forma de monocamada, sob uma atmosfera de 5% de CO₂ (GALTER, 2016). Os frascos foram mantidos em estufa tipo BOD à temperatura de 37°C. Os testes de citotoxicidade foram realizados em triplicata.

Teste de viabilidade celular in vitro (trypan blue)

Células viáveis são impermeáveis ao corante azul de trypan, porém sua penetração na célula indica a perda da integridade da membrana celular. Portanto, a utilização desse corante torna possível quantificar a viabilidade celular, para isso utilizou-se 20µL de células para 20µL azul de trypan. Em seguida, uma alíquota de 10µL dessa solução de célula e azul de trypan foi transferida para a Câmara de Neubauer, possibilitando contabilizar o total de células vivas e mortas.

Ensaio de citotoxicidade – MTT

O ensaio colorimétrico MTT, foi baseada em Mosmann (1983). Observa-se o metabolismo da célula utilizando como parâmetro a conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5- difenil-2H-brometo de tetrazólio (MTT) de coloração amarela, em cristais de formazan de cor roxa. Nele é demonstrada a viabilidade da célula a partir dos substratos de enzimas microssomais e mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativa,

enquanto as células mortas ou de crescimento lento têm baixo metabolismo, resultando em níveis mais baixos de redução do MTT (ADAN; KIRAZ; BARAN, 2016),

Para o ensaio, inicialmente foram semeadas 1×10^5 células CHO-K1 em placas de 96 poços, conteúdo meio F12/DMEN suplementado com 10% de soro bovino fetal e posteriormente mantidas em estufa BOD a 37°C por um período de 12 horas para a estabilização. Posteriormente foi adicionado às células plaqueadas 100 μl da amostra vegetal, nas concentrações (10, 20, 50, 100, 200, 500 e 1000 $\mu\text{g/mL}$), diluídas em 1% de tween 80 e manteve-se a placa em estufa por mais 12 horas. Após esse período o tratamento foi removido e adicionou-se MTT (5,0 mg/ml diluído em meio incompleto) para incubação por 4 horas (BRANDÃO et al., 2021). Por fim, o meio foi retirado e adicionou-se 200 μL de DMSO 100% por poço para dissolver os cristais de formazan, no abrigo da luz a placa foi agitada em 3000 rpm por aproximadamente 4 minutos e lida em 570 nm. O controle positivo foi Triton X-100 e foi negativo foi meio complementado soro.

A absorbância obtida das células controle (não tratadas) foi considerada como 100% de viabilidade celular (GALTER, 2016). A citotoxicidade celular do extrato foi calculada da seguinte forma:

$$\text{Células viáveis} = \frac{\text{Média da absorbância de cada concentração do extrato}}{\text{Média da absorbância do controle}}$$

Exposição das amostras de *Allium cepa* aos óleos resinas de copaíba

Ensaio de germinação e de crescimento de raízes

O sistema-teste vegetal utilizado foi *Allium cepa* (Cebola variedade baia periforme, Isla pro, lote: 146829). A amostra de óleo-resina foi preparada com 1% de Tween 80 em água nas concentrações 1, 5, 10 e 15 mg/mL. As sementes de *A. cepa* foram colocadas para germinar em placas de Petri com papel filtro, contendo 40 sementes por placa, com 3mL de cada uma das concentrações dos óleos resina de copaíba, além do controle negativo, que foi água ultrapura. As placas foram mantidas em incubadora B.O.D à 24°C . Após esse período foi medido o comprimento das raízes com um paquímetro digital e calculado a porcentagem de sementes germinadas (total de sementes germinadas/total de sementes dispostas por placa x100) (PALMIERI et al., 2014).

Foram calculados a porcentagem relativa de sementes germinadas (SG) (1), a porcentagem de crescimento de raiz (CR) (2) e o índice de germinação (IG) (3), conforme descrito por Lutterbeck (2015) e Martins e Campos-Pereira (2018).

$$(1) SG = \frac{\text{Sementes germinadas}}{\text{Sementes germinadas em controle}} \times 100$$

$$(2) CR = \frac{\text{Comprimento médio da raiz}}{\text{Comprimento médio da raiz controle}} \times 100$$

$$(3) IG = \frac{(SG) \times (CR)}{100}$$

Quantificação de compostos Fenólicos totais

O conteúdo fenólico total foi determinado utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, de acordo com Singleton e Rossi (1965), adaptado por Rodrigues (dados não publicados) para óleo-resina. As amostras foram diluídas em álcool isopropílico e analisadas nas concentrações 60, 100, 200, 300 e 400 mg/mL. O padrão Trolox foi testado nas concentrações 48, 64, 80, 96, 128, 160 e 192 µg/mL. Em tubos de ensaio foi acrescentado 0,1 mL da amostra, 0,1 mL de isopropanol, 0,1 mL de Folin e 0,5 mL de carbonato de sódio a 5%, preparados conforme a metodologia adaptada. A solução foi centrifugada em 3000 rpm por 10 min e o sobrenadante foi lido em 732 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata. O conteúdo fenólico foi medido por equivalência do padrão trolox em mg por g da amostra.

