



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE DESENVOLVIMENTO AMAZÔNICO EM ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BARRAGEM E GESTÃO
AMBIENTAL

BRUNO ALVES NOGUEIRA

**PERFIL FITOQUÍMICO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ESPÉCIES DA FLORA AMAZÔNICA
COLETADAS NA REGIÃO DE INFLUÊNCIA SOCIOAMBIENTAL
DA UHE-TUCURUÍ**

Tucuruí-PA
2019

BRUNO ALVES NOGUEIRA

**PERFIL FITOQUÍMICO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ESPÉCIES DA FLORA AMAZÔNICA
COLETADAS NA REGIÃO DE INFLUÊNCIA SOCIOAMBIENTAL
DA UHE-TUCURUÍ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Barragem e Gestão Ambiental do Núcleo de Desenvolvimento Amazônico em Engenharia, da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Segurança de Barragem e Gestão Ambiental.

Linha de pesquisa: Planejamento e Gestão Ambiental.

Orientadora: Prof.^a Dra. Karyme do Socorro de Souza Vilhena.

Tucuruí-PA

2019

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

N778p Nogueira, Bruno Alves

Perfil fitoquímico, atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de espécies da flora amazônica coletadas na região de influência socioambiental da UHE-Tucuruí / Bruno Alves Nogueira. — 2019.
112 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Karyme do Socorro de Souza Vilhena
Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Barragem e Gestão Ambiental, Núcleo de Desenvolvimento Amazônico em Engenharia, Universidade Federal do Pará, Tucuruí, 2019.

1. Biodiversidade. 2. Ações antrópicas. 3. Flora Amazônica
. 4. Atividades biológicas. I. Título.

CDD 572.2

BRUNO ALVES NOGUEIRA

**PERFIL FITOQUÍMICO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ESPÉCIES DA FLORA AMAZÔNICA
COLETADAS NA REGIÃO DE INFLUÊNCIA SOCIOAMBIENTAL
DA UHE-TUCURUÍ**

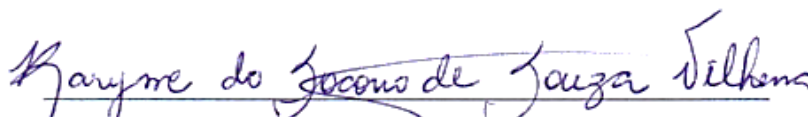
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Barragem e Gestão Ambiental do Núcleo de Desenvolvimento Amazônico em Engenharia, da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Segurança de Barragem e Gestão Ambiental.

Linha de pesquisa: Planejamento e Gestão Ambiental.

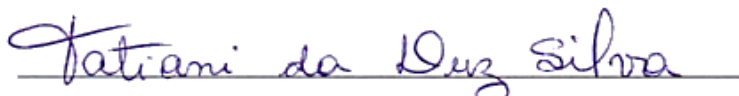
Orientadora: Prof.^a Dra. Karyme do Socorro de Souza Vilhena.

Aprovada em 16 de dezembro de 2019.

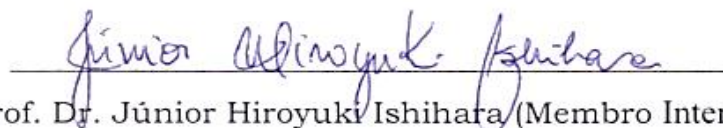
BANCA EXAMINADORA:



Prof.^a Dra. Karyme do Socorro de Souza Vilhena (Presidenta)



Prof.^a Dra. Tatiani da Luz Silva (Membro Externo)



Prof. Dr. Júnior Hiroiyuki Ishihara (Membro Interno)

Dedico este trabalho a meu amado
irmão, Everton Alves Nogueira.
(In memoriam)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus.

Aos meus pais Luiz Nogueira e Adélia Alves por todo o amor, carinho, dedicação e apoio em tudo que me proponho a realizar.

Ao meu irmão Zeno Alves Nogueira, e demais familiares pelo incentivo nas horas mais árduas.

À minha amada noiva Daiane Lopes, pelo companheirismo, compreensão e paciência nos momentos de desânimo durante esta jornada. Com você ao meu lado, se torna mais fácil enfrentar os desafios da vida.

À professora Karyme Vilhena pela amizade, ensinamentos e incentivo diários, e principalmente pela oportunidade de crescimento profissional e exemplo de moral e ética.

Ao professor Dr. Fábio Cardoso pela amizade, ensinamentos, auxílio, apoio, conselhos, e prontidão em ajudar em todos os momentos.

Aos professores, doutores Agenor Valadares e Luciana Xavier, do Laboratório de Biotecnologia de Enzimas e Biotransformações (LABEB), UFPA – Belém. Pelo inestimável apoio na realização desta pesquisa.

Ao doutorando Samuel Amaral, pela imensa ajuda no desenvolvimento das análises da atividade antimicrobiana. Meu muito obrigado

Aos servidores dedicados do Centro de Proteção Ambiental (CPA) da Eletrobras/Eletronorte. Pelo auxílio durante as coletas e toda estrutura cedida.

Ao senhor Manuel e esposa por permitir e auxiliar nas coletas em suas terras.

Ao especialista do Museu Goeldi, Dr. Antônio Elielson da Rocha, pela ajuda na identificação das espécies botânicas.

Aos companheiros e amigos do Laboratório de Química Multidisciplinar (LAQUIM). Gratidão por todos os momentos, tanto nas horas de trabalho, quanto nos momentos descontração.

*“A natureza é o único livro que oferece
um conteúdo valioso em todas as suas folhas”.*

Johann Goethe.

RESUMO

Com mais de 56.000 espécies de plantas, o Brasil tem uma das floras mais ricas do mundo englobando quase 19% da flora mundial, excluindo os fungos. Boa parte deste recurso encontra-se na Amazônia, que é a região de maior biodiversidade do planeta. Entretanto, devido às diversas ações antrópicas, o conhecimento, a conservação e inúmeras espécies nativas com potencial biotecnológico podem se perder. Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo analisar o perfil fitoquímico, atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos das cascas e sementes dos frutos de três espécies da flora Amazônica, preparados a partir de diferentes técnicas extrativas. Para tal, foram obtidas matrizes vegetais a partir das cascas e sementes de frutos de *Poraqueiba sericea*, *Garcinia macrophylla* e *Platonia insignis*, os métodos de extração aplicados foram a quente, com uso Soxhlet, e a frio utilizando-se hexano, metanol e sistema hidroalcoólico (50:50) como solventes. Foram realizados testes de triagem fitoquímica, para identificar as principais classes de metabólitos secundários presentes nas estruturas vegetais. A atividade antioxidante foi avaliada aplicando-se os métodos DPPH, ABTS e FRAP e o potencial antimicrobiano foi determinado pelo método de disco-difusão em placa. O extrato hidroalcoólico a quente das sementes de *G. macrophylla* apresentou o melhor rendimento (11,40%). Todas as espécies apresentaram uma gama considerável de classes de metabólitos secundários, com destaque para o extrato hidroalcoólico a frio das sementes da espécie *G. macrophylla* (EHA-Gm), que apresentou a maior variabilidade (9 classes). Em relação à atividade antioxidante, a fração EHA-Gm, demonstrou atividade de $685,53 (\pm 7,38 \times 10^{-4}) \mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$ de extrato, na concentração de $0,1875 \text{ mg.mL}^{-1}$, sendo este o mais ativo dentre os extratos testados pelo método FRAP. Essa mesma fração apresentou a menor concentração de eficiência para reduzir o radical DPPH em 50% (CE_{50}) ($97,31 \pm 5,98 \times 10^{-2} \mu\text{g/mL}$). Nos ensaios antimicrobianos, os extratos testados demonstraram resposta positiva de inibição frente às cepas da bactéria *Bacillus subtilis*, do fungo *Candida glabrata* e das cianobactérias *Synechocystis sp.* e *Synechococcus sp.*. O presente estudo demonstrou que as espécies *P. sericea*, *P. insignis* e *G. macrophylla*, podem ser consideradas como fontes promissoras de compostos bioativos. Com destaque para a espécie *G. macrophylla*, que se destacou nos ensaios antimicrobianos e antioxidantes realizados durante este estudo.

Palavras-chave: biodiversidade, ações antrópicas, flora Amazônica, atividades biológicas.

ABSTRACT

With over 56,000 plant species, Brazil has one of the richest in the world, encompassing nearly 19% of the world's flora, excluding fungi. Much of this resource is found in the Amazon, which is a region with the highest biodiversity on the planet. However, due to various anthropic actions, knowledge, conservation and numerous native species with biotechnological potential can be lost. In this sense, the present study aimed to analyze the phytochemical profile, antioxidant and antimicrobial activity of peel extracts and fruit seeds of three species of the Amazonian flora, prepared from different extractive techniques. For this, vegetable matrices were obtained from the peel and seeds of fruits of *Poraqueiba sericea*, *Garcinia macrophylla* and *Platonia insignis*, the extraction methods applied were hot, using Soxhlet, and cold using hexane, methanol and hydroalcoholic system. (50:50) as solvents. Phytochemical screening tests were performed to identify the main classes of secondary metabolites present in plant structures. Antioxidant activity was evaluated by applying the DPPH, ABTS and FRAP methods and the antimicrobial potential was determined by the plate diffusion disc method. The hot hydroalcoholic extract of *G. macrophylla* seeds presented the best yield (11.40%). All species presented a considerable range of secondary metabolite classes, with emphasis on the cold hydroalcoholic extract of *G. macrophylla* (EHA-Gm) seeds, which presented the highest variability (9 classes). Regarding antioxidant activity, the EHA-Gm fraction showed activity of $685.53 (\pm 7.38 \times 10^{-4})$ $\mu\text{mol Fe (II) .g}^{-1}$ extract, in the concentration of $0.1875 \text{ mg.mL}^{-1}$, being the most active among the extracts tested by the FRAP method. This same fraction presented the lowest efficiency concentration to reduce the DPPH radical by 50% (EC50) ($97.31 \pm 5.98 \times 10^{-2} \mu\text{g / mL}$). In the antimicrobial assays, the tested extracts showed positive inhibition response against strains of *Bacillus subtilis*, *Candida glabrata* and *Cyanobacteria Synechocystis* sp. and *Synechococcus* sp. The present study demonstrated that *P. sericea*, *P. insignis* and *G. macrophylla* species can be considered as promising sources of bioactive compounds. Notably *G. macrophylla*, which stood out in the antimicrobial and antioxidant tests performed during this study.

Keywords: biodiversity, anthropic actions, Amazonian flora, biological activities.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura química dos polifenóis cianidina 3-glucosídeo (1) e cianidina 3-rutinosídeo (2)	22
Figura 2 – Estrutura bidimensional do flavonoide teograndina II.....	23
Figura 3 – Estruturas genéricas das principais classes de flavonoides.....	27
Figura 4 – Equação química representando a ação de um antioxidante primário frente a um radical livre, onde ROO [•] é o radical livre, AH - antioxidante com átomo de hidrogênio ativo e A [•] - radical desativado	29
Figura 5 – Equação química que representa a reação do processo observado no método DPPH	31
Figura 6 – Equação química que descreve a produção de Fe ²⁺ (forma ferrosa) a partir da redução de Fe ³⁺ (forma férrica) presente no complexo TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina)	32
Figura 7 – Equação química que representa a estabilização do radical ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de sódio	32
Figura 8 – Placa representando de halos de inibição formados por agentes antimicrobianos (Cetoconazol – C, Fluconazol – F, Anfotericina B – A e Nistatina - N) frente à <i>Candida albicans</i> , pelo método de disco-difusão	35
Figura 9 – Árvore da espécie <i>Poraqueiba sericea</i>	36
Figura 10 – Mapa distribuição fitogeográfica da espécie <i>Poraqueiba sericea</i>	37
Figura 11 – Árvore da espécie <i>Garcinia macrophylla</i>	38
Figura 12 – Mapa distribuição fitogeográfica da espécie <i>Garcinia macrophylla</i>	39
Figura 13 – Estrutura química do composto 7- epiclusianona	40
Figura 14 – Árvore da espécie <i>Platonia insignis</i>	41
Figura 15 – Mapa distribuição fitogeográfica da espécie <i>Platonia insignis</i>	42
Figura 16 – Estrutura química do composto 1,3-diestearil-2-oleil-glicerol	43
Figura 17 – Frutos de <i>P. sericea</i> (1), <i>G. macrophylla</i> (2) e <i>P. insignis</i> (3) e cascas e sementes trituradas para extração.....	47

Figura 18 – Extração por Soxhlet acoplado a um sistema de refrigeração.....	48
Figura 19 – Sistema de evaporação rotativa acoplado a refrigerador, método de concentração utilizado	50
Figura 20 – Linhagens bacterianas em meio de cultura (LB) utilizadas nos experimentos, <i>Listeria monocytogenes</i> – (L), <i>Corynebacterium fimi</i> – (C), <i>Bacillus subtilis</i> – (B), <i>Salmonella typhimurium</i> – (S).....	56
Figura 21 – Cepas de cianobactérias em meio de cultura BG11 utilizadas nos experimentos, <i>Synechococcus sp.</i> - (1), <i>Synechocystis sp.</i> - (2) e <i>Nostoc sp.</i> - (3).....	57
Figura 22 – Linhagens fúngicas em meio de cultura Sabouraud utilizadas nos experimentos, <i>C. parapsilopis</i> - (1), <i>C. Tropicalis</i> - (2) e <i>C. glabrata</i> - (3).....	58
Figura 23 – Placas com meio de cultura BG11-Agar 1% solidificado com poços de 7 mm perfurados	59
Figura 24 – Gráfico da Atividade antioxidante (%AAO) em função de diferentes concentrações para os 11 extratos selecionados	76
Figura 25 – Gráfico bidimensional dos <i>scores</i> oriundo da análise de componentes principais para os extratos analisados	77
Figura 26 – Gráfico dos <i>loadings</i> oriundo da análise de componentes principais dos resultados da capacidade antioxidante pelos diferentes métodos avaliativos para os extratos analisados	78
Figura 27 – Dendrograma para os diferentes extratos analisados	80
Figura 28 – Placas demonstrando a atividade antimicrobiana (halo de inibição de crescimento) frente à cepa de <i>Bacillus subtilis</i> , observada para os extratos EHA- <i>Gm</i> – cascas/a frio - (B4C), EM- <i>Gm</i> – cascas/a frio - (D4C) e EHA- <i>Gm</i> – cascas/a quente - (A4C)	82
Figura 29 – Placas demonstrando a atividade antimicrobiana (halo de inibição de crescimento) frente à linhagem de <i>C. glabrata</i> , observada para os extratos EHA- <i>Gm</i> – sementes/a quente - (A4S), EHA- <i>Gm</i> – sementes/a quente - (A4C), e EHA- <i>Gm</i> – sementes/a frio - (B4S).....	84
Figura 30 – Placas demonstrando a atividade antimicrobiana (halo de inibição de crescimento) frente à cepa de <i>Synechococcus sp.</i> (CACIAM R8), observada para os extratos EHA- <i>Ps</i> – sementes/a quente - (A2S), e EH- <i>Pi</i> – sementes/a frio - (C3S) e EHA- <i>Pi</i> – cascas/a frio - (A3C),.....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais materiais e reagentes utilizados durante o desenvolvimento deste estudo	45
Tabela 2 – Identificação botânica, local de coleta, coordenadas geográficas, número de voucher no HMPEG das espécies estudadas e código no SisGen.....	47
Tabela 3 – Sistemas de solventes e massa de material vegetal utilizados nos métodos extrativos a frio por maceração	49
Tabela 4 – Resultados das reações cromogênicas em pH diferentes para classes de flavonóides	51
Tabela 5 – Tabela das reações cromogênicas em meio ácido e alcalino, após leve aquecimento	52
Tabela 6 – Método extrativo, parte vegetal, solvente utilizado e rendimento em (%).....	62
Tabela 7 – Resultados da triagem fitoquímica preliminar pelo método extrativo a frio (maceração) utilizando hexano - (EH), metanol - (EM).....	65
Tabela 8 – Resultados da triagem fitoquímica preliminar pelo método extrativo a quente em Soxhlet.....	66
Tabela 9 – Resultados do ensaio FRAP dos extratos brutos	69
Tabela 10 – Resultados do ensaio ABTS dos extratos brutos	71
Tabela 11 – Resultados do ensaio DPPH representados em % AAO para os extratos brutos .	72
Tabela 12 – Resultados do ensaio DPPH apresentados em (mg ET/g) dos extratos brutos analisados	73
Tabela 13 – Resultados da concentração eficiente (CE ₅₀) pelo ensaio DPPH dos extratos brutos	75
Tabela 14 – Resultado de PCA considerando os métodos de avaliação da atividade antioxidante utilizados.....	77
Tabela 15 – Contribuição dos métodos avaliativos em cada componente principal.....	79
Tabela 16 – Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos brutos de <i>P. sericea</i> , <i>P. insignis</i>	82

Tabela 17 – Avaliação da atividade antifúngica dos extratos brutos de *P. sericea*, *P. insignis* e *G. Macrophylla*..... 84

Tabela 18 – Avaliação da atividade anti-cianobactéria dos extratos brutos de *P. sericea*, *P. insignis* e *G. Macrophylla* 86

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
§	Parágrafo
ABTS	2,2'- azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
Art.	Artigo
C°	Grau Celsius
CF	Constituição Federal
cm	Centímetros
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DPPH	2,2- difenil-1-picril-hidrazil
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
EIA	Estudo de Impacto Ambiental
EPIA	Estudo Prévio de Impacto Ambiental
ET	Equivalente em Trolox
Fe ²⁺	Ferro
FeCl ₃	Cloreto Férrico
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
g	Gramas
HCL	Ácido Clorídrico
Inc.	Inciso
M	Molar
MAC-H	Maceração em hexano
MAC-HA	Maceração com sistema Hidroalcoólico
MAC-M	Maceração em metanol
Min.	Minutos
mL	Mililitros
mM	Milimolar
NaOH	Hidróxido de Sódio
nm	Nanômetro
p.	Página
P.A	Pureza Analítica

PA	Pará
PM	Peso Molecular
RIMA	Relatório de Impacto Ambiental
TG1	1,3-diestearil-2-oleil-glicerol
TPTZ	2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina
Trolox	6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico
UHE	Usina Hidrelétrica
μL	Microlitros
μmol	Micromol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo geral.....	20
2.2 Objetivos específicos.....	20
3 REVISÃO DA LITERATURA	21
3.1 Potencial biotecnológico de plantas amazônicas.....	21
3.2 Aspectos socioambiental e legal.....	23
3.3 As plantas e seus extratos.....	26
3.4 Influência de fatores exógenos sobre plantas	28
3.5 Atividade antioxidante	29
3.6 Atividade antimicrobiana	33
3.7 <i>Poraqueiba sericea</i> TUL.	35
3.8 <i>Garcinia macrophylla</i> MART.....	37
3.9 <i>Platonia insignis</i> MART	40
3.10 Estatística multivariada (Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de Hierárquica de Cluster (HCA)	43
4 MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.1 Materiais.....	45
4.2 Coleta do material botânico, herborização e identificação das espécies	46
4.3 Processamento do material vegetal	46
4.4 Extração.....	48
4.4.1 Extração a quente.....	48
4.4.2 Extração a frio	48
4.5 Secagem e rendimento das amostras	49
4.6 Caracterização qualitativa dos metabólitos secundários	50

4.6.1 Avaliação da presença de flavonoides.....	51
4.6.2 Avaliação da presença de fenóis e taninos	52
4.6.3 Avaliação da presença de alcaloides	52
4.6.4 Avaliação da presença de saponinas.....	53
4.6.5 Avaliação da presença de polissacarídios.....	53
4.7 Ensaios de atividade antioxidante	53
4.7.1 Método de captura do radical ABTS ^{•+} (2,2-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico).....	54
4.7.2 Método FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>).....	54
4.7.3 Método de captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil).....	55
4.7.4 Avaliação da Concentração de Eficiência (CE ₅₀).....	55
4.8 Avaliação qualitativa da atividade antimicrobiana.....	56
4.8.1 Bactérias Reveladoras	56
4.8.2 Cianobactérias Reveladoras.....	57
4.8.3 Leveduras Reveladoras.....	57
4.8.4 Preparo das soluções dos extratos brutos	58
4.8.5 Padronização dos inóculos.....	58
4.8.6 Teste de disco-difusão	58
4.9 Análise estatística.....	60
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
5.1 Rendimento dos extratos.....	61
5.2 Triagem fitoquímica qualitativa.....	62
5.3 Atividade antioxidante dos extratos obtidos das cascas e sementes dos frutos de <i>Poraqueiba sericea</i>, <i>Platonia insignis</i> e <i>Garcinia macrophylla</i>	68
5.3.1 Resultados do potencial antioxidantes pelo método FRAP.....	68
5.3.2 Resultados do potencial antioxidantes pelo método ABTS	70

5.3.3 Resultados do potencial antioxidante pelo método DPPH.....	71
5.3.4 Concentração efetiva (CE ₅₀).....	74
5.3.5 Análise estatística multivariada (PCA e HCA).....	76
5.4 Atividade antimicrobiana dos extratos obtidos das cascas e sementes dos frutos de <i>Poraqueiba sericea</i>, <i>Platonia insignis</i> e <i>Garcinia macrophylla</i>	81
5.4.1 Atividade antibacteriana.....	81
5.4.2 Atividade antifúngica.....	83
5.4.2 Atividade anti-cianobactéria.....	85
6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	88
REFERÊNCIAS	90
APÊNDICES	108

1 INTRODUÇÃO

A Amazônia é a região do planeta que apresenta maior biodiversidade, pois sua flora é riquíssima, porém, ainda pouco conhecida cientificamente. Somente algumas poucas espécies vegetais têm uso tradicional e expressão econômica ou comercial, como espécies madeireiras, alimentícias, aromáticas e medicinais (ROCHA, 2017).

A utilização de plantas como ativo no tratamento de doenças já data desde o início da humanidade e por muito tempo foi a principal forma terapêutica no combate de inúmeras enfermidades. Entretanto, com o desenvolvimento científico e tecnológico, principalmente no setor das ciências da saúde, novos processos para tratar e curar doenças foram surgindo (BADKE et al., 2011).

Segundo Packer e Luz (2007) a população tem se tornado cada vez mais exigente e criteriosa com a qualidade dos produtos que utiliza. Devido a isso, existe uma progressiva preocupação em se fazer uso de produtos menos agressivos de origem natural ou o mais próximo possível desta proveniência.

Observa-se uma tendência mundial de crescimento pela demanda de plantas e compostos de origem vegetal como recurso terapêutico. O que se deve também a fatores econômicos, sociais e culturais. Tendo em vista essa realidade, foi criado o Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos, instituído em 2008, que visa assegurar à sociedade brasileira o acesso seguro e o uso sensato desses produtos, fomentando a utilização sustentável da biodiversidade e da cadeia produtiva (BRASIL, 2008; ROCHA, 2017).

Existem empreendimentos hidrelétricos planejados para serem instalados na região da bacia amazônica. E como consequências desses, áreas relevantes de floresta podem ser inundadas, o que resulta na perda da riqueza ecossistêmica. Nesse cenário a biodiversidade amazônica permanece vulnerável à implantação e operação de grandes empreendimentos hidrelétricos (FEARNSIDE, 2005; MORETTO et al., 2012; KOBLITZ, 2017).

Quando uma usina hidrelétrica é construída, novos ambientes surgem, para os quais nem todas as espécies botânicas estão adaptadas, ocasionando assim perda de parte da biodiversidade, sendo, portanto, fundamental implementar projetos que busquem recuperar as áreas impactadas. Esse fator torna essencial a prospecção, identificação, preservação e propagação de espécies nativas potenciais que podem ser utilizadas em programas ambientais de mitigação dos impactos nas regiões afetadas no entorno de barragens e reservatórios de hidrelétricas (SANTOS JUNIOR et al., 2015).

Nessa conjuntura, se torna estratégico e de grande relevância estudos que visem catalogar, identificar, conhecer a constituição química e as principais atividades biológicas de espécies nativas, e desta forma criar subsídios para a conservação e preservação da biodiversidade local e regional. Tais ações buscam valorizar o potencial de plantas nativas para o possível desenvolvimento de produtos biotecnológicos de alto valor agregado, como fármacos e cosméticos e não apenas com o foco em reflorestamento ou atividades similares.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Identificar o perfil fitoquímico e correlacionar com as atividades antioxidante e antimicrobiana, de extratos obtidos por diferentes métodos das cascas e sementes de frutos de *Poraqueiba sericea*, *Platonia insignis* e *Garcinia macrophylla*, espécies preservadas da biodiversidade florística regional.

2.2 Objetivos específicos

Obter por diferentes técnicas de extração e solventes os extratos das cascas e sementes dos frutos das espécies *P. sericea*, *P. insignis* e *G. macrophylla*;

Identificar o perfil fitoquímico dos extratos obtidos a partir de testes cromogênicos;

Avaliar o potencial antioxidante *in vitro* das matrizes obtidas das cascas e sementes dos frutos das espécies pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP;

Determinar a atividade antimicrobiana qualitativa dos extratos frente a diferentes cepas de bactérias, fungos e cianobactérias pela técnica de difusão em meio sólido;

Determinar as matrizes mais promissoras em termos de atividades antioxidante e de inibição de microrganismos.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Potencial biotecnológico de plantas amazônicas

Os produtos naturais servem de fonte de inspiração para uma grande parte da farmacopeia atual. Embora as estimativas variem de acordo com a definição do que é considerado um fármaco derivado de produto natural, é seguro dizer que, entre 25% e 50% dos fármacos comercializados devem sua origem a produtos naturais (KINGSTON, 2011).

As espécies da flora configuram as maiores fontes de substâncias ativas que podem ser empregadas na terapêutica, devido à enorme abundância estrutural de metabólitos gerados. Nessa busca por produtos inéditos produzidos a partir de plantas, estão envolvidos múltiplos conhecimentos que vão desde aspectos agrônômicos, botânicos, químicos, farmacológicos e toxicológicos (TULP e BOHLIN, 2004; BRANDÃO et al., 2010).

O uso de plantas medicinais tornou-se um recurso terapêutico alternativo de alta aceitação pela população e vem crescendo junto à classe médica, desde que sejam utilizadas plantas cujas atividades biológicas tenham sido analisadas cientificamente, comprovando sua eficiência e segurança (MALINOWSKI et al., 2007). A relevância dessa fonte deve-se também por sua contribuição como fonte natural de fármacos e por proporcionar chances maiores de se obterem moléculas protótipo devido à diversidade química (NOLDIN et al., 2003; SILVESTRE NETO et al., 2014).

A floresta amazônica é conhecida por abrigar a maior diversidade de plantas do mundo, com uma estimativa de cerca 30.000 mil espécies de plantas vasculares. Entretanto, mesmo que numerosas plantas amazônicas já tenham sido estudadas, ressalta-se que o nosso conhecimento atual sobre a diversidade química da flora amazônica representa apenas uma fração dessa diversidade (SILMAN, 2011; SKIRYCH et al., 2016).

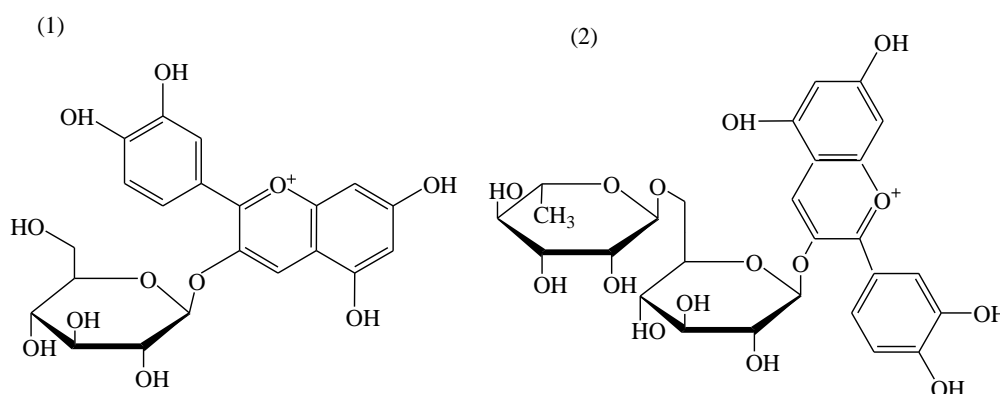
Dentre as inúmeras espécies que compõem a flora amazônica, pode-se destacar o jambu (*Spilanthes oleracea* L.). Estudos com essa espécie demonstram que seu óleo essencial e extratos, apresentam propriedades antioxidante, diurética, anti-inflamatória e anestésica e outras características como sua biodisponibilidade de ferro vêm sendo investigada (COSTA, S. et al., 2013; AGUIAR et al., 2014; ROMÃO et al., 2015).

Os extratos obtidos da priprioca (*Cyperus articulatus* L.) possuem atividades alelopáticas, ou seja, apresentam efeito inibidor sobre a germinação de sementes e crescimento de mudas invasoras de pastagem (ALMEIDA, S. 2010). Para andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) já foram descritas atividade como inseticida, cicatrizante, anti-inflamatória e antialérgica (BARROS, 2011; FERNANDES, 2013; HENRIQUES e PENIDO, 2014;

FARIAS et al., 2017). O óleo essencial obtido das sementes da copaiba (*Copaifera* sp.) demonstrou potencial leishmanicida e anti-inflamatório (GOMES, N. et al., 2010; SANTOS, A. et al., 2011; MORAES et al., 2018).

O açaí (*Euterpe oleracea* Mart) que é muito consumido na região norte do país também se enquadra como uma espécie com relevante potencial químico, pois seus extratos possuem uma gama de componentes polifenólicos com propriedades antioxidantes. Dentre estes se destacam os que estão presentes em maior quantidade e pertencem à classe das antocianinas, que são a cianidina 3-glucosídeo e cianidina 3-rutinosídeo, sendo suas estruturas apresentadas na Figura 1 (HEINRICH et al., 2011; YAMAGUCHI et al., 2015; BARBOSA, P. et al., 2016; CEDRIM et al., 2018).

