

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

RODOLFO CASTILHO CLEMENTE

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ENSAIOS
TOXICOLÓGICOS DE BACABAS (*Oenocarpus distichus* Mart.).**

Palmas/TO

2017

RODOLFO CASTILHO CLEMENTE

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ENSAIOS
TOXICOLÓGICOS DE BACABAS (*Oenocarpus distichus* Mart.).**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Tocantins, para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Nobre Lima do Nascimento.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Junqueira Pereira.

Linha de pesquisa: Controle de Qualidade E Segurança Alimentar.

Projeto de Pesquisa: Potencial Antioxidante da bacaba (*Oenocarpus distichus* Mart.)

Palmas/TO

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

RODOLFO CASTILHO CLEMENTE

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ENSAIOS
TOXICOLÓGICOS DE BACABAS (*Oenocarpus distichus* Mart.).

Dissertação defendida e aprovada em 06 de Julho de 2017, pela Banca Examinadora constituída pelos membros:

Prof. Dr. Guilherme Nobre Lima do Nascimento

Orientador - UFT

Prof^a. Dr^a. Elisandra Scapin

UFT

Prof^a. Dr^a. Sandra Maria Botelho Mariano

UFT

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, ao meu orientador e colega de colegiado, Dr. Guilherme Nobre L. do Nascimento, quem me iniciou neste fantástico meio de pesquisas, do qual aprendi e estou aprendendo tanto;

À minha coorientadora Dr^a. Renata Junqueira Pereira e minha “segunda” coorientadora Dr^a. Caroline Pires, também grandes colegas de colegiado, pelas valiosas trocas de conhecimento e ajuda, seja pessoalmente, seja através de emails, e inúmeras mensagens de “WhatsApp”, sempre com uma nova dúvida, que foram prontamente atendidas;

Às colegas de disciplina de Estágio de Nutrição Clínica e amigas Sônia Lopes, Kellen Silva e Luciana Holzbach, pela compreensão, ajuda e cumplicidade num momento em que todos nós conciliávamos trabalho com muito estudo;

Aos colegas nutricionistas do HGP e amigos Luciana Córdova e Marcelo Ronaldo da Costa, por terem atendido inúmeras solicitações de trocas de plantão, muitas delas de última hora e pela compreensão da importância de terem-nas feito. Também ao colega nutri e engenheiro civil Rodrigo Miranda pelas aulas e auxílios nos cálculos matemáticos, sem o qual eu não teria conseguido concluí-los;

Às colegas de LACIBS Gabriela Lacerda e Juliany Dias, e aos colegas de mestrado, em especial à Katarina Marinho Rodrigues, pela cumplicidade e apoio dado durante o percurso;

Aos meus pais e família por sempre torcerem por mim, principalmente neste momento tão agitado de minha vida;

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

**“Somente o tolo sabe de tudo.
O sábio aprende algo novo todo dia.”
(Autoria desconhecida)**

RESUMO

O cerrado é o segundo maior bioma brasileiro e possui uma grande biodiversidade de fauna e flora. Das espécies vegetais, muitas são de árvores frutíferas, cujos frutos são bem conhecidos e apreciados pela população regional. Um desses frutos é a bacaba-de-leque (*Oenocarpus distichus* Mart.), utilizada tanto *in natura*, como no preparo de geleias, bebidas fermentadas e na extração de óleos. O objetivo desta pesquisa foi analisar o potencial antioxidante e toxicológico do extrato aquoso dos frutos descaroçados de bacabas colhidas no município de Palmas/TO, por meio dos testes de poder redutor do íon férrico, quantificação de fenóis totais, sequestro de radicais 1-1-difenil-2-picril-hidrazila, fragilidade osmótica eritrocitária, inibição de crescimento de raízes de *Allium cepa* e teste de toxicidade com *Artemia salina*. Os resultados mostraram que a atividade tóxica foi muito baixa nos eritrócitos e mostrou baixa taxa de toxicidade para os náuplios de *Artemia salina*, mas inibiram significativamente o crescimento das raízes de *Allium cepa*. Nas análises antioxidantes os extratos mostraram um baixo conteúdo de fenóis totais e baixa atividade sequestrante de radicais livres, porém mostrou elevado poder redutor. Conclui-se que, neste estudo, que o extrato aquoso de bacaba não apresentou atividade tóxica, mas também não apresentou atividade antioxidante satisfatória.

Palavras-chave: Atividade antioxidante, análise toxicológica, compostos fenólicos.

ABSTRACT

Cerrado (Brazilian savannah) is the second greater Brazilian biome and has a great biodiversity, such as fauna and flora. Of vegetable species, much of them are fruit trees, whose fruits are very known and appreciated by regional population. One of these fruits are bacaba (*Oenocarpus distichus* Mart.), used such *in natura*, as in prepare of jams, fermentable beverages and oil extraction. The aim of this research was to analyze the antioxidant and toxicological proprieties of the aqueous extract of the unseeded fruits of bacabas harvested in the county of Palmas, state of Tocantins, Brazil, by the mean of the tests of Reducing Power of ferric ion, total phenolic content, sequestration of 1-1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical, osmotic erythrocytary fragility, *Allium cepa* radicular growth inhibition and *Artemia salina*'s toxicity test. The results showed that was a very low toxic activity with the erythrocytes and a reduced mortality rate with the *Artemia salina* nauplii, but there was a significant inhibition on the *Allium cepa* radicular growth. In the antioxidant analysis, the extracts showed a low content of total phenolics and a low free radicals sequestration, but showed an elevated reducing power. We can conclude that, on this research the bacaba's aqueous extract did not presented toxic activity, but also did not present satisfactory antioxidant activity.

Key words: Antioxidant Analysis, Toxicological Analysis, Phenolic Compounds.

SIGLAS

%AA	Percentual de Atividade Antioxidante
%DPPH60	Percentual de DPPH Após 60 Minutos
%DPPHREM	Percentual de DPPH Remanescente
ABTS	Radical 2-2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
CUPRAC	Capacidade Antioxidante por Redução do Íon Cúprico
CE ₅₀	Concentração Eficiente Mediana (50%)
DL ₅₀	Dose Letal Mediana (50%)
DPPH	Radical 1-1-difenil-2-picril-hidrazila
EAG	Equivalentes em Ácido Gálico
FRAP	Poder Antioxidante de Redução do Ferro
OECD	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
TBARS	Equivalentes em Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Teor médio de fenóis totais dos extratos expressos em mg de Equivalente de Ácido Gálico/g de extrato.....	44
---	----

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

FIGURA 1	Bacabeira e cacho de bacabas.....	16
FIGURA 2	Teste em raiz de <i>Allium cepa</i> / cebolas em contato com extrato.....	21
FIGURA 3	Náuplios de <i>Artemia salina</i> eclodidos / placa de Petri contendo náuplios de <i>Artemia salina</i>	22
FIGURA 4	Ensaio de fragilidade osmótica / lâminas de esfregaço sanguíneo.....	22

ARTIGO

FIGURA 1	Fragilidade osmótica de amostras de sangue tratadas e não tratadas com extrato aquoso de <i>Oenocarpus distichus</i> Mart. (0,03; 0,06 e 0,13 g/ml) ..	40
FIGURA 2	Diferenças entre as médias dos grupos no teste de fragilidade osmótica..	41
FIGURA 3	Índices relativos de crescimento (RGI) das raízes de <i>Allium cepa</i> dos grupos tratadas e não tratadas com extrato aquoso de <i>Oenocarpus distichus</i> Mart. (0,03; 0,06 e 0,13 g/ml).....	42
FIGURA 4	Curva da taxa de mortalidade dos náuplios de <i>Artemia salina</i> frente a exposição ao extrato aquoso de <i>Oenocarpus distichus</i> Mart. (0,03; 0,06 e 0,13 g/ml) por 24h.....	43
FIGURA 5	Percentual de atividade antioxidante (%aa) do extrato de <i>Oenocarpus distichus</i> Mart. E dos grupos controle.....	45
FIGURA 6	Poder redutor dos extratos de <i>Oenocarpus distichus</i> Mart. e dos grupos controle.....	46

SUMÁRIO

1	CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1	Cerrado	15
2.2	Bacaba	15
2.3	Bacaba e seu potencial antioxidante	17
2.4	Radicais livres e antioxidantes.....	17
2.5	Metabólitos secundários e atividade antioxidante.....	18
2.6	Testes de atividade antioxidante.....	19
2.7	Plantas, frutos e toxicidade.....	20
2.8	Teste em raiz de <i>Allium cepa</i>	20
2.9	Teste de toxicidade com <i>Artemia salina</i>	21
2.10	Fragilidade osmótica.....	22
3	OBJETIVOS.....	24
3.1	Objetivo geral.....	24
3.1	Objetivos específicos.....	24
4	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
	 SEGUNDA PARTE – ARTIGO ENVIADO À REVISTA BRASILEIRA DE PLANTAS MEDICINAIS.....	 32
	ARTIGO - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ENSAIOS TOXICOLÓGICOS DE BACABAS (OENOCARPUS DISTICHUS MART.) COLHIDAS EM PALMAS/TO.....	 33
1	INTRODUÇÃO.....	34
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4	CONCLUSÃO.....	47
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

ANEXOS

Anexo I - Normas da Revista Brasileira de Plantas Medicinais....	54
Anexo II – Qualis da Revista Brasileira de Plantas Medicinais....	60

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO

O cerrado é um bioma brasileiro biodiversificado, segundo maior da América latina, no qual mais de 4400 espécies endêmicas de plantas foram identificadas. Destas espécies, boa parte são árvores frutíferas, cujos frutos são apreciados na alimentação das comunidades locais (MYERS et al., 2000; SANO et al., 2010).

Estes frutos apresentam conhecido teor nutricional, como vitaminas A, C, E e minerais, como zinco, selênio e magnésio. E nos últimos tempos pesquisas mostram e elucidam compostos oriundos do metabolismo secundário de plantas que exercem propriedades importantes na saúde humana (BAILÃO et al., 2015).

A bacaba é um fruto de uma palmeira, se apresentando como drupas violáceas, encontrado no cerrado e também na Amazônia. Apresenta alto conteúdo de lipídeos, carboidratos e fibras, bem como compostos bioativos (SANTOS, ALVES, ROCA, 2015; GUIMARÃES, 2013). Dentre os compostos bioativos, os flavonoides ganham destaque em sua composição (FINCO et al, 2012; CARVALHO et al., 2016).

Existem vários métodos reconhecidos capazes de avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos alimentos, mas, devido à natureza heterogênea do alimento em questão e dos compostos ali presentes, diferentes métodos devem ser executados para se ter uma visão mais ampla do potencial antioxidante do alimento estudado (ALVES et al., 2010).

Estudos vêm mostrando a capacidade da bacaba em exercer atividade antioxidante, quando comparada com outros frutos de atividade antioxidante mais bem caracterizada (CANUTO et al, 2010; SANTOS et al., 2013;). Porém os resultados podem ser diferentes quando se avaliam espécies diferentes do mesmo fruto (HERNÁNDEZ-CARRIÓN, HERNANDO, AQUILES, 2013). Dependendo da região aonde o fruto é colhido, quantidades de compostos bioativos presentes podem variar (PEÑAS et al., 2011; CARUSO et al., 2015).