Cromatografia em camada delgada (CCD)

Nos cromatográficos em cromatografia em camada delgada (CCD), foram utilizadas cromatoplasmas de alumínio TLC de sílica gel 60 F254 (Merck, Darmstadt, Alemanha). Com o auxílio de uma micropipeta de vidro foram adicionados de 5-10 5-10µl da amostra do óleo-resina diluído em isopropanol para facilitar a aplicação na placa. As condições cromatográficas foram conforme Wagner et al. (1996), descritas a seguir (Quadro 1). Os cromatogramas foram observados sob luz visível e ultravioleta 365nm UV-A e 254nm UV-C, com o intuito de avaliar a presença de alcaloides, flavonoides, cumarinas, taninos e terpenos.

Quadro 1: Lista de fases móveis, reveladores e padrões utilizados para identificação de grupos químicos presentes no óleo de copaíba, utilizando cromatografia em camada delgada.

	Padrão	Fase móvel:	Revelador
Alcaloides	Piocarpina	Tolueno: acetato de etila: dimetillamina (70:20:10)	Reagente de Dragendorff

Cumarinas	Cumarina	Tolueno-éter (1:1, saturada com 10% de ácido acético).	Solução de hidróxido de potássio (KOH)
Ácidos graxos	Ácido oleico e esteárico	Tolueno e acetato de etila (93:7)	Solução de vanilina 1% e ácido sulfúrico 5%. As placas foram aquecidas em 110°C em um período de 5–10 min.
Flavonoides	Quecercina e rutina	Acetato de etila: ácido formico: ácido acético: água (100:11:11:26)	Solução NP/PEG
Taninos	ácido tânico	Acetato de etila: ácido formico: ácido acético: água (100:11:11:26)	Solução de cloreto férrico 1%

Cromatografia de fase gasosa

As análises por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) foram realizadas no Laboratório de Cromatografia do LabPetro, da Universidade Federal do Espírito Santo.

O óleo resina de Copaiba sofreu metilação, onde 3 mg do óleo foram solubilizados em 300µL de KOH/MeOH 0.5M e deixado em refluxo com agitação por 30 minutos, a 60°C. Logo após foi resfriado e adicionou-se 300µL de BF₃/MeOH, deixado em refluxo por 30 minutos, a 60°C. A solução foi resfriada e extraída com 400 µL de hexano e 300 µL de água destilada. A fase orgânica foi recuperada e injetada diretamente em um Cromatógrafo Gasoso acoplado a um Espectrômetro de Massas da Agilent 7890B (Agilent, California, USA) e detector massa modelo 5977A MSD com ionização eletrônica de 70eV. A coluna utilizada foi uma HP-5 de 30 m x 250 µm x 0,25 µm. O injetor foi ajustado para uma temperatura de 290 °C e o detector para 310 °C. A eluição foi iniciada numa rampa de aquecimento iniciando a 40 °C com taxa de aquecimento de 5°C/min até 280 °C, seguido com taxa de aquecimento de 15°C/min até 310 °C permanecendo nessa temperatura por 10min.

Para caracterização foi utilizado padrão de alcano de C10 a C40 que foram submetidos às mesmas condições cromatográficas. Os compostos foram identificados através da comparação com a biblioteca da base NIST seguido pela comparação dos índices de retenção da literatura (EL-SAYED, 2018; NIST CHEMISTRY WEBBOOK, 2018).

Análise estatística

Os dados avaliados foram expressos em média \pm desvio padrão. Para obtenção e comparação das médias foram utilizados o teste de Kruskal Wallis e teste de Tukey ($P < 0,05$), a partir do programa Infostat (DIRIENZO et al. 2010).

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Capacidade antioxidante *in vitro*

O óleo resinoso do tronco da árvore da copaíba é conhecido por seus efeitos biológicos, dentre eles o seu potencial antioxidante, aqui expresso mg de equivalentes padrão trolox (ET) por g de extrato bruto e/ou IC_{50} (PIRES et al., 2017). Neste trabalho, o óleo de copaíba analisado pelos métodos DPPH e ABTS, apresentou atividade antioxidante total de $44,62 \pm 0,01$ (mg trolox/ g^{-1}) e $60,18 \pm 0,01$ (mg trolox/ g^{-1}). Quanto ao IC_{50} foi dado em mg/mL, sendo $48,30 \pm 4,80$ (ABTS) e $139,25 \pm 1,86$ (DPPH). Os resultados estão expressos na forma de média \pm desvio padrão da triplicata.