Figura 1 – Estrutura química dos polifenóis cianidina 3-glucosídeo (1) e cianidina 3-rutinosídeo (2)



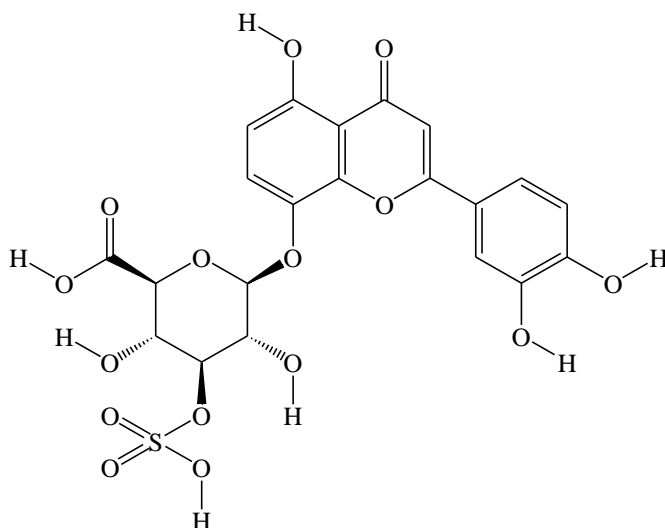
Fonte: Adaptado de CEDRIM et al., 2018.

Outra espécie de destaque é o Camu-camu (*Myrciaria dúbia*), essa fruta tem sido foco de vários estudos, pois produz compostos de elevado valor nutricional, como aminoácidos, ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais. Além disso, contém fitoquímicos que demonstraram atividade antioxidante e anti-inflamatória, às quais foram relacionadas à presença de compostos fenólicos, vitamina C e ácido betulínico (CUNHA-SANTOS et al., 2018; CASTRO et al., 2018; FIDELIS et al., 2018).

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) cuja polpa é bastante apreciada em doces, sucos e sorvetes, também é uma espécie da flora amazônica de grande importância, devido sua atividade antiglicêmica comprovada, e ainda por possui um tipo de flavonoide, a teograndina

II (Figura 2), que tem sido associada à redução do estresse oxidativo em processos metabólicos essenciais (PUNARO et al., 2017; BALISTEIRO et al., 2017).

Figura 2 – Estrutura bidimensional do flavonoide teograndina II



Fonte: Adaptado de PubChem, 2019.

Um número significativo de famílias e espécies de plantas foi estudado até o momento. Entretanto, se levarmos em conta a enorme diversidade de espécies conhecidas e desconhecidas em especial às amazônicas, muito trabalho ainda tem de ser feito. Ainda, para a maioria das plantas investigadas, somente uma das partes, como folha, raiz ou caule, ou somente um tipo de preparação como óleo essencial ou extrato foram estudados (DUARTE, 2006; BARREIRO e BOLZANI, 2009).

Por possuir essa enorme diversidade vegetal, a Amazônia tem vasto potencial como fonte de novos compostos. Dessa forma, a busca de novas alternativas terapêuticas e o desenvolvimento de novos medicamentos a partir de produtos naturais têm sido os motivos subjacentes para estudos químicos e farmacológicos (DE VARGAS et al., 2016).

3.2 Aspectos socioambiental e legal

Existe amplo entendimento de que é preciso desenvolver a Amazônia, incentivando principalmente o setor bioindustrial, que agregue valor à biodiversidade de forma sustentável, conservando os ecossistemas e de modo socialmente digno tanto no que concerne as

comunidades urbanas como as tradicionais ribeirinhas e indígenas. Em contrapartida, a perda da biodiversidade por meio da intensa exploração e ocupação da região é preocupante (ASTOLFI FILHO et al., 2014).

Nesse contexto, os grandes empreendimentos como é o caso de barramentos tanto para produção energética quanto para uso no armazenamento de rejeitos decorrente da mineração, possuem papel de destaque nos impactos sobre a biodiversidade. Todavia, debates sobre diferentes meios de mitigar ou compensar essas perturbações vem se fortalecendo nos últimos anos (CHOUERI e AZEVEDO, 2017).

A preocupação da sociedade com a proteção ambiental tornou indispensável à criação de instrumentos que resguardem o meio ambiente. Desta forma, obras efetivas e ou potencialmente causadoras de impacto ambiental devem cumprir requisitos de análise e controle prévio, antecipando assim ao máximo possíveis riscos e impactos ambientais a serem prevenidos, mitigados e/ou compensados (COSTA, S. 2016).

Dentre os recursos existentes para a proteção do meio ambiente está o Estudo de Impacto Ambiental (EIA) e seu respectivo Relatório de Impacto Ambiental (RIMA), fixados pela Lei de nº 6.938/1981, a qual dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, que e foram regulamentadas pelas Resoluções 001/1986 e 237/1997 – do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Além disso, a Constituição Federal (CF) de 1988, no seu art. 225, § 1º, inc. IV exige a realização do Estudo Prévio de Impacto Ambiental (EPIA), haja a vista a instalação de atividades que provoquem ou possam provocar impacto ambiental significativo (COSTA, S. 2016).

Entretanto, segundo Turra et al (2017) há no Brasil uma limitação na aplicação da legislação ao nível de projeto ou empreendimento, conforme previsto na resolução CONAMA supracitada, comprometendo assim sua eficácia, de forma que o processo não leva em conta o funcionamento dos biosistemas da região onde se introduz.

As experiências com hidrelétricas na Amazônia demonstram muitas falhas e evidenciam as drásticas consequências que estes investimentos provocam em toda a área de influência do empreendimento. Essas falhas decorrem principalmente do fato de não serem desenvolvidos com antecedência, planejamentos sistemáticos e formas de mitigação (ALMEIDA, N. 2016).

A Usina Hidrelétrica (UHE) de Tucuruí situada no rio Tocantins, no Estado do Pará, a montante da cidade de Tucuruí, enquadra-se nesse contexto, pois é um empreendimento que gerou enorme perturbação na região (MÉRONA et al., 2010; SANTANA et al., 2014).

Originalmente existia na região grande quantidade de espécies florestais de interesse socioeconômico, entre as quais se destacavam *Bertholletia excelsa* (castanheira), *Theobroma grandiflorum* (cupuaçu), *Euterpe oleracea* (açai) e *Platonia insignis* (bacuri). Entretanto, devido à implantação da UHE esse quantitativo veio a decrescer notavelmente (ROSA JUNIOR, 2006).

Vários programas de gerenciamento ambiental foram criados pela empresa gestora, como forma de mitigação pelos impactos gerados e de sua política de sustentabilidade dentre os quais, pode-se citar o programa de limnologia e qualidade da água, de recuperação de áreas degradadas, de fiscalização de recursos naturais e educação ambiental. Outro programa de destaque é o Banco de Germoplasma, o qual foi instituído com a finalidade de manutenção da biodiversidade local pela conservação *in situ* e *ex situ* de amostras populacionais dentro e fora de suas comunidades naturais por meio de indivíduo ou clone representativo de uma espécie, permitindo assim a sua reprodução e utilização futura (MESQUITA NETO, 2007).

Junto a isso, a empresa em conjunto com órgãos públicos oferece suporte estrutural e financeiro para o Mosaico de Unidades de Conservação que foi criado no Lago de Tucuruí e tem o objetivo de ordenar o uso dos recursos naturais no lago da Usina e em seu entorno. Assim, como preconiza a legislação ambiental brasileira, que determina que empreendimentos de grande impacto compensem os danos causados ao meio ambiente com a criação de unidades de conservação e proteção integral (CENTRAIS ELÉTRICAS DO NORTE DO BRASIL, 2016). Todavia, outros meios podem ganhar espaço como forma de aproveitar de maneira mais eficiente e sustentável as áreas impactadas. Como é o caso do investimento e estímulo no conhecimento biotecnológico da biodiversidade nativa.

Dessa forma, tornar-se essencial a utilização de estratégias que visem conhecer melhor os ecossistemas onde se inserem tais empreendimentos, não somente enquanto projeto mais também durante toda sua operação. A partir daí, é possível planejar estratégias mais eficientes, que mitiguem e/ou compensem os impactos gerados. Como mencionado acima a Amazônia tem uma riqueza imensa, no entanto, carece de conhecimento acerca do seu potencial biotecnológico (ROCHA, 2017). Nesse sentido é de grande interesse atrelar a inserção de grandes obras no cenário amazônico com pesquisas e programas que incentivem a busca pelo conhecimento da biodiversidade e seus possíveis usos em prol da sociedade de maneira sustentável, eficiente e respeitosa com o meio ambiente.

3.3 As plantas e seus extratos

Os extratos vegetais são produtos líquidos, em pó, ou intermediário obtido da síntese dos princípios ativos de plantas por diversas metodologias. Configuram ações farmacêuticas aquelas que têm o intuito de condensar as substâncias e diminuir as posologias, prolongar o prazo de validade e durabilidade de algumas substâncias ou voltadas à partição dos ativos efetivamente implicados nos efeitos terapêuticos (MARQUES, 2005; BRASIL, 2010).

As inúmeras metodologias descritas para a preparação desses extratos têm como objetivo o isolamento de seus constituintes químicos, permitindo a concentração dos princípios ativos, e, portanto, agregação de valor à matéria-prima (CECHINEL FILHO e YUNE, 1998; OLIVEIRA, L. 2014).

Os métodos extrativos incluem maceração a frio utilizando solventes, infusão, percolação, decocção, extração contínua a quente (Soxhlet), extração em contra-corrente, extração assistida por microondas, dentre outros (OLIVEIRA, G et al., 2016). Estudos demonstram que o método de extração pode influenciar diretamente no tipo, qualidade e quantidade dos metabólitos secundários obtidos (ROCKENBACH et al., 2008; VONGSAK et al, 2013; BAMPOULI et al, 2014; KARABEGOVIĆ et al, 2014).

Segundo Tiwari et al (2011), além dos métodos extrativos, outros fatores atuam diretamente nas características finais dos extratos, tais como: a parte do material vegetal usada, origem deste, grau de processamento, tamanho da partícula, solvente utilizado, o tempo de extração, temperatura, polaridade e concentração do solvente.

Casale e Valentini (2017) destacam que o uso de princípios ativos de plantas apresenta um potencial favorável por possibilitar ação terapêutica efetiva em enfermos. Os princípios ativos obtidos de plantas são importantes e devem ser usados com cautela, pois também podem ser tóxicos, sendo necessários estudos que detalhem seus efeitos.

O metabolismo das plantas é definido como o conjunto total das transformações das moléculas orgânicas, catalisadas por enzimas, que ocorre nas células vivas, suprindo as necessidades essenciais do organismo, e distinguindo-se em metabólitos primários e secundários (SILVA e LIMA, 2016).

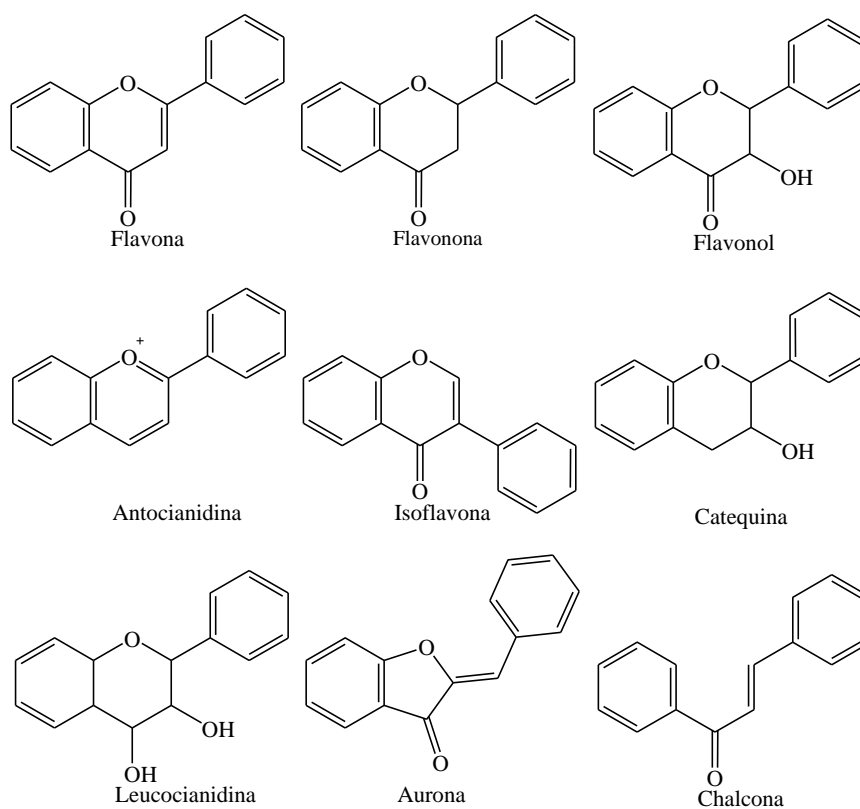
Os metabólitos primários participam das atividades vitais do organismo e os secundários são substâncias que geralmente não fazem parte do metabolismo básico e possuem características químicas muito variadas e às vezes bem complexa (ALVES, 2009; MANTOVANI e PORCU, 2009; MORAIS et al., 2016).

Conforme Pereira e Cardoso (2012) os metabolitos secundários estão diretamente envolvidos nos mecanismos que permitem a adaptação das plantas ao seu meio. Desta forma, esse tipo de metabolito desperta grande interesse, não só pelas atividades biológicas exercidas em resposta aos estímulos do meio ambiente, mas também pela imensa atividade farmacológica que possuem.

Por outro lado, os constituintes das plantas, quando testados podem expressar ainda efeitos sinérgicos entre os inúmeros princípios ativos devido à existência de compostos de classes ou estruturas distintas que auxiliam na mesma ação. No estudo da bioatividade de extratos vegetais é importante a escolha correta de bioensaios para a detecção do efeito específico. As técnicas de ensaio devem ser simples, notórias e reprodutíveis (MACIEL et al., 2002; RAMAKRISHNA e RAVISHANKAR, 2011).

Diversas classes de produtos naturais constituem grupos importantes de metabolitos secundários, que estão envolvidos em vários processos fisiológicos das plantas (GOMES e LIMA, 2014). Destacando-se flavonoides (Figura 3), alcaloides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, carotenoides e compostos fenólicos (FUMAGALI et al., 2008; VIZZOTO et al., 2010; BARBOSA, H. et al., 2017).

Figura 3 – Estruturas genéricas das principais classes de flavonoides



Fonte: Autor

Todavia existem grandes dificuldades na prospecção de princípios ativos de espécies nativas do Brasil, devido à escassez de informações científicas sistematizadas, obrigando a utilização frequente de informações de uso tradicional. Apesar dos inúmeros recursos com potencial terapêutico à disposição, as dúvidas e incoerências a cerca da falta de estudos permanecem (BOORHEM e LAGE, 2009). Dessa forma, tem-se observado um maior interesse por parte de pesquisadores e empresas farmacêuticas, no sentido de entender melhor a composição química de plantas, e garantir não só a efetividade, mas também a segurança de sua utilização (SOUZA, L. 2012).

3.4 Influência de fatores exógenos sobre plantas

Conforme Pérez-Clemente et al (2013) as plantas e animais partilham alguns mecanismos de resposta a condições ambientais nocivas. No entanto, as plantas, sendo organismos fixos, desenvolveram, na trajetória de sua evolução, estratégias altamente robustas e eficientes de resposta para lidar e adaptar-se a diferentes tipos de estresse abiótico e biótico imposto pelo ambiente frequentemente adverso.

O estresse pode ser entendido como um estímulo ou influência que está fora do alcance normal do controle homeostático em um determinado organismo: se a tolerância ao estresse for excedida, os mecanismos são ativados nos níveis molecular, bioquímico, fisiológico e morfológico; uma vez que o estresse é controlado, um novo estado fisiológico é estabelecido e a homeostase é restabelecida (FRAIRE-VELÁZQUEZ et al., 2011).

Segundo Tucic et al (2011) fatores ambientais podem prejudicar indiretamente as plantas influenciando em seu metabolismo. Nessas situações, elas podem modular as atividades dos sistemas bioquímicos existentes redirecionando o fluxo metabólico de maneira que compense a agressão ambiental (ASHRAF et al., 2018).

Quaisquer modificações no ambiente podem acarretar mudanças fisiológicas, morfológicas, adaptativas ou até mesmo extinguir espécies sensíveis por pequenas variações físico-químicas do ambiente (BAGLIANO, 2012). Por exemplo, quando espécies se adaptam a inundações constantes seus mecanismos de desenvolvimento, morfológicos, fisiológicos e moleculares sofrem alterações para conseguirem tolerar o novo meio e, caso não se ajuste, entram em declínio (ORT e AINSWORTH, 2012).

É notório que grandes empreendimentos hidrelétricos estão associados a significativas alterações ambientais e modificações no meio onde se inserem (QUEIROZ e MOTTA-VEIGA, 2012). Além da supressão total ou parcial da mata ciliar pela formação do

reservatório, as usinas hidrelétricas (UHE) também causam inúmeros outros impactos tanto diretos quanto indiretos sobre a flora, tais como fragmentação da floresta e mudança nas características físicas, químicas e microbiológicas do perfil do solo, contribuindo para o estresse fisiológico desses organismos (FERREIRA et al., 2010; BATISTA et al., 2012).

A título de exemplo, a UHE-Tucuruí, que mesmo com sua importância socioeconômica e estratégica para a matriz energética nacional e de amplos inventários botânicos e zoológicos terem sido feitos antes de sua implantação. As perdas de espécies ou pressão adaptativa artificial acelerada do ecossistema local, em especial para a flora, são sem dúvida, prováveis. Haja vista, o grande espaço territorial inundado, que afetou grande parte da diversidade florística regional, tornando-a um empreendimento gerador de significativo impacto ambiental (JUNK e MELLO, 1990; COMISSÃO MUNDIAL DE BARRAGENS, 2000; SEQUEIRA, 2017).

Nesse sentido, estudos que direcionam seus esforços para o conhecimento das características diversas que as plantas possuem são sempre de grande relevância, tendo em vista, as aplicabilidades, tanto para medidas mitigadoras quanto para incentivos no desenvolvimento de novos produtos que beneficiem o homem e criem subsídios para a conservação da própria biodiversidade (NUNES et al., 2009; PAVARINI et al., 2012).

3.5 Atividade antioxidante

Considera-se antioxidante qualquer substância capaz de retardar ou impedir danos associados à oxidação, estando presente em pequenas concentrações quando em comparação com o agente oxidante. As substâncias antioxidantes podem apresentar diferentes propriedades protetivas e agir em diversas etapas do processo oxidativo, funcionando por diversos mecanismos (RUFINO et al., 2007; CATANEO et al., 2008; SANTOS, G. et al., 2008; SILVA, M. et al., 2010; SOUZA, SOUZA, VIEIRA, e PUTTI. et al., 2018).

A atividade antioxidante pode prevenir ou diminuir os danos oxidativos de lipídios, proteínas e ácidos nucleicos causados por espécies de oxigênio reativo, que agregam os radicais livres, isto é, os antioxidantes detêm a habilidade de reagir com os radicais livres (Figura 4) e assim limitar os efeitos negativos ao organismo (KIRKHAM et al., 2006; GUPTA, R. et al., 2014; VIDAL e FREITAS, 2015).

Figura 4 – Equação química representando a ação de um antioxidante primário frente a um radical livre, onde ROO^{*} é o radical livre, AH - antioxidante com átomo de hidrogênio ativo e A^{*} - radical desativado



Fonte: KIRKHAM et al., 2006.

Problemas causados pelas reações oxidativas em mecanismos biológicos podem ser retardados pela utilização de antioxidantes naturais, principalmente de compostos fenólicos, os quais englobam substâncias de diferentes classes como: flavonoides e taninos. Dentre as funções descritas na literatura para esses compostos destacam-se atividade antioxidante, anti-inflamatória, cardioprotetora, antidiabético, efeitos anticarcinogênicos, antimicrobianos, anti-helmíntico (HIRATA, SATO e SANTOS, 2004; BIRBEN et al., 2012; KARABIN et al., 2015; VARGAS-MAGAÑA et al., 2014; GEETHALAKSHMI, SUNDARAMURTHI e SARADA, 2018; HAN et al., 2018; SOUZA, P. et al., 2018; WANG et al., 2018; BARRETT et al., 2018).

Fornaciari et al (2014) enfatizam que o consumo de diferentes antioxidantes, pode proporcionar proteção contra o estresse oxidativo, que é a causa de muitas doenças. Também é sabido que o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e compostos antioxidantes determina um estresse oxidativo a nível celular e, conseqüentemente, um risco significativo de danos ao metabolismo.

Os antioxidantes naturais apresentam maiores vantagens em relação aos compostos antioxidantes sintéticos, particularmente em sua capacidade de prevenir a formação inicial de radicais livres, sem o risco de efeitos carcinogênicos ou a possibilidade de serem prejudiciais ao organismo (JESHVAGHANI, et al., 2015).

Estudos realizados para obter antioxidantes seguros de fontes naturais foram feitos, onde se encontraram compostos tais como: alcalóides, flavonóides, taninos, polifenóis, vitamina C, vitamina E e carotenóides que são classes que possuem grande potencial como agentes antioxidantes (PRIOR, 2003; POKORNY et al., 2001; TERUNA et al., 2007; ZAMRI et al., 2016; FITMAWATI et al., 2017),

Pesquisas epidemiológicas apontam que o elevado consumo de produtos vegetais está relacionado com uma diminuição no risco de uma diversidade de enfermidades. Estes resultados têm sido especialmente referidos aos compostos que possuem atividade antioxidante (SILVA, M. et al., 2010). As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (cardiovasculares, respiratórias crônicas, cânceres e diabetes), por exemplo, são responsáveis por cerca de 70% de todas as mortes no mundo, estimando-se 38 milhões de mortes anuais. Desses óbitos, cerca de 16 milhões ocorrem em indivíduos abaixo dos 70 anos e quase 28 milhões, em países de baixa e média renda. Todavia, como o estresse oxidativo é um fator negativo, presente na maioria das doenças crônicas, os antioxidantes de origem natural são considerados como agentes eficazes na profilaxia e no combate a essas patologias

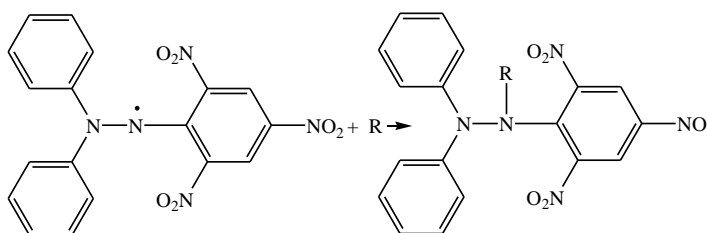
(MALTA et al., 2017). Dessa forma, estudos envolvendo compostos antioxidantes de origem natural se fortalecem em diferentes centros de pesquisa devido a sua relevância na prevenção de reações oxidativas (BROINIZI et al., 2007).

Conforme Alam, Bristi, e Rafiquzzaman et al (2013), que realizaram uma ampla revisão sobre métodos de avaliação da atividade antioxidante. Este tipo de atividade não deve ser determinada com base em um único modelo de teste antioxidante. Haja vista, a grande gama de diferentes tipos de radicais livres e de suas diferentes formas de atuação nos organismos vivos. Desse modo, dificilmente existirá um método simples e universal pelo qual a atividade antioxidante possa ser avaliada. Sendo necessária, uma mescla de diferentes métodos de avaliação, para apontar, com segurança, a capacidade antioxidante de determinada estrutura ou matriz complexa (ALVES, C. et al., 2010).

Dentre os principais métodos empregados na avaliação antioxidante de estruturas de origem biológica, os espectrofotométricos são os mais usuais, baseando-se invariavelmente, na capacidade “descolorante” da amostra. Os ensaios mais utilizados recebem o nome do reagente cuja absorção será atenuada pelo antioxidante. Esse tipo de ensaio indica a capacidade antioxidante total do produto no que diz respeito à presença de radicais livres e tem custo acessível (SOUZA, A. 2014; OLIVEIRA, L. et al., 2014).

Entre os métodos mais utilizados está o de captura do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), que é caracterizado como um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron livre sobre a molécula como um todo, de modo que a molécula não dimeriza, como seria o caso da maioria dos outros radicais livres. A deslocalização do elétron também dá origem à cor violeta intensa, caracterizada por uma banda de absorção, em solução de etanol, centrada em 517 nm. Quando uma solução de DPPH é misturada com a de um substrato que pode doar um átomo de hidrogênio, isso gera uma forma reduzida com a perda da coloração, como demonstrado na Figura 5 (RUFINO et al., 2007; LOGANAYAKI et al., 2013). Essa técnica foi laborada inicialmente por Brand-Willams et al (1995), e é amplamente utilizada para determinação de atividades antioxidantes em frutas e outras estruturas vegetais (SOARES et al., 2008).

Figura 5 – Equação química que representa a reação do processo observado no método DPPH

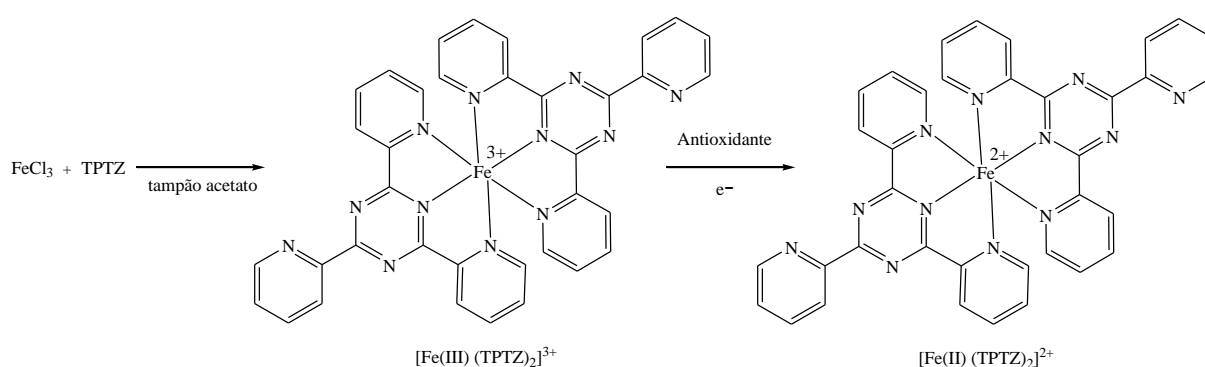


Fonte: RUFINO et al., 2007. Cor: violeta-escura

Cor: violeta-clara

Outro método bastante difundido é o FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) ou Poder Antioxidante de Redução do Ferro, proposto por Benzie e Strain (1996), essa técnica tem como princípio determinar a redução do ferro em fluidos biológicos e soluções aquosas de compostos puros (Figura 6). Esse método pode ser aplicado para estudos da atividade antioxidante em extratos de alimentos e bebidas, e também, para o estudo da eficiência antioxidante de substâncias puras, com resultados comparáveis àqueles obtidos com outras metodologias mais complexas (RUFINO et al., 2006; SUCUPIRA et al., 2012).

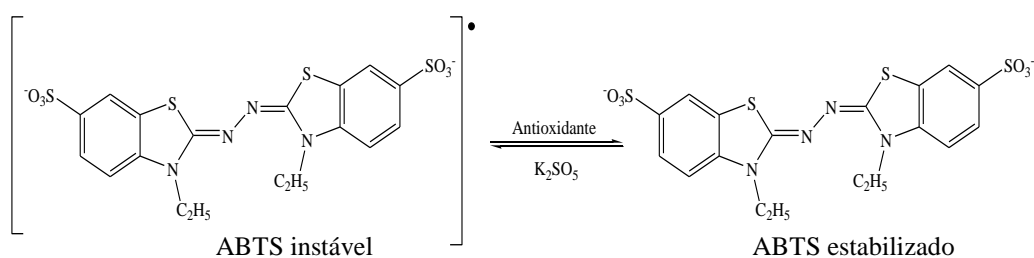
Figura 6 – Equação química que descreve a produção de Fe^{2+} (forma ferrosa) a partir da redução de Fe^{3+} (forma férrica) presente no complexo TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina)



Fonte: RUFINO et al., 2006

Outro método que é aplicado na determinação da atividade antioxidante é o método de captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) – ABTS, descrito por Re et al (1999), que se baseia na geração do radical através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática. Esse radical pode reagir de forma enérgica com compostos doadores de hidrogênio, como compostos fenólicos, sendo convertido em uma forma incolor de ABTS^{*+} (Figura 7). Com essa metodologia, pode-se determinar a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (RUFINO et al., 2007; BISKUP et al., 2013).

Figura 7 – Equação química que representa a estabilização do radical ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de sódio



Fonte: RUFINO et al., 2007

3.6 Atividade antimicrobiana

Os antimicrobianos são substâncias naturais ou sintéticas que agem sobre microrganismos, inibindo o seu crescimento ou causando a sua destruição (ULLAH e ALI, 2017). Na época da revolução conhecida como “era de ouro”, por volta da década de 1960, grande parte dos grupos de antibióticos importantes foram descobertos, tais como: β -lactâmicos (DOCQUIER e MANGANI, 2018) e tetraciclina (MARKLEY e WENCEWICZ, 2018) e os principais problemas envolvendo a quimioterapia foram resolvidos. Contudo, enfrenta-se no campo da medicina, o problema desses compostos descobertos, outrora tão excepcionais, perderem a eficácia devido ao aumento da resistência microbiana (MAYERS et al., 2009; BALSALOBRE et al., 2014). Implicando em impactos consideráveis, com falhas de tratamento associados principalmente a bactérias multirresistentes e esse problema tornou-se uma preocupação global à saúde pública (GUSCHIN et al., 2015; MARTIN et al., 2015).

Nesse cenário, a descoberta de novos fármacos é um objetivo extremamente importante. Os produtos naturais ainda são uma das principais fontes de novas moléculas para o desenvolvimento de medicamentos. Eles são derivados de bactérias procarióticas, microrganismos eucarióticos, plantas e organismos animais. Os produtos oriundos de vegetais e microrganismos ocupam a maior parte dos compostos antimicrobianos descobertos até hoje (DEMAIN, 2014; GÓRNIK et al., 2019).

Diversos microrganismos são utilizados como reveladores em testes de ação antimicrobiana. Dentre os quais, mencionam-se as linhagens bacterianas de *Salmonella typhimurium* que é um anaeróbio facultativo Gram-negativo que causa infecção sistêmica, sendo responsável por inúmeras perdas de vidas em todo o mundo (CHAUDHURI et al., 2018), *Bacillus subtilis* (Gram positiva) que é reconhecido como um probiótico humano e animal seguro e confiável e está associado a bioatividades, como produção de vitamina e estimulação imunológica (DU et al., 2019), *Corynebacterium fimi* (Gram positiva) são bactérias que possuem relevância médica, veterinária ou biotecnológica (OLIVEIRA et al., 2017) e *Listeria monocytogenes* que são bacilos (Gram positivos) não formadores de esporos, são facultativamente anaeróbicos e responsáveis por infecções humanas de origem alimentar (PIZARRO-CERDÁ E COSSART, 2019).