Muitas plantas são consumidas pela população, várias delas usadas na forma de chás, ou mesmo pelo consumo dos próprios frutos, tanto para a alimentação, quanto para o suposto combate a algumas doenças e sintomas, como cólicas menstruais, resfriados, etc., porém pouco se conhece sobre possíveis efeitos tóxicos, fazendo-se necessária a implementação de estudos toxicológicos com as espécies vegetais, a fim de garantir a seguridade no uso das mesmas (BAGATINI, SILVA, TEDESCO, 2007).

Não foram encontrados estudos sobre os efeitos tóxicos da bacaba, tanto do fruto como de seus derivados, e os estudos sobre a atividade antioxidante acima citados foram feitos com extratos alcoólicos do fruto, justificando assim a realização deste estudo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Cerrado

O cerrado é um bioma brasileiro, de formação savânica, que abrange cerca de 204 milhões de hectares (por volta de 25% do território central nacional), sendo o segundo maior bioma brasileiro (atrás apenas da Amazônia). Possui uma vasta biodiversidade, tanto da fauna, como da flora (ÁVIDOS e FERREIRA, 2000).

As espécies vegetais nativas do cerrado geralmente possuem uma formação mais adaptada ao tipo de clima deste ambiente, com incêndios naturais, períodos de seca e solos mais empobrecidos, bem como ricos em alumínio. São plantas com caule mais lenhoso, com folhas mais espessas e brilhantes, galhos retorcidos e resistentes ao fogo (CARVALHO et al., 2015).

E nesta biodiversidade florística estão várias espécies de frutas conhecidas e muito aceitas pela população residente na região. Dentre diversas espécies podemos citar a bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.), a graviola (*Annona muricata* L.), o araticum (*Annona crassiflora* Mart.) e o jenipapo (*Genipa americana* L.). Todos, consumidos tanto na forma *in natura*, como minimamente processados (sucos, geleias, licores) (ALMEIDA, 1998).

São frutos com elevado conteúdo nutricional, ricos em vitaminas A, C e E, contendo também fitoquímicos com atividade antioxidante, dentre os quais se destacam compostos fenólicos, flavonoides, taninos e antocianinas, sendo uma fonte importante de nutracêuticos para a população (BAILÃO et al., 2015).

Uma possível explicação para o elevado conteúdo de polifenóis dos frutos do Cerrado podem ser adaptações na síntese de metabólitos secundários. Enquanto nos biomas mais úmidos predomina a via do ácido chiquímico para a produção de biomassa de lignina (composto das membranas celulares vegetais), nos biomas mais secos os precursores desta biomassa parecem advir, majoritariamente, dos polifenóis (ALBUQUERQUE, RAMOS, MELO, 2012).

2.2 Bacaba

A bacabeira (Figura 1) é encontrada predominantemente no bioma da Amazônia e também do Cerrado, podendo ser encontrada em países sul-americanos, como a Bolívia, Venezuela e Peru. Se apresenta como uma palmeira com folhas distribuídas uniformemente com cerca de 8 metros de comprimento. Os frutos, drupas de coloração negro-violácea de cerca

de 2 a 3 cm de diâmetro com uma polpa carnosa e de espessura fina e uma única semente em seu interior, são dispostos em cachos grandes e robustos (HENDERSON, 1995).



Figura 1. Bacabeira e cacho de bacabas.

Fonte: EMBRAPA, 2005

A espécie *Oenocarpus distichus* Mart. (bacaba-de-leque) ocorre tanto na Amazônia, como pode ocorrer nas regiões Centro-Oeste e Nordeste, crescendo em áreas de solo arenoso com frequência na região do Taquaruçu-Grande, Tocantins (LLERAS, GIACOMETTI, CORADIN, 1983; SILVA, LOLIS, VIANA, 2016).

Outras espécies de bacaba estudadas são a bacaba-verdadeira (*Oenocarpus bacaba* Mart.) e o bacabi (*Oenocarpus mapora* H. Kart.), sendo a primeira mais comum no Pará e Amazonas e a última no alto Amazonas e Acre. De todas as espécies se aproveitam os frutos para extração de polpa, óleo das sementes e extração de palmitos de estipes mais jovens, e também utilizada em ornamentação (QUEIROZ, BIANCO, 2009). Apesar de todo seu uso popular, pouco se encontra na literatura científica sobre suas propriedades nutricionais e funcionais.

A polpa do fruto é consumida *in natura*, como sucos ou bebidas fermentadas, como por exemplo, a chicha de bacaba tradicionalmente preparada e consumida por indígenas (PUERARI, GUEDES, SCHWAN, 2015), ou também, assim como diversos frutos de palmeiras (dendê, coco, macaúba), apreciada na extração de óleos, pois pelo seu método de extração não necessitam de refino e por serem potenciais alternativas a óleos conhecidos, como o azeite de oliva (CLEMENT, PEREZ, VAN LEUWEN, 2005; SANTOS et al., 2013).

2.3 Bacaba e potencial antioxidante

A bacaba (Figura 1) apresenta em sua composição quantidades apreciáveis de flavonoides, com destaque às antocianinas, quando comparada com outros frutos. Finco et al., (2012) caracterizou o perfil de antocianinas da bacaba por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), com destaque para a Cianidina-3-glicosídeo. Recentes estudos foram realizados com o intuito de analisar o potencial antioxidante de frutos (GUIMARÃES, 2013; OLIVEIRA et al., 2011; RUFINO et al., 2010), tendo alguns estudos analisado frutos nativos do Cerrado (LEÃO et al., 2017) e da Amazônia (CANUTO et al., 2010). Neste último, a bacaba apresentou atividade antioxidante comparável à de outros frutos conhecidos, como a acerola, a graviola e o tamarindo.

2.4 Radicais livres e antioxidantes

O sistema celular humano e dos animais é alvo constante de danos oxidativos, derivados reativos do oxigênio ou radiação solar ultravioleta (UV), podendo desorganizar estruturas celulares, por desnaturação de proteínas, oxidação da camada lipídica das membranas e organelas e, também, despolimerização de carboidratos estruturais. E podem alcançar o DNA das células, causando, desde destruição a mutações celulares (NELSON, COX. 2011; BARREIROS, DAVID, DAVID. 2006).

As espécies oxidativas se dividem em Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e Espécies Reativas de Nitrogênio (ERNs). Ambas podem ser produzidas em quantidades ínfimas na respiração celular ou produzidas em quantidades significativas como resposta das células de defesa frente a um processo inflamatório, como método de destruição a patógenos (DEVLIN, 2011).

São lesões cumulativas que podem levar anos para se manifestar, havendo muitas patologias relacionadas a danos oxidativos como alguns tipos de cânceres, doenças cardiovasculares como a formação de placas de ateroma e algumas doenças neurodegenerativas, como o mal de Alzheimer. Apesar disso, um excesso de antioxidantes pode ser tão deletério quanto, uma vez que os radicais livres também promovem destruição de células neoplásicas e microrganismos patogênicos (BARBOSA et al., 2010; RECZEK, CHANDEL, 2017).

O organismo humano possui um sofisticado sistema de defesa contra estas espécies oxidativas, que inclui o sistema enzimático, (através das enzimas Superóxido Dismutase, Catalase e Glutathione Peroxidase) e o não enzimático (através das vitaminas C e E),

responsáveis pela neutralização destas espécies radicalares (CHAMPE, HARVEY, FERRIER, 2010).

2.5 Metabólitos secundários e atividade antioxidante

Todos os seres vivos realizam inúmeros processos metabólicos, vivendo em constante anabolismo e catabolismo, no qual são originados aminoácidos, glicídios, lipídeos e outras biomoléculas vitais, que são conhecidos como Metabólitos Primários. Paralelo a isto, em plantas e alguns micro-organismos, ocorre o Metabolismo Secundário, com a formação de compostos com função específica, que vão desde a atração de polinizadores e fatores de crescimento vegetal, quanto a proteção contra herbívoros, fotoproteção e antioxidante (DEWICK, 2002; SIMÕES, 2010).

Tais plantas foram e continuam a ser exploradas pelo ser humano ao longo da história devido a seus efeitos terapêuticos. Muitas plantas têm efeitos conhecidos desde a antiguidade, seja como terapêutico ou tóxico. Com o avanço da ciência tais compostos vêm sendo elucidados e explorados pela indústria farmacêutica (GERTSCH, 2009) para a produção de novos fármacos.

Além dos compostos com atividade farmacológica, existem os compostos que são explorados pelo seu potencial nutricional e funcional como os antioxidantes. Os polifenóis (flavonoides, lignanas), carotenoides e glicosinolatos presentes nos alimentos de origem vegetal também são capazes de exercer função antioxidante, atuando sinergicamente com os sistemas presentes no organismo. Também promovem modulação de enzimas de detoxificação, atividade antimicrobiana e conferem um certo grau de fotoproteção, quando estão presentes na alimentação humana. Nos vegetais, estão relacionados com proteção contra radiação UV, atração de polinizadores, dentre outros (HORST, LAJOLO, 2012).

Alguns frutos apresentam boa atividade antioxidante como o açaí, a acerola e o caju, sendo componentes dietéticos importantes, tanto na oferta de nutrientes, quanto fitoquímicos antioxidantes, podendo ser tão efetivos quanto suplementos isolados desses compostos, bem como mais viáveis economicamente (MELO et al., 2008). Uma dieta equilibrada, que forneça uma mínima quantidade de nutrientes, fibras e fitoquímicos antioxidantes, pode modular respostas orgânicas importantes, como a manutenção de níveis séricos basais de mediadores inflamatórios e da insulinemia (CHAVES et al., 2013)

Além disso, o isolamento e reconhecimento de fitoquímicos em alimentos de origem vegetal vem ganhando espaço e compostos isolados vem sendo avaliados pela indústria de

alimentos como substitutos economicamente viáveis e com apelo nutricional em substituição a aditivos químicos já usados, como por exemplo, a substituição de antioxidantes sintéticos por antioxidantes naturais (DEL RÉ, JORGE, 2012).

2.6 Testes de atividade antioxidante

Atualmente existem diversos métodos que a literatura dispõe para analisar as propriedades antioxidantes de produtos naturais, como frutos e ervas medicinais, no qual são observadas a capacidade dos mesmos em neutralizar os radicais livres e interromper a propagação do processo oxidativo (FRANKEL, FINLEY, 2008).

Os métodos mais comuns são os espectrofotométricos, que são testes *in vitro* onde se avalia a capacidade de impedir reações oxidativas de compostos através da leitura espectrofotométrica, sendo o composto estudado comparado a uma substância pura com atividade antioxidante conhecida (ALVES et al. 2010). Tais métodos visam avaliar o poder de sequestro de radicais livres (teste do DPPH e do ABTS), redução e estabilização de íons metálicos, como o ferro (teste FRAP, teste do Ferricianeto) e cobre (CUPRAC) e potencial de proteção contra peroxidação lipídica de membrana celular (teste da autooxidação do ácido linoleico/betacaroteno e teste TBARS) (RUFINO et al., 2006; CHEN et al., 2013; GHANI et al., 2017).

O método de quantificação de fenois totais não é diretamente uma análise de atividade antioxidante, mas permite estimar o conteúdo de fenois totais através da oxidação das hidroxilas de compostos fenólicos, formando os ânions fenolato, por intermédio do reagente de Folin-Ciocalteu em meio alcalino. Com isso, ocorre a redução dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico do reagente, alterando a coloração, de amarelo claro, a tons de anil (ANGELO, JORGE, 2007; SOUSA et al., 2007). As absorvâncias obtidas por espectrofotometria são interpoladas em uma curva de calibração obtida com composto fenólico conhecido, como o ácido gálico, ácido tânico ou catequina (AGBOR et al., 2014).