Osmar et al. (2017), avaliou a atividade antioxidante do óleo de copaíba, onde o IC_{50} medido pelos ensaios DPPH e ABTS foram, respectivamente, $193 \pm 2,5$ e $99 \pm 0,6$ mg/mL. Pereira et al. (2018), ao analisar os compostos fenólicos dos extratos da casca do caule de *Copaifera multijuga*, observou que a fração etanólica apresentou maior potencial antioxidante por DPPH com menor CE_{50} ($23 \mu g/mL^{-1}$), quando comparado ao padrão rutina e ácido ascórbico (30 e $35 \mu g/mL^{-1}$, respectivamente).

Avaliação citotóxica do óleo-resina de *C. guianensis* Aubl frente a célula CHO -K1

Nesta pesquisa foi avaliada a citotoxicidade do óleo-resina de copaíba na linhagem de células epiteliais derivadas do ovário do hamster chinês CHO-K1, em concentrações de $10 \mu g/mL$ a $1000 \mu g/mL$. Ao comparar a viabilidade celular com o controle negativo observou-se que todas as concentrações utilizadas foram citotóxicas para célula (Fig. 1).

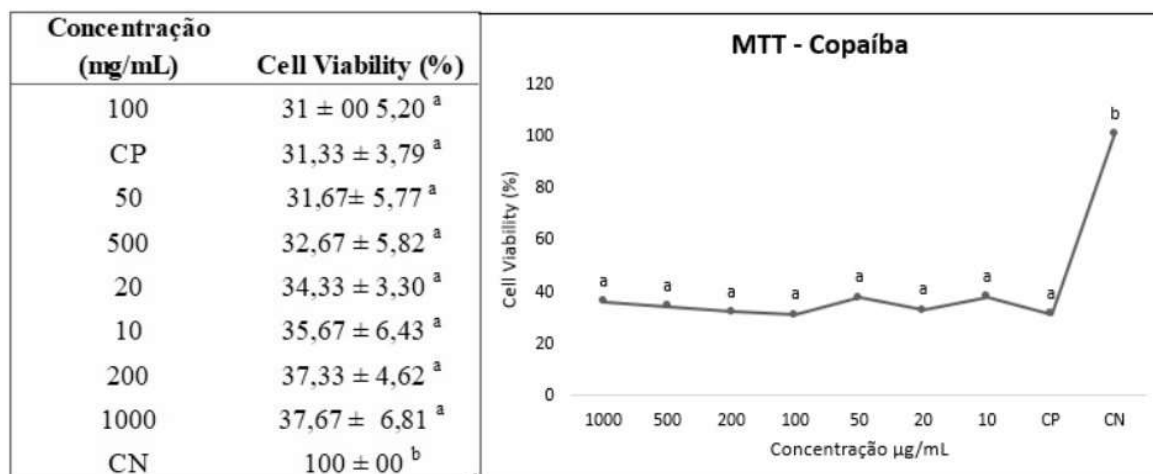


Figura 1: Citotoxicidade (mg/mL) (média \pm desvio padrão da média) do óleo-resina de

copaíba (*in natura*), em células epiteliais derivadas do ovário do hamster chinês CHO-K1. Medias com uma letra comum não são significativamente diferentes ($p > 0,05$) quando comparado com o grupo controle negativo por ANOVA (análise da variância) seguido por teste de comparação múltiplas Tukey.

Os nossos resultados estão em conformidade com o trabalho de Bardají et al. (2016), que realizou o ensaio MTT com óleo-resina de *C. reticulata* e observou a citotoxicidade do óleo-resina, no entanto para linhagem de células fibroblásticas de pulmão humano GM07492-A. Em outro estudo utilizando o óleo puro de copaíba, óleo destilado de copaíba e nanoemulsão contendo 15% de óleo destilado de copaíba (*Copaifera* spp.), foi observado que a partir da concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$ de óleo destilado reduziu a viabilidade da célula em fibroblastos humanos MRC5, o mesmo ocorreu com o óleo puro a partir de 50 $\mu\text{g/mL}$. No entanto, nanoemulsão contendo 15% de óleo destilado de copaíba mostrou-se de baixa citotoxicidade no ensaio de viabilidade celular (SILVA, 2019).

Luz (2020), avaliou a viabilidade das células trofoblásticas humanas vilosas (linhagem BeWo) frente aos tratamentos com *C. multijuga* e verificou por meio do ensaio colorimétrico de MTT a eficácia do óleo no controle da proliferação e invasão de *Toxoplasma gondii* em concentrações não tóxicas para a célula BeWo. Os autores ainda destacam o seu impacto irreversível na proliferação intracelular de taquizoítos de *T. gondii*, o que indica seu potencial terapêutico para o tratamento de toxoplasmose congênita. O óleo-resina *in natura* de *C. multijuga* quando testado em macrófagos RAW 264.7 (ATCC® TIB-71™), não foi citotóxico, uma vez que a viabilidade celular se manteve próxima de 100% para todas as concentrações (1,56 $\mu\text{g/mL}$ a 50 $\mu\text{g/mL}$) (ARAUJO et al., 2020).