Linhagens de leveduras são amplamente utilizadas também como é o caso do gênero *Candida*, que possui relevante de interesse médico, sendo *Candida albicans* a principal na América Latina, no entanto outras espécies, como *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*,

começam a despontar, haja vista, o potencial infeccioso latente desses organismos (MENEZES et al., 2013).

Outros organismos que são estudados são as cianobactérias que degradam a qualidade da água através do acúmulo extracelular de toxinas, que afetam animais e humanos que consomem a água (LOPES et al., 2017). Tendo as espécies *Synechocystis sp.*, *Nostoc sp.* e *Synechococcus sp.* como representantes desses organismos bem conhecidas do bioma Amazônian (AMARAL, 2018).

Plantas e outras fontes naturais podem fornecer uma enorme variedade de compostos complexos e estruturalmente diversos. Grupos de pesquisadores se concentram na investigação de extratos vegetais e microbianos, óleos essenciais, metabólitos secundários puros e novas moléculas sintetizadas como potenciais agentes antimicrobianos (MABONA et al., 2013; NAZZARO et al., 2013).

Estudos desenvolvidos por Luciano-Montalvo et al (2013), demonstraram os efeitos antimicrobianos e bactericidas de *Tapeinochilus ananassae* contra *Proteus vulgaris* (ATCC 6896) e *Staphylococcus saprophyticus* (ATCC 15305) e os efeitos de *Syzygium jambos* contra *Staphylococcus saprophyticus* (ATCC 15305) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6341).

Outro estudo, desenvolvido com extratos de folhas da espécie *Montrichardia linifera* evidenciou que os extratos metanólico seco (EMS), metanólico fresco (EMF), etanólico seco (EES), apresentaram ação antibacteriana frente às diferentes linhagens bacterianas tais como: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), sendo o extrato metanólico seco (EMS) o mais eficiente (MIRANDA et al., 2015).

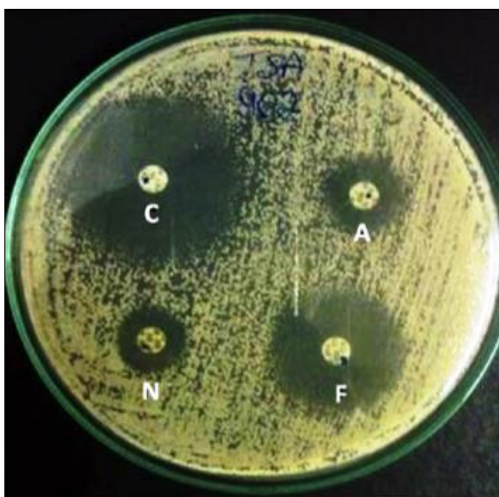
Um estudo demonstrou que os frutos de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira-vermelha), nativa da América do Sul, são ricos em flavonas e sapogeninas esteroides. Nos frutos dessa espécie foi identificado um composto codificado como 430D-F5 que apresentou capacidade de atenuar a virulência do MRSA – uma forma de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, que a cada ano mata cerca de 11.000 pessoas apenas nos Estados Unidos (MUHS A. et al., 2017).

De acordo com Balouiri, Sadiki, e Ibsouda (2016), existe uma variedade de métodos de laboratório que podem ser usados para avaliar ou rastrear a atividade antimicrobiana *in vitro* de um extrato ou um composto puro. O método de difusão em disco e diluição em caldo ou ágar é o mais conhecido e um dos mais utilizados. O teste de disco-difusão em ágar

foi desenvolvido por Norman George Heatley por volta 1940 (HEATLEY, 1944), sendo o método oficial usado em laboratórios de microbiologia clínica para testes rotineiros de susceptibilidade a antimicrobianos. Padrões aceitos e aprovados são publicados pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) para testes de bactérias e leveduras (NCCLS, 2012).

O método de disco-difusão baseia-se na difusão, através do ágar, de um antimicrobiano impregnado em um disco de papel-filtro. A difusão do antimicrobiano leva à formação de um halo de inibição do crescimento do microrganismo testado (Figura 8). O teste é prático, de fácil execução e idealizado, principalmente, para bactérias de crescimento rápido. Os reagentes são relativamente econômicos, não há necessidade de equipamentos especiais, além de apresentar grande flexibilidade na escolha do número e tipo de antimicrobianos a serem testados (NCCLS, 2003; 2012).

Figura 8 – Placa representando halos de inibição formados por agentes antimicrobianos (Cetoconazol – C, Fluconazol – F, Anfotericina B – A e Nistatina - N) frente à *Candida albicans*, pelo método de disco-difusão



Fonte: SILVA et al., 2016.

3.7 *Poraqueiba sericea* TUL.

A espécie *Poraqueiba sericea* TUL., de nome popular Mari ou Umari (Figura 9, p. 36), pertence ao gênero *Poraqueiba*, subordinado a família botânica *Icacinaceae*. É conhecida botanicamente desde o século passado, tendo sido descrita por Tulasne em 1849 (FALCÃO e LIERAS, 1980). Esse gênero é composto por três espécies de terra firme: *Poraqueiba sericea*, *Poraqueiba guianensis* e *Poraqueiba paraensis*, que são espécies endêmicas da Amazônia, com ocorrências confirmadas nos estados do Acre, Amazonas, Amapá e Pará como demonstrado no mapa distribuição geográfica (Figura 10, p. 37) (FAO, 1986; ZEBIRI et al., 2016).

Na literatura científica são encontrados poucos relatos sobre *P. sericea*. Sabe-se que é uma espécie arbórea e que foi cultivada inicialmente por nativos americanos e propagada na Bolívia, Brasil e Peru. É bastante apreciada no Peru por seu fruto ter sabor agradável e característico, onde é consumida *in natura* e também como ingrediente principal na composição de uma bebida local chamada "Cahuana" preparada com amido de tapioca (ZEBIRI et al., 2016).

Figura 9 – Árvore da espécie *Poraqueiba sericea*



Fonte: Autor.

No Brasil, *P. sericea* tem ocorrência registrada principalmente nos estados do Amazonas e Pará. Encontrando-se essencialmente em matas de terra firme (FALCÃO e

LIERAS, 1980). Um estudo etnobotânico apontou que as folhas de *P. sericea* são largamente utilizadas por tribos como infusão para tratar disenteria (HUAMÁN et al., 2001).

Figura 10 – Mapa distribuição fitogeográfica da espécie *Poraqueiba sericea*



Fonte: Flora do Brasil, 2020., 2019

Legenda: Estados de ocorrência da espécie na região norte (cor verde) no Brasil

Pesquisas com enfoque na investigação fitoquímica da família Icacinaceae indicaram a presença de alcaloides (KHAN et al., 2013), flavonoides (MANGA et al., 2013), triterpenos pentacíclicos (CALDERÓN et al., 2013), entre outros constituintes fitoquímicos de interesse.

No estudo de Zebiri et al (2016), três saponinas triterpenoides, seis triterpenos e dois secoiridoides foram isolados e identificados a partir do caule de *P. sericea*. Sendo esses compostos testados para algumas bioatividades, com resultados promissores para as atividades anti- β -glicosídica e anti-acetilcolinesterase.

3.8 *Garcinia macrophylla* MART.

O nome genérico *Garcinia* é uma homenagem ao botânico francês Laurent Garcin, que foi o primeiro a publicar uma descrição da espécie (CARVALHO, 2014). Esse gênero pertence à família *Clusiaceae* que engloba aproximadamente 1.600 espécies subordinadas a 36 gêneros, dispersas em regiões tropicais e subtropicais do mundo (CAVALCANTE, 2010).

G. macrophylla MART. (Figura 11) é nativa da Amazônia e ocorre no sub-bosque de florestas de várzea. No Brasil tem importância madeireira e alimentícia, além de ser utilizada na recuperação de áreas degradadas (NASCIMENTO et al., 2002; COSTA et al., 2016).

O gênero *Garcinia* é o mais representativo da família *Clusiaceae*, com cerca de 400 espécies. No Brasil, a família *Clusiaceae* está representada por 21 gêneros e 183 espécies, distribuídas nas diferentes regiões do País (Figura 12, p. 39) (BARROSO, 1978).

Figura 11 – Árvore da espécie *Garcinia macrophylla*



Fonte: Autor.

Figura 12 – Mapa distribuição fitogeográfica da espécie *Garcinia macrophylla*



Fonte: Flora do Brasil, 2020., 2019

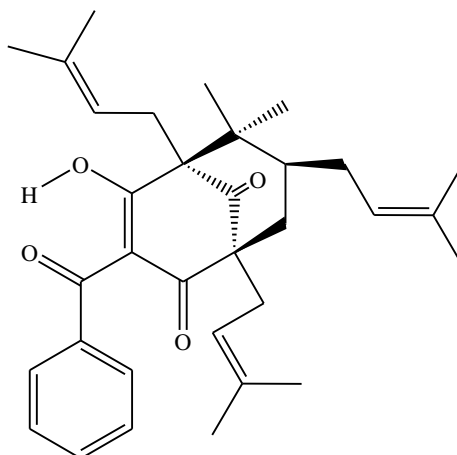
Legenda: Estados de ocorrência da espécie, na região norte (cor verde), centro-oeste (cor amarela), nordeste (cor areia) e sudeste (cor rosa), no Brasil

Segundo Carvalho (2014), dentro do táxon genérico *Garcinia* são nativas do Brasil as seguintes espécies produtoras de frutos comestíveis: o bacuparizeiro ou bacurizeiro-mirim (*G. gardneriana* Miers. (Planch. e Triana) Zappi), o bacuri peito de moça (*G. macrophylla* Mart.), o bacuriparizeiro-liso (*G. brasiliensis* Mart.), bacurizinho (*G. acuminata* Planch. e Triana) e *Garcinia madruno* (Kunth.) Hammel, conhecida no Estado do Amazonas como bacurizeiro ou bacurizeiro-verdadeiro. Estas denominações são as que identificam mais correntemente nos estados do Pará, Maranhão e Piauí a espécie *Platonia insignis* Mart.

Rosa e Machado (2016) apontam uma tendência para um efeito positivo da utilização de *Garcinia cambogia* sobre a obesidade, com pouca possibilidade de efeitos colaterais. Seu princípio ativo encontrado na casca do fruto chamado de ácido-hidroxicítrico (AHC), parece ter ação hipolipemiante, através da inibição de enzima ATPcitrato liase, responsável pela clivagem do citrato em acetilCoA em oxaloacetato, sendo usada no tratamento de obesidade (SANTOS et al., 2007 e HAYAMIZU et al., 2008). Outra pesquisa (SALES et al., 2015), apontou que o composto 7-epiclusianona (Figura 13, p. 40), uma benzofenona tetraprenilada isolada do epicarpo de *Garcinia brasiliensis*, indicou potencial anticancerígeno contra células

de glioblastoma. Assim sendo, é inegável que esse gênero possui considerável potencial como fonte natural de moléculas de interesse.

Figura 13 – Estrutura química do composto 7-epiclusianona



Fonte: SALES et al., 2015.

3.9 *Platonia insignis* MART

A espécie *Platonia insignis*, conhecida popularmente como bacurizeiro (Figura 14, p. 41), também pertence à família botânica Clusiaceae, subfamília Clusioideae e ao gênero *Platonia*. A família Clusiaceae agrega aproximadamente 1.600 espécies subordinadas a 36 gêneros, dispersas por diversas regiões tropicais, subtropicais e temperadas pelo mundo (BARROSO et al., 2002). *Platonia insignis* tem sido considerada como a única espécie do gênero *Platonia*, sendo assim, é considerada um monotipo. Esse gênero é descrito como riquíssimo em substâncias naturais como: xantonas (euxantonas), ácidos graxos, e triglicerídeos (CAVALCANTE, 1996; SILVA V. et al., 2010).

O nome comum “*Platonia*” é uma referência ao memorável pensador grego Platão e “*insignis*” o nome da espécie, significa notável, insigne, importante, grande, aquele que é notório, em alusão ao porte do fruto (YAMAGUCHI, 2014).

A ocorrência de bacurizeiros compreende grande extensão na região norte e nordeste do País dispersando-se pelos estados do Pará, Maranhão e Piauí, dentre outros (Figura 15, p. 42). Os frutos possuem valor para agroindústria e exportação de polpa (no país e no exterior),

gerando assim renda, emprego. Sendo uma alternativa econômica principalmente para as populações nativas (LIMA, 2007).

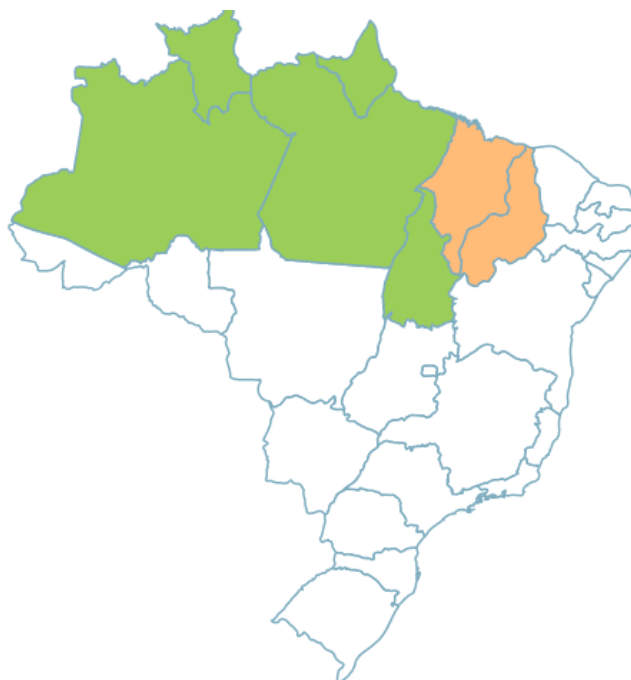
Segundo Santos et al. (2013) a atividade antioxidante descrita para essa espécie pode está diretamente relacionada ao teor de fenóis totais. Os dados na literatura indicam que a espécie *P. insignis* apresenta extratos e compostos com inúmeras atividades biológicas comprovadas, que podem ser mais bem explorados na concepção de novos fármacos (YAMAGUCHI, 2014).

Figura 14 – Árvore da espécie *Platonia insignis*



Fonte: Autor

Figura 15 – Mapa distribuição fitogeográfica da espécie *Platonia insignis*



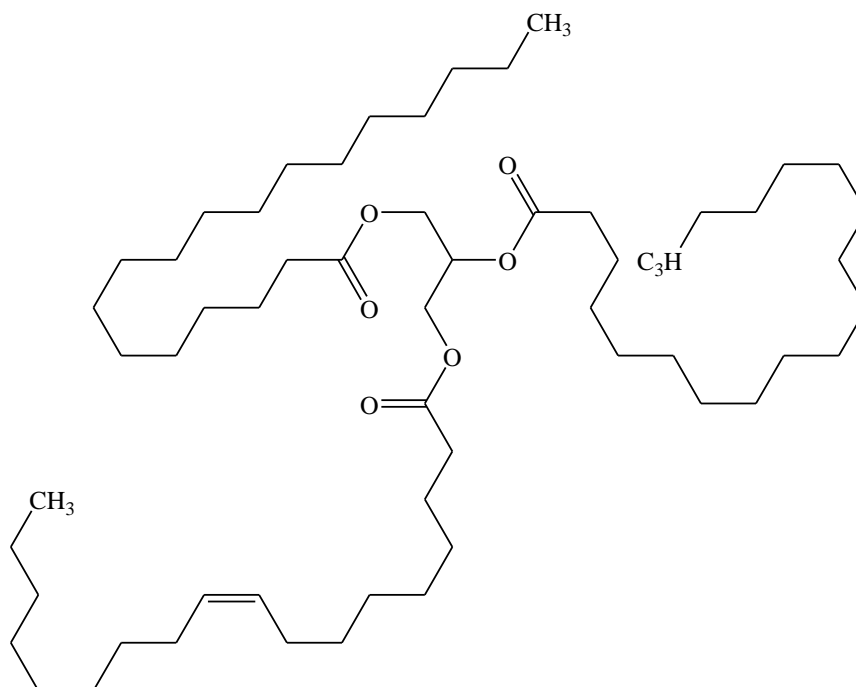
Fonte: Flora do Brasil, 2020., 2019

Legenda: Estados de ocorrência da espécie, na região norte (cor verde), centro-oeste (cor amarela), nordeste (cor areia), no Brasil

Estudos desenvolvidos por Costa Júnior (2011a) confirmaram que o óleo das sementes de *P. insignis* revelou potencial cicatrizante ao acelerar o processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos. A atividade biológica observada foi atribuída ao composto 1,3-diestearil-2-oleil-glicerol (TG1) (Figura 16, p. 43), um triglicerídeo, que foi isolado do extrato hexânico das sementes do bacuri.

A investigação dos compostos de *P. insignis* está apoiada no frequente uso etnobotânico da espécie. Além disso, estudos desenvolvidos com diferentes classes de substâncias obtidas de *P. insignis* indicam que a espécie é uma fonte promissora para elaboração de possíveis fitomedicamentos, pois foram observadas atividades como cicatrizante, anti-inflamatória, anticonvulsivante, antimicrobiana, citotóxica, antioxidante e anticolinesterásicas que podem beneficiar pacientes que possuem doenças como câncer, Alzheimer e Parkinson (HATANAKA e CURI, 2007; NAIDU et al., 2007; HENRY et al., 2009; COSTA JUNIOR, 2011b; SANTOS et al., 2013).

Figura 16 – Estrutura química do composto 1,3-diestearil-2-oleil-glicerol



Fonte: COSTA JUNIOR, 2011.

3.10 Estatística multivariada (Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de Hierárquica de Cluster (HCA))

A Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis - PCA*) é uma técnica muito utilizada em aplicações para separação estatística de classe de amostras, proporcionando informações sobre as variáveis (*loadings*) segundo o qual as amostras são separadas, além das separações entre as classes (*scores*). PCA é um método de classificação não-supervisionado que se baseia na rotação dos eixos espaciais para abranger a maior variância (informação) nas medidas. Esses novos eixos são denominados Componentes Principais (*Principal Components - PC's*) e são ortogonais entre si (PREBIHALO et al., 2018).

Conforme descrito por Prebihalo et al. (2018), os resultados de PCA são apresentados em forma de gráficos bi ou tridimensionais, o que facilita o entendimento dos dados. O gráfico dos *scores* contém o grau de agrupamento das amostras e informações sobre agrupamentos distintos de amostras, já o gráfico dos *loadings* abrange informações sobre a base dos agrupamentos, isto é, os *loadings* podem ser usados para determinar quais variáveis são as que mais contribuem para diferenciar as amostras.

A Análise de Hierárquica de Cluster (*Hierarchical Cluster Analysis* - HCA) conforme descrição de Granato et al (2018), é um método de agrupamento que explora a organização de amostras em grupos e entre grupos que representam uma hierarquia, o resultado da HCA é apresentado na forma de um dendrograma que agrupa as amostras em classes, baseando-se na similaridade dos participantes de uma mesma classe e nas diferenças entre membros de classes diferentes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

São descritos a seguir os procedimentos experimentais utilizados na caracterização fitoquímica, atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos obtidos. O preparo dos extratos vegetais, triagem fitoquímica e ensaios da atividade antioxidante, foram realizados no Laboratório de Química Multidisciplinar (LAQUIM), Campus Universitário de Tucuruí – PA, da Universidade Federal do Pará (UFPA). Os ensaios para avaliação da capacidade de inibição de microrganismos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia de Enzimas e Biotransformações (LABEB) da UFPA, Belém – PA.

4.1 Materiais

Os principais materiais, soluções e equipamentos utilizados para o desenvolvimento desta pesquisa estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Principais materiais e reagentes utilizados durante o desenvolvimento deste estudo

(Continua)

MATERIAIS E REAGENTES	
Equipamentos e acessórios	Evaporador rotativo, modelo 0344B1, QUIMIS
	Unidade de refrigeração, modelo 0214u2, QUIMIS
	Balança analítica, modelo Q-500L210C, QUIMIS
	pHmetro, modelo <i>m</i> PA-210, TECNOPON
	Espectrofotômetro, modelo 800XI, FEMTO
	Micropipeta automática (10 μ L - 1.000 μ L)
	Capela de Fluxo laminar, modelo 5062020, LABCONCO
	Incubadora Shaker, modelo BS-1, CERTOMAT®
	Autoclave, modelo AV18, FHOENIX
	Câmara germinativa, modelo CT718, CIENTEC
Estufa bacteriológica, modelo Q.316.24, QUIMIS	
Triagem fitoquímica	Reativo de Fehling
	Magnésio metálico
	Etanol, P.A, DINÂMICA
	Hexano, P.A, DINÂMICA
	Metanol, P.A, DINÂMICA
	Solução de Hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M
	Solução de ácido clorídrico (HCL) 0,1 M
	Solução de Cloreto de férrico (FeCl ₃) 1%
	Reativo de Dragendorff
	Reativo de Bouchardat
Reagente de Mayer	
Reativo de Keede	
Reativo de Pascová	

Tabela 1 – Principais materiais e reagentes utilizados durante o desenvolvimento deste estudo
(Conclusão)

Atividade antioxidante	Acetato de sódio trihidratado, 97%, SIGMA
	Acetona P.A, DINÂMICA
	Ácido acético glacial P.A, DINÂMICA
	Sulfato ferroso heptahidratado, P.A, SYNTH
	TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina), SIGMA
	Persulfato de Potássio, P.A, SYNTH
	DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil), código 095K1452, SIGMA
	ABTS 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), código A1888, SIGMA
	Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico), SIGMA
Atividade antimicrobiana	Sabouraud <i>Chloramphenicol Agar</i> M1067, HIMEDIA
	LB Broth L-3022 (Lennox), SIGMA
	BG-11 <i>Freshwater Solution</i> C3061, SIGMA

Fonte: Autor

4.2 Coleta do material botânico, herborização e identificação das espécies

Foram realizadas três excursões a campo abrangendo diferentes localidades que configuram áreas de influência socioambiental da Usina Hidrelétrica de Tucuruí – PA, (UHE-Tucuruí). Na Tabela 2, p. 47, são mostradas os locais de coleta, coordenadas geográficas dos pontos de coleta, os vouchers das exsicatas e os números de autorização da pesquisa no Sistema de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen). As amostras das espécies estudadas foram herborizadas conforme as normas convencionais de herborização e identificadas pelo especialista Dr. Antônio Elielson Sousa da Rocha do Herbário do Museu Emílio Goeldi (HMPEG), as exsicatas proveniente de cada planta foram depositadas no herbário da instituição supracitada (Imagens das exsicatas nos Apêndices A, B e C).

4.3 Processamento do material vegetal

Foram utilizados 44 frutos da espécie *P. sericeia*, 38 de *G. macrophylla* e devido ao tamanho do fruto ser bem maior, foram usados 7 da espécie *P. insignis*. O procedimento de separação da casca, polpa e semente foi feito manualmente. Depois de desagregadas, as partes de interesse, foram secas em ambiente ventilado por um período de cinco dias e trituradas (Figura 17, p. 47). Posteriormente, foi realizada a pesagem do material, onde foram obtidos 1.010g de material vegetal proveniente das sementes de *P. sericeia*, 323g (sementes), 575g

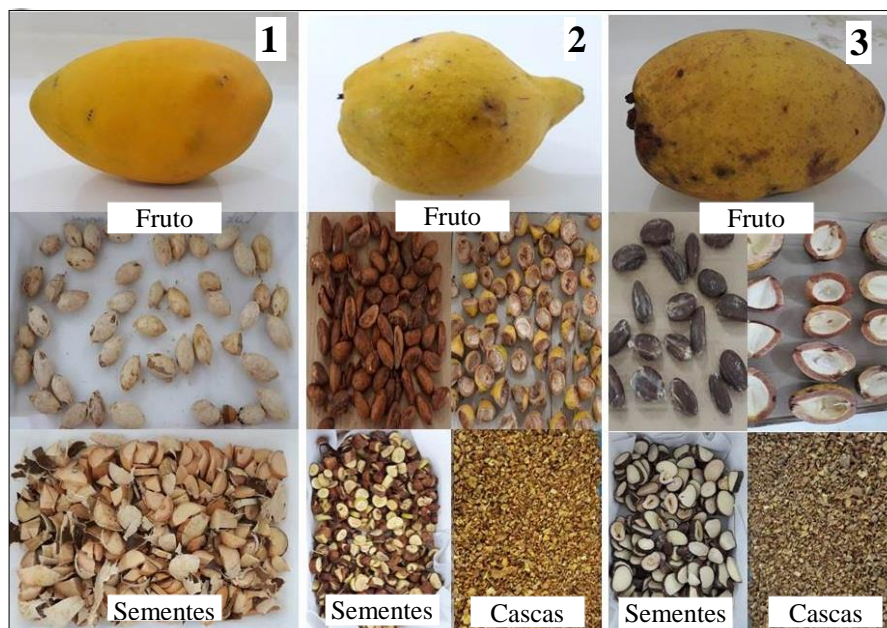
(cascas) de *G. macrophylla* e 359g (sementes) e 886g (cascas) de *P. insignis*. Do material obtido para cada espécie, foram separados 110g das sementes e 100g das cascas para padronização dos experimentos. As quantidades utilizadas foram definidas conforme a capacidade do aparelho de Soxhlet utilizado no procedimento de extração.

Tabela 2 – Identificação botânica, local de coleta, coordenadas geográficas, número de voucher no HMPEG das espécies estudadas e código no SisGen

Espécies	Local de Coleta	Coordenadas Geográficas		HMPEG	SisGen
<i>Poraqueiba sericea</i> TUL.	Vila Permanente, Tucuruí.	3°49'38.6"S	49°39'46.2"O	MG 236749	AD3AC01
<i>Garcinia macrophylla</i> MART.	Ilha de Germoplasma, Tucuruí.	3°52'02.5"S	49°38'29.1"O	MG 236750	A5E05C5
<i>Platonia insignis</i> MART.	Zona rural de Baião-PA, Rodovia Transcarnetá, BR 422.	3°24'07.5"S	49°41'16.6"O	MG 236751	AFC4187

Fonte: Autor

Figura 17 – Frutos de *P. sericea* (1), *G. macrophylla* (2) e *P. insignis* (3) e cascas e sementes trituradas para extração



Fonte: Autor.

4.4 Extração

O processo de extração foi desenvolvido utilizando metodologias de extração distintas, conforme descrito abaixo.

4.4.1 Extração a quente

Para a extração a quente, utilizou-se um extrator do tipo Soxhlet acoplado a um sistema de refrigeração, como mostrado (Figura 18). Na extração com Soxhlet o material vegetal foi pesado e embrulhado com papel filtro formando um cartucho que foi inserido no corpo do extrator. Utilizou-se um balão de destilação de 1000 mL, acoplado ao Soxhlet, adicionou-se o solvente e pérolas de vidro, montou-se o sistema com a manta, condensador e mangueiras. Aqueceu-se o sistema, mantendo-se sobre refluxo. O procedimento foi realizado durante 3 ciclos de 3 horas. As proporções usadas para extração foram de 100g para as cascas, 110g para as sementes e 600 mL de solvente (sistema hidroalcoólico/50:50).

Figura 18 – Extração por Soxhlet acoplado a um sistema de refrigeração



Fonte: Autor

4.4.2 Extração a frio

A extração a frio foi realizada por maceração. Nesse processo os materiais vegetais secos, moídos e pesados foram submetidos à extração com hexano, metanol e sistema hidroalcoólico (50:50). O material permaneceu em maceração por período de quatro dias e o volume do solvente utilizado foi padronizado em 250 mL. Foram elaborados 15 extratos

vegetais por este método, sendo três correspondentes as sementes de umari, seis das cascas e sementes de bacuri peito de moça e seis das cascas e sementes de bacuri verdadeiro, estando dividido em extrato bruto por maceração hidroalcoólica (MAC-HA), extrato bruto por maceração em hexano (MAC-H) e extrato bruto por maceração em metanol (MAC-M) na ordem descrita na Tabela 3.

Tabela 3 – Sistemas de solventes e massa de material vegetal utilizados nos métodos extrativos a frio por maceração

MÉTODO	PROCEDIMENTOS PARA EXTRAÇÃO
Hidroalcoólico (MAC-HA)	Material vegetal: casca (100g) e semente (110g); Sistema: 250 mL água/etanol (50:50); Tempo de maceração: 4 dias
Hexano (MAC-H)	Material vegetal: casca (100g) e semente (110g); Volume do solvente: 250 mL; Tempo de maceração: 4 dias;
Metanol (MAC-M)	Material vegetal: casca (100g) e semente (110g); Volume do solvente: 250 mL; Tempo de maceração: 4 dias;

Fonte: Autor

4.5 Secagem e rendimento das amostras

Após os procedimentos descritos no item anterior as amostras foram filtradas em papel de filtro Whatman nº 1 e as soluções concentradas a vácuo em evaporador rotativo a 40 °C (Figura 19, p. 50) e transferidas para frascos próprios devidamente pesados. Após a secagem completa, os extratos foram pesados. Calculou-se o rendimento total dos extratos, de acordo com a Equação 1 abaixo.

$$\%Re = \frac{P. \text{ extrato}}{P. \text{ amostra}} \times 100 \quad (1)$$

Onde: %Re = Rendimento total do extrato (%); P.ext = Peso do extrato seco (g); P.amostra = Peso das amostras originais secas (g) (RODRIGUES et al., 2011; FRANZEN et al., 2018).

Figura 19 – Sistema de evaporação rotativa acoplado a refrigerador, método de concentração utilizado



Fonte: Autor

4.6 Caracterização qualitativa dos metabólitos secundários

Os testes consistiram em reações químicas qualitativas, que demonstram a presença de classes de compostos de interesse ao estudo, tais como: taninos, flavonoides, esteroides, saponinas e alcaloides (DESOTI et al., 2011). Nessa metodologia os extratos foram submetidos a testes cromogênicos e/ou de precipitação e os resultados foram classificados por avaliação qualitativa numa escala variável entre a ausência de compostos (-) e a presença de compostos (+), de acordo com a metodologia descrita por Barbosa et al (2004) e corroborada por Matos (2009).