O método de sequestro de radicais livres se baseia na capacidade do composto estudado em sequestrar radicais livres, através do uso de solução alcoólica do radical livre artificial DPPH (2-2-difenil-1-picril-hidrazila), de coloração fortemente violeta que, à medida que se estabiliza, formando o composto DPPH-H, torna-se amarelo-pálido. Quanto mais clara se tornar a solução, maior a atividade de sequestro. O meio alcoólico se faz necessário para estabilizar o radical, facilitando sua interação com compostos capazes de doar átomos de hidrogênio ao mesmo, neutralizando-o (ALVES et al., 2010; OLIVEIRA, 2015).

Já o método do poder redutor do íon férrico se baseia na habilidade do composto estudado em reduzir os íons férricos para íons ferrosos, indicando a presença de componentes que reduzem (neutralizam) alguns radicais livres, a exemplo dos compostos fenólicos. Entretanto esta reação indica a capacidade redutora, não quantificando compostos fenólicos, como o método de Folin-Ciocalteu, pois outros compostos não fenólicos, que reduzem o íon férrico, também podem apresentar redução dos radicais livres, como os grupos tióis (BERKER et al., 2012; BERKER et al., 2010; SANTOS et al., 2007).

2.7 Plantas, frutos e toxicidade

O uso de plantas no tratamento de enfermidades transcende os anos e, com isto, existem as mais diversas formas de se indicar seu uso tais como na forma de chás, macerados, sumo dos frutos, etc. Entretanto, uma atividade tóxica muitas vezes permanece desconhecida pela população uma vez que estes creem que por serem oriundos de plantas não possuem efeitos tóxicos, embora existam exemplares bem conhecidos na natureza que são altamente venenosos (SIMÕES et al., 2010; CHANG et al., 2016,).

Em muitos países em desenvolvimento, inclusive, grande parte da população depende desses recursos para os cuidados com a saúde, pelo seu fácil acesso e baixo custo, comparado aos cuidados da medicina convencional. Também acaba sendo a única opção de alguns grupos étnicos e comunidades. Porém os estudos sobre efeitos tóxicos de ervas e frutos consumidos pela população ainda são escassos, sendo essa uma preocupação que surgiu mais recentemente, devido a associações de possíveis efeitos adversos, como hepato e neurotoxicidade associados a seu consumo (TEIXEIRA et al., 2003; MACIEL et al., 2002).

Mediante a isto, os ensaios toxicológicos se fazem necessários para investigar a presença de efeitos deste porte. E os testes toxicológicos *in vitro* são testes capazes de mostrar possíveis efeitos adversos com a vantagem de substituir ou reduzir o uso de animais, ou utilizar outra espécie de seres vivos, como, por exemplo, testes que usam culturas de células e tecidos, culturas microbianas, alguns tipos de vegetais e microcrustáceos (CAZARIN et al., 2004).

2.8 Teste em raiz de *Allium cepa*

Inicialmente proposto por Levan (1938), onde foram estudados os efeitos da colchicina na interferência da divisão celular, posteriormente adotado por Fiskejő (1993), que foi o primeiro a padronizar este método em testes ambientais. Cebolas, com tamanhos uniformes,

livres de danos e sem o aparecimento de folhagem. Sendo este um dos fatores a ser analisado, que é o crescimento, ou não, das folhas.

Após serem colocadas para crescer em meio contendo o composto a ser estudado por tempo predefinido (Figura 2), as raízes são mensuradas e contadas, e células meristemáticas são visualizadas por microscopia óptica, onde são avaliados efeitos aneugênicos, clastogênicos e aberrações cromossômicas (MENEGUETTI et al., 2011). São testes que apresentam boa correlação com outros testes conhecidos, como o teste de micronúcleo em medula óssea de ratos, sendo uma alternativa a este (BAGATINI, SILVA, TEDESCO, 2007)



Figura 2. Teste em raiz de *Allium cepa* / Cebolas em contato com extrato.

Fonte: Arquivo pessoal.

Também são calculados os Índices Relativos de Crescimento e Índice de Germinação das cebolas, avaliando a capacidade do composto avaliado em interferir no crescimento radicular (YOUNG, 2012).

2.9 Teste de toxicidade com *Artemia salina*

Um dos métodos alternativos amplamente utilizados em triagem de substâncias de origem vegetal é o método que utiliza a *Artemia salina* (Figura 3), um microcrustáceo da ordem *Anostraca*, utilizado na alimentação de peixes e camarões por seu alto valor nutritivo. É utilizado em testes de toxicidade de substâncias vegetais, já que é um método simples, de baixo custo e fácil manuseio (OECD, 2004). Foi estabelecida uma relação entre o grau de toxicidade e a concentração letal média, DL_{50} , de extratos de plantas sobre microcrustáceos *Artemia Salina*, considerando que quando verificados valores acima de 1000 $\mu\text{g/mL}$ e não havendo morte acima de 50%, estes são considerados atóxicos. Diversos trabalhos vêm correlacionando

a toxicidade sobre *Artemia Salina* com atividades antifúngica, viruscida, antimicrobiana, tripanossomicida e parasiticida (MEYER et al., 1982; MAIWORM et al., 2008).

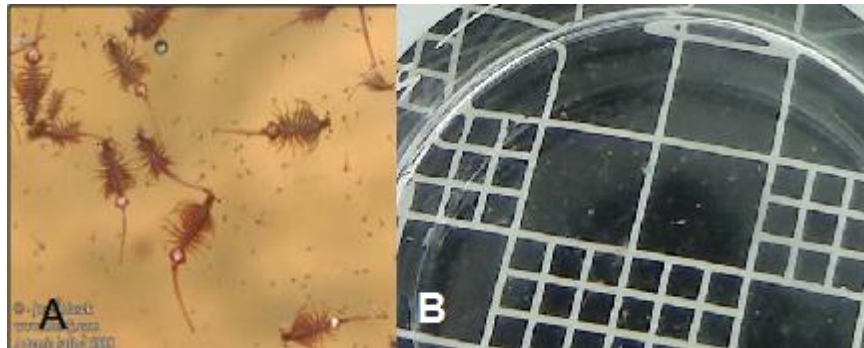


Figura 3. Náuplios de *Artemia salina* eclodidos / placa de Petri contendo náuplios de *Artemia salina*.

Fonte: A – FREITAS, 2008 / B: Arquivo pessoal.

2.10 Fragilidade osmótica

As membranas celulares contam com mecanismos que controlam sua fluidez e estabilidade, devendo haver um equilíbrio para, assim, serem preservadas suas propriedades. Algumas moléculas (conhecidas como Osmólitos) podem alterar este equilíbrio. E as hemácias são as mais numerosas células sanguíneas e estão expostas a forças de cisalhamento capazes de romper sua membrana. Neste sentido, o teste de fragilidade osmótica (Figura 4) verifica a capacidade de algum composto químico, em diferentes concentrações de cloreto de sódio, em interferir na membrana dos eritrócitos, causando sua ruptura (CUNHA et al., 2007).

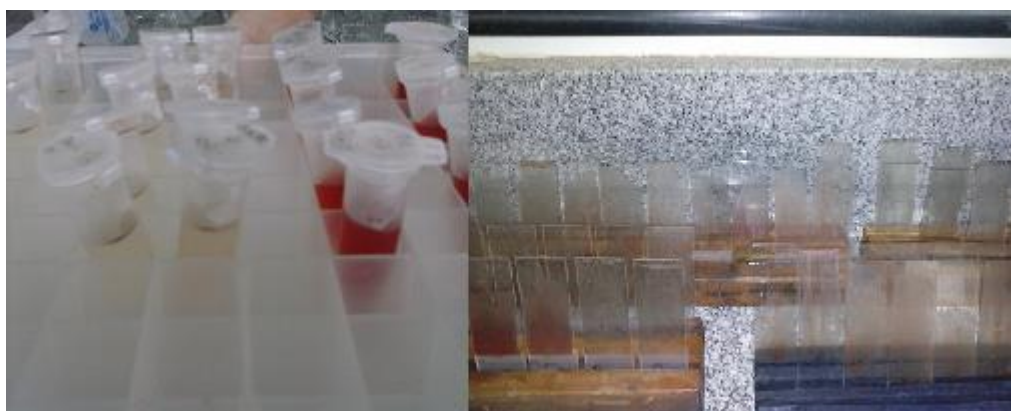


Figura 4. Ensaio de Fragilidade Osmótica / Lâminas de esfregaço sanguíneo.

Fonte: Arquivo pessoal.

Das várias padronizações que existem deste teste, inclusive recomendada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é a observação da absorbância de luz UV, graças à hemoglobina liberada na ruptura das hemácias, indicando possíveis danos do composto estudado sobre os eritrócitos (ANVISA, 2003).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi de avaliar, através de testes *in vitro*, a atividade antioxidante, bem como toxicológica, do extrato aquoso da bacaba-de-leque (*Oenocarpus distichus* Mart.).

3.2 Objetivos específicos

- Analisar o potencial antioxidante da bacaba, através de testes de Poder redutor do íon férrico, quantificação de fenois totais e sequestro do radical livre DPPH;
- Avaliar potencial toxicológico da bacaba por meio da inibição do crescimento de raiz de *Allium cepa*, teste da *Artemia salina* e teste de Fragilidade eritrocitária osmótica.

4 REFERÊNCIAS

AGBOR, G. A.; VINSON, J. A.; DONNELLY, P. E.; Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. **International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics**, v. 3, n. 8, p. 147-156, 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos. Brasília, 2003. 47 p.

ALBUQUERQUE, U. P.; RAMOS, M. A.; MELO, J. G.; New strategies for drug discovery in tropical forests based on ethnobotanical and chemical ecological studies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 140, p. 197– 201, 2012.

ALMEIDA, S. P. Cerrado: Aproveitamento alimentar. Planaltina: Embrapa, 1998.

ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66 n. 1, p. 1-9, 2007.

AVIDOS, M. F. D.; FERREIRA, L.T. Frutos dos cerrados: preservação gera muitos frutos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.3, n.15, p.36-41, 2000. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio15/frutos.pdf>> Acesso em: 11 abr. 2016.

BAGATINI, M. D., SILVA, A. C. F., TEDESCO, S. B.; Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 3, p. 444-447, 2007.

BAILÃO, E. F. L. C. et al. Bioactive Compounds Found in Brazilian Cerrado Fruits. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 23760-23783, 2015.

BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; Estresse Oxidativo: Relação entre Geração de Espécies Reativas e Defesas do Organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BERKER, K. I.; DEMIRATA, B.; APAK, R. Determination of Total Antioxidant Capacity of Lipophilic and Hydrophilic Antioxidants In the Same Solution by Using Ferric–Ferricyanide Assay. **Food Analytical Methods**, v. 5, p. 1150–1158, 2012.

BERKER, K. I. et al. Total Antioxidant Capacity Assay Using Optimized Ferricyanide/Prussian Blue Method. **Food Analytical Methods**, v. 3, p. 154–168, 2010.

CANUTO, G. A. B. et al. Caracterização Físico-Química de Polpas de Frutos da Amazônia e sua Correlação com a Atividade Antirradical Livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.

CARUSO, M. C. et al. Improvement of Analytical Methods for the Determination of Polyphenolic Bioactive Compounds in Berry Fruits. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 01-07, 2015.

CARVALHO, S. M. F. et al. Plant structure in the Brazilian neotropical savannah species. In **Biodiversity in Ecosystems: Linking Structure and Function**; Lo, Y., et al. **InTech**, p. 425-459, 2015.