Na pesquisa desenvolvida por Borges et al. (2016), o óleo-resina de copaíba, se mostrou eficaz contra o crescimento de células endometriais. Na proposta apresentada pela equipe também foi formulada uma nanoemulsão, para facilitar a entrega do óleo-resina de copaíba às células derivadas do endométrio. Esse resultado sugeriu a terapia alternativa promissora para o tratamento da endometriose.

Exposição das amostras de *Allium cepa* aos óleos-resinas de copaíba

Ensaio de germinação e de crescimento de raízes

Neste estudo, uma avaliação preliminar do efeito fitotóxico de diferentes concentrações de óleo-resina de copaíba foi testado em sementes de *Allium cepa* (tab. 1), utilizando dos índices de germinação e crescimento radicular (PALMIERI et al., 2014). A inibição da germinação das sementes é considerada um biomarcador de efeito letal enquanto a inibição dos comprimentos de raízes e hipocótilos constituem biomarcadores de efeitos

subletais (MARTINS; CAMPOS-PEREIRA, 2018). Este ensaio preliminar permite a observação de efeitos adversos nas fases de desenvolvimento iniciais do desenvolvimento da semente.

Tabela 1. Ensaio de germinação e crescimento de raiz para avaliação da fitotoxicidade do óleo-resina de copaíba (*in natura*)

Concentrações De óleo-resina mg/mL	% sementes germinadas	%SG	%CR	IG
CN	86,33 ± 12,5 ^a	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
15	–	–	–	–
10	–	–	–	–
5	–	–	–	–
1	21,67 ± 4,73 ^b	26 ± 10,44 ^b	34 ± 16 ^b	7,67 ± 1,15 ^b

Representação das percentagens médias das sementes germinadas e os resultados da porcentagem relativa de sementes germinadas (SG), a porcentagem de crescimento de raiz (CR) e o índice de germinação (IG) no óleo-resina de copaíba. Médias com uma letra comum não são significativamente diferentes ($p > 0,05$) por meio de teste Tukey.

Após 96 horas de exposição foram observadas uma média de 21,67 % de sementes germinadas para concentração de 1 mg/ml, enquanto nas concentrações de 5, 10 e 15 mg/ml do óleo-resina a germinação foi inibida. O mesmo comportamento foi observado para a porcentagem de crescimento de raiz, onde poucas sementes germinaram, com valores estatisticamente diferentes do controle negativo, além de apresentarem uma aparência danificada, algumas com o ápice com uma substância amarelada e pegajosa, chegando a uma média de 0,77 cm de comprimento. O que inviabilizou os testes seguintes.

No entanto, no estudo usando óleo essencial de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf) no tratamento de sementes feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) mostrou efeitos positivos na qualidade fisiológica, demonstrando um aumento na porcentagem de germinação de sementes de feijão-fava (GOMES et al., 2016).

Silva (2016), em sua pesquisa sobre controle de doenças causadas por fungos em milho, observou que somente 1% das sementes tratadas com óleo-resina de copaíba apresentaram incidência da espécie *Curvularia* sp quando tratadas a 5% de óleo-resina. Já *Rhizopus* sp. foi totalmente controlado com 5% de óleo fixo e a germinação ficou dentro dos padrões exigidos uma vez que as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992- adapt. BRASIL, 2009) exigem padrões oficiais superiores a 80% de germinação para que as sementes se tornem viáveis para a comercialização.

Os efeitos visíveis sobre a germinação de *Allium cepa* podem estar relacionados com a citotoxicidade da amostra, tendo em vista que quando testado em sistema animal foi citotóxica em todas as concentrações, assim como pode estar associado a inúmeras variáveis, dentre elas a presença de um composto que possa inibir a germinação como taninos, ou até mesmo efeitos genotóxicos e mutagênicos. Frente a isso, para melhor avaliação da amostra sugere-se que as sementes sejam testadas novamente com tratamento descontínuo utilizando dois indicadores para melhor avaliação da fitotoxicidade e outros parâmetros para se inferir corretamente sobre a existência de efeitos alelopáticos e investigar se o óleo-resina afeta apenas o aspecto germinativo de uma outra espécie alvo ou se também afetaria o seu desenvolvimento.