4.6.1 Avaliação da presença de flavonoides

Os testes para detecção de flavonóides foram feitos por classes, para esse procedimento elaborou-se uma solução matriz com 20 mg do extrato seco de cada amostra, dissolvidos em 20 mL de água destilada e posteriormente filtrada em papel filtro Whatman n°1.

Foram separadas alíquotas de 3 mL da solução matriz em tubos de ensaio. Acidificou-se o meio nos tubos com solução de HCl 0,1 M até pH 3 e alcalinizou os dois restantes até pH 8,5 e 11, respectivamente utilizando-se solução NaOH 0,1 M. O resultado foi expresso de acordo com as reações cromogênicas descritas para cada classe (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados das reações cromogênicas em pH diferentes para classes de flavonóides

CONSTITUINTES	COLORAÇÃO EM MEIO		
	pH 3	pH 8.5	pH 11
Antocianinas e antocianidinas	Vermelha	Lilás	Azul púrpura
Flavonas, flavonois e xantonas	-	-	Amarela
Chalconas e auronas	Vermelha	-	Vermelho – púrpura
Flavanonois	-	-	Vermelho – laranja

Fonte: Adaptado de Barbosa et al, 2004.

Para identificação dos constituintes das classes de leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas classes distintas de flavonóides, procedeu-se da seguinte forma: dois tubos de ensaios contendo 3 mL da solução preparada anteriormente de cada amostra foram separados, o primeiro foi acidificado com solução de HCl 0,1 M a pH entre 1 e 3 e o outro alcalinizado a pH 11 com solução de NaOH 0,1 M. Posteriormente, os tubos foram brandamente aquecidos durante 3 minutos. As mudanças na coloração foram comparadas com aquelas observadas no ensaio anterior. O resultado foi expresso de acordo com a Tabela 5, p. 52.

Tabela 5 – Tabela das reações cromogênicas em meio ácido e alcalino, após leve aquecimento

CONSTITUINTES	COLORAÇÃO EM MEIO	
	Ácido	Alcalino
Leucoantocianidinas	Vermelha	-
Catequinas (taninos catéquicos)	Pardo – amarela	-
Flavanonas	-	Vermelho – alaranjado

Fonte: Adaptado de Barbosa et al, 2004.

Para identificação das classes de flavonóis, flavanonas, flavanonois e xantonas foi realizados outro teste, que consistiu em acrescentar alguns miligramas de magnésio metálico em raspas, e 0,5 mL de solução aquosa de HCl 0,1 M em tubos de ensaios contendo 3 mL da solução matriz de cada amostra preparada anteriormente. Após o termino da efervescência, foi observada a coloração e comparadas com os resultados dos testes anteriores. O resultado positivo para esses metabolitos é indicado pelo aparecimento ou intensificação da cor vermelha.

4.6.2 Avaliação da presença de fenóis e taninos

Para a identificação da presença de fenóis e taninos foram dissolvidos 2 mg de extrato seco em 5 mL de água destilada, filtrou-se e adicionou-se uma gota de solução alcoólica de FeCl_3 a 1%. Nesse teste qualquer mudança coloração ou formação de precipitado quando comparado com o teste em branco (água + solução de FeCl_3), indica reação positiva para os metabolitos fenóis e taninos. Surgimento de coloração inicial entre o azul e o vermelho é indicativo da presença de fenóis, quando o teste em branco for negativo e formação de precipitado escuro de tonalidade azul, indica presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e verde, presença de taninos catequéticos.

4.6.3 Avaliação da presença de alcaloides

Para a detecção de metabólitos da classe de alcaloides dissolveram-se 2 mg do extrato seco de cada amostra em 5 mL de solução de HCl a 5% (v/v). Posteriormente, filtrou-se e separou-se em tubos de ensaio, alíquotas de 1 mL. Nessas alíquotas adicionaram-se de 3 a 5 gotas dos reativos abaixo descritos. Para o teste com reativo de *Bouchardat* o resultado

positivo foi caracterizado pela formação de precipitado laranja avermelhado, para o reativo de *Dragendorff* o resultado positivo foi caracterizado pela formação de precipitado vermelho tijolo e para o reativo de *Mayer* o resultado positivo foi caracterizado pela formação de precipitado branco.

4.6.4 Avaliação da presença de saponinas

Para o teste de saponinas dissolveram-se 2 mg do extrato hidroalcoólico seco em 5 mL de água destilada. Em seguida, diluiu-se para 15 mL em tubos de ensaio, e agitou-se vigorosamente durante 3 minutos. O resultado positivo para esse ensaio é considerado positivo para saponina se ocorrer formação de uma camada de espuma na amostra que se mantem estável por mais de 30 minutos.

4.6.5 Avaliação da presença de polissacarídeos

A detecção de polissacarídeos se deu pela utilização do reagente Lugol. Dissolveram-se 2 mg dos extratos em 5 mL de água destilada, em seguida foi realizada a filtração da solução e ao filtrado foram adicionadas duas gotas do reagente Lugol. Nesse teste, o aparecimento da coloração azul na solução indica a presença de polissacarídeos.

4.7 Ensaio de atividade antioxidante

Para a investigação da atividade antioxidante foram utilizados três métodos distintos, são eles: ABTS; DPPH e FRAP. Para esses testes foi realizada uma curva-padrão utilizando o controle positivo ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-croman-2-carboxílico (Trolox) em concentração adequada a cada ensaio (Apêndice D, E, F e G). As leituras das absorvâncias foram realizadas em espectrofotômetro UV-VIS – modelo FEMTO (800XI). Para os testes da atividade antioxidantes as amostras dos extratos de *P. sericea*, *P. insignis* e *G. macrophylla* já secos, foram solubilizados em metanol (grau HPLC), sendo a concentração inicial dos extratos para as análises de 3 mg.mL⁻¹. Todos os experimentos para avaliar a capacidade antioxidante das amostras foram realizados no Laboratório de Química Multidisciplinar (LAQUIM) da UFPA, campus Tucuruí.

4.7.1 Método de captura do radical ABTS^{•+} (2,2-azinobis-3-etil-benzotiazolína-6-ácido sulfônico)

A atividade de captura de radical livre ABTS^{•+} foi medida pelo método descrito por Arnao et al (2001), com adaptações de acordo com Torres (2017). A formação do radical ABTS^{•+} foi dada por meio da homogeneização e estocagem por 12 horas em temperatura ambiente no escuro de ABTS 7 mM e persulfato de potássio 140 mM. A solução então foi diluída em álcool metílico até obtenção de leitura da absorbância em $0,800 \pm 0,02$ a 734 nm. A curva padrão foi preparada com o análogo hidrossolúvel da vitamina E, Trolox (Sigma Aldrich, USA), dissolvido em metanol, nas concentrações de 0 - 12 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Os sistemas foram preparados em tubos Eppendorf de 2 mL. Em penumbra, adicionou-se 140 μL de amostra e 1.860 μL da solução do radical ABTS^{•+} e em seguida homogeneizou a mistura. Incubou-se por 20 minutos, protegida da luz e registrou a absorbância a 734 nm em espectrofotômetro. O potencial antioxidante do radical catiônico ABTS^{•+} foi expresso em miligrama de equivalentes em Trolox por grama de extrato. Para tal, a concentração de Trolox da curva padrão foi convertida e expressa em unidade micromolar de concentração (μM). A curva padrão incluiu seis pontos, além da concentração zero, e três réplicas para cada ponto.

4.7.2 Método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

A análise do poder redutor usando FRAP foi desenvolvida de acordo com a metodologia descrita por Benzie e Strain (1996), com adaptações conforme Urrea-Victoria et al., (2016). A solução do reagente FRAP foi obtida a partir da combinação de 25 mL de tampão de acetato (0,3 M), 2,5 mL de solução de TPTZ (10mM) e 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico (20 mM). Posteriormente, em tubos Eppendorf de 2 mL, preparou-se os sistemas com os extratos, em penumbra, adicionaram-se 100 μL de água destilada, 140 μL das amostras (extratos) e 1.760 μL da solução FRAP e em seguida homogeneizou a mistura. Incubou-se por 30 minutos em banho Maria, protegida da luz. A absorbância foi lida a 595 nm em espectrofotômetro. A curva padrão incluiu cinco pontos, além da concentração zero, e três réplicas para cada ponto. O potencial antioxidante dos extratos para reduzir o Fe (III) ao Fe (II) foi expresso em $\mu\text{mol Fe (II)}\cdot\text{g}^{-1}$ das amostras, utilizando uma curva de calibração equivalente a Trolox.

4.7.3 Método de captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil)

A capacidade dos extratos obtidos a partir das cascas dos frutos e sementes de *P. sericea*, *P. insignis* e *G. macrophylla* de atuarem como agente redutor sequestrador do radical livre DPPH foi avaliada pelo método de Brand-Williams et al (1995), com modificações de acordo com Pires et al (2017). Em tubos Eppendorf de 2 mL, adicionaram-se 140 µL das amostras (extratos) dissolvidos em metanol, na concentração inicial de 3 mg.mL⁻¹, e 1.860 µL da solução DPPH, e em seguida homogeneizou a mistura, em penumbra. Incubou-se por 30 minutos, protegida da luz e sob agitação. Posteriormente registrou-se a absorbância a 517 nm em espectrofotômetro. Os resultados dos extratos foram comparados com o padrão positivo Trolox, conforme os valores de sua curva padrão, que incluiu cinco pontos, além da concentração zero, e três réplicas para cada ponto. O potencial antioxidante pelo radical DPPH foi expresso em miligrama de equivalentes em Trolox por grama de extrato e também expresso em percentual de atividade antioxidante (%AAO), conforme a Equação 2 abaixo.

$$\%AAO = \frac{ABS_{CONTROLE} - ABS_{AMOSTRA}}{ABS_{CONTROLE}} \times 100 \quad (2)$$

4.7.4 Avaliação da Concentração de Eficiência (CE₅₀)

Alguns extratos foram selecionados para avaliação da concentração de eficiência para reduzir o radical DPPH em 50% (CE₅₀). Para determinação do CE₅₀ foram selecionadas 11 amostras (extratos) para isso considerou-se os extratos que apresentaram %AAO acima de 80% no teste DPPH (item 4.6.3). Foram preparadas soluções em seis concentrações: 0,3; 0,2; 0,1; 0,05; 0,025 e 0,0125 mg.mL⁻¹. Em tubos Eppendorf de 2 mL, adicionaram-se 140 µL das amostras (extratos) dissolvidos em metanol, nas concentrações pré-estabelecidas e 1.860 µL da solução DPPH, e em seguida homogeneizou a mistura, em penumbra. Incubou-se por 30 minutos, protegida da luz e sob agitação. Posteriormente foi feita a leitura da absorbância do meio a 517 nm em espectrofotômetro. Todo o experimento foi realizado em triplicata, sendo que o padrão positivo utilizado para o cálculo das curvas foi o Trolox.

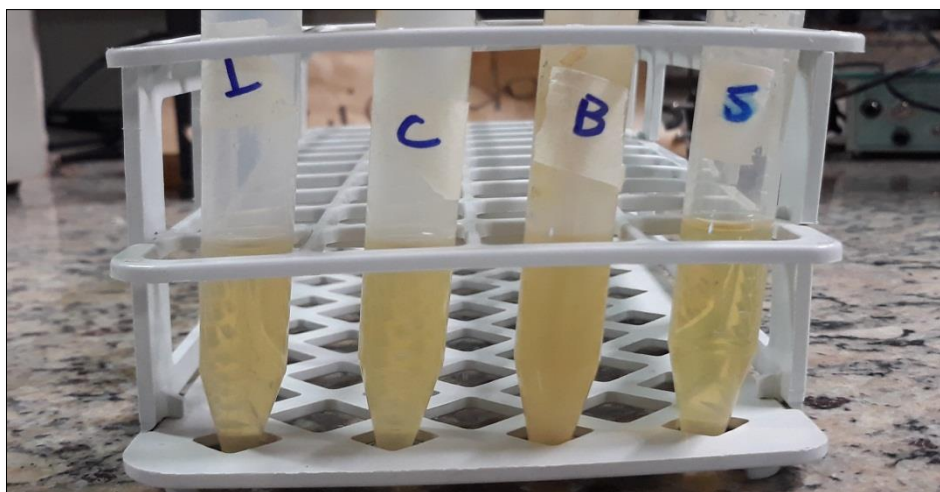
4.8 Avaliação qualitativa da atividade antimicrobiana

Nessa etapa, foi avaliada a capacidade de inibição pelo teste de disco-difusão dos extratos das sementes e cascas dos frutos de *P. sericea*, *P. insignis* e *G. Macrophylla* frente a 4 cepas bacterianas, 3 leveduras do gênero *Candida* sp e 3 linhagens de cianobactérias da Coleção Amazônica de Cianobactérias e Microalgas (CACIAM), fornecidas e identificadas pelo laboratório de Biotecnologia de Enzimas e Biotransformações (LABEB) da UFPA- Belém, onde esta fase da pesquisa foi desenvolvida. A atividade antimicrobiana foi avaliada conforme metodologia adaptada das normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (NCCLS, 2003; 2006; 2009; 2012).

4.8.1 Bactérias Reveladoras

As bactérias alvos selecionadas para este estudo foram: *Salmonella typhimurium* ATCC 14021, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Corynebacterium fimi* NTC 5 e *Listeria monocytogenes* ATCC 6477. Todas as linhagens supracitadas pertencem ao Laboratório de Biotecnologia de Enzimas e Biotransformações (ICB/UFPA). As mesmas foram desenvolvidas em 15 mL de meio LB (Sigma L-3022), preparado conforme instruções do fabricante, por um período de 24 horas a 37°C em incubadora Shaker (CERTOMAT® BS-1) a 160 rpm (Figura 20).

Figura 20 – Linhagens bacterianas em meio de cultura (LB) utilizadas nos experimentos, *Listeria monocytogenes* – (L), *Corynebacterium fimi* – (C), *Bacillus subtilis* – (B), *Salmonella typhimurium* – (S)

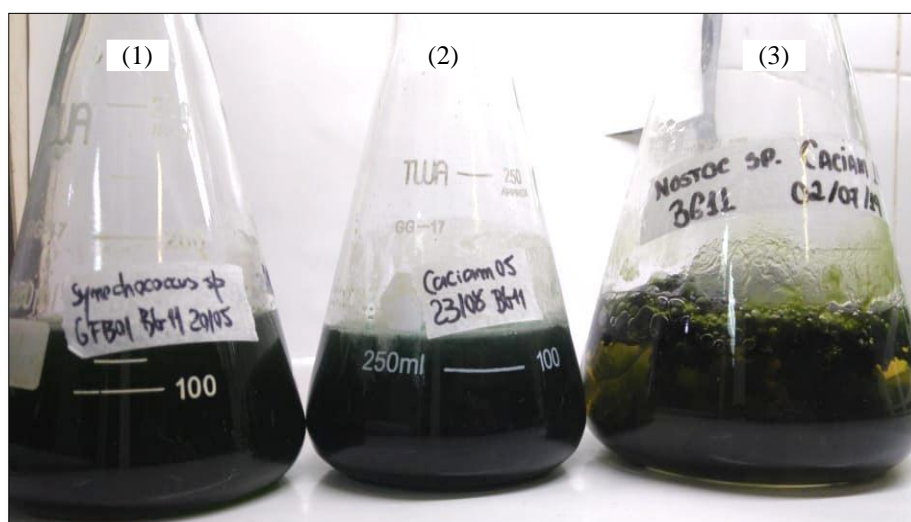


Fonte: Autor

4.8.2 Cianobactérias Reveladoras

As cianobactérias utilizadas neste estudo foram: *Synechocystis sp.* (CACIAM 05), *Nostoc sp.* (CACIAM 19) e *Synechococcus sp.* (CACIAM R8), Figura 21. As cianobactérias foram cultivadas em 150 mL de meio BG11 completo (RIPPKA et al., 1979). O armazenamento ocorreu em câmara de germinação a 25°C com fotoperíodo de 12 horas no claro e 12 horas no escuro. A escolha das cepas se baseou no fato que todas possuem genoma totalmente sequenciado, o que poderá vir a contribuir em trabalhos futuros.

Figura 21 – Cepas de cianobactérias em meio de cultura BG11 utilizadas nos experimentos, *Synechococcus sp.*- (1), *Synechocystis sp.*- (2) e *Nostoc sp.*- (3)

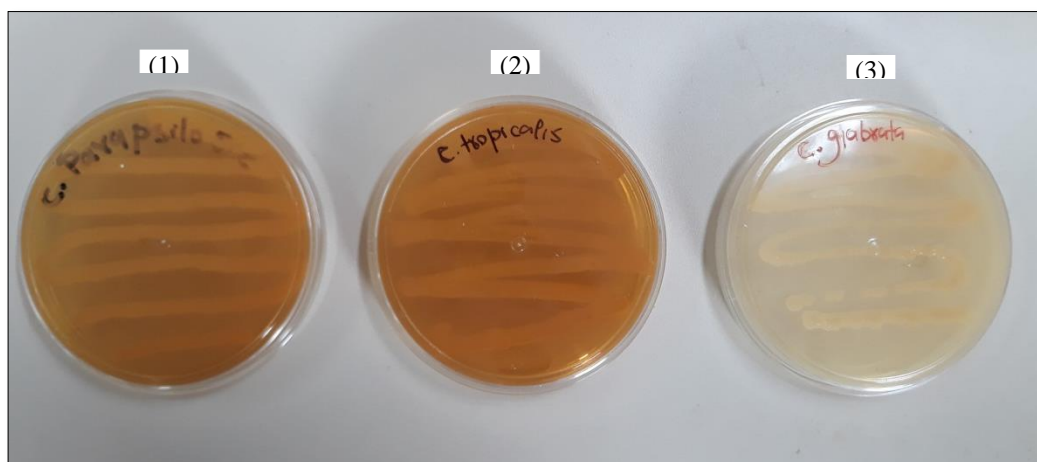


Fonte: Autor

4.8.3 Leveduras Reveladoras

Foram utilizadas neste estudo três espécies de leveduras do gênero *Candida*, sendo elas: *C. Tropicalis*, *C. glabrata* e *C. parapsilopsis* (Figura 22, p. 58). Todas as linhagens supracitadas pertencem ao Laboratório de Biotecnologia de Enzimas e Biotransformações (ICB/UFPa). As leveduras foram crescidas em 15 mL de meio Sabouraud com Cloranfenicol (Himedia M1067), preparado conforme instruções do fabricante, por um período de 24 horas a 37°C em incubadora Shaker (CERTOMAT® BS-1) a 160 rpm.

Figura 22 – Linhagens fúngicas em meio de cultura Sabouraud utilizadas nos experimentos, *C. parapsilopsis* - (1), *C. Tropicalis* - (2) e *C. glabrata* - (3)



Fonte: Autor

4.8.4 Preparo das soluções dos extratos brutos

Os extratos obtidos de *P. sericea*, *P. insignis* e *G. Macrophylla* foram solubilizados em Dimetilsulfóxido (DMSO) a 30% na concentração de $6 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (solução estoque), homogeneizados em vortex até sua completa dissolução.

4.8.5 Padronização dos inóculos

Transcorrido o tempo de incubação e crescimento dos microrganismos, preparou-se sob condições assépticas os inóculos dos microrganismos. Para isso, adicionou-se em tubo de ensaio, contendo 5,0 mL de solução salina estéril 0,85%, uma alçada do microrganismo e em seguida homogeneizou-se em agitador durante 1 minuto. Para a padronização dos inóculos preparados, foi realizada a leitura da turbidez, equivalente à escala de McFarland (0,5) em espectrofotômetro UV-visível em comprimento de onda conforme o microrganismo analisado. As absorbâncias lidas estiveram na faixa de 0,08 – 0,10 indicando assim a presença de uma população de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (unidades formadoras de colônia por mililitro).

4.8.6 Teste de disco-difusão

Para realização do ensaio foram utilizados 11 extratos selecionados a partir dos resultados dos testes anteriores para atividade antioxidante. Foram confeccionados discos de 6 mm de papel filtro esterilizado (J. prolab). Posteriormente, adicionaram-se 20 μL da solução estoque referente a cada extrato nos discos devidamente identificados. Foram preparados

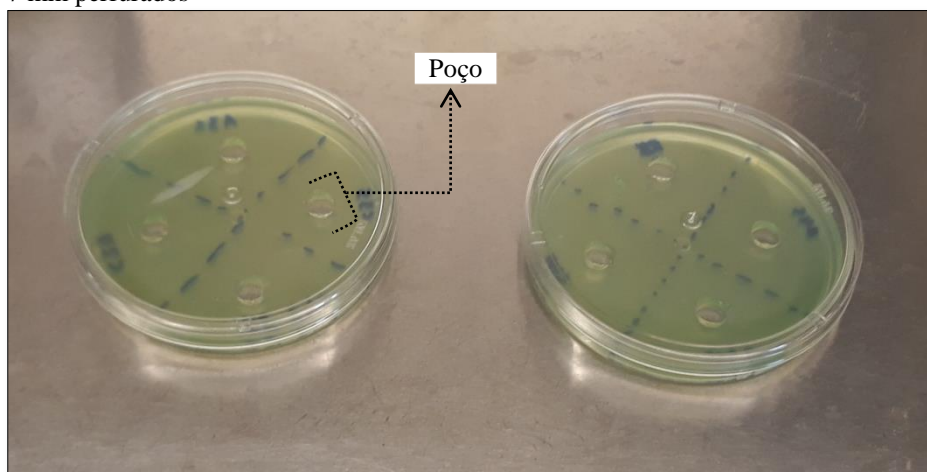
discos controle apenas com metanol na mesma quantidade. Os discos foram então mantidos em estufa a 65°C por 2 horas para a evaporação do metanol.

Para avaliar a capacidade de inibição frente às cepas bacterianas, procedeu-se da seguinte forma. Em capela de fluxo laminar, retiraram-se alíquotas de 1.000 µL da cultura pré-incubada e misturou-se a 660 mL de meio LB-Agar 0,1% (Sigma L-3022) a 46°C previamente preparado. Posteriormente, foi adicionada alíquotas em volumes de 15 mL, em placas de Petri de vidro de 80x15 mm, totalizando 44 placas. Após a solidificação do meio adicionaram-se os discos com os extratos, sendo utilizado um disco por placa.

Os estudos de atividade antifúngica dos extratos vegetais foram realizados através de 33 placas de Petri (80x15 mm) contendo 15 mL de Ágar Sabouraud solidificado, no qual foram inoculadas as cepas de *Candida* sp. Com auxílio de *Swab* todas as placas foram semeadas pela técnica de esgotamento. Posteriormente, foram adicionados os discos com os extratos nas placas já inoculadas. As placas foram então, incubadas em estufa a 37°C por 24 horas.

Para avaliar o potencial de suscetibilidade dos extratos frente às cianobactérias foi utilizado o método de difusão em ágar (técnica do poço), adaptado de Amaral (2018). O precipitado cultivado em meio BG11 foi ressuspendido em 660 mL de meio BG11-Agar 1 % a 46°C e em seguida transferido para placas de Petri estéreis (90x15 mm), no volume final de 15 mL. Após a solidificação do meio, foram retirados discos de Ágar de 7 mm, criando assim um poço no meio de cultura (Figura 23). Na sequência, adicionou-se uma alíquota de 100 µL da solução estoque dos extratos vegetais. A cultura foi incubada por 24h a 25°C em câmara de fotoperíodo de 12 horas para permitir a difusão dos metabólitos do disco para o meio em volta.

Figura 23 – Placas com meio de cultura BG11-Agar 1% solidificado com poços de 7 mm perfurados



Fonte: Autor

Para todos os microrganismos, a suscetibilidade frente aos extratos vegetais foi avaliada como positiva conforme o aparecimento de halo de inibição de crescimento. Assim sendo, todos os extratos que apresentaram formação de halo, foram considerados potenciais inibidores microbianos.

4.9 Análise estatística

Os ensaios de avaliação da atividade antioxidante foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos como média aritmética.

A análise multivariada utilizando as técnicas de Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis* - PCA) e Análise de Hierárquica de Cluster (*Hierarchical Cluster Analysis* - HCA) foi desenvolvida utilizando o programa Minitab 16.1.0. (Versão gratuita). Para as análises foram considerados os métodos de avaliação antioxidante utilizados e os resultados revelados para cada extrato analisado, por cada método, pois o uso desta técnica possibilita explorar os resultados obtidos por meio de análises químicas, a fim de verificar a existência de similaridade e diferenças entre as amostras.

Inicialmente organizou-se no software a matriz de dados originais, contendo todas as informações, de tal forma que nas linhas da matriz foram alocados os dados da capacidade antioxidante observada para cada extrato pelos diferentes métodos e nas colunas as variáveis, isto é, os diferentes métodos de análise antioxidante utilizados.

Para a análise multivariada, a matriz de foi pré-processada com a técnica de autoescalamento, pois dessa forma as informações consideradas na matriz têm igual importância para auxiliar na distinção entre os dados de interesse, sendo que a PCA foi realizada com 3 componentes principais (PC's).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento dos extratos

Foram elaborados 20 extratos (Tabela 6, p. 62) provenientes do material vegetal (cascas dos frutos e sementes), desse total, 7 frações se destacaram quanto ao rendimento, sendo elas: o extrato hidroalcoólico a quente das sementes de *G. macrophylla* (11,40%), extrato hexânico a frio das sementes de *P. insignis* (10,61%); extrato hidroalcoólico a frio das cascas de *P. insignis* (9,90%); extrato hidroalcoólico a quente das sementes de *P. sericea* (9,35%); extrato hidroalcoólico a quente da casca de *P. insignis* (9,06%); extrato hidroalcoólico a quente da semente de *P. insignis* (7,98%) e o extrato hidroalcoólico a frio das semente de *P. sericea* (7,79%), estes obtiveram os melhores rendimentos de extratos brutos, em relação às outras frações analisadas como pode ser observado na Tabela 6. Para a espécie *P. sericea* não foi possível obter os extratos das cascas dos frutos, pois o rendimento não foi satisfatório.

Conforme aborda Azwanida (2015), os procedimentos de extração são um passo importante no processamento dos constituintes bioativos derivados de materiais vegetais. Métodos tradicionais tais como maceração e extração Soxhlet são comumente usados em pesquisas de pequena escala. Ainda, segundo o mesmo autor, os métodos que empregam solventes nos procedimentos como a maceração e sistema sob refluxo utilizando Soxhlet são influenciados criticamente pelos tipos de solventes usados. Vongsak et al (2013) sugeriu que esses métodos são aplicados com eficiência na obtenção de extratos (ou matrizes) por serem menos onerosos para os operadores.

A partir do método extrativo a quente foram obtidos 5 extratos e dos quais 4 estão entre os que alcançaram melhor rendimento. Ressalta-se ainda que, quando comparados em termos de rendimento, os extratos obtidos de em sistema hidroalcoólico alcançaram as melhores respostas, totalizando 6 frações entre as 7 com maiores rendimentos Oliveira et al (2016) apontam que o tipo de solvente utilizado e as técnicas extrativas influenciam diretamente no cálculo de rendimento, onde é constatado que o uso do Soxhlet reduz o tempo de extração além de aumentar o rendimento. O solvente usado é essencial para esse tipo de procedimento, e conforme Tiwari et al (2011), um sistema hidroalcoólico é bastante eficaz na extração de diversos componentes químicos presentes nas estruturas vegetais, haja vista, sua capacidade de penetrar na membrana celular para extrair os ingredientes intracelulares do material botânico.

Tabela 6 – Método extrativo, parte vegetal, solvente utilizado e rendimento em (%)

Método extrativo	Parte vegetal	Sistema	Massa seca (g)	Rendimento (%)
A frio	Semente	EHA-<i>Ps</i>		7,79
		<i>EH-<i>Ps</i></i>	110	0,06
		<i>EM-<i>Ps</i></i>		1,39
		EHA-<i>Pi</i>		6,56
		EH-<i>Pi</i>	110	10,61
		<i>EM-<i>Pi</i></i>		2,73
		<i>EHA-<i>Gm</i></i>		4,23
		<i>EH-<i>Gm</i></i>	110	3,37
		<i>EM-<i>Gm</i></i>		4,57
	Casca	EHA-<i>Pi</i>		9,90
		<i>EH-<i>Pi</i></i>	100	2,96
		<i>EM-<i>Pi</i></i>		4,33
		EHA-<i>Gm</i>		6,71
		<i>EH-<i>Gm</i></i>	100	0,60
		<i>EM-<i>Gm</i></i>		1,95
A quente	Semente	EHA-<i>Ps</i>	110	9,35
		EHA-<i>Pi</i>	110	7,98
		EHA-<i>Gm</i>	110	11,40
	Casca	EHA-<i>Pi</i>	100	9,06
		<i>EHA-<i>Gm</i></i>	100	3,45

Fonte: Autor

Legenda: EHA - Extrato Hidroalcoólico; EH - Extrato Hexânico; EM - Extrato Metanólico; *Gm*: *Garcinia macrophylla*, *Pi*: *Platonia insignis*, *Ps*: *Poraqueiba sericea*

5.2 Triagem fitoquímica qualitativa

A partir dos resultados obtidos na triagem fitoquímica foram identificados os principais grupos químicos presentes nos extratos obtidos a frio das cascas dos frutos e sementes de *G. macrophylla* Mart. que foram: fenóis, saponinas, catequinas, leucoantocianidinas e flavanonas (Tabela 7, p. 65 e Tabela 8, p. 66), dados esses corroborados por pesquisas similares para espécies da mesma família botânica (LIMA NETO et al., 2015;

ZABALA, 2015; OLIVEIRA, A. et al., 2016).

Comparando-se, a partir da triagem fitoquímica preliminar, as principais classes identificadas nos extratos obtidos a frio de *G. macrophylla* (Tabela 7, p. 65) observou-se que o extrato proveniente das cascas obtidos em sistema hidroalcoólico (EHA-Gm) apresentou maior variabilidade fitoquímica sendo caracterizado por 9 grupos químicos. Enquanto que, a partir da extração a frio da semente pelo mesmo sistema, foram determinados apenas 6 grupos fitoquímicos. O diferencial entre casca e semente está na caracterização de compostos das classes dos taninos, antocianinas e antocianidinas, chalconas e auronas, e flavanonóis que foram obtidos apenas no extrato hidroalcoólico das cascas. Nos extratos obtidos em metanol oriundos das cascas e sementes foram identificados 6 e 5 grupos fitoquímicos, respectivamente. Diferenciando-se apenas pela presença do grupo de flavanonas, flavonas e taninos no extrato das sementes. Os extratos resultantes do sistema utilizando hexano como solvente extrator, para essa análise apresentaram resposta negativa para todos os testes fitoquímicos realizados.