CAZARIN, K. C. C.; CORRÊA, C. L.; ZAMBRONE, F. A. D.; Redução, refinamento e substituição do uso de animais em estudos toxicológicos: uma abordagem atual. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, n. 3, 2004.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, R. D. Bioquímica Ilustrada. 4ª ed. Artmed: Porto Alegre/RS, 2009. 528 p.

CHANG, B. Y. et al. Nonclinical Safety Assessment of *Morus alba* L. Fruits: Study of 90-D Toxicity in Sprague Dawley Rats and Genotoxicity in Salmonella. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 5, 2016.

CHAVES, D. F. S. et al. Acute Effects of Isocaloric Meals with Different Fiber and Antioxidant Contents on Inflammatory Markers in Healthy Individuals. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 62, p. 164-168, 2013.

CHEN, Z.; BERTIN, R.; FROLDI, G. EC₅₀ estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. **Food Chemistry**, v. 138, p. 414–420, 2013.

CLEMENT, C.R.; PÉREZ, E. L.; VAN LEEUWEN, J. O potencial das palmeiras tropicais no Brasil: Acertos e fracassos das últimas décadas. **Agrociencias**, v. 9, n. 1-2, p. 67-71, 2005

CUNHA, C. C. et al. Effects of Glycerol on the Thermal Dependence of the Stability of Human Erythrocytes. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v. 39, p. 341–347, 2007.

DEL RÉ, P.V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.2, p.389-399, 2012.

DEVLIN, T. M. Manual de Bioquímica com Correlações Clínicas. 7ª ed. Blucher: São Paulo/SP, 2011. 1296 p.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach**. 2. ed. West Sussex: Wiley, 2002. 507p.

FINCO, F. D. B. A. et al. Antioxidant Activity and Characterization of Phenolic Compounds from Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) Fruit by HPLC-DAD-MS. **Journal of Agriculture Food and Chemicals**, v. 60, p. 7665–7673, 2012.

FERREIRA, M. G. R. Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.): Informações simplificadas sobre a Bacaba, uma palmeira nativa da Amazônia. Disponível em:
<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/24783/1/folder-bacaca.pdf>> Acesso em: 05/06/17.

FISKEJÖ, G. The *Allium* test. In: Wastewater monitoring. **Environmental Toxicology and Water Quality**, v. 8, p. 291-298, 1993.

FRANKEL, E. N.; FILNEY, J. W. How to Standardize the Multiplicity of Methods To Evaluate Natural Antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 4901–4908, 2008.

FREITAS, A. M. **Utilização de Processos Oxidativos Avançados para Remediação de Águas Contaminadas por Toxinas Produzidas por Cianobactérias**. 2008. 132p. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2008.

GERTSCH, J.; How scientific is the science in ethnopharmacology? Historical perspectives and epistemological problems. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, p. 177–183, 2009.

GHANI, A., et al. Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. **Food Chemistry**, v. 230, p. 195–207, 2017.

GUIMARÃES, A. C. G. **Potencial funcional e nutricional de farinhas de jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) e bacaba (*Oenocarpus bacaba*)**. 2013. 109p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2013.

HERNÁNDEZ-CARRIÓN, M.; HERNANDO, I.; QUILES, A. Tissue microstructure, physicochemical properties and bioactive compound locations in different sweet pepper types. **Food Science and Technology. International**, v. 21, n. 1, p. 3–13, 2013.

HENDERSON, A.; **The Palms of the Amazon**. New York: Oxford University, 1995. 362 p.

HORST, M. A.; LAJOLO, F. M.; Biodisponibilidade de Compostos Bioativos de Alimentos In: COZZOLINO, S. M. F.; **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 4. Ed. São Paulo: Barueri: Manole, p. 879-914.

LEÃO, D. P. et al. Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit by-products. **Food Chemistry**, v. 225, p. 146–153, 2017.

LEVAN, A. The effect of Colchicine on root mitoses. In: *Allium cepa*. **Hereditas**, v. 24, n. 4, p. 471-486, 1938. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-5223.1938.tb03221>. Acesso em: 14/01/2016.

LLERAS, E.; GIACOMETTI, D. C.; CORADIN, L. Áreas críticas de distribución de palmas en las Americas para colecta, evaluación y conservación. In: **Informe de la reunión de consulta sobre palmeras poco utilizadas de América Tropical**. Turrialba: FAO, p. 67-101, 1983.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas Medicinais: A Necessidade de Estudos Multidisciplinares. **Química. Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MAIWORM, A. I. et al. Osmotic and Morphological Effects on Red Blood Cell Membrane: Action of an Aqueous Extract of *Lantana camara*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n.1, p. 42-46, 2008.

MELO, E. A. et al. Capacidade antioxidante de frutas. Braz. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 2, 2008.

MENEGUETTI, D. U. O. et al. Adaptação da Técnica de Micronúcleo em *Allium cepa* para Futuras Análises de Mutagenicidade dos Rios da Região do Vale do Jamari, Rondônia, Amazônia Ocidental. **Revista Pesquisa & Criação**, v. 10, n. 2, p. 181-187, 2011.

MEYER, B. N. et al. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Médica**, v.45, p.31-34, 1982.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853–858, 2000.

NELSON, D. L.; COX, M. M.; **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. 1274p.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, Test n. 202: *Daphnia sp.* Acute Immobilisation Test. **OECD Publishing**, Paris. 2004. Disponível em:

http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-202-daphnia-sp-acute-immobilisation-test_9789264069947-en;jsessionid=yp6y5olz0t1.x-oecd-live-02. Acessado em: 15/05/2016.

OLIVEIRA, D. S. et al. Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum Health Sciences**, v. 33, n. 1, p. 89-98, 2011.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.1, p.36-44, 2015.

PEÑAS, E. et al. Bioactive Compounds, Myrosinase Activity, and Antioxidant Capacity of White Cabbages Grown in Different Locations of Spain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 3772–3779, 2011.

PUERARI, C.; GUEDES, K. T. M.; SCHWAN, R. F. Bacaba Beverage Produced by Umutina Brazilian Amerindians: Microbiological and Chemical Characterization. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 4, p. 1207-1216, 2015.

QUEIROZ, M. S. M.; BIANCO, R. Morfologia e desenvolvimento germinativo de *Oenocarpus bacaba* Mart. (Arecaceae) da Amazônia Ocidental. **Revista Árvore**, v. 33, n. 6, p. 1037-1042, 2009.

RECZEK, C. R.; CHANDEL, N. S. The Two Faces of Reactive Oxygen Species in Cancer. **Annual Review of Cancer Biology**, v. 1, p. 79-98, 2017.

RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). **Comunicado Técnico Online**. Embrapa: Fortaleza. 2000. 9p.

RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacities of 18 Non-Traditional Tropical Fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996–1002, 2010.

SANO, E.E. et al. Land Cover Mapping of the Tropical Savanna region in Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 166, p. 113–124, 2010.

SANTOS, M. F. G.; ALVES, R. E.; ROCA, M.; Carotenoid Composition in Oils Obtained from Palm Fruits from the Brazilian Amazon. **Grasas y Aceites**, v. 66, n. 3, 2015. Disponível em: <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/viewFile/1552/1749>.

Acesso em: 15/11/2016.

SANTOS, M. F. G. et al. Major components in oils obtained from Amazonian palm fruits. **Grasas y Aceites**, v.64, n.3, p. 328-334, 2013.

SANTOS, M. H. et al. Influência do Processamento e da Torrefação sobre a Atividade Antioxidante do Café (*Coffea arábica*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 604-610, 2007.

SILVA, W. M.; LOLIS, S. F.; VIANA, R. H. O. Composition and structure of the gallery forest in the Taquaruçu Grande Sub-basin, Municipality of Palmas, Tocantins State. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 1, p. 17-24, 2016.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. Florianópolis: Editora UFSC, 6 ed. 2010, 1104p.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenois Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

TEIXEIRA, R. O. et al. Assessment of Two Medicinal Plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in *in vitro* and *in vivo* assays. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 4, p. 551-555, 2003.

YOUNG, B. J. et al. Toxicity of the Effluent from an Anaerobic Bioreactor Treating Cereal Residues on *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p. 182–186, 2012.

CAPÍTULO 2

Artigo enviado à Revista Brasileira de Plantas Mediciniais

Avaliação da atividade antioxidante e ensaios toxicológicos de bacabas (*Oenocarpus distichus* Mart.).

CLEMENTE, R.C.;^{1*} PEREIRA, R.J.;¹ NASCIMENTO, G.N.L.¹

¹: Laboratório de Ciências Básicas e Saúde, Universidade Federal do Tocantins. Quadra 109 norte, Av. NS-15, ALCNO 14, Palmas/TO. CEP: 77001-090. *castilho@uft.edu.br

RESUMO: O cerrado é o segundo maior bioma brasileiro e possui uma grande biodiversidade de fauna e flora. Das espécies vegetais, muitas são de árvores frutíferas, cujos frutos são bem conhecidos e apreciados pela população regional. Um desses frutos é a bacaba-de-leque (*Oenocarpus distichus* Mart.), utilizada tanto *in natura*, como no preparo de geleias, bebidas fermentadas e na extração de óleos. O objetivo desta pesquisa foi analisar o potencial antioxidante e toxicológico do extrato aquoso dos frutos descaroçados de bacabas colhidas no município de Palmas/TO, por meio dos testes de poder redutor do íon férrico, quantificação de fenóis totais, sequestro de radicais 1-1-difenil-2-picril-hidrazila, fragilidade osmótica eritrocitária, inibição de crescimento de raízes de *Allium cepa* e teste de toxicidade com *Artemia salina*. Os resultados mostraram que a atividade tóxica foi muito baixa nos eritrócitos e mostrou baixa taxa de toxicidade para os náuplios de *Artemia salina*, mas inibiram significativamente o crescimento das raízes de *Allium cepa*. Nas análises antioxidantes os extratos mostraram um baixo conteúdo de fenóis totais e baixa atividade sequestrante de radicais livres, porém mostrou elevado poder redutor. Conclui-se que, neste estudo, que o extrato aquoso de bacaba não apresentou atividade tóxica, mas também não apresentou atividade antioxidante satisfatória.

Palavras-chave: Atividade antioxidante, análise toxicológica, compostos fenólicos.

ABSTRACT: Antioxidant activity avaliation and toxicologic tests of bacaba fruits (*Oenocarpus distichus* Mart.) harvested on Palmas/TO.

Cerrado (Brazilian savannah) is the second greater Brazilian biome and has a great biodiversity, such as fauna and flora. Of vegetable species, much of them are fruit trees, whose fruits are very known and appreciated by regional population. One of these fruits are bacaba (*Oenocarpus distichus* Mart.), used such *in natura*, as in prepare of jams, fermentable beverages and oil extraction. The aim of this research was to analyze the antioxidant and toxicological proprieties of the aqueous extract of the unseeded fruits of bacabas harvested in the county of Palmas, state of Tocantins, Brazil, by the mean of the tests of Reducing Power of ferric ion, total phenolic content, sequestration of 1-1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical, osmotic erythrocytary fragility, *Allium cepa* radicular growth inhibition and *Artemia salina*'s toxicity test. The results showed that was a very low toxic activity with the erythrocytes and a reduced mortality rate with the *Artemia salina* nauplii, but there was a significant inhibition on the *Allium cepa*

radicular growth. In the antioxidant analysis, the extracts showed a low content of total phenolics and a low free radicals sequestration, but showed an elevated reducing power. We can conclude that, on the research the bacaba's aqueous extract did not presented toxic activity, but also did not present satisfactory antioxidant activity.