Teor de compostos fenólicos no óleo-resina (*in natura*)

Neste estudo, obteve-se um valor de $50,05 \pm 0,01$ (mg trolox/g⁻¹), maior do que os encontrados por Vigo (2019) ao analisar a polpa de *Copaifera langsdorffii* chegou aos seguintes resultados 1,81 mg EAG/g RP para o extrato metanólico e 0,49 mg EAG/g RP para o extrato etanólico e ainda ressaltou não haver análises de fenóis totais para o óleo-resina puro. Batista et. (2016) quantificou o conteúdo da polpa do fruto da copaíba, com valores de 0,03 e 0,125 mg EAG/g amostra seca para extratos metanólico e etanólico respectivamente. Porém, menor que Costa et al. (2018), 17,02 mg EAG/g de compostos fenólicos na fração de cascas dos frutos secos da *Copaifera langsdorffii*.

Além da capacidade antioxidante reconhecidamente indicada à **compostos fenólicos**, existem várias outras propriedades biológicas que também estão associadas principalmente à presença de **compostos fenólicos**. Estes compostos são importantes agentes antioxidantes, antimutagênico, antibacteriano, possui atividade anticancerígena, além de minimizar o avanço e o início de outras doenças humanas, como artrite e enfisema, consequências dos danos oxidativos (DEUS et al., 2019). No entanto, sabe-se que a atividade antioxidante não está vinculada a um composto específico, o que pode justificar a diferença entre valores de fenóis totais e da atividade antioxidante.

4. CONCLUSÃO

O óleo-resina apresenta uma diversidade de atividades biológicas, mas também podem exibir citotoxicidade, justamente por se tratar de uma mistura complexa de compostos químicos. Desta forma, embora o óleo de copaíba seja amplamente utilizado na medicina

tradicional, deve-se ter cautela em sua aplicação clínica devido ao seu efeito apresentado em muitos trabalhos sobre viabilidade de células expostas a ele. Contudo, diferentes componentes isolados do óleo devem ser estudados para verificar a possibilidade de uso como agentes antitumorais. Sugere-se que as sementes sejam testadas novamente com tratamento descontínuo utilizando dois indicadores para melhor avaliação da fitotoxicidade e outros parâmetros. Recomenda-se ainda, novos estudos que investiguem o uso do óleo-resina como uma medida de controle no manejo espécies invasoras.

5. REFERÊNCIAS

ADAN, A.; KIRAZ, Y.; BARAN, Y. Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, v. 17, n. 14, p. 1213-1221, 2016.

ALMEIDA, B. V.; BENATHAR, I. S. C. Prospecção e extração de óleo-resina de *Copaifera L.*, na Floresta Nacional de Carajás. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Florestal) - 2019. 58 f. Universidade Federal Rural da Amazônia, Parauapebas, 2019.

AMORIM, H. C.; VIANNA, L. V.; NOGUEIRA, V. B. Avaliação de atividade antioxidante em nanoemulsão de óleo essencial de Alecrim. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 106 f, 2022.

ANJOS, Débora Juliana dos. Caracterização de diferentes óleos de copaíba e avaliação da propriedade cicatrizante. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, faculdade de ciências Médicas. Campinas, SP, 2020.

ARAÚJO, LCR; LINS, Arruda; LIMA, M., de; MORESCHI, Casaroto; LIMA AR Silva; HANAN, E; TODA, AS; BANDEIRA, Lima. Atividade do óleo de copaíba sobre radicais livres formados durante a resposta inflamatória / Atividade do óleo de copaíba sobre os radicais livres durante a resposta inflamatória. *MFC* (2020). *Brazilian Journal of Development*, 6 (7), 53538–53553, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n7-845> .

BARDAJÍ DKR, da Silva JJM, BIANCHI TC, de Souza Eugênio D., de Oliveira PF, Leandro LF, Rogez HLG, Venezianni RCS, Ambrosio SR, Tavares DC, et al. *Oleoresina de *Copaifera reticulata** : Caracterização química e propriedades antibacterianas contra patógenos bucais. *Anaeróbio*. 2016; 40 :18–27. doi: 10.1016/j.anaerobe.2016.04.017

BORGES S. B; KEITA H; ORTIZ B. L. S; SAMPAIO T. I. S; FERREIRA I. M; LIMA E. S; SILVA M. J. A; FERNANDES C. P; OLIVEIRA A.E.M. F. M; CONCEIÇÃO E. C; RODRIGUES A. B. L; PEREIRA FILHO A.C.M; CASTRO N. A; CARVALHO J.C.T. Anti-inflammatory activity of nanormulsions of essential oil from *Rosmarinus officinalis L.*: in vitro and zebrafish studies. *Inflammopharmacology*, 2018. Doi.org/10.1007/s10787-017-0438-9.