Observou-se ainda que os extratos provenientes da extração hidroalcoólica a quente das sementes e das cascas de *G. macrophylla* (Tabela 8, p. 66) apresentaram caracterização fitoquímica similar àquela observada para a extração a frio das cascas. Destaca-se nessa segunda triagem o grupo dos taninos, que foi identificado apenas nas cascas (a frio e a quente) de *G. macrophylla*. O grupo das flavonas, flavonóis e xantonas também foram detectados nos dois extratos obtidos a quente. A triagem, tanto das sementes quanto das cascas, demonstrou que o grupo das chalconas e auronas está presente somente no extrato hidroalcoólico obtido a frio das cascas, e essa foi a matriz que demonstrou maior variabilidade fitoquímica a partir da triagem.

Para a triagem pelo método a frio e a quente das cascas e sementes de *P. insignis* constatou-se que as classes mais prevalentes nos extratos são fenóis, saponinas, flavonas, flavonóis, xantonas e flavanonóis, como demonstrado nas Tabelas 7 (p. 65) e 8 (p. 66), respectivamente. Os constituintes da classe flavanonas foram caracterizados apenas nos extratos hidroalcoólicos das sementes. Destaca-se que os grupos fitoquímicos caracterizados neste estudo foram identificados em pesquisas anteriores para essa espécie (FUNASAKI et al., 2016; FREITAS et al., 2017).

Comparando as respostas da triagem fitoquímica de *P. insignis* (Tabela 7, p. 65) e as classes químicas identificadas nos extratos obtidos a frio, observou-se que o extrato derivado das cascas obtido pelo sistema hidroalcoólico apresentou maior diversidade fitoquímica sendo

caracterizado por 6 grupos químicos, enquanto que, a partir da extração a frio da semente pelo mesmo sistema, foram determinados 5 grupos fitoquímicos. A distinção entre os extratos está na determinação de compostos das classes das catequinas presentes nas cascas.

Nos extratos metanólicos obtidos a frio de *P. insignis* foram verificados os mesmos grupos fitoquímicos tanto nas cascas quanto nas sementes. A triagem de *P. insignis* das matrizes obtidas com hexano apresentou resposta negativa para todos os testes fitoquímicos realizados. Todavia, Costa Júnior (2011b) já relatou compostos isolados de extratos hexânico das sementes de *P. insignis*, tais como benzofenonas e triglicerídeos, reforçando assim que essa espécie possui estruturas químicas diversas.

As análises fitoquímicas são de grande relevância por fornecerem informações qualitativas à cerca da presença de metabólitos secundários nas plantas, para que assim se possa chegar à caracterização e isolamento de princípios ativos essenciais para a produção de novos produtos biotecnológicos (MATTE et al., 2015).

Tabela 7 – Resultados da triagem fitoquímica preliminar pelo método extrativo a frio (maceração) utilizando hexano - (EH), metanol - (EM) e sistema hidroalcoólico (50:50) - (EHA)

Grupo químico	Semente						Casca							
	EHA-Ps	EM-Ps	EHA-Pi	EH-Pi	EM-Pi	EHA-Gm	EH-Gm	EM-Gm	EHA-Pi	EH-Pi	EM-Pi	EHA-Gm	EH-Gm	EM-Gm
Fenóis	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+
Taninos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Saponinas	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+
Alcalóides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Polissacarídios	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoides por classes														
Antocianinas e antocianidinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Flavonas, flavonóis e xantonas	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
Chalconas e auronas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Flavanonóis	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-
Leucoantocianidinas	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+
Catequinas	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+
Flavanonas	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-

Fonte: Autor.

Legenda: (-) Negativo, (+) Positivo; EHA – Extrato Hidroalcoólico; EH – Extrato Hexânico; EM – Extrato Metanólico; *Gm*: *Garcinia macrophylla*, *Pi*: *Platonia insignis*, *Ps*: *Poraqueiba sericea*

Tabela 8 – Resultados da triagem fitoquímica preliminar pelo método extrativo a quente em Soxhlet sob refluxo.

Grupo químico	Semente			Casca	
	EHA-Ps	EHA-Pi	EHA-Gm	EHA-Pi	EHA-Gm
Fenóis	+	+	+	+	+
Taninos	-	-	-	-	+
Saponinas	+	+	+	+	+
Alcalóides	-	-	-	-	-
Polissacarídios	-	-	-	-	-
Flavonoides por classes					
Antocianinas e antocianidinas	+	+	-	-	-
Flavonas, flavonóis e xantonas	+	+	+	+	+
Chalconas e auronas		-	-	-	-
Flavanonóis	+	+	+	+	+
Leucoantocianidinas	-	-	+	-	+
Catequinas	-	-	+	-	+
Flavanonas	+	+	+	-	+

Fonte: Autor

Legenda: (-) Negativo, (+) Positivo; EHA – Extrato hidroalcoólico; Gm: *Garcinia macrophylla*, Pi: *Platonia insignis*, Ps: *Poraqueiba sericea*

Pelo método extrativo a quente (Soxhlet) ocorreu uma resposta diferente daquela avaliada para a extração a frio das cascas e semente de *P. insignis*. Evidencia-se nessa triagem os grupos das antocianinas e flavanonas, que foram caracterizados apenas nas sementes. Os grupos característicos de fenóis, saponinas, flavonas, flavonóis, xantonas e flavanonóis foram detectados nos dois extratos obtidos a quente. A triagem também demonstrou que o grupo das antocianinas está presente somente no extrato hidroalcoólico obtido a quente das sementes, que junto com o extrato hidroalcoólico a frio das cascas apresentou maior diversidade fitoquímica.

Conforme os conhecimentos adquiridos na triagem fitoquímica preliminar, salienta-se que os grupos químicos mais proeminentes nas cascas e sementes de *P. sericea* são fenóis, saponinas, flavonas, flavonóis, xantonas, flavanonóis e flavanonas (Tabela 7, p. 65 e Tabela 8, p. 66), sendo que esses grupos químicos já foram descritos na literatura para a família botânica a qual pertence o umari (BOHM, 2008).

Comparando os resultados triagem fitoquímica de *Poraqueiba sericea*, as classes identificadas nos extratos obtidos a frio (Tabela 7, p. 65) demonstraram uma menor variabilidade fitoquímica quando comparada a extração a quente, sendo caracterizados 5 grupos químicos, enquanto que, na da extração a quente das sementes pelo sistema EHA, foram determinados 6 grupos fitoquímicos. Pelo método a frio não houve diferença na quantidade de classes químicas observadas para os sistemas extrativos empregados, sendo caracterizados os mesmos grupos químicos, que foram: fenóis, saponinas, flavonas, flavonóis, xantonas, flavanonóis e flavanonas. Com relação ao sistema hexânico para a espécie *P. sericea*, este não gerou massa suficiente para a realização dos testes.

A extração hidroalcoólica a quente (Tabela 8, p. 66) das sementes de *P. sericea* mostrou uma caracterização semelhante àquela observada para a extração a frio da mesma estrutura botânica. Porém, salienta-se que na triagem a quente observou-se resultados positivos para o grupo das antocianinas e antocianidinas. De modo que, na extração hidroalcoólica a quente foram observados 6 grupos distintos de classes fitoquímica, sendo eles fenóis, saponinas, flavonas, flavonóis, xantonas, antocianinas, antocianidinas, flavanonóis e flavanonas, tornando-o o método extrativo com maior variabilidade neste estudo.

Ao avaliar e comparar a triagem fitoquímica das três espécies estudadas, ressalta-se que a maior variabilidade de classes fitoquímicas demonstrada foi para *Garcinia macrophylla*, com 9 grupos distintos identificados no extrato hidroalcoólico a frio das cascas. Tornando-a para este estudo, a mais promissora para gerar respostas relevantes frente aos ensaios químicos e biológicos. Segundo Azevedo et al (2014), as classes de substâncias identificadas neste estudo apresentam significativa atividade antioxidante, sendo capazes de diminuir os efeitos prejudiciais gerados pelos radicais livres, em especial a classe de flavonoides.

5.3 Atividade antioxidante dos extratos obtidos das cascas e sementes dos frutos de *Poraqueiba sericea*, *Platonia insignis* e *Garcinia macrophylla*

Conforme descrito por Jeshvaghani et al (2015), os antioxidantes de origem natural são mais benéficos quando comparados aos compostos antioxidantes sintéticos, em especial por sua capacidade de prevenir a formação primária de radicais livres, sem o risco de reações adversas. Nesse contexto, as atividades antioxidantes das matrizes obtidas a partir das cascas e sementes dos frutos das espécies estudadas foram avaliadas quanto à captura de radicais livres DPPH e ABTS^{•+}, bem como quanto ao poder de redução do Fe³⁺, cujos resultados são apresentados a seguir.

5.3.1 Resultados do potencial antioxidantes pelo método FRAP

O ensaio FRAP mede a capacidade antioxidante em termos da capacidade da matriz de reduzir o estado férrico (Fe⁺³) para o estado ferroso (Fe⁺²). Este processo de redução é baseado na transferência de elétrons e funciona bem em sistemas formados por água e álcool (IQBAL et al., 2012). Dentre os extratos testados pelo método FRAP, para as três espécies, os que demonstraram melhores respostas foram os de origem hidroalcoólica (EHA). Com destaque para a fração EHA-*Gm* (casca), que na concentração de 0,1875 mg.mL⁻¹ demonstrou atividade de 685,53 ($\pm 7,38 \times 10^{-4}$) $\mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$ de extrato. Sendo este o mais ativo dentre os extratos testados (Tabela 9, p. 69).

Dos extratos hidroalcoólicos obtidos tanto a quente como a frio de *G. macrophylla*, o originário das cascas foi mais ativo do que o das sementes, demonstrando atividade de 685,53 ($\pm 7,38 \times 10^{-4}$) $\mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$, enquanto que aquele obtido a frio apresentou capacidade de redução de 180,02 ($\pm 3,30 \times 10^{-4}$) $\mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$ a quente na concentração de 0,75 mg.mL⁻¹. Já as frações advindas das sementes demonstraram as atividades de 44,89 ($\pm 3,36 \times 10^{-3}$) $\mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$ pelo método a frio na concentração de 3 mg.mL⁻¹ e 94,89 ($\pm 1,02 \times 10^{-4}$) $\mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$ pela técnica a quente na concentração de 0,75 mg.mL⁻¹. Indicando assim, que as frações das cascas de *G. macrophylla* são promissoras fontes de compostos com potencial antioxidante, corroborado pelos resultados obtidos pela triagem fitoquímica que apontou uma maior variabilidade de classes químicas para essa matriz botânica. Pelo método FRAP, observa-se (Tabela 9, p. 69) que para as sementes, a fração EH-*Gm* (121,10 $\pm 2,73 \times 10^{-3}$ $\mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$) foi mais ativa que a fração EM-*Gm* (97,83 $\pm 5,39 \times 10^{-4}$ $\mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$) no processo a frio e na mesma concentração. O inverso foi

observado para as cascas onde a amostra EM-*Gm* ($129,95 \pm 8,24 \times 10^{-4}$) foi mais ativa do que EH-*Gm* ($105,65 \pm 7,04 \times 10^{-4}$).

Tabela 9 – Resultados do ensaio FRAP dos extratos brutos

Método extrativo	Parte vegetal	Amostra	FRAP ($\mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$)
A frio	Sementes	EM- <i>Ps</i>	38,53 ($\pm 1,92 \times 10^{-3}$)
		EHA- <i>Pi</i>	17,60 ($\pm 1,33 \times 10^{-4}$)
		EH- <i>Pi</i>	30,25 ($\pm 1,38 \times 10^{-4}$)
		EM- <i>Pi</i>	19,27 ($\pm 4,90 \times 10^{-4}$)
		EHA- <i>Gm</i>	44,89 ($\pm 3,36 \times 10^{-3}$)
		EH- <i>Gm</i> *	121,10 ($\pm 2,73 \times 10^{-3}$)
	EM- <i>Gm</i> *	97,83 ($\pm 5,39 \times 10^{-4}$)	
	Cascas	EHA- <i>Pi</i>	18,38 ($\pm 5,66 \times 10^{-4}$)
		EH- <i>Pi</i> *	147,58 ($\pm 1,58 \times 10^{-4}$)
		EM- <i>Pi</i>	9,55 ($\pm 1,48 \times 10^{-3}$)
EHA-<i>Gm</i>**		685,53 ($\pm 7,38 \times 10^{-4}$)	
		EH- <i>Gm</i> *	105,65 ($\pm 7,04 \times 10^{-4}$)
		EM- <i>Gm</i> *	129,95 ($\pm 8,24 \times 10^{-4}$)
A quente	Sementes	EHA- <i>Ps</i> *	208,45 ($\pm 9,70 \times 10^{-6}$)
		EHA- <i>Pi</i>	17,85 ($\pm 1,38 \times 10^{-4}$)
		EHA- <i>Gm</i> *	94,89 ($\pm 1,02 \times 10^{-4}$)
	Cascas	EHA- <i>Pi</i>	29,03 ($\pm 5,25 \times 10^{-4}$)
EHA- <i>Gm</i> *		180,02 ($\pm 3,30 \times 10^{-4}$)	

Fonte: Autor.

Legenda: * Concentração de $0,75 \text{ mg.mL}^{-1}$; ** Concentração de $0,1875 \text{ mg.mL}^{-1}$;

EHA - Extrato Hidroalcoólico; EH - Extrato Hexânico; EM - Extrato Metanólico; *Gm*: *Garcinia macrophylla*, *Pi*: *Platonia insignis*, *Ps*: *Poraqueiba sericea*

Os valores entre parênteses correspondem ao (\pm desvio-padrão, n=3)

Todos os extratos de *P. insignis* avaliados pelo método FRAP apresentaram capacidade de redução do íon Fe^{3+} . Entretanto, quando comparados com os valores

observados pelas frações da espécie *G. macrophylla*, os resultados foram inferiores (Tabela 9, p. 69). Sendo a fração que demonstrou melhor atividade ($147,58 \pm 1,58 \times 10^{-4} \mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$) aquela procedente da extração a frio com hexano da na concentração de $0,75 \text{ mg.mL}^{-1}$. Por outro lado, o resultado menos expressivo foi observado para fração metanólica preparada pelo método de maceração a frio da casca, apresentando atividade de ($9,55 \pm 1,48 \times 10^{-3} \mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$).

Com relação aos extratos derivados da extração das sementes de *P. sericea*, ambos apresentaram capacidade redutora pelos métodos FRAP. Vale salientar que foram avaliados dois extratos provenientes das sementes de umari, um a frio em metanol (EM-*Ps*) e outro a quente em sistema hidroalcoólico (EHA-*Ps*). A fração a quente apresentou melhor desempenho demonstrando capacidade redutora de $208,45 \pm 9,70 \times 10^{-6} \mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$ na concentração de $0,75 \text{ mg.mL}^{-1}$, enquanto que o extrato metanólico demonstrou atividade de $38,53 (\pm 1,92 \times 10^{-3}) \mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$ na concentração de 3 mg.mL^{-1} .

5.3.2 Resultados do potencial antioxidantes pelo método ABTS

O ensaio de avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS consiste na redução do radical $\text{ABTS}^{+\bullet}$ a ABTS promovendo assim a perda da coloração do meio reacional de verde escuro a verde claro (OLIVEIRA, 2015), observou-se que os extratos obtidos por diferentes métodos extrativos e partes vegetais foram ativos (Tabela 10, p. 71) na captura do radical $\text{ABTS}^{+\bullet}$.

Pelo método de captura do radical $\text{ABTS}^{+\bullet}$, o extrato mais ativo foi obtido na fração hidroalcoólica a frio da casca de *G. Macrophylla* (EHA-*Gm*), o qual demonstrou atividade de $64,06 (\pm 1,74 \times 10^{-5}) \text{ mg ET.g}^{-1}$ de extrato frente à redução do radical, valores similares foram observados para os extratos hidroalcoólicos a quente das sementes e das cascas dessa mesma espécie.

Os extratos provenientes de *P. insignis* demonstraram menor atividade para as frações metanólica a frio das cascas (EM-*Pi*) cuja capacidade de redução foi de $53,00 (\pm 9,024 \times 10^{-4}) \text{ mg ET/g}$ de extrato e para a fração hidroalcoólica (EHA-*Pi*) que apresentou $56,83 (\pm 3,29 \times 10^{-4}) \text{ mg ET/g}$ de extrato. Já os extratos oriundos da espécie *P. sericea* demonstraram atividade semelhantes aos observado para os extratos de *G. macrophylla* cuja capacidade de redução variou em torno de $63,00 \text{ mg ET/g}$ de extrato.

Tabela 10 – Resultados do ensaio ABTS dos extratos brutos

Método extrativo	Parte vegetal	Amostra	ABTS (mg ET/g)
A frio	Sementes	EM- <i>Ps</i>	63,35 ($\pm 1,74 \times 10^{-5}$)
		EHA- <i>Pi</i>	63,68 ($\pm 7,96 \times 10^{-5}$)
		EH- <i>Pi</i>	63,73 ($\pm 3,47 \times 10^{-5}$)
		EM- <i>Pi</i>	61,22 ($\pm 6,76 \times 10^{-4}$)
		EHA- <i>Gm</i>	64,04 ($\pm 0,0$)
		EH- <i>Gm</i>	63,90 ($\pm 5,21 \times 10^{-5}$)
		EM- <i>Gm</i>	63,97 ($\pm 0,0$)
	Casca	EHA- <i>Pi</i>	56,83 ($\pm 3,29 \times 10^{-4}$)
		EH- <i>Pi</i>	63,83 ($\pm 1,042 \times 10^{-4}$)
		EM- <i>Pi</i>	53,85 ($\pm 9,024 \times 10^{-4}$)
		EHA-<i>Gm</i>	64,06 ($\pm 1,74 \times 10^{-5}$)
		EH- <i>Gm</i>	63,78 ($\pm 3,47 \times 10^{-5}$)
		EM- <i>Gm</i>	64,04 ($\pm 5,21 \times 10^{-5}$)
		A quente	Sementes
EHA- <i>Pi</i>	62,99 ($\pm 1,13 \times 10^{-4}$)		
EHA- <i>Gm</i>	64,05 ($\pm 1,74 \times 10^{-5}$)		
Casca	EHA- <i>Pi</i>		63,56 ($\pm 1,74 \times 10^{-5}$)
	EHA- <i>Gm</i>		64,02 ($\pm 1,74 \times 10^{-5}$)

Fonte: Autor

Legenda: EHA - Extrato Hidroalcoólico; EH - Extrato Hexânico; EM - Extrato Metanólico; *Gm*: *Garcinia macrophylla*, *Pi*: *Platonia insignis*, *Ps*: *Poraqueiba sericea*

Os valores entre parênteses correspondem ao (\pm desvio-padrão, n=3)

5.3.3 Resultados do potencial antioxidante pelo método DPPH.

Os resultados do ensaio de DPPH foram expressos em função do percentual de atividade antioxidante (%AAO). As atividades antioxidantes observadas para a espécie *G. macrophylla* foram superiores a 80% para todas das amostras testadas na concentração de 3 mg.mL⁻¹ (Tabela 11, p. 72). Este comportamento é validado pelos componentes fitoquímicos (especialmente fenóis e flavonoides) caracterizados na triagem fitoquímica preliminar, os quais possuem atividade antioxidante comprovada (HERNÁNDEZ ZARATE

et al., 2018; SHI et al., 2018).

O extrato metanólico a frio proveniente das cascas dos frutos de *G. macrophylla* (EM-*Gm*) foi o mais ativo por esse método, apresentando atividade de 85,39% ($\pm 3,93 \times 10^{-1}$). Observou-se também que o extrato advindo das sementes de *P. sericea* pelo método extrativo a quente, apresentou atividade acentuada de 85,04% ($\pm 9,28 \times 10^{-2}$). Resultados semelhantes foram encontrados por Namdeo et al (2010); Arunachalam et al (2011); Patil et al (2014); Datkhile et al (2016); Rao et al (2017), para espécies da família (Icacinaeae), dados que indicam a relevância dessa família como fonte de compostos úteis.

Tabela 11 – Resultados do ensaio DPPH representados em % AAO para os extratos brutos

Método extrativo	Parte vegetal	Amostra	DPPH (%AAO)
A frio	Sementes	EM- <i>Ps</i>	70,16 ($\pm 9,14$)
		EHA- <i>Pi</i>	79,69 ($\pm 3,93 \times 10^{-1}$)
		EH- <i>Pi</i>	83,24 ($\pm 2,95 \times 10^{-1}$)
		EM- <i>Pi</i>	54,65 ($\pm 1,96 \times 10^{-1}$)
		EHA- <i>Gm</i>	82,96 ($\pm 9,82 \times 10^{-2}$)
		EH- <i>Gm</i>	84,00 ($\pm 1,96 \times 10^{-1}$)
		EM- <i>Gm</i>	84,90 ($\pm 9,89 \times 10^{-2}$)
	Cascas	EHA- <i>Pi</i>	44,99 ($\pm 3,04$)
		EH- <i>Pi</i>	79,20 ($\pm 4,91 \times 10^{-1}$)
		EM- <i>Pi</i>	41,72 ($\pm 7,86 \times 10^{-1}$)
		EHA- <i>Gm</i>	84,14 ($\pm 1,96 \times 10^{-1}$)
		EH- <i>Gm</i>	83,10 ($\pm 9,82 \times 10^{-2}$)
		EM-<i>Gm</i>	85,39 ($\pm 3,93 \times 10^{-1}$)
		EHA- <i>Ps</i>	85,04 ($\pm 9,82 \times 10^{-2}$)
A quente	Sementes	EHA- <i>Pi</i>	57,99 ($\pm 4,72$)
		EHA- <i>Gm</i>	84,84 ($\pm 0,0$)
		EHA- <i>Pi</i>	80,11 ($\pm 0,0$)
	Cascas	EHA- <i>Pi</i>	80,11 ($\pm 0,0$)
		EHA- <i>Gm</i>	84,14 ($\pm 1,96 \times 10^{-1}$)

Fonte: Autor

Legenda: EHA - Extrato Hidroalcoólico; EH - Extrato Hexânico; EM - Extrato Metanólico; *Gm*: *Garcinia macrophylla*, *Pi*: *Platonia insignis*, *Ps*: *Poraqueiba sericea*

Os valores entre parênteses correspondem ao (\pm desvio-padrão, n=3)

Os extratos de *P. insignis* foram os que exibiram as maiores diferenças em relação ao %AAO dentre as frações analisadas (Tabela 11, p. 71). Visto que, a diferença nos valores de %AAO oscilou entre 83,24% ($\pm 2,95 \times 10^{-1}$) para o extrato a frio em hexano das sementes e 41,72% ($\pm 7,86 \times 10^{-1}$) referente à fração preparada a partir das cascas a frio em metanol.

Os resultados expressos em função do equivalente em Trolox (ET) por grama de extrato se mantiveram proporcionalmente semelhantes àqueles observados no ensaio ABTS. Com destaque para as amostras da espécie *G. macrophylla* que apresentaram as melhores atividades para esse teste, conforme expresso na Tabela 12.

Tabela 12 – Resultados do ensaio DPPH apresentados em (mg ET/g) dos extratos brutos analisados

Método extrativo	Parte vegetal	Amostra	DPPH (mg ET/g)
A frio	Sementes	EM- <i>Ps</i>	42,50 ($\pm 5,76 \times 10^{-1}$)
		EHA- <i>Pi</i>	48,50 ($\pm 2,47 \times 10^{-1}$)
		EH- <i>Pi</i>	50,74 ($\pm 1,85 \times 10^{-1}$)
		EM- <i>Pi</i>	32,72 ($\pm 1,23 \times 10^{-1}$)
		EHA- <i>Gm</i>	50,56 ($\pm 6,19 \times 10^{-2}$)
		EH- <i>Gm</i>	51,22 ($\pm 1,24 \times 10^{-1}$)
		EM- <i>Gm</i>	51,79 ($\pm 6,19 \times 10^{-2}$)
	Cascas	EHA- <i>Pi</i>	26,63 ($\pm 1,92 \times 10^{-1}$)
		EH- <i>Pi</i>	48,19 ($\pm 3,09 \times 10^{-1}$)
		EM- <i>Pi</i>	24,57 ($\pm 4,95 \times 10^{-1}$)
		EHA- <i>Gm</i>	51,31 ($\pm 1,23 \times 10^{-1}$)
		EH- <i>Gm</i>	50,65 ($\pm 6,19 \times 10^{-2}$)
		EM-<i>Gm</i>	52,10 ($\pm 2,47 \times 10^{-1}$)
		A quente	Sementes
EHA- <i>Pi</i>	34,83 ($\pm 2,97 \times 10^{-1}$)		
EHA- <i>Gm</i>	51,75 ($\pm 0,0$)		
Cascas	EHA- <i>Pi</i>		48,77 ($\pm 0,0$)
	EHA- <i>Gm</i> *		51,31 ($\pm 1,23 \times 10^{-1}$)

Fonte: Autor

Legenda: EHA - Extrato Hidroalcoólico; EH - Extrato Hexânico; EM - Extrato Metanólico; *Gm*:

Garcinia macrophylla, *Pi*: *Platonia insignis*, *Ps*: *Poraqueiba sericea*

Os valores entre parênteses correspondem ao (\pm desvio-padrão, n=3)

De acordo com Sousa, Vieira e Lima (2011) não existe um método padronizado oficialmente para determinação da atividade antioxidante em espécies de origem vegetal e seus subprodutos, tendo em vista os vários mecanismos antioxidantes que podem ocorrer, bem como a diversidade de compostos bioativos. Dessa forma, a avaliação por diferentes técnicas se faz necessária para melhor indicar a capacidade antioxidante desse tipo de matriz.

O método FRAP demonstrou que existe diferença na atividade antioxidante para os diferentes extratos testados, fornecendo informação adicional sobre as características químicas dos mesmos. Os resultados demonstram que entre as três espécies avaliadas, aquela que demonstrou maior atividade frente aos testes realizados foi *G. macrophylla*. Dados estes corroborados por diversos estudos que avaliaram diferentes espécies da mesma família botânica e demonstraram sua destacada capacidade antioxidante (HEMSHEKHAR et al., 2011; ROSA e MACHADO, 2016; RAMIREZ et al., 2018; MACHADO, 2018). Todavia, a espécie *P. sericea* também se apresentou como fonte promissora de compostos de interesse.

5.3.4 Concentração efetiva (CE₅₀)

O CE₅₀ corresponde à concentração de eficiência de extrato necessária para reduzir o radical DPPH em 50%; assim, quanto menor o CE₅₀, melhor é a capacidade antioxidante do extrato (SOUSA, VIEIRA e LIMA, 2011). Dentre 11 extratos testados, aquele que apresentou atividade mais significativa foi a fração hidroalcoólica a frio das cascas de *G. macrophylla* (EH-Gm), que demonstrou o melhor CE₅₀ de 97,31 ($\pm 5,98 \times 10^{-2}$) µg/mL, salienta-se que todos os extratos advindos desta espécie exibiram desempenho melhor em comparação com as demais como pode ser observado na Tabela 13, p. 75.

As frações EH-Pi (semente, a frio) e EH-Pi (casca, quente) apresentaram atividade antioxidante equivalentes, assim como os extratos EH-Gm (semente, a frio) e EH-Gm (casca, a frio), que demonstraram capacidades de 195,63 ($\pm 1,15 \times 10^{-2}$) µg/mL e 199,32 ($\pm 2,72 \times 10^{-2}$) µg/mL, respectivamente.

Tabela 13 – Resultados da concentração eficiente (CE₅₀) pelo ensaio DPPH dos extratos brutos

Método extrativo	Parte vegetal	Amostra	DPPH - CE ₅₀ (µg/mL)
A frio	Semente	EH- <i>Pi</i>	559,76 (± 1,12×10 ⁻²)
		EHA- <i>Gm</i>	867,40 (± 2,29×10 ⁻²)
		EH- <i>Gm</i>	195,63 (± 1,15×10 ⁻²)
		EM- <i>Gm</i>	174,58 (± 3,38×10 ⁻²)
	Casca	EHA-<i>Gm</i>	97,31 (± 5,98×10⁻²)
		EH- <i>Gm</i>	199,32 (± 2,72×10 ⁻²)
		EM- <i>Gm</i>	119,0 (± 5,29×10 ⁻²)
A quente	Semente	EHA- <i>Ps</i>	290,40 (± 3,19×10 ⁻²)
		EHA- <i>Gm</i>	151,64 (± 3,17×10 ⁻²)
	Casca	EHA- <i>Pi</i>	563,67 (± 3,74×10 ⁻²)
		EHA- <i>Gm</i>	124,60 (± 4,85×10 ⁻²)

Fonte: Autor

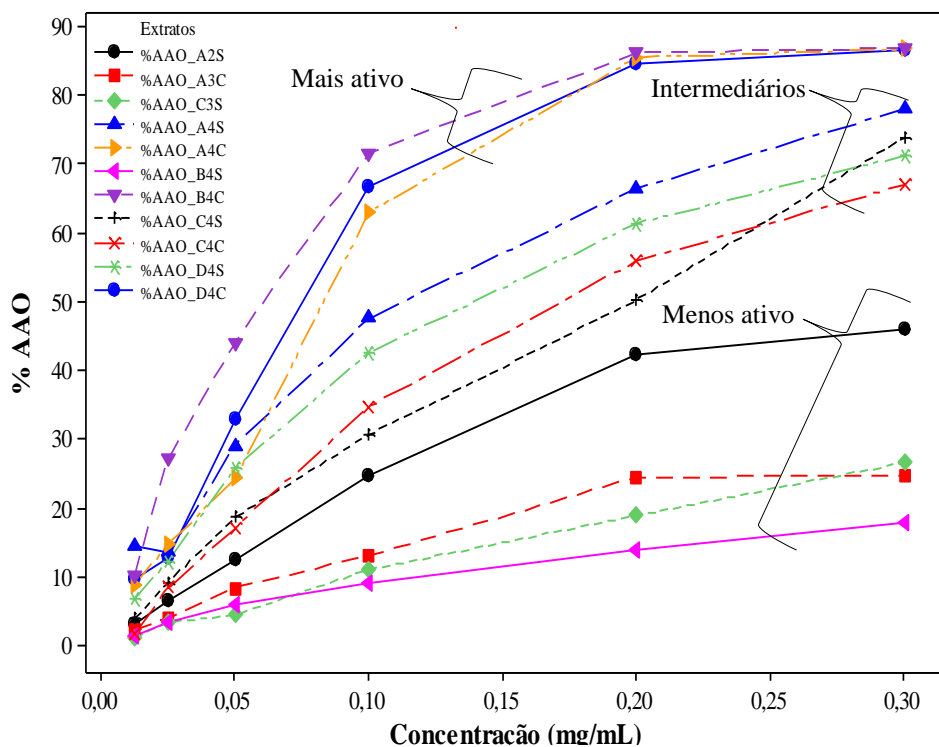
Legenda: EHA - Extrato Hidroalcoólico; EH - Extrato Hexânico; EM - Extrato Metanólico; *Gm*: *Garcinia macrophylla*, *Pi*: *Platonia insignis*, *Ps*: *Poraqueiba sericea*

Os valores entre parênteses correspondem ao (± desvio-padrão, n=3)

A partir dos dados obtidos para o ensaio de determinação da concentração eficiente (CE₅₀) foi calculada conjuntamente percentual de atividade antioxidante (%AAO) em função da concentração (mg/mL), para os 11 extratos selecionados (Figura 24, p. 76). Foi verificado que, para todos os extratos analisados, o %AAO foi dependente da concentração testada, porém acima de 0,20 mg/mL não ocorreu variação significativa, exceto para o extrato EH-*Gm*-S.F (diferença superior 20% entre 0,20 e 0,30 mg/mL). Os extratos EHA-*Gm*-C.F, EHA-*Gm*-C.Q e EM-*Gm*-C.F foram os que apresentaram %AAO mais elevados, acima de 86%. Isso demonstra que os extratos preparados a partir das cascas de *G. macrophylla*, tanto a frio quanto a quente, foram mais ativos. Foi observado %AAO entre 60 e 78% para as matrizes EHA-*Gm*-S.Q, EH-*Gm*-S.F, EM-*Gm*-S.F e EH-*Gm*-C.F, prevalecendo nesse patamar aqueles preparados a partir das sementes de *G. macrophylla* tanto a quente quanto a frio. Valores

inferiores a 50% foram observados para EH-*Ps*-S.Q, EH-*Pi*-S.F, EHA-*Pi*-C.F, EHA-*Gm*-S.F, sendo esses últimos os menos ativos.