Key words: Antioxidant Analysis, Toxicological Analysis, Phenolic Compounds.

INTRODUÇÃO

O cerrado é um bioma brasileiro biodiversificado, segundo maior da América latina, no qual mais de 4400 espécies endêmicas de plantas foram identificadas. Dentre estas espécies encontram-se árvores frutíferas cujos frutos são bem conhecidos e apreciados na alimentação das comunidades locais (MYERS et al., 2000; SANO et al., 2010).

São frutos com bom teor nutricional, contendo vitaminas A, C, E e minerais, como zinco, selênio e magnésio. Além disso pesquisas vem demonstrando a presença de compostos bioativos de interesse terapêutico importantes para a saúde humana (BAILÃO et al., 2015).

A bacaba é um fruto de uma palmeira, se apresentando como drupas violáceas, encontrado no cerrado e também na Amazônia. Apresenta alto conteúdo de lipídeos, carboidratos e fibras, bem como compostos bioativos (SANTOS, ALVES, ROCA, 2015; GUIMARÃES, 2013). Dentre os compostos bioativos, os flavonoides ganham destaque em sua composição (FINCO et al, 2012; CARVALHO et al., 2016).

Os estudos de Santos e colaboradores (2013) e Canuto e colaboradores (2010) mostraram uma boa capacidade antioxidante da bacaba quando comparada com outros frutos da região. Porém os resultados podem ser diferentes quando se avaliam espécies diferentes do mesmo fruto (HERNÁNDEZ-CARRIÓN, HERNANDO, AQUILES, 2013). É sabido que, dependendo da região aonde o fruto é colhido a quantidades de compostos bioativos presentes podem variar (PEÑAS et al., 2011; CARUSO et al., 2015).

Não foram encontrados estudos sobre os efeitos tóxicos da bacaba, e os estudos sobre a atividade antioxidante acima citados foram feitos com extratos alcoólicos do fruto. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi de avaliar a atividade antioxidante, bem como toxicológica, do extrato aquoso da bacaba-de-leque (*Oenocarpus distichus* Mart.), sendo o extrato aquoso uma das formas mais usadas e de fácil preparo pela população (como na forma de sucos, por exemplo).

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo da matéria prima: Os frutos de bacaba-de-leque (*Oenocarpus distichus* Mart.) utilizada neste estudo foram colhidos maduros. Foi verificado a ausência de danos mecânicos e contaminação visível do epicarpo. Após serem selecionados, foram higienizados em solução de hipoclorito de sódio (200 mg/L) por 15 minutos e enxaguados em água corrente. Após isto, foram mantidos congelados em freezer a -18°C até seu uso.

A espécie *Oenocarpus distichus* (Mart.) foi identificada através da confecção de exsicata depositada no Herbário do Departamento de Biologia da Fundação Universidade do Tocantins (UNITINS), sob o número 5870.

Em momento prévio a realização das análises os frutos foram descongelados em água aquecida (~80°C), descaroçados manualmente e a polpa foi separada para o preparo do extrato aquoso. Em seguida foi feita a filtração com peneira fina para a remoção dos resíduos maiores e, posteriormente filtração a vácuo com funil de Buchner e papel filtro para remoção das partículas menores. As concentrações dos extratos aquosos foram de 0,03g/mL, 0,06 g/mL e 0,13g/mL, respectivamente, para os testes de toxicidade e fenóis totais, enquanto no ensaio de poder redutor foi utilizada apenas extrato na concentração de 0,13g/mL (maior concentração), uma vez que a metodologia utilizada não exige o uso de várias concentrações.

Todos os ensaios antioxidantes e toxicológicos foram realizados no Laboratório de Ciências Básicas e Saúde (LACIBS) e as bacabas-de-leque foram mantidas congeladas no Laboratório de Técnica Dietética do Complexo Laboratorial de Nutrição, ambos da Universidade Federal do Tocantins (UFT).

Fragilidade Osmótica: Este teste, adaptado de Mayworm et al., (2008) visa avaliar o potencial hemolítico do extrato aquoso da bacaba. Amostras de sangue humano (1000 µl) foram dissolvidas com 1000 µl de cada concentração dos extratos de bacaba (grupo teste) ou apenas água destilada (grupo controle), ambos contendo solução de NaCl a 0,9% (m/v) e incubadas a 37°C por 1 hora. Em seguida foram submetidas à centrifugação a 1500 rpm por 10 minutos, retirado o sobrenadante e adicionado 500 µl de NaCl (0,9% m/v), submetendo a centrifugação novamente, repetindo o processo por mais 2 vezes para a retirada do excesso de extrato. Por fim, alíquotas de 50 µl de cada uma das concentrações foram adicionadas a tubos contendo 0,12%, 0,24%, 0,48%, 0,60%, 0,72% e 0,9% de NaCl (m/v), respectivamente, incubadas a 37°C por 30 minutos, centrifugadas a 2000 rpm por 10 minutos e submetidas a leitura da absorbância,

em espectrofotômetro, a 540 nm. Após isto foi realizado o esfregaço sanguíneo das amostras e analisados por microscopia óptica para a análise morfológica da membrana dos eritrócitos, verificando a presença de hemácias crenadas, esquizócitos ou hemácias espiculadas. O uso de sangue humano em pesquisas no LACIBS foi aprovado pelo Conselho de Ética e Pesquisa, parecer nº 066/2013.

Teste de crescimento de raiz de *Allium cepa*: Foi realizado a metodologia proposta por Meneguetti (2011) com adaptações. Foram utilizadas cebolas (*Allium cepa*) de tamanho médio e uniforme, da mesma origem, não germinadas e saudáveis, que foram postas para germinar em frascos de 50 ml, seguindo duas etapas. A primeira etapa consistiu em colocar todas as unidades de cebolas em 50 ml de água destilada durante 48 horas, em incubadora B.O.D. a 25°C, para início de crescimento das raízes. A segunda etapa consistiu em colocar as cebolas em frascos contendo 50 ml de extrato de bacaba, nas diferentes concentrações citadas (grupo teste) e outro grupo em 50 ml de água destilada (grupo controle) em incubadora B.O.D. a 25°C. As raízes foram contadas e medidas após 48 horas (no momento da troca do meio de crescimento) e novamente após 96 horas, usando régua e lente de aumento.

Os dados de número e comprimento das raízes foram usados para calcular o Índice Relativo de Crescimento e Índice de Germinação, propostos por Young et al., (2012), através das equações:

$RGI = RLS / RLC$

Onde RLS é o comprimento de raiz das amostras e RLC é o comprimento de raiz do controle

Os resultados são baseados em 3 categorias, de acordo com os efeitos observados:

- Inibição do crescimento (I): $0 < x < 0,8$
- Nenhum efeito significativo (NES): $0,8 < x < 1,2$
- Estimulação do crescimento de raiz (S): $x > 1,2$

Onde x é o valor obtido por RGI.

Teste da *Artemia salina*: Este ensaio seguiu a metodologia adaptada de Mirzaei & Mirzaei (2013), seguindo as normativas da OCDE (2004). Ovas de artêmia (*Artemia salina*) foram postas para eclodir em meio aquoso contendo 1 L de água destilada e 30 g de sal marinho (água marinha artificial) com pH ajustado para 9,0 e iluminação contínua por 72 horas, sob

temperatura de 27 a 29°C. Após eclodirem, os náuplios de artêmia foram coletados (10 unidades) e dispostas em placas de Petri, cada uma contendo 0,5 ml dos extratos, nas suas diferentes concentrações (0,03 g/mL, 0,06 g/mL e 0,13 g/mL respectivamente) e completando para 5 ml com água marinha artificial. Como controle foram colocados náuplios em água marinha artificial sem extrato diluído. Feito isto, as placas foram cobertas e colocadas em ambiente livre de luz por 24 horas e, depois, foram contados o número de náuplios mortos. Os náuplios que permaneceram imóveis por até 10 segundos foram considerados mortos.

A taxa de mortalidade foi estimada com base no número de náuplios mortos, através da seguinte equação:

% mortalidade = $(\text{dteste} - \text{dcontrole} / \text{Acontrole}) \times 100$ onde **dteste** significa o número de náuplios mortos no grupo experimental, **dcontrole** significa o número de náuplios mortos no grupo controle e **Acontrole** significa o número de náuplios vivos no grupo controle.

Quantificação de Fenóis Totais: Foi utilizada a metodologia descrita por Singleton & Rossi (1956) adaptada por Bonoli et al., (2004). Alíquotas de 0,1 ml do extrato aquoso foi diluída em 0,5 ml do reagente Folin-Ciocalteu e, posteriormente acrescentados 6 ml de água destilada, sendo submetido a agitação em vórtex por 1 minuto. Feito isso, foi adicionado 2 ml de solução de carbonato de sódio a 15%, sendo novamente submetido a agitação em vórtex por 30 segundos e, logo após, teve seu volume completado para 10 ml com água destilada. Após repouso ao abrigo da luz por 2 horas, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 750 nm, usando como “branco” todos os reagentes, exceto o extrato.

O teor de fenólicos totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras comparada a uma curva de calibração feita com ácido gálico nas concentrações de 10 a 350 µg/ml e expressos como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de extrato. A equação da reta obtida foi $Y = 0,002703 \cdot X - 0,02577$ (regressão linear) e o coeficiente de determinação (R^2) foi de 0,9939.

Poder Redutor (teste do Ferricianeto): Este ensaio foi realizado conforme metodologia descrita por Oyaizu (1986) adaptado por Abrahão (2007). Alíquotas de 0,1 mL do extrato foram diluídas em 1 mL de etanol absoluto e transferidas para tubo de ensaio contendo 2,5 mL de tampão fosfato (0,2 M pH 6,6) e 2,5 mL de ferricianeto de potássio a 1% (m/v). A mistura foi incubada em banho-maria a 45°C, por 20 minutos. Alíquotas de 2,5 mL de ácido tricloroacético a 10% (m/v) foram adicionadas ao tubo de ensaio, com posterior agitação. Em seguida, foram transferidas para outro tubo alíquotas de 2,5 mL desta solução, no qual foram adicionados 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de Cloreto Férrico a 0,1% (m/v) com posterior agitação. A

leitura das absorbâncias foi realizada a 700 nm. O aumento da absorbância indica o aumento do poder redutor. A atividade redutora dos extratos foi expressa como porcentagem de inibição em comparação ao BHT e ácido *L*-ascórbico, respectivamente, usados como padrão.

Sequestro de radicais livres pelo radical DPPH: A avaliação quantitativa da atividade antioxidante foi realizada monitorando-se o consumo do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) pelas amostras, através da medida do decréscimo da absorbância de soluções de diferentes concentrações. As medidas foram feitas em espectrofotômetro, a 515 nm, tendo como controle positivo o ácido *L*-ascórbico e o BHT, seguindo a metodologia proposta por Brand-Willians et al., (1995), com a adaptação de Pereira et al., (2012).

Inicialmente foram preparados 50 ml de solução estoque de DPPH em metanol, na concentração de 40 µg/ml, mantida sob refrigeração e protegida da luz. Foram feitas diluições de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5 e 1 µg/ml. A curva analítica foi construída a partir dos valores da absorbância a 515 nm de todas as soluções, tendo como o “branco” o metanol. As medidas de absorbância foram efetuadas em triplicata.