BORGES V.R.; SILVA J.H.; BARBOSA S.S.; NASCIUTTI L.E.; CABRAL L.M.; SOUSA V.P. Development and pharmacological evaluation of in vitro nanocarriers composed of lamellar silicates containing copaiba oil-resin for treatment of endometriosis. *Mater. Sci. Eng. C.*, 64 pp. 310-317, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.03.094>

BRANDÃO, C. M. M.; HASS, V.; ZAGO, P. W.; GALVÃO, L. C. C.; DIBAI, D. B.; SILVA, F. B.; MALHEIROS, A. S.; SIMAMOTO JÚNIOR, P. C.; TAVAREZ, R. R. J. Action of *Arrabidaea chica* extract on *Candida albicans* biofilms, cytotoxic effect on fibroblasts and keratinocytes, and on physical/mechanical properties of poly(methylmethacrylate) resin. *Research, Society and Development, [S. l.]*, v. 10, n. 13, p. e292101320667, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i13.20667.

BRASIL. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009.

COSTA, J.A.S. *Copaifera* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB22895>>. Acesso em: 25 jan. 2023.

COSTA, Thaniara Barbosa da. Estudo fitoquímico dos extratos Desf. 2018. Disponível em: <https://bdm.ufmt.br/handle/1/1379>. Acesso em: 3 jan. 2023.

DEUS, R. et al. Efeito fungitóxico in vitro do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). *Revista Brasileira de Plantas Medicinai, Botucatu*, v. 11, n. 3, 2009.

DIEFENBACH, A. L. et al. Antimicrobial activity of copaiba oil (*Copaifera* ssp.) on oral pathogens: Systematic review. *Phytotherapy Research*, v. 32, n. 4, p. 586–596, 2018.

FERRARIS, F. K.; RODRIGUES, R.; DA SILVA, V. P.; FIGUEIREDO, R.; PENIDO, C.; HENRIQUES, M. D. Modulation of T lymphocyte and eosinophil functions in vitro by natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet. *International Immunopharmacology*, v. 11, n. 1, p. 1-11, jan. 2011.

FERREIRA, Luciena Dos Santos. Caracterização Do Óleorresina De Copaíba (*Copaifera reticulata*) Coletado Sazonalmente na Floresta Nacional do Tapajós, Pará, Brasil. Dissertação apresentada à Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, 2016.

FREITAS, L. M. A.; GOMES, Rabelo, B. C.; NASCIMENTO, C. F.; LAGE, I. L.; CARICATI, J. M. M. P.; SILVA, L. A. S.; SANTOS, M. J. C.; SILVA, S. R. A.; ALMEIDA, V. L. S. Antioxidantes como forma de prevenção contra a ação dos radicais livres no processo de envelhecimento cutâneo. *Única Cadernos Acadêmicos*. v. 3, n. 1. 2020.

GALTER, I. N. Avaliação da água do Rio Itapemirim/ES: aspectos abióticos e toxicogenéticos / Iasmini Nicoli Galter. 2016. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, 93 f. : il., 2016.

GHIZONI, C. V. C.; AMES, A. P. A.; OSMAR A. L.; AMADO; C. A. B.; NAKANISHI, A. B. S.; BRACHT, L.; NATALI, M. R. M.; PERALTA, R. M.; BRACHT, A.; COMAR, J. F. Ações anti-inflamatórias e antioxidantes do óleo de copaíba estão relacionadas a

modificações nas células do fígado em ratos artríticos. *Journal of Cellular Biochemistry*, v. 118, n.10, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcb.25998>

GOMES, R. S. S. et al. Eficiência de óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 18, n. 1, supl. 1, p. 279-287, 2016.

KNOP, H. G. C. F.; PADILHA, L. M.; T. S. GIULIANGELIS. Eficácia da utilização da emulsão com óleo de andiroba em queimadura de segundo grau: relato de caso. v. 2 n. 4. 2021. DOI: <https://doi.org/10.51161/rem/2879>

LEANDRO, Y. A. S.; JARDIM, I. N.; GAVILANES, M. L. Uso de plantas medicinais nos cuidados de saúde dos moradores de assentamento no município de Anapu, Pará, Brasil. *Biodiversidade, Rondonópolis, MT*, v. 16, n. 2, p. 30-44, 2017.

LIMA, M. F. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de emulsões cosméticas contendo óleo de copaíba (*Copaifera Officinalis* L). 2022. 82f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2022.

LIMA, P. Z. Estudos agronômicos, diversidade química e genética de *Justicia pectoralis* Jacq. Tese (Doutorado) - Agronomia (Horticultura) da Faculdade de Ciências Agrônomicas da Unesp Campus de Botucatu, 72 f. 2021. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/214033>

LUZ, L. C. O tratamento com óleo resina de *Copaifera multijuga* em células trofoblásticas humanas vilosas (Linhagem BeWo) infectadas por *Toxoplasma gondii* reduz o parasitismo. 2020. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021.

MARTINS, H.; CAMPOS-PEREIRA, F. D. Avaliação dos efeitos tóxicos do agroquímico tordon sobre os Organismos teste *lactuca sativa* e *Allium cepa*. *Visão Acadêmica*, Curitiba, v.19 n.2, 2018.