Figura 24 – Gráfico da Atividade antioxidante (%AAO) em função de diferentes concentrações para os 11 extratos selecionados



Fonte: Autor

Legenda: Extrato de *Poraqueiba sericea*: A2S = EH-*Ps*-S.Q; Extratos de *Platonia insignis*: A3C = EHA-*Pi*-C.F; C3S = EH-*Pi*-S.F; Extratos de *Garcinia macrophylla*: A4S = EHA-*Gm*-S.Q; A4C = EHA-*Gm*-C.Q; B4S = EHA-*Gm*-S.F; B4C = EHA-*Gm*-C.F; C4S = EH-*Gm*-S.F; C4C = EH-*Gm*-C.F; D4S = EM-*Gm*-S.F; D4C = EM-*Gm*-C.F; Parte vegetal: Casca = C; Semente = S; Método extrativo: A quente = Q; A frio = F

5.3.5 Análise estatística multivariada (PCA e HCA)

Os resultados da PCA após o autoescalamento da matriz de dados originais são apresentados na Tabela 14, nota-se que PC1 descreve 75,4% de informação, PC2 20,4% e PC3 4,1%, além disso a soma das duas primeiras PC's explicam 95,8% de variância e as três PC's detêm 99,9% de informação total do conjunto de dados.

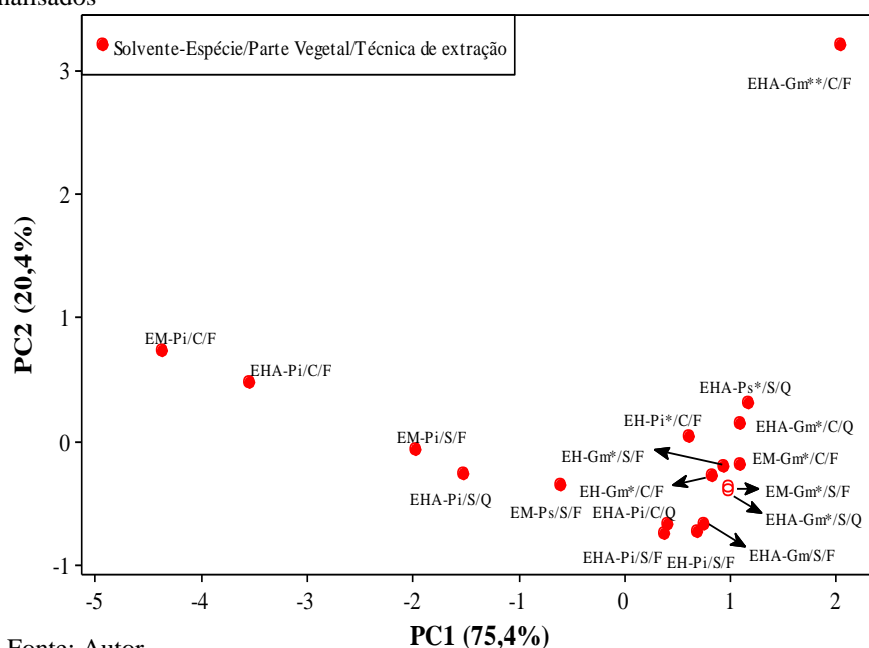
Tabela 14 – Resultado de PCA considerando os métodos de avaliação da atividade antioxidante utilizados

PC's	Variância (%)	Variância total (%)
1	75,4	75,4
2	20,4	95,8
3	4,1	99,9

Fonte: Autor.

A PCA também gerou gráficos bidimensionais, o que permite identificar a formação dos agrupamentos existentes no conjunto de dados, além de expressarem as inter-relações que podem existir entre os métodos de avaliação antioxidante, facilitando o entendimento multivariado do agrupamento dos extratos. Nas Figuras 25 e 26, p. 78, são mostrados os gráficos dos *scores* e *loadings*, respectivamente e eles apresentam nos seus eixos as duas componentes principais (PC's) que mais contribuem para a explicação da variância, condensando 95,8% da informação multivariada que pode ser obtida a partir dos dados experimentais. As informações relacionadas com os extratos analisados são apresentadas no gráfico dos *scores*, Figura 25, nota-se que a primeira componente principal (PC1), que descreve 75,4% da informação, é responsável pela distinção entre os extratos à esquerda e à direita do gráfico. Já a segunda componente principal (PC2), contendo 20,4% da informação, é quem distingue os extratos na parte superior e inferior do gráfico.

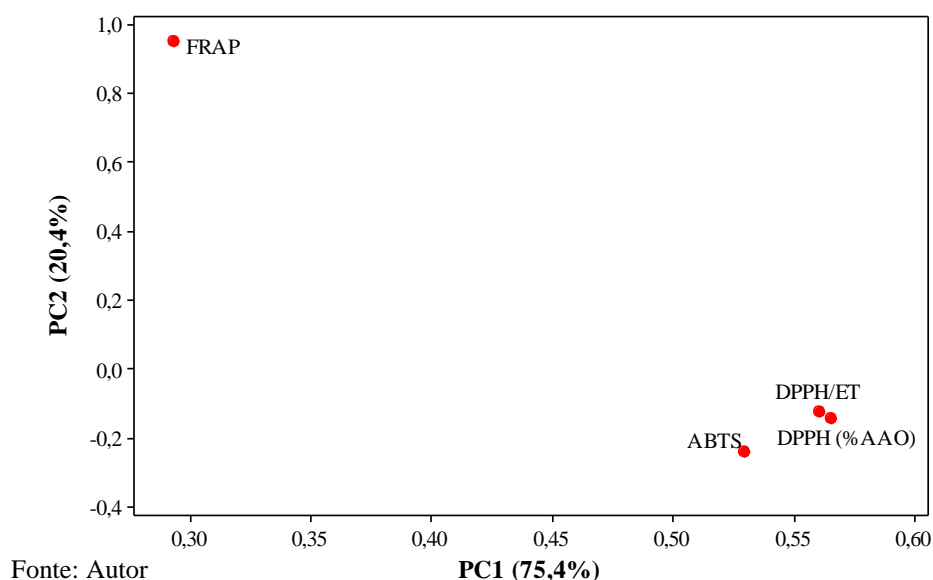
Figura 25 – Gráfico bidimensional dos *scores* oriundo da análise de componentes principais para os extratos analisados



Da Figura 25, observa-se a formação de agrupamentos isolados, sendo um deles contendo a maior parte dos extratos utilizados no estudo, região à direita e inferior do gráfico. Esse grupo é formado majoritariamente por extratos obtidos de *G. macrophylla*, outro fator que merece destaque é que existem amostras bem próximas umas das outras, caracterizando alta similaridade, por exemplo, os extratos metanólico a frio e hidroalcoólico a quente obtidos das sementes *G. macrophylla* e isto é explicado quando se analisa a atividade antioxidante desses extratos, pois não há diferença significativa entre eles, principalmente quando são comparados os resultados dos métodos ABTS, DPPH/ET e DPPH (%AAO). Este resultado indica que, em trabalhos futuros de atividade antioxidante é possível utilizar somente o extrato metanólico a frio das sementes de *G. macrophylla*, pois é menos oneroso quando comparado com o extrato hidroalcoólico a quente das sementes desta espécie. Outro par de amostras com alta similaridade refere-se aos extratos hidroalcoólico a frio e quente das sementes e cascas de *P. insignis*, isto se deve aos valores da atividade antioxidante desses extratos, pois quando se comparam os resultados não há diferenças significativas para os métodos ABTS, DPPH/ET e DPPH (%AAO).

O posicionamento dos extratos no gráfico dos *scores*, Figura 25 p. 77, é explicado a partir do gráfico dos *loadings*, que está relacionado com os métodos de avaliação da atividade antioxidante dos extratos, mostrado na Figura 26. Os métodos que estão à direita do gráfico dos *loadings* explicam a formação do grupo majoritário na Figura 25 e isto se deve a contribuição na primeira componente principal (PC1) dos métodos DPPH (%AAO) (0,565), DPPH/ET (0,560) e ABTS (0,529), conforme mostrado na Tabela 15, p. 79, além da proximidade desses métodos ao grupo, quando se analisa os gráficos conjuntamente.

Figura 26 – Gráfico dos *loadings* oriundo da análise de componentes principais dos resultados da capacidade antioxidante pelos diferentes métodos avaliativos para os extratos analisados



Na Figura 26, p. 78, observa-se que os métodos DPPH e ABTS são os que apresentam as maiores similaridades, sendo explicada quando se analisa as características metodológicas dos ensaios, pois métodos quem possuem como base a análise de captura dos radicais livres: DPPH e ABTS por compostos antioxidantes. O método FRAP, por outro lado, possui características diferentes, tendo como essência a produção do íon Fe^{2+} (forma ferrosa) a partir da redução do íon Fe^{3+} (forma férrica) presente no complexo (TPTZ), a partir da ação de um agente antioxidante (GUPTA, 2015).

Como é observado no gráfico dos *loadings* o método FRAP se diferencia dos demais e apresenta a maior contribuição na segunda componente principal (0,952), também é responsável pela disposição dos extratos na parte superior do gráfico dos *scores*, Figura 25, p. 77. Isto é corroborado pelo resultado da capacidade antioxidante do extrato hidroalcoólico a frio das cascas de *G. macrophylla* (EHA-Gm), pois na concentração de $0,1875 \text{ mg.mL}^{-1}$ demonstrou atividade de $685,53 (\pm 7,38 \times 10^{-4}) \mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$ de extrato, o que explica o posicionamento deste extrato no gráfico dos *scores*.

Tabela 15 – Contribuição dos métodos avaliativos em cada componente principal

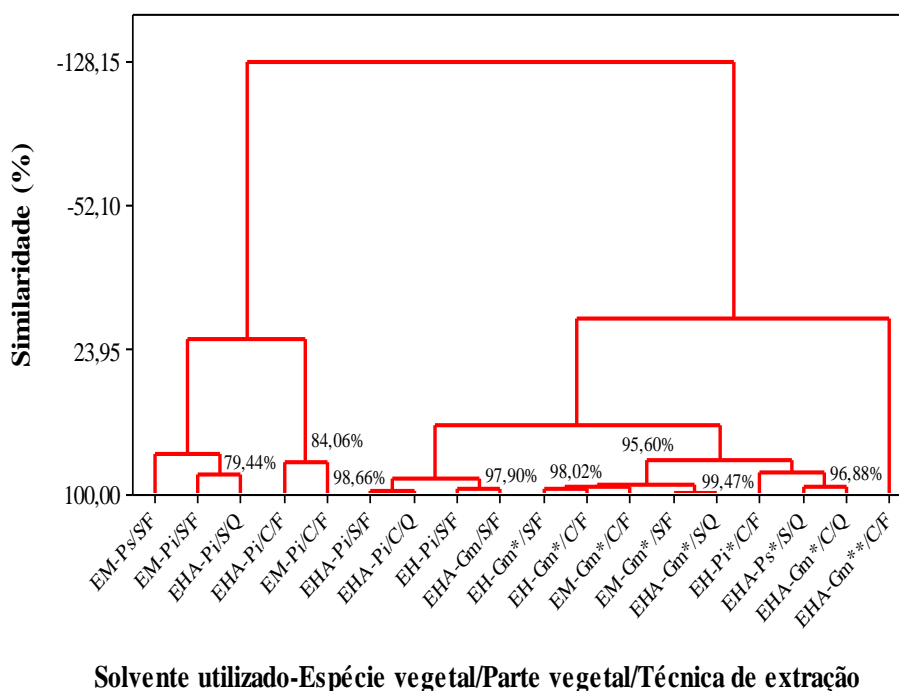
Métodos	Contribuição dos métodos em cada PC	
	PC1	PC2
FRAP	0,293	0,952
ABTS	0,529	-0,241
DPPH/ET	0,560	-0,125
DPPH (%AAO)	0,565	-0,144

Fonte: Autor

A análise de agrupamento hierárquico (HCA) possibilitou a visualização dos agrupamentos naturais entre os diferentes extratos analisados. Nesse caso, foi utilizada a distância Euclidiana entre os extratos (amostras) e a técnica de ligação entre elas foi o de Ward, o resultado de HCA é representado na forma de um dendrograma, mostrado na Figura 27, p. 80, observa-se que o grupo com maior similaridade é formado pelo extrato metanólico das sementes a frio (EM-Gm) e extrato hidroalcoólico a quente (EHA-Gm) de *G. macrophylla* com 99,47%. Do dendrograma observa-se ainda que o extrato hidroalcoólico a frio das sementes de *P. insignis* (EHA-Pi) está associado ao extrato hidroalcoólico a quente

das cascas de *P. insignis* (EHA-Pi) com uma similaridade de 98,66%. Já o extrato hexânico a frio das sementes de *P. insignis* (EH-Pi) está associado ao extrato hidroalcoólico a frio das sementes de *G. macrophylla* (EHA-Gm), com uma similaridade de 97,90%. Ressalta-se que os extratos hexânicos a frio das cascas e das sementes de *G. macrophylla* (EH-Gm), metanólicos a frio das cascas e sementes de *G. macrophylla* (EM-Gm) e hidroalcoólico a quente das sementes de *G. macrophylla* (EHA-Gm), com similaridade de 95,60%, o maior grupo de extratos similares. Os resultados obtidos na HCA corroboram os obtidos em PCA, pois as formações dos grupos que correspondem aos resultados da avaliação antioxidante dos extratos pelos diferentes métodos de medição da capacidade antioxidante são semelhantes.

Figura 27 – Dendrograma para os diferentes extratos analisados



Fonte: Autor

De modo geral, os resultados da análise multivariada utilizando PCA e HCA possibilitaram identificar as inter-relações entre os métodos de avaliação da atividade antioxidante que explicam a formação dos agrupamentos entre os extratos analisados, que não seriam observados utilizando um tratamento univariado.

5.4 Atividade antimicrobiana dos extratos obtidos das cascas e sementes dos frutos de *Poraqueiba sericea*, *Platonia insignis* e *Garcinia macrophylla*

A atividade antimicrobiana foi avaliada qualitativamente por meio de ensaios bacterianos, antifúngico e anti-cianobactéria. Os resultados obtidos para os extratos testados são detalhados a seguir.

5.4.1 Atividade antibacteriana

Na Tabela 16, p. 82, são apresentados os resultados dos experimentos da atividade antimicrobiana dos extratos brutos das sementes e cascas dos frutos de *P. sericea*, *P. insignis* e *G. macrophylla* frente às cepas bacterianas *Salmonella typhimurium* ATCC 14021, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Corynebacterium fimi* NTC 5 e *Listeria monocytogenes* ATCC 6477. A partir dos resultados qualitativos obtidos, verificou-se que todos os extratos obtidos das cascas (a quente e a frio) de *G. macrophylla* (EHA-Gm-C.Q, EHA-Gm-C.F, EH-Gm-C.F e EM-Gm-C.F) mostraram-se ativos frente à cepa *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (Figura 28, p. 82). Os extratos EHA-Ps-S.Q, EHA-Pi-C.Q e EH-Pi-S.F oriundos de *P. sericea* e *P. insignis* também se mostraram ativos frente à cepa de *B. subtilis* ATCC 6633. As amostras EHA-Ps-S.Q, EH-Pi-S.F e EM-Gm-S.F também apresentaram halo de inibição de crescimento frente à cepa de *Corynebacterium fimi* NTC 5, ou seja, extratos obtidos das sementes das três espécies demonstraram capacidade de inibição no desenvolvimento de *C. fimi* NTC 5. Nenhum dos extratos apresentou atividade frente às cepas *Salmonella typhimurium* ATCC 14021 e *Listeria monocytogenes* ATCC 6477.

De todos os extratos testados frente à cepa *Bacillus subtilis* ATCC 6633, apenas os extratos (EHA-Gm-S.F, EH-Gm-S.F e EM-Gm-S.F) das sementes de *G. macrophylla*, não apresentam halo de inibição de crescimento bacteriano. Todavia, dos 8 extratos advindos da espécie 6 obtiveram resultado positivos frente a alguma das bactérias testadas. De modo geral, os extratos hidroalcoólicos extraídos pelo método a quente apresentaram melhores respostas.

Tabela 16 – Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos brutos de *P. sericea*, *P. insignis* e *G. Macrophylla*

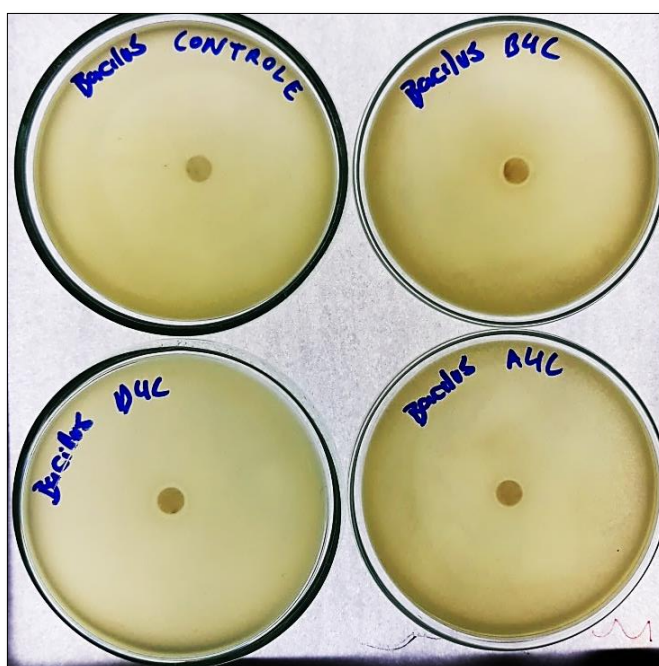
Extratos brutos testados	Parte vegetal	Método extrativo	Microrganismos testados			
			<i>L. monocytogenes</i> ATCC 6477	<i>C. fimi</i> NTC 5	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14021	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633
EHA- <i>Ps</i>	Semente	Quente	-	+	-	+
EHA- <i>Pi</i>	Casca	Quente	-	-	-	+
EH- <i>Pi</i>	Semente	Frio	-	+	-	+
EHA- <i>Gm</i>	Semente	Quente	-	-	-	+
EHA- <i>Gm</i>	Casca	Quente	-	-	-	+
EHA- <i>Gm</i>	Semente	Frio	-	-	-	-
EHA- <i>Gm</i>	Casca	Frio	-	-	-	+
EH- <i>Gm</i>	Semente	Frio	-	-	-	-
EH- <i>Gm</i>	Casca	Frio	-	-	-	+
EM- <i>Gm</i>	Semente	Frio	-	+	-	-
EM- <i>Gm</i>	Casca	Frio	-	-	-	+

Fonte: Autor

Legenda: EHA - Extrato Hidroalcoólico; EH - Extrato Hexânico; EM - Extrato Metanólico; *Gm*: *Garcinia macrophylla*, *Pi*: *Platonia insignis*, *Ps*: *Poraqueiba sericea*

Presença de halo de inibição de crescimento (+); ausência de halo de inibição de crescimento (-).

Figura 28 – Placas demonstrando a atividade antimicrobiana (halo de inibição de crescimento) frente à cepa de *Bacillus subtilis*, observada para os extratos EHA-*Gm* – cascas/a frio - (B4C), EM-*Gm* – cascas/a frio - (D4C) e EHA-*Gm* – cascas/a quente - (A4C)



Fonte: Autor

Ressalta-se que os extratos com respostas positivas foram ativos para bactérias Gram positivas, tal fato está de acordo com informações contidas na literatura, que relatam maior sensibilidade para esse tipo de bactéria frente a metabólitos vegetais (ELLER et al., 2015). Haja vista, que a membrana mais complexa apresentada pelas bactérias Gram negativas formam uma barreira bem mais eficiente, sendo responsável pela menor sensibilidade destes microrganismos frente aos extratos vegetais (LOPEZ-ROMERO et al., 2015).

Estudo realizado por Policegoudra et al (2012) demonstrou ação antimicrobiana promissora para diversas espécies do gênero *Garcinia*, corroborando com os dados encontrados neste estudo. Como é o caso de *Garcinia lancifolia*, que o suco de suas frutas exibiu considerável atividade antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus mutans*, e *Bacillus subtilis*. Segundo Shivakumar et al. (2013), o extrato de acetato de etila de *Garcinia cambogia* apresentou atividade antibacteriana frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Outro estudo, demonstrou que o extrato metanólico da casca da espécie *Garcinia lanceifolia* demonstrou atividade antibacteriana significativa contra quatro linhagens de bactérias, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* (BORA et al., 2014).

Essas atividades biológicas podem estar ligadas diretamente pela elevada presença de metabolitos da classe dos flavonoides nessa família botânica, haja vista, que flavonoides são capazes não apenas de atingir seletivamente células bacterianas, mas também de inibir fatores de virulência, além de outras formas de ameaças microbianas, como a formação de biofilme (GÓRNIAK et al., 2019).

5.4.2 Atividade antifúngica

Os resultados da atividade antifúngica dos extratos de *P. sericea*, *P. insignis* e *G. macrophylla* testados frente aos fungos do gênero *Candida* são apresentados na Tabela 17 (p. 84). Os resultados evidenciaram atividade antifúngica para extratos frente à cepa *C. glabrata* (Figura 29, p. 84), sendo eles: o extrato hexânico a frio das sementes de *P. insignis* (EH-Pi-S.F), extrato hidroalcoólico a quente das sementes de *G. macrophylla* (EHA-Gm-S.Q), extrato hidroalcoólico a quente das cascas de *G. macrophylla* (EHA-Gm-C.Q) e extrato hidroalcoólico a frio das sementes de *G. macrophylla* (EHA-Gm). Nota-se que, dos 4 extratos que apresentaram resposta positiva de inibição de crescimento microbiano, 3 são extratos advindos de sistema etanol:água (50:50), demonstrando que a

Tabela 17 – Avaliação da atividade antifúngica dos extratos brutos de *P. sericea*, *P. insignis* e *G. Macrophylla*

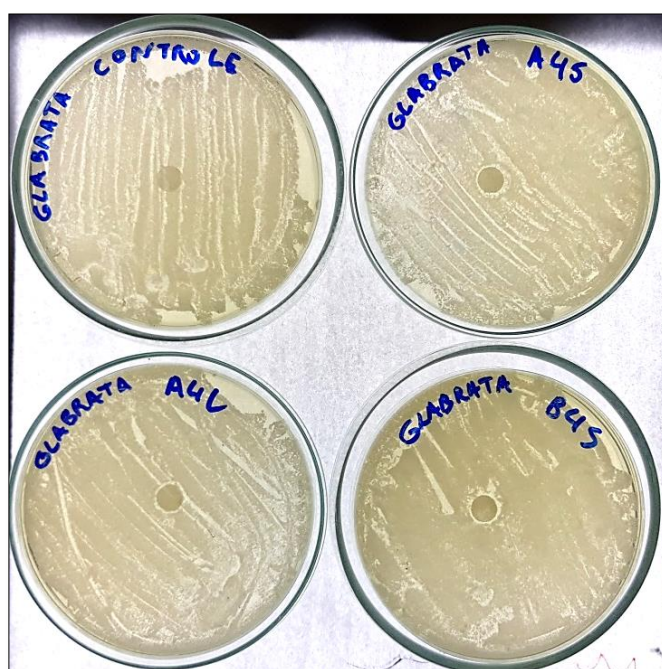
Extratos brutos testados	Parte vegetal	Método extrativo	Microrganismos testados		
			<i>C. Tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilopsis</i>
EHA- <i>Ps</i>	Semente	Quente	-	-	-
EHA- <i>Pi</i>	Casca	Quente	-	-	-
EH- <i>Pi</i>	Semente	Frio	-	+	-
EHA- <i>Gm</i>	Semente	Quente	-	+	-
EHA- <i>Gm</i>	Casca	Quente	-	+	-
EHA- <i>Gm</i>	Semente	Frio	-	+	-
EHA- <i>Gm</i>	Casca	Frio	-	-	-
EH- <i>Gm</i>	Semente	Frio	-	-	-
EH- <i>Gm</i>	Casca	Frio	-	-	-
EM- <i>Gm</i>	Semente	Frio	-	-	-
EM- <i>Gm</i>	Casca	Frio	-	-	-

Fonte: Autor

Legenda: EHA - Extrato Hidroalcoólico; EH - Extrato Hexânico; EM - Extrato Metanólico; *Gm*: *Garcinia macrophylla*, *Pi*: *Platonia insignis*, *Ps*: *Poraqueiba sericea*

Presença de halo de inibição de crescimento (+); ausência de halo de inibição de crescimento (-).

Figura 29 – Placas demonstrando a atividade antimicrobiana (halo de inibição de crescimento) frente à linhagem de *C. glabrata*, observada para os extratos EHA-*Gm* – sementes/a quente - (A4S), EHA-*Gm* – sementes/a quente - (A4C), e EHA-*Gm* – sementes/a frio - (B4S)



Fonte: Autor

polaridade dos solventes empregados pode ter influência no processo de difusão dos metabólitos no meio de cultura. Observa-se também, que os extratos originários da espécie *G. macrophylla* apresentaram atividade antifúngica promissora frente à cepa *C. glabrata*. Vale ressaltar, que ambas as espécies que apresentam atividade são do mesmo gênero botânico, demonstrando assim que os metabólitos responsáveis pela ação antifúngica podem ter o mesmo perfil fitoquímico. Observou-se que para as linhagens *C. tropicalis* e *C. parapsilopsis* os extratos brutos avaliados não apresentaram halo de inibição de crescimento.

Segundo Venturoso et al (2011), estudos desenvolvidos com extrato bruto e óleo essencial, obtidos a partir de plantas medicinais, apontam o potencial dessas no controle de fungos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas. Existem ainda, relatos da atividade antifúngica direta de extratos aquosos e óleos essenciais obtidos a partir de plantas contra uma ampla gama de fungos, como: os extratos de *Salvia sclarea*, *S. officinalis* e *R. officinalis* que apresentam considerável atividade antifúngica frente a cepas de *Alternaria* spp (DELLAVALLE et al., 2011).

O gênero *Garcinia* possui ação antifúngica relevante, como pode ser demonstrado por estudos que avaliaram essa atividade frente a uma variedade de espécies de fungos (THARACHAND et al., 2015). Nnedinma et al (2019) apontam que o extrato metanólico de *Garcinia kola* apresenta significativa atividade antifúngica frente às cepas *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. Outra pesquisa mostrou que os compostos xantocimol e garcinol, benzofenonas isopreniladas purificadas de frutos de *Garcinia xanthochymus*, demonstram múltiplas atividades contra *Candida albicans* e biofilmes. Sendo que ambos os compostos impediram efetivamente o surgimento de tubos germinativos fúngicos e também foram citostáticos (JACKSON et al., 2015).

5.4.2 Atividade anti-cianobactéria

Foram testadas as atividades dos extratos brutos das sementes e cascas dos frutos de *P. sericea*, *P. insignis* e *G. macrophylla* frente às cianobactérias dos gêneros *Synechocystis* sp. (CACIAM 05), *Nostoc* sp. (CACIAM 19) e *Synechococcus* sp. (CACIAM R8), os resultados são demonstrados na Tabela 18, p. 86. Observou-se que todos os extratos apresentaram atividade anti-cianobactéria para pelo menos um gênero. Sendo as espécies *Synechocystis* sp. (CACIAM 05) e *Synechococcus* sp. (CACIAM R8), Figura 30, p. 87, as mais susceptíveis aos extratos testados. Notou-se que para o gênero *Nostoc* sp. (CACIAM 19), somente 3 extratos

apresentaram atividade de inibição de crescimento, sendo eles: o extrato hidroalcoólico a quente das cascas de *P. insignis* (EHA-*Pi*-C.Q), extrato hidroalcoólico a quente das sementes de *G. macrophylla* (EHA-*Gm*-S.Q) e extrato metanólico a frio das sementes de *G. macrophylla* (EM-*Gm*-S.F). Ressalta-se que esta cianobactéria é filamentosa, ou seja, possui maior resistência, devido sua estrutura morfológica, a qual se assemelha com bactérias gram-negativas (FLORES e HERRERO, 2009; DVOŘÁK et al., 2017). Observou-se também que, dos 11 extratos testados frente às cianobactérias, 6 apresentaram atividade frente pelo menos duas espécies. Todavia, os extratos metanólicos das cascas de *G. macrophylla* e hexânico das sementes de *P. insignis* apresentaram atividade de inibição de crescimento apenas para o gênero *Synechococcus sp.* (CACIAM R8). De modo geral, observou-se que os extratos de *G. macrophylla* demonstram boa atividade anti-cianobactéria para pelo menos um gênero testado.