Soluções do extrato e do controle positivo em metanol foram diluídas nas concentrações de 250, 200, 150, 100, 50, 25 e 1 µg/ml. As leituras das absorbâncias das misturas reacionais (0,3 ml da solução da amostra ou do controle positivo e 2,7 ml da solução estoque de DPPH na concentração de 40 µg/ml) foram realizadas a 515 nm no 1º minuto e após 1 hora. A mistura de metanol (2,7 ml) e da solução metanólica do extrato (0,3 ml) foi utilizada como “branco”, sendo feito um tubo “branco” para cada concentração. Foram realizadas análises em triplicata para cada uma das concentrações.

A partir da equação da curva analítica de DPPH e dos valores de absorbância no tempo de 1 hora, para cada concentração testada, foram determinados os percentuais de DPPH remanescentes (%DPPHREM), conforme a equação 1:

$$\%DPPHREM = [DPPH]_{T=t} / [DPPH]_{T=0} \times 100$$

Onde:

$[DPPH]_{T=t}$ corresponde à concentração de DPPH no meio, após a reação com o extrato;

$[DPPH]_{T=0}$ é a concentração inicial de DPPH, ou seja, 40 µg/ml (100 µmol/ml)

A concentração eficiente, quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (CE₅₀), foi determinada a partir de uma curva exponencial de primeira ordem, obtida plotando-se na abscissa as concentrações da amostra (µg/ml) ou do controle positivo e da ordenada, a porcentagem de DPPH remanescente (%DPPHREM).

Os valores de absorbância em todas as concentrações testadas, no tempo de 1 hora, foram convertidos em porcentagem de atividade antioxidante (AA%), determinada pela equação 2:

$$\%AA = \{[Abs|Controle - (Abs|Amostra - Abs|Branco)] \times 100\} / Abs|Controle$$

Onde:

Abs/Controle é a absorbância inicial da solução metanólica de DPPH

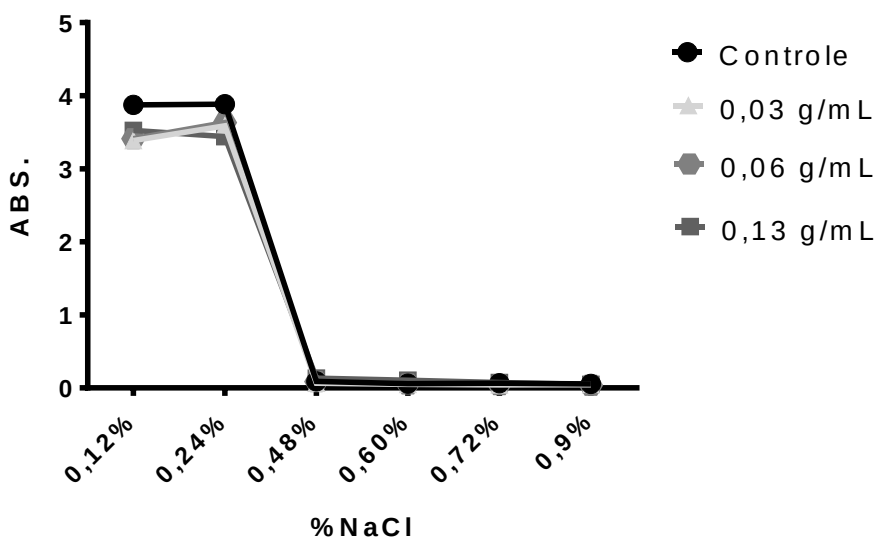
Abs/Amostra é a absorbância da mistura reacional (DPPH + amostra).

Análises Estatísticas: Todas as análises realizadas seguiram um delineamento inteiramente casualizado, tendo três repetições para cada ensaio, cada um feito em triplicata. Os dados obtidos foram agrupados e analisados através de estatística descritiva, e para comparação entre médias foi utilizada Análise de Variância – ANOVA, de dois fatores, seguido de teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Os cálculos das curvas de calibração e as análises estatísticas foram feitas através do software Microsoft Office Excel® 2013 e o programa estatístico Graph Pad Prism® 6.0.

RESULTADOS e DISCUSSÃO

A fim de atestar a segurança do uso popular da Bacaba foi utilizado o extrato aquoso nas concentrações de 0,03; 0,06 e 0,13 g/mL para mimetizarmos o uso desta fruta na forma de polpa ou suco e realizado primeiramente o teste de fragilidade osmótica (FO) (Figura 1).

Figura - 1. Fragilidade osmótica de amostras de sangue tratadas e não tratadas com extrato aquoso de *Oenocarpus distichus* Mart. (0,03; 0,06 e 0,13 g/mL).*



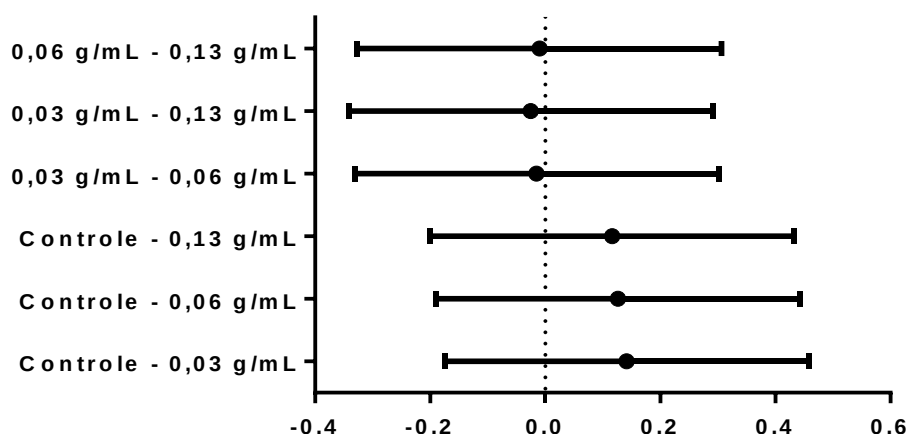
*: Leitura realizada em 540nm. Não houve diferença estatística entre os grupos experimentais e controle através do Teste de Tukey ($p \leq 0,001$).

Logo houve um maior grau de hemólise apenas nas concentrações de 0,12% e 0,24%, respectivamente e não havendo diferença significativa, porém, entre as demais concentrações e o grupo controle ($p > 0,05$). É sabido que menores concentrações de NaCl podem causar ruptura das hemácias, já que estas são altamente sensíveis a meios hipotônicos (MAIWORM et al., (2008). Porém dentre as concentrações de 0,48% a 0,9% houve queda abrupta na hemólise das mesmas, indicando que o efeito causador da alta hemólise observada pode ter sido a baixa concentração de NaCl.

Também pode se observar no gráfico acima que não houveram diferenças significantes nas diferentes concentrações de extratos utilizadas quando comparadas com o grupo controle, ou comparados entre si.

A figura abaixo (Figura 2) reforça esta afirmação, ilustrando as diferenças entre as médias das absorbâncias obtidas no teste de FO para as diferentes concentrações dos extratos e o grupo controle. Pode-se observar que não houve diferença significativa entre os grupos, e que os extratos, em suas diferentes concentrações, tiveram efeito semelhante sob as hemácias, quando comparados entre si ou com o grupo controle.

Figura 2. Diferenças entre as médias dos grupos no teste de Fragilidade Osmótica. *



*: Diferenças entre as médias calculadas das absorvâncias dos 03 grupos de extratos e o grupo controle, pelo teste Tukey, ilustrando que não houveram diferenças significantes entre os grupos de extrato e o grupo controle.

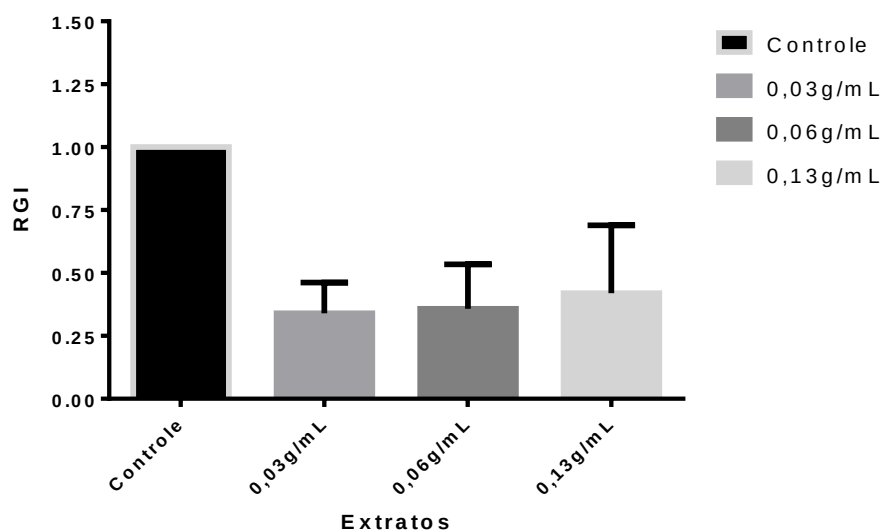
Através destes dados pode-se afirmar que, neste estudo, os extratos de bacaba não provocaram efeitos tóxicos significantes sobre as hemácias quando utilizamos concentrações similares aquelas utilizadas pela população quando do uso de sucos desta fruta.

Em um estudo realizado por Cunha et al., (2016) utilizando extratos etanólicos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) não foi observado diferença significativa no grau de hemólise entre as diferentes concentrações dos extratos, comparando com o controle. Da mesma forma, Barbosa-Filho et al., (2014) também observaram efeitos similares em seu estudo com extratos de caju (*Anacardium microcarpum* L.), ou seja, não houve alteração significativa no grau de hemólise entre as diferentes concentrações dos extratos utilizados em relação ao grupo controle ($p < 0,05$). Estes estudos reforçam a segurança do consumo destas frutas pela população.

Já no estudo de BARROS et al., (2016), no qual foram analisados propriedades hemolíticas dos óleos essenciais de pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.) e canela-de-Ceilão (*Cinnamomum zeylanicum*) foi observado que em concentrações de 50, 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, foram responsáveis pelo aumento da taxa de hemólise ($P < 0,001$), enquanto o óleo de pimenta-de-macaco, em concentrações até 35 $\mu\text{g/mL}$ mostrou um efeito oposto, ou seja, uma diminuição da taxa de hemólise, em relação ao grupo controle ($P < 0,01$).

Para o teste com a raiz de cebola o cálculo do Índice Relativo de Crescimento (RGI) das raízes de *Allium cepa* (Figura 3) postas em contato com os extratos todos os extratos provocaram inibição no alongamento das raízes, considerando que um RGI menor que 0,8 ilustra inibição do crescimento radicular, conforme Young et al., (2012).

Figura 3: Índices Relativos de Crescimento (RGI) das raízes de *Allium cepa* dos grupos tratadas e não tratadas com extrato aquoso de *Oenocarpus distichus* Mart. (0,03; 0,06 e 0,13 g/mL). *



*: Médias + Desvio-padrão dos Índices Relativos de Crescimento (RGI) das raízes de *Allium cepa* dos grupos de extratos e controle. Valores menores que 0,8 indicam que houve inibição do crescimento das raízes. Houve diferença significativa comparando os extratos em relação ao grupo controle pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), mas não houve diferença quando comparados entre si.