MEDEIROS, M. L.; AVIER JÚNIOR, F. H.; ARAÚJO FILHO, I.; RÊGO, A. C. M. Copaiba Oil for Nano-Pharmaceutics and Drug Delivery. *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology* Edited by H. S. Nalwa Volume 27: P. 165–189. 2019.

MILHOMEM-PAIXÃO, S. S. R.; FASCINELI, M. L.; ROLL, M. M.; LONGO, J. P. F.; AZEVEDO, R. B.; PIECZARKA, J. C.; SALGADO, H. L. C.; SANTOS, A. S.; GRISOLIA, C. K. The lipidome, genotoxicity, hematotoxicity and antioxidant properties of andiroba oil from the Brazilian Amazon. *Mutagenese • Genet. Mol. Biol.* 39 (2) • Abr-Jun 2016 • <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2015-0098>

MOREIRA, A. C. O. Espectroscopia NIR, CG-EM e quimiometria para o controle de qualidade do óleo de copaíba (*Copaifera* spp.). 2018. xx, 171 f., il. Tese (Doutorado em Tecnologias Química e Biológica) Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

MOREIRA, S. A. C. Avaliação alelopática, mutagênica e fitoquímica de extratos vegetais de três espécies exóticas invasoras. 2017. 200 (Doutorado em Biologia Vegetal) -

Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Vitória, f. Tese, 2017.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*, 65, 55-63, 1983.

NAKAMURA, M. T.; ENDO, E. H.; SOUSA, J. P. B. de; CALLEJON, D. R.; UEDA-NAKAMURA, T.; Benedito P.; FILHO D.; FREITAS O.; NAKAMURA, C. V.; LOPES, NORBERTO, P. Copaiba Oil and Its Constituent Copalic Acid as Chemotherapeutic Agents against Dermatophytes. *Articles • J. Braz. Chem. Soc.* 28 (08) • Aug 2017 • <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20160309>

NASCIMENTO, Luciana Cordeiro do. Eficiência de óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de fava (*Phaseolus lunatus* L.). 2015. Repositório Institucional da UFPB. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/3882>. Acesso em: 23 jan. 2023.

NEGREIROS, R. S. Isolamento dos ácidos 3-acetóxi-copálico e 3-hidróxi-copálico da fração não volátil do óleo-resina de copaíba (*Copaifera* L. spp. - Fabaceae) e semissíntese de derivados. 2022. 175 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus (AM), 2022.

OLIVEIRA, A. G. Ação dos óleos essenciais de *copaíba emelaleucaem* microrganismos envolvidos na mastite subclínica de vacas sob sistema orgânico de produção. 2020. Dissertação (Mestrado) - universidade brasil campus descavado, 58 f., 2020.

OLIVEIRA, P. C.; BRAGA, J. Ethnobotany of Borari-Arapiunn indigenous people, Amazon, Brazil. *Journal Medicinal Plants Studies*, v. 5, n. 1, p. 164-70, 2017.

PACHECO, Carolina Carvalho. Desenvolvimento de nanocápsulas contendo óleo de *Copaifera reticulata* Ducke. 2014. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2014.

PALMIERI, M.J.; LUBER, J.; ANDRADE-VIEIRA, L.F.; DAVIDE, L.C. Cytotoxic and phytotoxic effects of the main chemical components of spent pot-liner: A comparative approach. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 763, p.30-35, 2014.

PASCOAL, RDC, VELOZO, E. S, Braga, MEM et al. Compostos bioativos de *Copaifera* sp. impregnados em curativos de gelatina tridimensionais. *Drug Deliv. e Trad. Res.* 10, 1537-1551, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13346-020-00797-2>.

PENIDO, Alexandre Batista; et al. Medicinal Plants from Northeastern Brazil against Alzheimer's Disease. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume* (2017), Article ID 1753673, p. 7., 2017. doi: 10.1155/2017/1753673

PEREIRA, T. B.; SILVA, L. F. R.; AMORIM, R. C. N.; MELO, M. R. S.; SOUZA, R. C. Z.; EBERLIN, M. N.; LIMA, E. S.; VASCONCELOS, M. C.; POHLIT, A. M. In vitro and

in vivo anti-malarial activity of limonoids from the residual seed biomass from *Carapa guianensis* (andiroba) oil production. *Malarial Journal*, v. 13, p. 317, 2014.

PIRES, H. C. G.; LAMEIRA, O. A.; ISHIDA, A. K. N.; SILVA, C. T. B. Efeito dos óleos de andiroba e copaíba sobre *Rhizoctonia solani* Kuhn. In: seminário de iniciação científica, 19.; seminário de pós-graduação da embrapa amazônia oriental, 3., 2015, Belém, PA. Anais. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2015.