Tabela 18 – Avaliação da atividade anti-cianobactéria dos extratos brutos de *P. sericea*, *P. insignis* e *G. Macrophylla*

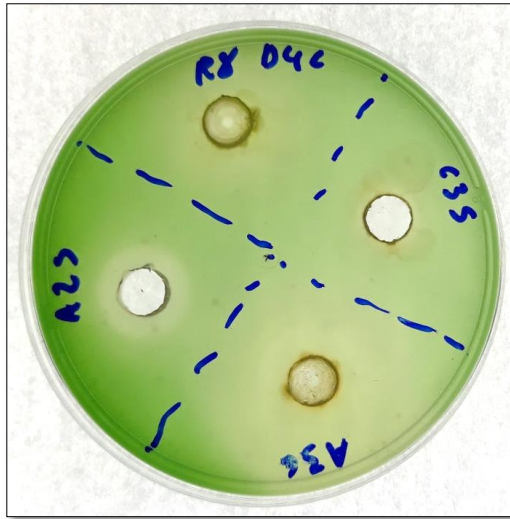
Extratos brutos testados	Parte vegetal	Método extrativo	Microrganismos testados		
			<i>Synechocystis sp.</i> (CACIAM 05)	<i>Nostoc sp.</i> (CACIAM 19)	<i>Synechococcus sp.</i> (CACIAM R8)
EHA- <i>Ps</i>	Semente	Quente	+	-	+
EHA- <i>Pi</i>	Casca	Quente	-	+	+
EH- <i>Pi</i>	Semente	Frio	-	-	+
EHA- <i>Gm</i>	Semente	Quente	+	+	-
EHA- <i>Gm</i>	Casca	Quente	+	-	-
EHA- <i>Gm</i>	Semente	Frio	+	-	-
EHA- <i>Gm</i>	Casca	Frio	+	-	+
EH- <i>Gm</i>	Semente	Frio	+	-	-
EH- <i>Gm</i>	Casca	Frio	+	-	+
EM- <i>Gm</i>	Semente	Frio	-	+	+
EM- <i>Gm</i>	Casca	Frio	-	-	+

Fonte: Autor

Legenda: EHA - Extrato Hidroalcoólico; EH - Extrato Hexânico; EM - Extrato Metanólico; *Gm*: *Garcinia macrophylla*, *Pi*: *Platonia insignis*, *Ps*: *Poraqueiba sericea*

Presença de halo de inibição de crescimento (+); ausência de halo de inibição de crescimento (-).

Figura 30 – Placas demonstrando a atividade antimicrobiana (halo de inibição de crescimento) frente à cepa de *Synechococcus sp.* (CACIAM R8), observada para os extratos EHA-*Ps*- sementes/a quente - (A2S), e EHA-*Pi* - sementes/a frio - (C3S) e EHA-*Pi*- cascas/a frio - (A3C),



Fonte: Autor

De acordo com Kuriama et al (2012), o aumento da concentração de nutrientes, principalmente de nitrogênio e fósforo em mananciais de água para abastecimento público, favorece a proliferação de cianobactérias, que em alguns casos são produtoras de toxinas (cianotoxinas). Essas cianotoxinas presentes na água podem gerar problemas para a saúde humana. A exposição às cianotoxinas pode ocorrer de várias maneiras, no entanto, a via oral é a mais frequente. Isso ocorre principalmente através da água potável ou da ingestão de alimentos contaminados; pode até envolver a ingestão de água durante atividades recreativas, além disso, a exposição dérmica e a inalação são possíveis também (KUBICKOVA et al., 2019).

O gerenciamento de recursos hídricos é desafiado em todo o mundo a reduzir a vulnerabilidade às ameaças de explosões nocivas de cianobactérias. Particularmente nos países em desenvolvimento onde os altos custos de produtos químicos para o tratamento de água e efluentes podem limitar sua aplicação, é desejável o desenvolvimento de medidas mitigadoras econômicas e ambientalmente aceitáveis (LÜRLING e BEEKMAN, 2010). Nesse cenário, a clarificação e desinfecção da água com produtos naturais, como partes vegetais, são de particular interesse. Como o potencial demonstrado dos extratos de *P. sericea*, *P. insignis* e *G. macrophylla* em especial para os extratos de *G. macrophylla* faz-se necessário estudos mais aprofundados para estas espécies.

6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Ao comparar os rendimentos dos extratos obtidos a partir das sementes das espécies estudadas, observou-se que os sistemas hidroalcoólicos obtidos a quente apresentaram rendimento superior àqueles obtidos a frio. O inverso foi verificado para as cascas, cujos extratos com melhor rendimento foram os hidroalcoólicos obtidos a frio.

Os resultados da triagem fitoquímica demonstraram que, de todos os extratos obtidos, o que apresentou maior variabilidade fitoquímica foi o extrato hidroalcoólico a frio das cascas de *G. macrophylla*, com 9 grupos de constituintes caracterizados.

A quantificação da atividade antioxidante via método FRAP resultou em valores que variaram entre 17,06 ($\pm 1,33 \times 10^{-4}$) $\mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$ (menos ativo) e $685,53 \pm 7,38 \times 10^{-4}$ $\mu\text{mol Fe (II).g}^{-1}$ (mais ativo), sendo que o extrato mais ativo foi obtido a frio das cascas da espécie *G. macrophylla*.

No ensaio de atividade antioxidante via ABTS o extrato mais ativo também foi obtido a frio das cascas de *G. macrophylla*, cuja, a atividade foi de $64,06 (\pm 1,74 \times 10^{-5})$ mg ET.g^{-1} de extrato. Sendo que os menos ativos foram os extratos obtidos a frio das cascas de *P. insignis*.

A atividade antioxidante pelo método DPPH foi expressa em função do %AAO e variou entre $44,99 (\pm 3,93 \times 10^{-1})$ e $85,39\% (\pm 3,93 \times 10^{-1})$, do menos ativo para o mais ativo. Dos 18 extratos estudados, onze apresentaram %AAO superior a 80%, sendo quatro deles obtidos a quente e sete obtidos a frio. Dos onze extratos mais ativos, oito foram obtidos das cascas e sementes da espécie *G. macrophylla*. O CE_{50} variou de acordo com a concentração testada, sendo que o extrato EHA-Gm (das cascas) foi aquele que demonstrou melhor resultado com CE_{50} igual a $97,31 (\pm 5,98 \times 10^{-2})$ $\mu\text{g/mL}$.

A aplicação do método estatístico multivariado auxiliou na comparação das atividades dos extratos obtidos por diferentes técnicas. Observou-se que não houve diferença significativa entre os extratos obtidos a quente e a frio das sementes de *G. macrophylla*. Observou-se elevada similaridade entre os extratos hidroalcoólicos a quente e a frio das sementes e cascas de *P. insignis*. Quanto às características metodológicas aplicadas, houve similaridade entre os métodos DPPH e ABTS, diferenciando-se esses dois do FRAP, e os resultados obtidos para o HCA confirmaram aqueles observados no PCA.

Nos ensaios de atividade antibacteriana, dos onze testados, oito apresentaram resultado positivo, com formação de halo de inibição, frente às cepas de *B. subtilis* (ATCC 6633) e três

frente à *C. fimi* (NTC 5). Sendo que destes, cinco foram obtidos em sistema hidroalcoólico a quente.

Os extratos testados foram menos ativos quando analisada a atividade antifúngica. Dos onze extratos avaliados, apenas quatro foram ativos frente às cepas do fungo *C. glabrata*. Das matrizes ativas, uma foi o extrato hexânico das sementes de *P. insignis* e três de *G. macrophylla*, sendo uma obtida das cascas e duas das sementes, em sistema hidroalcoólico.

Nos ensaios de atividade anti-cianobactéria, os extratos testados foram ativos frente às cepas de *Synechocystis sp.*, *Nostoc sp.* e *Synechococcus sp.*, visto que as cepas de *Synechocystis sp.* e *Synechococcus sp.* foram as mais sensíveis.

Dos extratos testados, aqueles obtidos em sistema hidroalcoólico das sementes e cascas de *G. macrophylla* foram os mais promissores. Contudo, os extratos hidroalcoólicos de *P. insignis* e *P. sericea* também merecem destaque por apresentarem atividade antifúngica e antibacteriana. Os resultados demonstram que as matrizes analisadas apresentam potencial para serem exploradas com possibilidade de aplicações biotecnológica.

Este estudo tem importância para a promoção do desenvolvimento sustentável na Amazônia, pois incentiva o uso inteligente e a valorização das espécies da flora local, especialmente aquelas preservadas na região da UHE-Tucuruí, pois demonstra o potencial bioquímico e biotecnológico associado a partes como cascas e sementes de frutos regionais, que seriam normalmente descartados, assim como, destaca-se também que esse estudo indica que a preservação das espécies da flora regional, quando da implantação de um empreendimento de grande porte, deve ser pensada considerando o potencial bioquímico associado às espécies preservadas e salienta a importância de catalogar, identificar, conhecer a constituição química e as principais atividades biológicas de espécies nativas.

Como perspectivas, torna-se interessante a realização de estudos que visem o isolamento e purificação dos compostos presentes nos extratos que obtiveram os melhores resultados, que devem ser testados pelas metodologias aqui descritas, bem como uma complementação com testes enzimáticos, ensaios de captura de outros metabólitos oxidativos, e espécies reativas de nitrogênio, como ONOO^- , ensaios de concentração inibitória mínima (MIC, MIC₅₀, MIC₉₀) frente a microrganismos, ensaios de citotoxicidade que possam avaliar a toxicidade dos extratos nas concentrações em que apresentam atividade antioxidante, entre outros.

REFERÊNCIAS

- ACUÑA, U., JANCOVSKI, N., e KENNELLY, E. Polyisoprenylated Benzophenones from Clusiaceae: Potential Drugs and Lead Compounds. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, 9(16), 1560–1580, Jun, 2009.
- AGHAEI JESHVAGHANI, Z., et al., Comparison of total phenolic content and antioxidant activity in different *Salvia* species using three model systems. **Industrial Crops and Products**, 77, 409-414, Sept., 2015.
- AGUIAR J. P. L., et al. Bioavailability of iron from jambu (*Spilanthes oleracea* L.): a study in murine. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, 5,19-24, Jun., 2014.
- ALAM, M. N., BRISTI, N. J., E RAFIQUZZAMAN, M., Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, 21, 2, 143–152, jun, 2013.
- ALMEIDA, N. J. R., **Saberes da pesca em unidade de conservação: os pescadores da RDS Alcobaça no Lago da Usina hidrelétrica de Tucuruí/PA**. 221 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Belém, Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca, 2016.
- ALMEIDA, S. S., **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas**, 5, 1, 195-196, Jan., 2010.
- ALVES, C. Q. et al . Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, 33, 10, 2202-2210, Mai., 2010.
- ALVES, J. N., **Caracterização química dos extratos em diclorometano de *Origanum majorana* L. na inibição de *Panicum maximum***. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.
- AMARAL, S. C., **Detecção de Atividade de Bacteriocinas e Compostos Alelopáticos em Cianobactérias da Região Amazônica e Avaliação do Potencial Antagonista de uma Bactéria Heterotrófica (BCI)**, 136 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2018.
- ARNAO, M. B; CANO, A.; ACOSTA, M., The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity, **Food Chemistry**, 73, 239–244, Mar., 2001.
- ARUNACHALAM, K.; PARIMELAZHAGAN, T.; SARAVANAN, S., Phenolic content and antioxidant potential of *Sarcostigma kleinii* Wight, **Food and Agricultural Immunology**, 22, 161-170, Fev., 2011.
- ASHRAF, M. A., et al., Environmental Stress and Secondary Metabolites in Plants. **Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress**, 1ª ed, 2018.
- ASTOLFI FILHO, S., et al. Bioprospecção e Biotecnologia. **Parcerias Estratégicas**, 19, 38, 45-80, Mar., 2014.

AZEVEDO, L. F. P., et al., Phytochemical screening and antioxidant activity of *Costus spicatus* (Jacq.) Sw. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 16, 2, 209-215, Jun., 2014.

AZWANIDA, N., A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation, **Medicinal e Aromatic Plants**, 4, 3, 3–8, Apri., 2015.

BADKE, M. R. et al., Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular, Escola Anna Nery, **Revista de Enfermagem**. 15, 1, 132-9, Jun, 2011.

BAGLIANO, R. V., Main bodies used as bioindicators reported with use of environmental damage appraisers. **Revista Meio Ambiente e Sustentabilidade**, 2, 1, 77-85, mai, 2012.

BALISTEIRO, D. M., et al., Effect of clarified Brazilian native fruit juices on postprandial glycemia in healthy subjects, **Food Research International**. 100, 2, 196-203, Out, 2017.

BALOUIRI, M., SADIKI, M., e IBNSOUDA, S. K, Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 6, 2, 71–79, jan, 2016.

BALSALOBRE, L. C.; DROPA, M.; MATTE, M. H., An overview of antimicrobial resistance and its public health significance. **Brazil Jounal Microbiology**, 45, 1, 1-6, Apri., 2014.

BAMPOULI, A. et al. Comparison of different extraction methods of *Pistacia lentiscus* var. chia leaves: Yield, antioxidant activity and essential oil chemical composition. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 1, 3, 81-91, Jun, 2014.

BARBOSA, H. M., et al., Phychochemical approach of secondary metabolites in *solanum acanthodes* (*solanaceae*) hook. **journal of basic education, technical and technological**. 4, 1, 30-41, Jun, 2017.

BARBOSA, P. O, et al., Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp dietary intake improves cellular antioxidant enzymes and biomarkers of serum in healthy women, **Nutrition**, 32, 6, 674-680, Jun, 2016.

BARBOSA, W. L. R., et al. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. **Revista Científica da UFPA**, 4, 2 ed., 2004.

BARREIRO, E. J; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, 32, 3, 679-688, 2009.

BARRETT, A. H.; FARHADI, N. F.; SMITH, T. J. Slowing starch digestion and inhibiting digestive enzyme activity using plant flavanols/tannins - A review of efficacy and mechanisms. **LWT - Food Science and Technology**. 87, 1, 394-399, Jan, 2018.

BARROS, F. N., **Avaliação da atividade do óleo da semente de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) contra ectoparasitos de felinos domésticos**. 137 f. Dissertação

(Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2011.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas no Brasil**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1, 3 ed., 1978.

_____. **Sistemática de angiospermas no Brasil**. Viçosa, MG: UFV, 1, 2 ed., 2002.

BATISTA, B. et al, Revisão dos impactos ambientais gerados na fase de instalação das hidrelétricas: uma análise da sub-bacia do alto Juruena- MT, **Biodiversidade**, 11, 1, 1-17, Jun, 2012.

BENZIE, I; STRAIN, J, The ferric reducing ability of plasma as a measure of antioxidant, **Analytical Biochemistry**, 239, 0292, 70-76, Apr., 1996.

BIRBEN, E., et al. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **WAO Journal**, 5, 7, 124-123, Jan., 2012.

BISKUP I., et al., Antioxidant activity of selected phenols estimated by ABTS and FRAP methods, **Postepy Hig Med Dosw**, 67, 958-963, Jan., 2013.

BOHM, B A, The Geography of Phytochemical Races, **Springer**, Dordrecht, 217-244, 2008.

BOORHEM, R. L.; LAGE, E. B. Drogas e Extratos Vegetais Utilizados em Fitoterapia. **Revista Fitos**, 4, 1, 37-55, mar., 2009.

BORA, N. S. KAKOTI, B. B.; GOGOI, B. Study on Antibacterial Activity of the Bark of *Garcinia lanceifolia* Roxb, **International scholarly research notices**, ID 784579, 1-3, Oct, 2014.

BRANDÃO, A., et al., Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**, 33, 6, 1359-1369, 2010.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie – Food Science and Technology**, 28, 1, 25-30, 1995.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 546, 1, Brasília: Anvisa, 2010.

BRASIL. Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos. Portaria Interministerial Nº 2.960, de 9 de dezembro de 2008. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

BROINIZI, B. P. R., et al. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27, 4, 902-908, Dec., 2007.

CALDERÓN, A., et al., Triterpenes and fatty acids from *Discophora guianensis* identified by GC–MS, **Biochemical Systematics and Ecology**, 50, 16-18, Apr., 2013.

- CARVALHO, J. Mangostanzeiro: botânica, propagação, cultivo e utilização, **Revista Brasileira de Fruticultura**, 36, 1, 148-155, Mar., 2014.
- CASALE, F. M.; VALENTINI, S. A., Controle de qualidade de formas farmacêuticas tópicas utilizando diferentes extratos vegetais. **Revista Iniciare**, 2, 1, 36-48, Jan./Jun. 2017.
- CASTRO, J. C.; MADDOX, J. D.; IMÁN, S. A., Camu-camu - *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh. **Exotic Fruits**, 1, 97-105, Apr., 2018.
- CATANEO, C. B., et al. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias**, 29, 1, 93-102, Jan./Mar., 2008.
- CAVALCANTE, P. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: CNPq/ Museu Paraense Emílio Goeldi (Coleção Adolpho Ducke), 1996.
- _____. **Frutas comestíveis na Amazônia**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi (Coleção Adolpho Ducke). 2010.
- CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A., Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química nova**, 21, 1, 99-105, Fev., 1998.
- CEDRIM, P.; BARROS, E. M. A.; NASCIMENTO, T. G., Propriedades antioxidantes do açaí (*Euterpe oleracea*) na síndrome metabólica, **Brazilian Journal of Food Technology**, 21, e2017092, Nov., 2018.
- CENTRAIS ELÉTRICAS DO NORTE DO BRASIL, **Relatório de Sustentabilidade. Brasília: Eletronorte**, 2016.
- CHAUDHURI, D. et al., Typhimurium Infection Leads to Colonization of the Mouse Brain and Is Not Completely Cured With Antibiotics. **Frontiers in Microbiology**, 1,9, 1-5, Oct, 2018.
- CHOUERI, R. B.; AZEVEDO, J. A. R., Biodiversidade e impacto de grandes empreendimentos hidrelétricos na Bacia Tocantins-Araguaia: uma análise sistêmica. **Sociedade e Natureza**, 29, 3, 439-453, Set/Dez., 2017.
- COMISSÃO MUNDIAL DE BARRAGENS, CMB. **Estudos de caso da Comissão Mundial de Barragens: Usina Hidrelétrica de Tucuruí (Brasil)**. RELATÓRIO FINAL. AFRICA SUL, 2000.
- COSTA JÚNIOR J. S, et al., Evaluation of antioxidant effects in vitro of Garcinielliptone FC (GFC) isolated from *Platonia insignis* Mart. **Journal of Medicinal Plant Research**, 21, 6, 1104-1110, Dez., 2011.
- _____. **Análise Fitoquímica, Farmacológica e toxicológica das sementes de *Platonia insignis* Mart. (Bacuri)**, 192 f, Tese (Genética e Toxicologia Aplicada) Universidade Luterana do Brasil, 2011.

_____. Evaluation of possible anticonvulsant effects of ethyl acetate fraction from *Platonia insignis* Mart. (Bacuri) on epilepsy models. **Epilepsy e Behavior**. 22, 2, 678-684, Jan., 2011.

COSTA, A. et al. Morfologia de frutos e sementes de *Garcinia Macrophylla* Mart. (*Clusiaceae*) em Floresta de Várzea do Estuário Amazônico, **Informativo ABRATES**, 25, 2, set., 2015.

COSTA, S. **A importância do estudo dos impactos sociais na instalação de empreendimentos de grande porte**, 89 f, Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Florianópolis, 2016.

COSTA, S. S., et al., Spilanthol extraction using microwave: calibration curve for gas chromatography. **Chemical Engineering Transactions**, 32, 1783-1788, Ago., 2013.

CUNHA-SANTOS, E. C. E., et al., Vitamin C in camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh]: evaluation of extraction and analytical methods. **Food Research International**. 115, 160-166, Jan., 2018.

DATKHILE, K. D., et al., Biological Science Evaluation of in vitro Antioxidant and Free Radical Scavenging Properties of Different Parts of Medicinal Plant *Nothapodytes foetida* (Family : *Icacinaceae*), **International Journal of Scientific Research**, 5, 5, 84-88, May., 2016.

DE VARGAS, A. et al., Antioxidant activity and peroxidase inhibition of Amazonian plants extracts traditionally used as anti-inflammatory. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 18, 83, 1-8, Fev., 2016.

DELLAVALLE, P. D., et al., Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *alternaria* spp., **Chilean Journal of Agricultural Research**, 71, 2, April/June, 2011.

DEMAIN, A.L., Importance of microbial natural products and the need to revitalize their discovery, **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, 41, 2, 185-201, Feb., 2014.

DESOTI, A., et al. Phytochemical screening and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of native medicinal plants from west region of paraná state. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, 15, 1, 3-13, Jan./Abr. 2011.

DOCQUIER, J.-D., e MANGANI, S., An update on β -lactamase inhibitor discovery and development. **Drug Resistance Updates**, 36, 13–29, 2018.

DU, Y. et al., A Newly Isolated *Bacillus subtilis* Strain Named WS-1 Inhibited Diarrhea and Death Caused by Pathogenic *Escherichia coli* in Newborn Piglets. **Frontiers in Microbiology**, 1, 10, 1-11, Jun, 2019.

DUARTE, M.C.T., Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. **Multiciencia**. 7, 1, Jan., 2006.

DVOŘÁK, P., et al., Diversity of the Cyanobacteria. **Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes**, 2, 3-46. 2017.

ELLER A., et al., Avaliação antimicrobiana de extratos vegetais e possível interação farmacológica in vitro, **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 36, 1, 131-136, Jan., 2015.

FALCÃO, M.; LIERAS, E., Aspectos fenológicos, ecológicos e de produtividade do umari (*Poraqueiba sericea* Tulasne), **Acta Amazônica**, 10, 3, 445-462, Sept., 1980.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Food and fruit-bearing forest forest species 3: Examples from Latin America, 1986.

FARIAS, M. P. O., et al., Eficácia in vitro do óleo da semente de *Carapa guianensis* aulb. (meliaceae) sobre *Damalinea caprae* (Gurlt, 1843) (*Mallophaga: Trichodectidae*), **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, 11, 1, 88- 94, Jan-mar, 2017.

FEARNSIDE. P. M. Brazil's Samuel Dam: Lessons for Hydroelectric Development Policy and the Environment in Amazonia. **Environmental Management**, 35, 1, 1-19. 2005.

FERNANDES, C. **Avaliação da ação cicatricial e repelente de *Carapa guianensis* e *Caesalpinia ferrea* Mart.** 65 f. Dissertação (Mestrado em Veterinária) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

FERREIRA, W.C., et al. Natural regeneration as an indicator of land reclamation near the camargos hydroelectric plant, state of minas gerais. **Revista Árvore**, 34, 4, 651-660, Jun., 2010.

FIDELIS, M., ET AL., In vitro antioxidant and antihypertensive compounds from camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh, *Myrtaceae*) seed coat: A multivariate structure-activity study. **Food and Chemical Toxicology**, 120, 479-490, Sept., 2018.

FITMAWATI, F., et al., Antioxidant Activity of Dominant Plants Species in Obat Pahit from Lingga Malay Ethnic in Riau Archipelago. Biosaintifika: **Journal of Biology e Biology Education**, 9, 2, 325-331, Out, 2017.

FLORA DO BRASIL 2020 em construção. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 24 Set. 2019.

FLORES, E.; HERRERO, A. Compartmentalized function through cell differentiation in filamentous cyanobacteria. **Nature Reviews Microbiology**, 8, 1, 39-50, Jan., 2009.

FORNACIARI, et al. Assessment of antioxidant and antiproliferative properties of spinach plants grown under low oxygen availability, **Journal of the Science of Food and Agriculture**; 95, 490-496, Jun., 2014.

FRAIRE-VELÁZQUEZ, S.; RODRÍGUEZ-GUERRA R.; L SÁNCHEZ-CALDERÓN et al., "Abiotic and biotic stress response crosstalk in plants," in Abiotic Stress Response in Plants—Physiological, Biochemical and Genetic Perspectives, A. Shanker, Ed., **InTech**, 3-26, 2011.

FRANZEN, F. L., et al. Teor e rendimento de extratos de flores obtidos por diferentes métodos e períodos de extração. **Acta Iguazu**, 7, 1, 9-21, Fev., 2018.

- FREITAS, F. et al., Biological evaluation and quantitative analysis of antioxidant compounds in pulps of the Amazonian fruits bacuri (*Platonia insignis* Mart .), inga (*Inga edulis* Mart .), and uchi (*Sacoglottis uchi* Huber) by UHPLC-ESI-MS / MS FI, **Journal of Food Biochemistry**, 42, 1, 1-10, Oct., 2017.
- FUMAGALI, E. et al. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 18, 4, 627-641, Out./Dez., 2008 .
- FUNASAKI, M., et al . Amazon rainforest cosmetics: chemical approach for quality control. **Química Nova**, 39, 2, 194-209, Feb., 2016.
- GEETHALAKSHMI, R.; SUNDARAMURTHI, J. C.; SARADA, D. V. L. Antibacterial activity of flavonoid isolated from *Trianthema decandra* against *Pseudomonas aeruginosa* and molecular docking study of FabZ. **Microbial Pathogenesis**. 121, 87-92, Aug., 2018.
- GIORDANI, R. B., et al. Investigação do potencial antioxidante e anticolinesterásico de *Hippeastrum (amaryllidaceae)*, **Química Nova**, 31, 8, 2042-2046, Jan., 2008.
- GOMES, A. D.; LIMA, R. A. Identification of the class of secondary metabolites of fruit extract ethanolic solanum acanthodes hook and its potential on fungicidal candida albicans in vitro. **REGET**, 18, 2, Mai-Ago., 2014.
- GOMES, N.D.M. et al. Characterization of the antinociceptive and anti-inflammatory activities of fractions obtained from *Copaifera multijuga* Hayne. **Journal of Ethnopharmacology**, 128, 1, 177-1832, Mar., 2010.
- GÓRNIAK, I.; BARTOSZEWSKI, R.; KRÓLICZEWSKI, J., Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids, **Phytochemistry Reviews**, 18, 1, 241-272, Feb., 2019.
- GRANATO, D., et al., Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective, **Trends in Food Science & Technology**, 72, 83-90, Jan., 2018.
- GUPTA, D. Methods for determination of antioxidant capacity: a review, **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, 6, 2, 546-66, Feb., 2015.
- GUPTA, R. K., et al., Oxidative Stress and Antioxidants in Disease and Cancer: A Review. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, 15, 11, 4405-4409, Nov., 2014.
- GUSCHIN, A., et al., Treatment efficacy, treatment failures and selection of macrolide resistance in patients with high load of *Mycoplasma genitalium* during treatment of male urethritis with josamycin, **BMC infectious diseases**, 15, 40. 1-7, Feb., 2015.
- HAN, Q. T., et al. Flavonoid alkaloids from *Scutellaria moniliorrhiza* with anti-inflammatory activities and inhibitory activities against aldose reductase. **Phytochemistry**, 125, 91-96, Aug., 2018.

- HATANAKA, E.; CURI, R. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Farmácia**, 88, 2, 53-58, Nov., 2007.
- HAYAMIZU, K. et al., Effects of *Garcinia cambogia* extract on serum sex hormones in overweight subjects. **Elsevier Fitoterapia**, 79, 4, 255-261, Jan., 2008.
- HEATLEY, N. G., “A method for the assay of penicillin”, **The Biochemical journal**, 38, 1, 61-65, Dec., 1944.
- HEINRICH, M.; DHANJI, T.; CASSELMAN, I., Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) A phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. **Phytochemistry Letters**, 4, 1, 10-21, Mar., 2011.
- HEMSHEKHAR, M., et al., An overview on genus *Garcinia*: Phytochemical and therapeutical aspects. **Phytochemistry Reviews**. 10, 325-351, Jan., 2011.
- HENRIQUES, M. G.; PENIDO, C., The Therapeutic Properties of *Carapa guianensis*. **Journal Name: Current Pharmaceutical Design**. 20, 6, Aug., 2014.
- HENRY, G. E., et al., Bioactive acylphloroglucinols from *Hypericum densiflorum*. **Phytotherapy Research**, 23, 12, 1759-1762, Jun., 2009.
- HERNÁNDEZ ZARATE, A., et al., Flavonoids, phenolic content, and antioxidant activity of propolis from various areas of Guanajuato, Mexico, **Food Science and Technology**, 38, 2, 210-215, Apr./Jun., 2018
- HIRATA, L. L.; SATO, M. E. O.; SANTOS, C. A. M., Radicais Livres e o Envelhecimento Cutâneo. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, 23, 3, 418-24, Nov., 2004.
- HOMMA, et al., Fruta amazônica em ascensão. **Agroecologia e ecologia**, 46, 271, Jun., 2010.
- HUAMÁN, P.; VARGAS, E.; GARAZATUA J. F., Aprovechamiento integral del umarí (*Poraqueiba sericea* Tulasne) en la industria de alimentos. **Revista Amazónica de Investigación Alimentaria**, 1, 1, 30-37, Jun., 2001.
- IQBAL, S., et al., Proximate Composition and Antioxidant Potential of Leaves from Three Varieties of *Mulberry* (*Morus* sp.): A Comparative Study, **International Journal of Molecular Sciences**, 13, 6, 6651-6664, May., 2012.
- JACKSON, D. N. et al., “*Garcinia xanthochymus* Benzophenones Promote Hyphal Apoptosis and Potentiate Activity of Fluconazole against *Candida albicans* Biofilms.” **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 59, 10, 6032–6038, Oct., 2015.
- JESHVAGHANI, Z. et al. Comparison of total phenolic content and antioxidant activity in different *Salvia* species using three model systems. **Industrial Crops e Products**. 77, 409–414, Jan., 2015.
- JUNK, W. J.; MELLO, J. A. S., Impactos ecológicos das represas hidrelétricas na bacia amazônica Brasileira, **Estudos Avançados**, 4, 8, 126-143, Apr., 1990.