Entretanto, não houveram diferenças entre as concentrações testes, ou seja, todas elas exibiram efeito similar de inibição de crescimento, indicando que a inibição de crescimento das raízes não foi dose-dependente. Martins et al. (2016) encontrou resultado semelhante, em seu estudo usando infusos (chás) de diferentes partes da planta Goiaba-de-anta (*Bellucia grossularoides* L.), espécie de planta invasora da Amazônia, também usada na medicina popular, em diferentes concentrações. Foi observado que todas as amostras provocaram inibição significativa do crescimento das cebolas ($p < 0,05$).

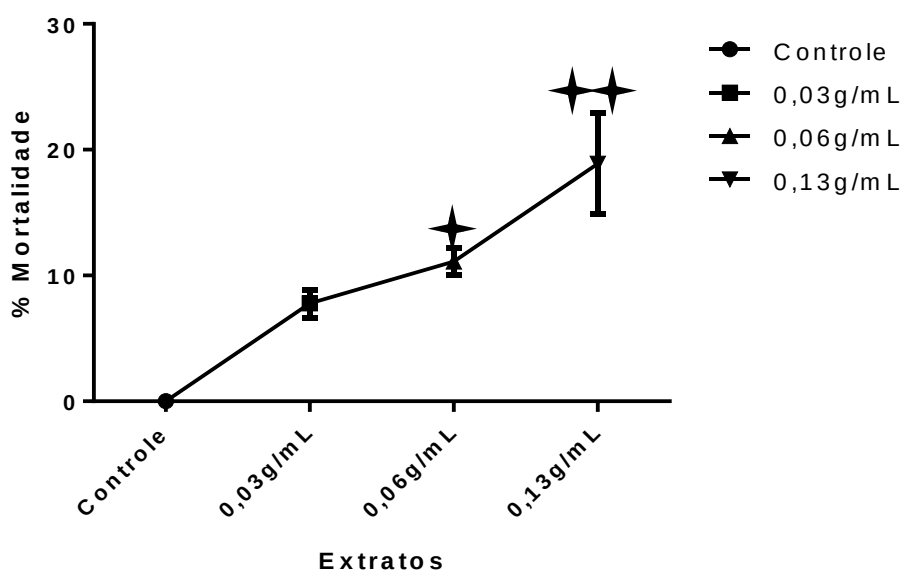
O teste toxicológico em raiz de *Allium cepa* apresenta maior aplicabilidade para avaliação toxicológica em águas residuais ou para avaliar a atividade citotóxica e genotóxica de substâncias, como alguns solventes ou fármacos (RANK, 2003; LEME, MARIN-MORALES, 2009; LUTTERBECK et al., 2015). Entretanto também é um teste que tem sido

explorado para a investigação de potencial tóxico de extratos de plantas (VICENTINI et al., 2001; TEIXEIRA et al., 2003; BAGATINI, SILVA, TEDESCO, 2007).

Investigando uma atividade antiproliferativa provocada pela bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) e jenipapo (*Genipa americana* L.), em ensaios com culturas de células HepG2, que é um tipo de célula relacionada com tumores hepáticos e altamente estudada neste tipo de ensaio (WOLFE et al., 2008), Finco et al. (2013) encontraram forte inibição da proliferação provocada pelos extratos estudados. Logo podemos sugerir que a Bacaba apresenta potencial para a inibição da replicação celular, sendo necessário, entretanto, outras análises com o propósito de esclarecer se, de fato, isto ocorre, e como ocorre, deixando mais elucidado este processo.

Embora observadas diferenças significativas na taxa de mortalidade, o cálculo de DL_{50} representa um melhor valor para indicar toxicidade, uma vez que este valor nos mostra a dose letal capaz de provocar a mortalidade de 50% dos náuplios (OECD, 2004) no teste da *Artemia salina* (Figura 4).

Figura 4: Curva da taxa de mortalidade dos náuplios de *Artemia salina* frente a exposição ao extrato aquoso de *Oenocarpus distichus* Mart. (0,03; 0,06 e 0,13 g/mL) por 24h. *



*: Curva dose-resposta da taxa de mortalidade dos náuplios submetidos aos tratamentos com os extratos. O gráfico representa as médias + erro padrão da média dos mesmos. Os extratos na concentração de 0,06 e 0,13 g/mL diferiram significativamente do controle pelo teste Tukey ($p < 0,05$ e $p < 0,001$ respectivamente).

A DL_{50} foi obtida plotando-se uma curva-padrão contendo, nas abcissas, as concentrações dos extratos utilizadas e, nas ordenadas, o percentual da taxa de mortalidade

provocada pelos extratos. Neste estudo, o valor de DL_{50} foi de 0,410 g/mL, com um coeficiente de correlação R^2 de 1 ($p < 0,01$). Isto mostra que, embora observado aumento da taxa de mortalidade dos náuplios com o aumento da concentração do extrato, a dose letal calculada é muito maior que a concentração máxima utilizada neste experimento, mostrando a baixa toxicidade do extrato aquoso da Bacaba.

Fonseca et al. (2013) avaliando o potencial tóxico de extratos aquosos de sementes de frutos do cerrado em náuplios de *Artemia salina*, encontrou que os extratos das sementes de baru, cajá-manga, seriguela, tarumã e veludo não exibiram atividade tóxica, mesmo nas maiores concentrações (0,5g/mL), ao passo que os extratos das sementes de araticum, cagaita, jatobá, mangaba e tucumã exibiram atividade tóxica aos náuplios, sendo o de semente de araticum com DL_{50} menor (11,7 mg/mL) e o de semente de cagaita com DL_{50} maior (57,0 mg/mL).

Analisando o potencial tóxico do tamarindo (*Tamarindus indica*) em náuplios de *Artemia salina*, Khairunnuur et al. (2009) usando extratos aquosos da polpa e das sementes (0,1g/mL), através de extração à quente (40°C, 60°C e 100°C, respectivamente), encontrou DL_{50} de $>1000 \mu\text{g/mL}$ para o extrato da polpa, sendo considerado não tóxico. Já a DL_{50} das sementes foi de 26 a 28 $\mu\text{g/mL}$, sendo considerado de baixa toxicidade.

Para as análises dos teores de fenóis totais, os resultados estão agrupados na Tabela 1 que mostra as médias dos extratos em diferentes concentrações, expressos em mg EAG/g de extrato.

Tabela 1: Teor médio de fenóis totais dos extratos expressos em mg de Equivalente de Ácido Gálico/g de extrato. *

Concentração dos extratos	Média $\pm$ DP (mg EAG/100g)
0,03g/mL	0,09 $\pm$ 0,01
0,06g/mL	0,14 $\pm$ 0,01
0,13g/mL	0,26 $\pm$ 0,01

*: Média + desvio padrão do teor de fenóis totais dos extratos em diferentes concentrações.

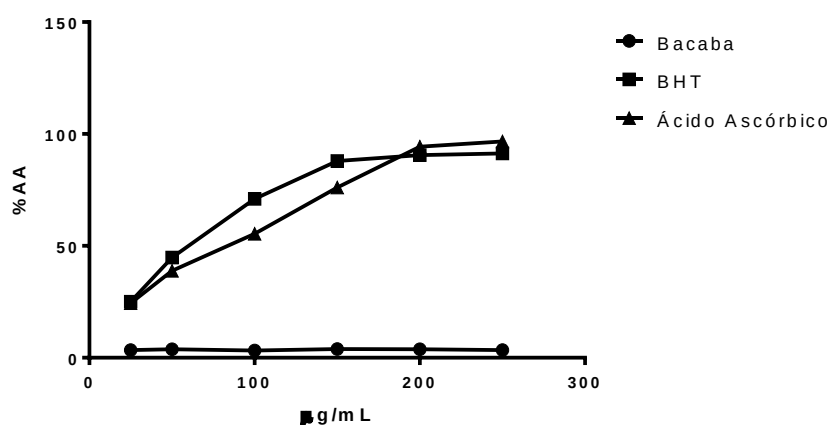
Alguns trabalhos encontraram valores superiores ao encontrado em nosso, com valores entre 1,1 a 125 mg EAG/100g (CANUTO et al., 2010; FINCO et al., 2012; GUIMARÃES, 2013; RIBEIRO, 2015; CARVALHO et al., 2016), porém cada estudo utiliza protocolos diferenciados como o uso de solventes como o metanol e acetona que melhor extraem os compostos fenólicos (ROCKENBACH et al., 2008; MARQUES, VIGO, 2009), além de

promover sua concentração. Justificando assim a diferença entre os valores encontrados. Também influencia na composição dos frutos as condições climáticas, regiões geográficas, tempo de exposição ao sol e composição de solos, podendo também explicar a diferença no teor de compostos bioativos em frutos do mesmo subgênero botânico e cultivar (PEÑAS et al., 2011; CARUSO et al., 2015; KUMAR et al., 2017).

Logo a maior concentração obtida neste trabalho foi de 0,26 mg EAG/g utilizando o extrato aquoso e se aproximando do uso que a população faz destes frutos.

A figura seguinte (Figura 5) mostra o percentual de atividade antioxidante (%AA) da bacaba, obtidos através do teste do sequestro de radicais livres DPPH.

Figura 5: Percentual de Atividade Antioxidante (%AA) do extrato de *Oenocarpus distichus* Mart. e dos grupos controle. *



*: Comparação do %AA do extrato de bacaba e dos controles usados neste ensaio.

Observa-se, que o extrato de bacaba obteve uma atividade antioxidante bastante inferior aos padrões testados, o BHT e ácido ascórbico.

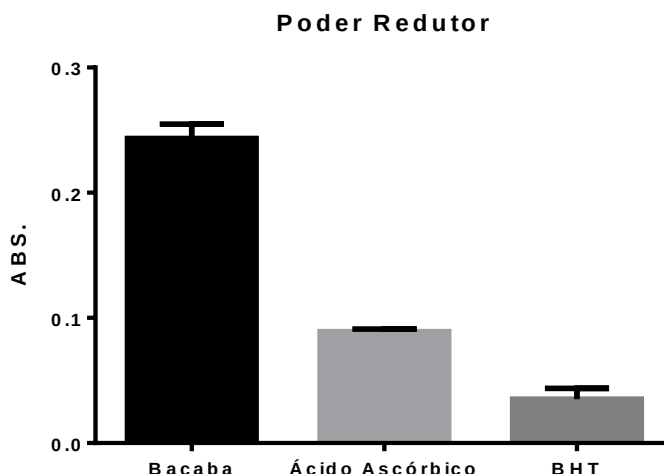
Os resultados deste tipo de ensaio revelam também a CE_{50} , que é a concentração do extrato capaz de reduzir em 50% o teor de DPPH do meio reacional (OLIVEIRA, 2015). No entanto, com este extrato, o %AA foi tão inferior que, ao se interpolar uma curva de calibração, não foi possível se obter tal dado, pois a curva obtida mostra dados flutuantes.

Baseado na metodologia de Brand-Willians et al. (1995), onde foram testados vários compostos isolados para avaliar suas propriedades de sequestro de radicais livres, os resultados foram expressos em %DPPHRem, que é o percentual de DPPH não consumido no meio reacional, bem como interpolação da CE_{50} . Outras metodologias (RUFINO et al., 2007;

SOUSA et al., 2007) dispõem os resultados em %AA (atividade antioxidante) e, ainda, a quantidade de fruto (parte comestível) capaz de reduzir 1 grama de DPPH (dispostos em g de fruto/g DPPH).

A figura 6 mostra o resultado do teste de poder redutor do extrato de bacaba.