PIRES, J. S.; TORRES, P.; CHOW, F.; SANTOS, D. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2017. DOI: 10.13140/RG.2.2.27450.08640

RABAIOLI, A.; BATTISTI, EK.; PEIXOTO, NC.; UCZAY, J.; BRASIL, CCB.; HERMES, LB.; LAZZARI, R. O processo de glaciamento associado a antioxidantes naturais melhora a conservação dos filés de tilápia do Nilo. *Investigação, Sociedade e Desenvolvimento*, [S. l.], v. 11, n. 1, pág. e1411124136, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i1.24136.

RIBEIRO, P. H. S. Óleos essenciais de espécies de *Eugenia* do Cerrado: composições químicas sazonais, modificações químicas no β -cariofileno e avaliação da atividade acaricida. 2015. xvi, 200 f., il. Tese (Doutorado em Química) - Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de; MORAIS, S. M. de; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: exploração da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS^{o+}. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). 2007. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/426954/metodologia-cientifica-determinacao-da-atividade-antioxidante-total-em-frutas-pela-captura-do-radical-livre-abts>. Acesso em: 17 jan. 2022.

SILVA, E. A. Avaliação química e farmacológica do óleo destilado de copaíba (*copaifera* app – Leguminosae Caesalpinoideae) e aplicações biotecnológicas. 2019. Tese (Doutorado em Inovação Farmacêutica) Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2019.

SILVA, G. F. Pesquisa e desenvolvimento de cosméticos a partir de ativos vegetais da Amazônia. 2016. 169f. Tese (Doutorado em Química) Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2016.

SILVA, I. N.; CHRIST, A. J.; SILVA, S. S.; CARVALHO, W. P.; PASCUALI, L. C. Qualidade fisiológica de sementes de arroz tratadas com óleos essenciais e extratos vegetais. *Destques Acadêmicos, Lajeado*, v.11, n.3, p. 259-271. 2019.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, p. 144-158. 1965.

SOUSA, R. L.; ALMEIDA, B. B.; SILVA, R. P.; ALBUQUERQUE, L. C. S.; CORDEIRO, Y. E. M. Óleo de andiroba: extração, comercialização e usos tradicionais na comunidade mamangal, igarapé-miri, pará. Biodiversidade - v.18, n1, p. 68, 2019.

SOUSA, R. L.; Miranda, A. U. S.; Cordeiro, Y. E. M.; Pereira, M. G.). Extração e comercialização do óleo de andiroba na comunidade da Ilha das Onças, no município de Barcarena, Pará, Brasil. Interações (Campo Grande), 20(3), 879–889, 2019.

SOUSA, S. F.; PAES, J. B. ARANTES, M. D. C.; LOPEZ, Y. M.; BROCCO, V. F. Análise física e avaliação do efeito antifúngico dos óleos de andiroba, copaíba e pinhão-manso. Floresta, Curitiba, PR, v. 48.n. 2, p. 153-162, abr/jun 2018. DOI: 10.5380/rf.v48 i2.52280

SOUZA, R. L.; MESQUITA, F. R.; ALVES, W. F. Avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais de andiroba e copaíba e suas diferentes combinações no controle do fungo *Sclerotium rolfsi*. Scientia Naturalis, v. 1, n. 1, p. 17-25, 2019.

VIGO, P. S. L. Compuestos Bioactivos y Capacidad Antioxidante de extractos de hoja de Sacha Culantro (*Eryngium foetidum* L.) y de Aceite de Copaiba (*Copaifera paupera*) procedentes de la Provincia de Coronel Portillo, Ucayali., P. 55, 2019. Disponível em: <https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/741>. Acesso em: 24 jan. 2023.

WAGNER H; BLADT S. Thin-Layer Chromatography Analysis of Herbal Drug Mixtures. In: Plant drug analysis a thin layer chromatography atlas. 2. 1996.

XAVIER-JUNIOR, Francisco Humberto; MACIUK, Alexandre; MORAIS, Andreza Rochelle do Vale; ALENCAR, Everton do Nascimento; GARCIA, Vera Lucia; EGITO, Eryvaldo Sócrates Tabosa do; VAUTHIER, Christine. Development of a Gas Chromatography Method for the Analysis of Copaiba Oil, *Journal of Chromatographic Science*, V. 55, n. 10, p. 969–978, 2017. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmx065>

YAMAGUCHI, K. K. Caracterização de substâncias fenólicas de resíduos de frutos amazônicos e avaliação para o uso biotecnológico. 2015. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 198f., 2015.

ZIMMERMAM-FRANCO, D.C.; BOLUTARI, E.B.; POLONINI, H.C.; DO CARMO, A.M. R.; DAS GRAÇAS, A.M.; CHAVES, M.; & RAPOSO, N.R. Antifungal Activity of *Copaifera langsdorffii* Desf Oleoresin against Dermatophytes. *Molecules*, v.10, p.12561-12570, 2013.