- KARABEGOVIĆ, I.T. et al., The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts, **Industrial Crops and Products**, 54, 142- 148, Nov., 2014.
- KARABIN, M., et al., Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. **Biotechnology Advances**, 33, 6, 2, 1063-1090, Nov., 2015.
- KHAN, N. et al., Phytochemical and pharmacological aspects of *Nothapodytes nimmoniana*. An overview, **Herba Polonica**, 59, 1, 53-66, Jan., 2013.
- KINGSTON, D. G. I., Modern Natural Products Drug Discovery e sua relevância para a conservação da biodiversidade, **Journal of Natural Products**, 74, 496-511, Out., 2011.
- KIRKHAM, P., et al., Oxidative stress in asthma and COPD: Antioxidants as a therapeutic strategy. **Pharmacology e Therapeutics**, 111, 476-494, 2006.
- KOBLITZ, R. V. **A tomada de decisões conservacionistas baseadas em informações sobre a biodiversidade em empreendimentos hidrelétricas na Bacia Amazônica, Manaus**, 83 f., Tese (Biologia (Ecologia)) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2017.
- KUBICKOVA, B. et al., Effects of cyanobacterial toxins on the human gastrointestinal tract and the mucosal innate immune system, **Environmental Sciences Europe**, 31, 31 1-27, May., 2019.
- KURIAMA, F., et al., Potencial de biodegradação de microcistinas por microrganismos. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, 17, 2, 181-186, Jun., 2012.
- LIMA NETO, G.A., et al., Quantificação de metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de algumas plantas selecionadas do Cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 17, 4, 3, 1069-1077, Nov., 2015.
- LIMA, M. C., Bacuri: (*Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae): **Agrobiodiversidade**. São Luis: Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura, 210, 2007.
- LOGANAYAKI, N., et al., Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of phenolic extracts from *Helicteres isora* L. and *Ceiba pentandra* L, **Journal of Food Science and Technology**, 50, 4, 687-695, Jul./Aug., 2013.
- LOPES, A, M. et al . Dinâmica de protozoários patogênicos e cianobactérias em um reservatório de abastecimento público de água no sudeste do Brasil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, 22, 1, 25-43, Feb. 2017 .
- LOPEZ-ROMERO, J. C., GONZÁLEZ-RÍOS, H., BORGES, A., e SIMÕES, M., Antibacterial Effects and Mode of Action of Selected Essential Oils Components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2015, ID 795435, 1–9, 2015.
- LUCIANO-MONTALVO, C.; BOULOGNE I.; GAVILLÁN-SUÁREZ, J., A screening for antimicrobial activities of Caribbean herbal remedies, **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 13, 126, 1-9, Out., 2013.

- LÜRLING, M.; BEEKMAN, W., Anti-cyanobacterial activity of *Moringa oleifera* seeds. **Journal of applied phycology**, 22, 4, 503-510, Nov., 2010.
- MABONA, U. et al. Antimicrobial activity of southern African medicinal plants with dermatological relevance: From an ethnopharmacological screening approach, to combination studies and the isolation of a bioactive compound., **Journal of Ethnopharmacology**, 148, 1, 43-55, Jan., 2013.
- MACHADO, F., **Qualidade funcional e atividade antioxidante do mangostão amarelo (*Garcinia cochinchinensis* Choisy)**, 104 f, Tese (Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp Campus de Botucatu, Energia na Agricultura, Botucatu, 2018.
- MACIEL, A., et al., Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, 25, 3, 429-438, Jan., 2002.
- MALINOWSKI, L. R. L., Antimicrobial activity of aqueous and hidroalcoholic extracts from *Artemisia vulgaris* leaves, **Revista Brasileira de Farmácia**, 88, 2, 63-66, Out., 2007.
- MALTA, D. C., et al., Doenças crônicas não transmissíveis e a utilização de serviços de saúde: análise da Pesquisa Nacional de Saúde no Brasil, **Revista de Saúde Pública**, 51, 1, 4s, Jun., 2017.
- MANGA, A., et al., Structural determination of news flavones C-glycosides and trans (S, E)-(-) clovamide isolated from *Icacina senegalensis* Juss leaves (Icacinaceae), **Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie**, 17, 15-27, Nov., 2013.
- MANTOVANI, D.; PORCU, O. M., Assessment phytochemical extract of *Lippia Alba* for use as natural antioxidant in food, **Revista Tecnológica**, 18, 69-74, Out., 2009.
- MARKLEY, J. L., E WENCEWICZ, T. A., Tetracycline-Inactivating Enzymes, *Frontiers in Microbiology*, 1,9, 1-6, Dez., 2018.
- MARQUES, L. C., Preparação de extratos vegetais. **Jornal Brasileiro de Fitomedicina**, 3, 2, 74-76, Abr., 2005.
- MARTIN, M. J.; THOTTATHIL S., E.; NEWMAN T. B., Antibiotics Overuse in Animal Agriculture: A Call to Action for Health Care Providers. **American Journal of Public Health**, 105, 12, 2409-2410, Dec., 2015.
- MATOS, F. J. A., **introdução à fitoquímica experimental**, 3 ed. fortaleza: edições UFC, 2009.
- MATTE, A. K.; DEAK, A. R.; MATA, P. T. G., Triagem fitoquímica e avaliação da atividade antibacteriana de extratos das flores de *Sambucus nigra* L. (*Caprifoliaceae*). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, 17, 4, supl. III, 1049-1054, Jan., 2015.
- MAYERS, D. L.; LERNER, M.; OUELETTE, G., Antimicrobial Drug Resistance C: Clinical and Epidemiological Aspects, **Springer Dordrecht Heidelberg**, 2, 1, 681-1347, Out., 2009.

MENEZES, E. A. et al., Perfil de suscetibilidade de *Candida tropicalis* a antifúngicos sistêmicos, **Revista de Patologia Tropical**, 42, 1, 49-55, jan.- mar. 2013.

MÉRONA, B., et al., Os peixes e a pesca no baixo Rio Tocantins: vinte anos depois da UHE Tucuruí. **Centrais Elétricas do Norte do Brasil S.A – Eletrobras/Eletronorte**. Brasília, 2010.

MESQUITA NETO, F. P., Programa de germoplasma florestal da UHE Tucuruí: Contribuição para recuperação e conservação da Biodiversidade na Amazônia. **Comitê Brasileiro de Barragens, XXVII Seminário Nacional de Grandes Barragens**, Belém, 2007.

MIRANDA, J. A. L., et al., Atividade antibacteriana de extratos de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (*Araceae*), **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 17, 4, supl. III, 1142-1149, Nov., 2015.

MORAES, A. R., et al., Effects of nanoemulsions prepared with essential oils of copaiba- and andiroba against *Leishmania infantum* and *Leishmania amazonensis* infections. **Experimental Parasitology**, 187, 12-21, Jan., 2018.

MORAIS, N. R. L., et al., Prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antioxidante de *Cnidioscolus phyllacanthus* (müll. Arg.) Pax e k.hoffm. Oriundo de apodi – RN. **Revista Brasileira de plantas mediciniais**, 18, 1, 180-185, Out., 2016.

MORETTO, E. M., et al., Histórico, tendências e perspectivas no planejamento espacial de usinas hidrelétricas brasileiras: a antiga e atual fronteira Amazônica. **Ambiente e sociedade**, 15, 3, 141-164, Dez., 2012.

MUHS, A., et al., Virulence Inhibitors from Brazilian Peppertree Block Quorum Sensing and Abate Dermonecrosis in Skin Infection Models, **Scientific reports**, 7, 42275, 1-7, Feb., 2017.

NAIDU, M., et al., Analysis of the action of euxanthone, a plant-derived compound that stimulates neurite outgrowth, **Neuroscience**, 148, 4, 915-924, Jul., 2007.

NAMDEO, A., et al., Antioxidant activity of methanolic extracts of *nothapodytes nimmoniana* (j. Graham) mabberly, **Pharmacologyonline**, 159, 148-159, Aug., 2010.

NASCIMENTO, W., et al., Caracterização morfológica da semente e da plântula de bacurizinho (*Rheedia acuminata* (Ruiz et Pav.) Plachon et Triana - *Clusiaceae*), **Revista Brasileira de Fruticultura**, 24, 2, 555-558, Jan., 2002

NAZZARO, F., et al., Effect of essential oils on pathogenic bacteria, **Pharmaceuticals Basel**, 6, 12, 1451-1474, Aug., 2013.

NCCLS, CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI), **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**, Approved Standard, 7th ed., CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2012.

_____. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**; Approved Standard— Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-

56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003

_____. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved standard –Sixth edition. M7-A6. Wayne, PA, USA: CLSI, 2006.

_____. **Reference method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts**. Approved Guideline-Second Edition. M44-A2. Wayne, PA, USA: CLSI, 2009.

NNEDINMA, A. A., Identification and control of specific aflatoxin-producing fungi in stored maize seeds in awka using *azadirachta indica* (neem) and *garcinia kola* seeds. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, 32, 4, 1679-1686, Jul., 2019.

NOLDIN, C., et al., Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (alcachofra) cultivada no Brasil. **Química Nova**, 26, 3, 331-334, Nov., 2003.

NUNES, Y. R. F., et al. Pandeiros: o Pantanal Mineiro, **MG.BIOTA**, Belo Horizonte, 2, 2, 4-17, Jun./Jul., 2009.

OLIVEIRA, A. et al. Modulatory activity of ethanolic extracts of the leaves of *Clusia nemorosa* G. Mey (Clusiaceae) on antimicrobial drugs. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, 21, 1, 1-8, Jan., 2016.

OLIVEIRA, A. et al., Insight of Genus *Corynebacterium*: Ascertaining the Role of Pathogenic and Non-pathogenic Species. **Frontiers in Microbiology**, 8, 1937, 1-18, Oct, 2017.

OLIVEIRA, G. A. R., Otimização de Processos de Extração de Princípios Ativos de Plantas. **Revista Processos Químicos**, 8, 16, 33-41, Jul., 2014.

OLIVEIRA, G.L.S., Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH[•]: estudo de revisão, **Revista Brasileira de plantas medicinais**, 17, 1, 36-44, Mar. 2015.

OLIVEIRA, L. L.; CARVALHO, M. V.; MELO, L., Promoção da saúde e propriedades sensoriais de compostos fenólicos em alimentos. **Revista Ceres**, 61, 764-779, dez., 2014.

OLIVEIRA, V.B. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de *Dicksonia sellowiana* (presl.). Hook dicksoniaceae, **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 18, 1, 230-239, Fev., 2016.

ORT , D. R.; AINSWORTH, E. Focus on Climate Change, **Plant Physiology**, 2012.

PACKER, J. F.; LUZ, M. M. S., Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista brasileira farmacognosia**, 17, 1, 102-107, Mar., 2007.

PATIL, A. et al., UV , FTIR , HPLC Confirmation of Camptothecin an Anticancer Metabolite from Bark Extract of *Nothapodytes nimmoniana*, **American Journal of Ethnomedicine**, 33, 2, 340-349, Jun., 2014.

PAVARINI, D. P. et al., Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. **Animal Feed Science and Technology**, 176, 1, 4, 5-16, Sept., 2012.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G., Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, 3, 4, 146-152, Nov., 2012.

PÉREZ-CLEMENTE, R. et al., Biotechnological Approaches to Study Plant Responses to Stress, **BioMed Research International**, ID 654120, 1-11, Oct., 2013.

PIRES, J. et al, 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**, p. 6, 2017.

PIZARRO-CERDÁ, J.; COSSART, P. Microbe Profile: *Listeria monocytogenes*: a paradigm among intracellular bacterial pathogens. **Microbiology**, 165, 719–721, 2019.
POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. Antioxidant in food, Practical Application. **New York: CRC Press**, 3, 2, 23-34, May., 2001.

POLICEGOUDRA R. S, et al. Phenolic Content, Antioxidant Activity, Antibacterial Activity and Phytochemical Composition of *Garcinia lancifolia*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 74, 3, 268–271, May., 2012.

PREBIHALO, S. E., et al., Multidimensional Gas Chromatography: Advances in Instrumentation, Chemometrics, and Applications, **Analytical Chemistry**, 90, 1, 505–532, Feb., 2018.

PRIOR, R. L. Fruits and Vegetables in The Prevention of Cellular Oxidative Damage. **The American journal of clinical nutrition**, 78, 3, 570-578, Oct., 2003.

PUBCHEM, Database. Theograndin II, CID=11272944, **National Center for Biotechnology Information**, 2019.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Theograndin-II> (acessado em 4 de agosto de 2019).

PUNARO, G. R. et al. Cupuaçu extract reduces nitrosative stress and modulates inflammatory mediators in the kidneys of experimental diabetes, **Clinical Nutrition**, 38, 1, 364-371, Feb., 2017.

QUEIROZ, A. R. S.; MOTTA-VEIGA, M., Analysis of the social and health impacts of large hydroelectric plants: lessons for a sustainable energy management. **Ciência e Saúde Coletiva**, 17, 6, 1387-1398, Jan., 2012.

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G. A., Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants, **Plant Signaling Behavior**, 6, 11, 1720-1731, Nov., 2011.

RAMIREZ, C., et al., Chemical constituents and antioxidant activity of *Garcinia madruno* (Kunth) Hammel. **Journal of King Saud University – Science**, 1, 1, 1-7, Jun., 2018.

RAO, P., et al., Phytochemical analysis and anti-oxidant activity of *nothopodytes nimmoniana* (grah.) Mabb root and leaf, **World Journal of Pharmaceutical Research**, 6, 15, 618-628, Jun., 2017.

RE, R., et al., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, 26, 1, 1231-1237, Nov., 1999.

RIPPKA, R., et al., Generic assignments: Strain histories and properties of pure cultures of *Cynobacteria*, **Journal of general microbiology**, 111, 1-61, Mar., 1979.

ROCHA, E. S., **Produção de bioprodutos com atividade antimicrobiana a partir do extrato das folhas de *Platonia insignis* Mart. (bacuri)**, 68 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Gurupi, 2017.

ROCKENBACH, I., et al., Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 28, 238-244, Jan., 2008.

RODRIGUES, T. S., et al., Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatus* (boldo-miúdo). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 13, 587-590, Nov., 2011.

ROMÃO, N. F. et al. Phytochemical analyses and antioxidant potential OF *Spilanthes acmella* FLOWERS EXTRACT. **south american journal of basic education, technical and technological**. 2, 2, 23-32, Nov., 2015.

ROSA JUNIOR, W., **Composição florística e estrutura de fragmentos florestais na área de influência do reservatório da usina hidrelétrica (UHE) de Tucuruí, PARÁ, BRASIL**. 77 f. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica Tropical) - Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, 2006.

ROSA, J. O.; MACHADO, F., O efeito anti-obesidade da *Garcinia cambogia* em humanos, **Revista Fitos**, 10, 2, 177-184, Jan., 2016.

RUFINO, M. S. M., et al., Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +. **Comunicado técnico, EMBRAPA**, ISSN 1679-6535 Jul., 2007.

_____. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado técnico, EMBRAPA**, ISSN 1679-6535 Jul., 2007.

_____. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP) , **Comunicado técnico, EMBRAPA** , ISSN 1679-6535 Dez., 2006.

SALES, L., et al, Anticancer activity of 7-epiclusianone, a benzophenone from *Garcinia brasiliensis*, in glioblastoma, **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 15, 393, 1-8, Oct., 2015.

SANTANA, A. C., et al., Influência da barragem de Tucuruí no desempenho da pesca artesanal, estado do Pará. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, 52, 2, 249-266, Jun., 2014.

SANTOS JUNIOR, U. M., Flooding of tropical forests in central Amazonia: what do the effects on the photosynthetic apparatus of trees tell us about species suitability for reforestation in extreme environments created by hydroelectric dams?. **Acta Physiologiae Plantarum**, 37, 166, 1-17, Aug., 2015.

SANTOS, A. et al., *Garcinia cambogia* – uma espécie vegetal como recurso terapêutico contra a obesidade?. **Natureza on line**, 50, 37-43. Jan., 2007.

SANTOS, A. O., et al., *Leishmania amazonensis*: Effects of oral treatment with copaiba oil in mice, **Experimental Parasitology**, 129, 2, 145-151, Oct., 2011

SANTOS, G., et al. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açai (*Euterpe oleracea* Mart). **Caracas**, 58, 2, 187-192, Jun., 2008.

SANTOS, P. R. P. dos. et al., Levantamento das propriedades físico-químicas e farmacológicas de extratos e compostos isolados de *Platonia insignis* Mart. uma perspectiva para o desenvolvimento de fitomedicamentos. **Revista Brasileira de Farmácia**, 94, 2, 161-168, Jan., 2013.

SEQUEIRA, J. E. O. A., Structures of legal opportunity of the social movements against dams in Pará. **Revista Direito e Práxis**, 08, 1, 474-506, Mar., 2017.

SHI, P., et al., Total phenolic, flavonoid content, and antioxidant activity of bulbs, leaves, and flowers made from *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb, **Food Science e Nutrition**, 7, 1, 148-154, Mar., 2018.

SHIVAKUMAR et al. In vitro assessment of antibacterial and antioxidant activities of fruit rind Extracts of *garcinia cambogia*. L. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. 5, 2, 254-257, Mar., 2013.

SILMAN, M. R., Plant species diversity in Amazonian forests. In Tropical Rainforest Responses to Climatic Change (Bush, M. et al., eds), pp 285-314, **Springer-Verlag**. 2011.

SILVA, A. C; LIMA, R. A., Identification class of secondary metabolites in ethanolic extract of fruits and leaves of *Eugenia uniflora* L. **REGET - V. 20**, 1, 381-388, Jan./Abr., 2016.

- SILVA, M. L. C et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, 31, 3, 669-682, Jan., 2010.
- SILVA, V., et al. Stability of the bacuri pulp (*Platonia insignis* Mart.) frozen for 12 months, **Science and Agrotechnology**, 34, 5, 1293-1300, Oct., 2010.
- SILVESTRE NETO, J.S et al. A fitoterapia como terapêutica complementar no tratamento do Alzheimer, **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, 12, 2, 1-8, Dez., 2014
- SKIRY CZ, A., et al., Medicinal Bioprospecting of the Amazon Rainforest: A Modern Eldorado?, **Trends in Biotechnology**, 34,10, 781-790, Oct., 2016.
- SOARES, A., et al., Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas niágara e isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 30, 1, 059-064, Mar., 2008.
- SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A., Total phenolics and in vitro antioxidant capacity of tropical fruit pulp wastes, **Brazilian Journal of Food Technology**, 14, 3, 202-210, 2011.
- SOUZA, A. J., **Estudo fitoquímico e atividade biológica in vitro de *Cnidocolus urens* L. (Arthur) (EUPHORBIACEAE)**, 99 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido), Universidade Federal do Vale do São Francisco. Recursos Naturais do Semiárido, Campus Petrolina, Petrolina, 2014.
- 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. **Brazilian Journal of Food Technology**, 21, e2017103, Fev., 2018.
- SOUZA, L. P., **Padronização de extratos vegetais: *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae)**, 94 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Botucatu, 2012.
- SOUZA, P. O., et al., Anticancer activity of flavonoids isolated from *Achyrocline satureioides* in gliomas cell lines. **Toxicology in Vitro**. 51:23-33, May. 2018.
- SUCUPIRA, N. R., et al. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Científica: Ciências biológicas e da saúde**, 14, 4, 263-269, Out., 2012.
- TERUNA, H. Y.; WATERMAN, P. G., Alka-loids from the stem bark of *Orophea hexandra* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, 35, 7, 454-455, Jan., 2007.
- THARACHAND, C.; SELVARAJ, C. I; ABRAHAM, Z.. Comparative evaluation of anthelmintic and antibacterial activities in leaves and fruits of *Garcinia cambogia* (Gaertn.) desr. and *Garcinia indica* (Dupetit-Thouars) choisy. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 58, 3, 379-386, Jun., 2015.
- TIWARI, P. et al. Phytochemical screening and Extraction: A Review. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, 1, 1, 98-106, Jan., 2011.

TORRES, P. B. et al, Ensaio do potencial antioxidante de extratos de algas através do sequestro do ABTS • + em microplaca, **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo**, 1-4, 2017.

TUCIĆ, B.; JOVANOVIĆ, S. M; VULETA, A., Does Environmentally Contingent Variation in the Level of Molecular Chaperones Mirror a Biochemical Adaptation to Abiotic Stress?, A. Shanker, Ed., pg, 323, **InTech**, Rijeka, Croatia, 2011.

TULP, M.; BOHLIN, L., Unconventional natural sources for future drug discovery, **Drug Discovery Today**, 9,10, 450-458, May., 2004.

TURRA, A., et al . Avaliação de impacto ambiental sob uma abordagem ecossistêmica: ampliação do porto de são sebastião. **Ambiente e sociedade**, 20, 3, 155-176, Sept., 2017.

ULLAH, H.; ALI, S., Classification of Anti-Bacterial Agents and Their Functions, Antibacterial Agents, Ranjith N. Kumavath, **IntechOpen**, May., 2017, DOI:10.5772/intechopen.68695, Available from: <https://www.intechopen.com/books/antibacterialagents/classification-of-antibacterial-agents-and-their-functions>

URREA-VICTORIA, V. et al. Ensaio antioxidante em microplaca do poder de redução do ferro (FRAP) para extratos de algas, **Instituto de Biociências: Universidade de São Paulo**, 2016.

VARGAS-MAGAÑA, J. J., et al., Anthelmintic activity of acetone–water extracts against *Haemonchus contortus* eggs: Interactions between tannins and other plant secondary compounds, **Veterinary Parasitology**, 206, 3-4, 322-327, Dez., 2014.

VENTUROSO, L. R., et al., Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos, **Summa Phytopathologica**, 37, 1, 18-23. Jan., 2011.

VIDAL, P. C. L.; FREITAS, G., Study of cell oxidation through the use of vitamin C, **Revista uningá review**, 21, 1, 60-64 Jan./Mar., 2015.

VIZZOTO, M.; KROLOW, A; WEBER, G. E. B., **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010.

VONGSAK B., et al., Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method, **Industrial Crops and Products**, 44, 566-571, Out., 2013.

WANG, T.; LI, Q.; BI, K., Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate, **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 13, 1, 12-26, Out., 2018.

YAMAGUCHI, K. K. L., et al., Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. **Food Chemistry**, 179, 137-151, Jun., 2015.

YAMAGUCHI, K. K. L., et al., Química e Farmacologia do Bacuri (*Platonia insignis*). **Scientia Amazonia**, 3, 2, 39-46, Jan., 2014.

ZABALA, D. **Sistemática del género *Garcinia* (Clusiaceae): revisión taxonómica para Colombia y filogenia de las especies Neotropicales**. 131 f. Tesis, Magister en Ciencias – Biología, Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Bogotá, Colombia, 2015.

ZAMRI, A.; TERUNA H. Y.; IKHTIARUDIN, I., The Influences of Power variations on Se-lectivity of Synthesis Reaction of 2'-Hy-droxychalcone Analogue under Micro-wave Irradiation. **Molekul Journal**, 11, 2, 299-307, Apr., 2016.

ZEBIRI, I., et al, Biological activities of triterpenoids from *Poraqueiba sericea* stems, **Natural Product Research**, 31, 11, 1333-1338, Jan., 2016.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Exsicata da espécie *Garcinia macrophylla* depositada no herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG).



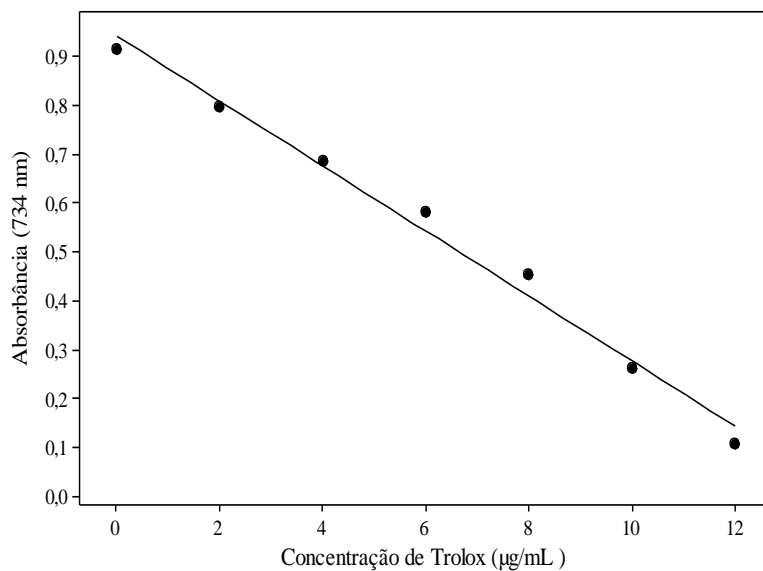
APÊNDICE B – Exsicata da espécie *Platonia insignis* depositada no herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG).



APÊNDICE C – Exsicata da espécie *Poraqueiba sericea* depositada no herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG).



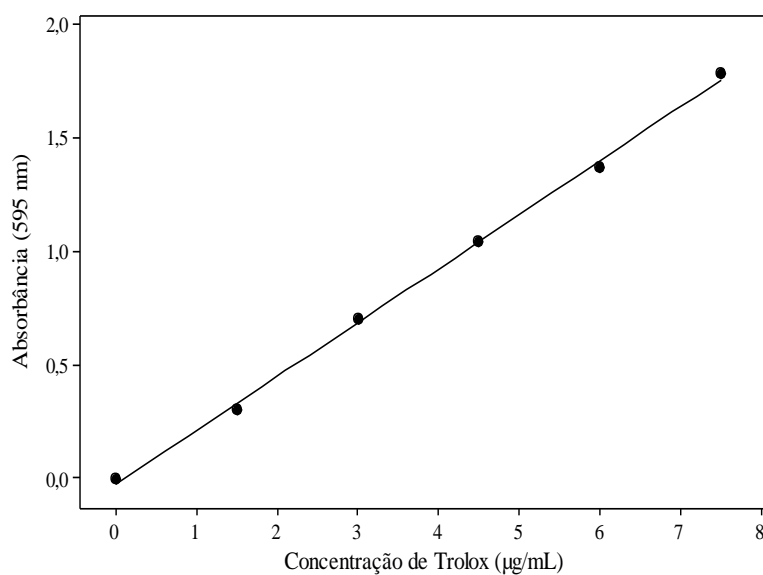
Apêndice D – Gráfico da curva de calibração para o padrão Trolox do método ABTS, incluindo a equação da reta ($y = ax + b$).



$$Abs(734nm) = -0,0665(\pm 0,084)Trolox + 0,914(\pm 0,0604)$$

$$R^2 = 98,8\%; s = 0,034; F = 416,563; Q^2 = 97,4\%$$

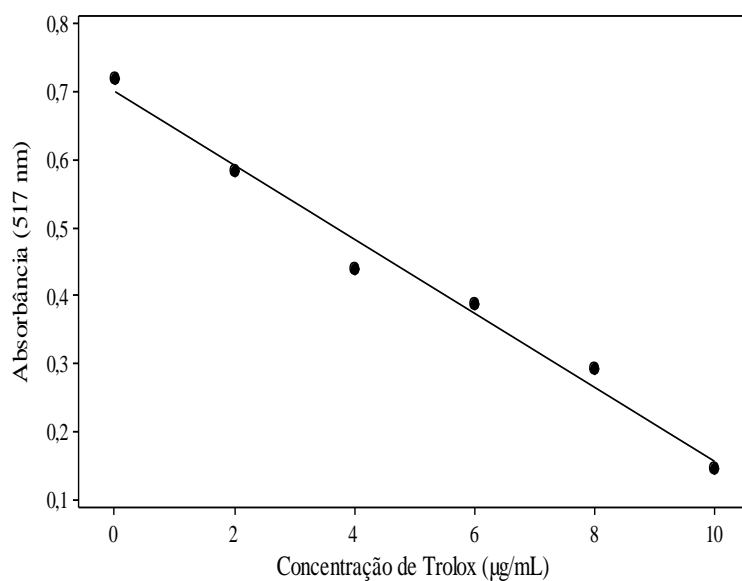
Apêndice E – Gráfico da curva de calibração para o padrão Trolox do método FRAP, incluindo a equação da reta ($y = ax + b$).



$$Abs(595nm) = 0,02373(\pm 0,0123)Trolox - 0,0254(\pm 0,0559)$$

$$R^2 = 99,8\%; s = 0,028; F = 2862,250; Q^2 = 99,6\%$$

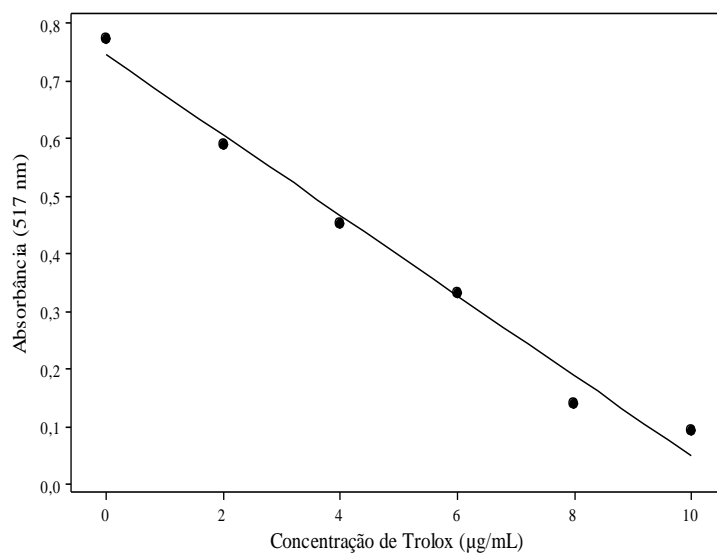
Apêndice F – Gráfico da curva de calibração para o padrão Trolox do método DPPH, incluindo a equação da reta ($y = ax + b$).



$$Abs(517nm) = -0,0543(\pm 0,0097)Trolox + 0,6993(\pm 0,0587)$$

$$R^2 = 98,4\%; s = 0,029; F = 242,175; Q^2 = 96,6\%$$

Apêndice G – Gráfico da curva de calibração para o padrão Trolox do método DPPH (CE_{50}), incluindo a equação da reta ($y = ax + b$).



$$Abs(517nm) = -0,0696(\pm 0,0124)Trolox + 0,7450(\pm 0,0749)$$

$$R^2 = 98,4\%; s = 0,037; F = 244,337; Q^2 = 94,8\%$$