Figura 6: Poder redutor dos extratos de *Oenocarpus distichus* Mart. e dos grupos controle. *



*: Médias $\pm$ DP das absorbâncias dos extratos de bacaba e dos padrões. Houve um aumento do poder redutor dos extratos comparados com os dois padrões ($p < 0,001$).

As absorbâncias do grupo dos extratos foram muito maiores do que nos grupos controle. Contrariamente aos ensaios anteriores, a bacaba mostrou um potencial antioxidante maior que os antioxidantes Ácido Ascórbico e BHT, tornando a solução, ora amarelo pálido, em tons de verde azulado, indicando a redução do íon férrico do ferricianeto.

Uma possibilidade de justificar esse comportamento do extrato estudado seria a presença de outros compostos não fenólicos que também são capazes de reduzir os íons férricos do ferricianeto, convertendo-o em ferrocianeto, provocando a formação do azul da Prússia, já que o mesmo não reage seletivamente com compostos fenólicos, podendo reagir com outros fitoquímicos que não apresentam atividade antioxidante, como alguns ácidos orgânicos e tióis que podem reduzir o ferro, mas não são, de fato, antioxidantes (BERKER et al., 2012).

Em trabalhos investigando o potencial antioxidante do café (*Coffea arabica*), Abrahão (2007) encontrou um poder redutor de 45,5% e 30,2% para os cafés cru e torrado, respectivamente, comparados com o BHT. Santos et al. (2007) encontrou maior poder redutor

em amostras de café torrado do que em cafés verdes, porém menor poder redutor em cafés muito torrados (20,3%) do que em cafés de menor torrefação (36,8%), também comparados com o antioxidante sintético BHT.

CONCLUSÃO

Foi possível mostrar, através deste estudo, que o extrato usado não demonstrou atividade antioxidante satisfatória. Contudo, também não foi encontrado efeito tóxico significativo, mostrando que a bacaba-de-leque, na forma usada pela população, se mostrou potencialmente segura para consumo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHÃO, S. A. Qualidade da Bebida e Atividade Antioxidante do Café *in vitro* e *in vivo*. 92p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2007.

AGBOR, G. A.; VINSON, J. A.; DONNELLY, P. E.; Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. **International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics**, v. 3, n. 8, p. 147-156, 2014.

ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

ARCHELA, E.; DALL'ANTONIA, L. H.; Determinação de Compostos Fenólicos em Vinho: Uma revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 34, n. 2, p. 193-210, 2013.

BAGATINI, M. D., SILVA, A. C. F., TEDESCO, S. B.; Uso do Sistema Teste de *Allium cepa* como Bioindicador de Genotoxicidade de Infusões de Plantas Medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 3, p. 444-447, 2007.

BAILÃO, E. F. L. C. et al. Bioactive Compounds Found in Brazilian Cerrado Fruits. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 23760-23783, 2015.

BARBOSA FILHO, V. M. et al. Phytochemical Constituents, Antioxidant Activity, Cytotoxicity and Osmotic Fragility Effects of Caju (*Anacardium microcarpum*). **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 280–288, 2014.

BARROS, F. J. et al. Activity of Essential Oils of *Piper aduncum* and *Cinnamomum zeylanicum* by Evaluating Osmotic and Morphologic Fragility of Erythrocytes. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 8, p. 505–512, 2016.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: the FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BONOLI, M. et al. Antioxidant Phenols in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Flour: Comparative Spectrophotometric Study among Extraction Methods of Free and Bound Phenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 5195-5200, 2004.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.

BROINIZI, P. R. B. 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**, v. 27, n. 4, p. 902-908, 2007.

BUTSAT, S.; SIRIAMORNPU, S. Effect of Solvent Types and Extraction Times on Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Activity in Leaf Extracts of *Amomum chinense* C. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 1, p. 180-187, 2016

CANUTO, G. A. B. et al. Caracterização Físico-Química de Polpas de Frutos da Amazônia e sua Correlação com a Atividade Anti-Radical Livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010

CARUSO, M. C. et al. Improvement of Analytical Methods for the Determination of Polyphenolic Bioactive Compounds in Berry Fruits. **Journal of Chemistry**. 2015, ID 384051, (6).

CARVALHO, A. V. et al. Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Bacaba-de-Leque (*Oenocarpus distichus* Mart.) Genotypes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 54, p. 1–9, 2016.

CAZARIN, K. C. C.; CORRÊA, C. L.; ZAMBRONE, F. A. D.; Redução, Refinamento e Substituição do Uso de Animais em Estudos Toxicológicos: Uma Abordagem Atual. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, n. 3, p. 289-299, 2004.

CUNHA, F. A. B. et al. Cytotoxic and Antioxidative Potentials of Ethanolic Extract of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) Leaves on Human Blood Cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 84, p. 614–620, 2016.

FINCO, F. D. B. A.; BÖSER, S.; GRAEVE, L. Antiproliferative Activity of Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) and Jenipapo (*Genipa americana* L.) Phenolic Extracts: A Comparison of Assays. **Nutrition & Food Science**, v. 43, n. 2, p. 98-106, 2013.

FINCO, F. D. B. A. et al. Antioxidant Activity and Characterization of Phenolic Compounds from Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) Fruit by HPLC-DAD-MS. **Journal of Agriculture Food and Chemicals**, v. 60, p. 7665–7673, 2012.

FONSECA, R. C. et al. Assessment of Toxic Potential of Cerrado Fruit Seeds Using *Artemia salina* Bioassay. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 2, p. 251-256, 2013;

GUIMARÃES, A. C. G. Potencial funcional e nutricional de farinhas de jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) e bacaba (*Oenocarpus bacaba*). 2013. 109p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2013.

HERNÁNDEZ-CARRIÓN, M.; HERNANDO, I.; QUILES, A. Tissue microstructure, physicochemical properties, and bioactive compound locations in different sweet pepper types. **Food Science and Technology. International**, v. 21, n. 1, p. 3–13, 2013.

KHAIRUNNUUR, F. A. et al. Nutritional Composition, *in vitro* Antioxidant Activity and *Artemia salina* L. Lethality of Pulp and Seed of *Tamarindus indica* L. Extracts. **Malaysian Journal of Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 65-75, 2009.

LEME, D. M., MARIN-MORALES, M. A.; *Allium cepa* Test in Environmental Monitoring: A Review on its Application. **Mutation Research**, v. 682, p. 71–81, 2009.

LUTTERBECK, C. A. et al. Evaluation of the Toxic Effects of Four Anti-Cancer Drugs in Plant Bioassays and its Potency for Screening in the Context of Waste Water Reuse for Irrigation. **Chemosphere**, v. 135, p. 403–410, 2015.

MAIWORM, A. I. et al. Osmotic and Morphological Effects on Red Blood Cell Membrane: Action of an Aqueous Extract of *Lantana camara*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n.1, p. 42-46, 2008.

KUMAR, S. et al. Effect of Climate Change on Phytochemical Diversity, Total Phenolic Content and *in vitro* Antioxidant Activity of *Aloe vera* (L.) Burm. f. **BioMed Central Research Notes**, v.10, n. 60, p. 1-12, 2017.

MARQUES, L. C.; VIGO, C. L. S. Preparação e Padronização de Extratos Vegetais. In: LEITE, J. P. V.; **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. 1ª. Ed. São Paulo: São Paulo: Atheneu, p.169-204.

MARTINS, R. T. M. C. et al. Antimicrobial and Phytotoxicity Activities of Aqueous Crude Extract from the Amazonian Ethnomedicinal Plant *Bellucia grossularioides* (L.) Triana. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 10, p. 130-138, 2016.

MELO, E. A. et al. Capacidade antioxidante de frutas. Braz. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 2, 2008.

MENEGUETTI, D. U. O. et al. Adaptação da Técnica de Micronúcleo em *Allium cepa* para Futuras Análises de Mutagenicidade dos Rios da Região do Vale do Jamari, Rondônia, Amazônia Ocidental. **Revista Pesquisa & Criação**, v. 10, n. 2, p. 181-187, 2011.

MIRZAEI, M.; MIRZAEI, A. Comparison of the *Artemia salina* and *Artemia uramiana* Bioassays for Toxicity of 4 Iranian Medicinal Plants. **International Research Journal of Biological Sciences**, v. 2, n. 3, p. 49-54, 2013.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853–858, 2000.

OLIVEIRA, D. S. et al. Vitamina C, Carotenoides, Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante de Goiaba, Manga e Mamão Procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum Health Sciences**, v. 33, n. 1, p. 89-98, 2011.

OLIVEIRA, G. L. S.; Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais *in vitro* pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.1, p. 36-44, 2015

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD), Test n. 202: *Daphnia sp.* Acute Immobilisation Test. **OECD Publishing**, Paris. 2004. Disponível em: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-202-daphnia-sp-acute-immobilisation-test_9789264069947-en;jsessionid=yp6y5olz0t1.x-oecd-live-02. Acessado em: 15/05/2016

OYAIZU, M. Studies on Products of Browning Reaction: Antioxidative Activities of Products of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. **Japan Journal of Nutrition**, v. 44, p. 307-315, 1986.

PEÑAS, E. et al. Bioactive Compounds, Myrosinase Activity, and Antioxidant Capacity of White Cabbages Grown in Different Locations of Spain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 3772–3779, 2011.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of Solvent and Certain Food Constituents on Different Antioxidant Capacity Assays. **Food Research International**, v.39, p.791-800, 2006.

PEREIRA, R. J. et al. Potencial Antioxidante de Frutos de Duas Espécies de Jambolão: *Syzygium cumini* (L.) Skeels e *Syzygium paniculatum* Gaertn. **Revista SPCNA – Sociedade Portuguesa de Ciência da Nutrição e Alimentação**, v. 18, n. 3, p. 63-70, 2012.

RANK, J. The Method of *Allium cepa* Anaphase-Telophase Chromosome Aberration Assay. **Ekologija**, v. 1, p. 38-42, 2003.

RIBEIRO, C. L. Composição Centesimal, Valor Nutricional e Aspectos Fitoquímicos da Bacaba (*Oenocarpus distichus* Mart.). 84p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Tocantins, Palmas-TO, 2015.

ROCKENBACH, I. 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**, v. 28, p. 238-244, 2008.

RUFINO, M. S. M. et al. Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado Técnico Online**. Embrapa: Fortaleza. 2007. 9p.

RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacities of 18 Non-Traditional Tropical Fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996–1002, 2010.

SANO, E.E. et al. Land Cover Mapping of the Tropical Savanna region in Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 166, p. 113–124, 2010.

SANTOS, M. F. G.; ALVES, R. E.; ROCA, M.; Carotenoid Composition in Oils Obtained from Palm Fruits from the Brazilian Amazon. **Grasas y Aceites**, v. 66, n. 3, 2015. Disponível em: <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/viewFile/1552/1749>. Acesso em: 15/11/2016.

SANTOS, M. F. G. et al. Major components in oils obtained from Amazonian palm fruits. **Grasas y Aceites**, v.64, n.3, p. 328-334, 2013.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-phosphotungstic Acid Reagent. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1956.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

TEIXEIRA, R. O. et al. Assessment of Two Medicinal Plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in *in vitro* and *in vivo* assays. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 4, p. 551-555, 2003.

VICENTINI, V. E. P. et al. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: Medicinal Herbal Tea Effects on Vegetal and Animal Test Systems. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 593-598, 2001.

WOLFE, K. L. et al. Cellular Antioxidant Activity of Common Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 18, p. 8418-8426, 2008.

YOUNG, B. J. et al. Toxicity of the Effluent from an Anaerobic Bioreactor Treating Cereal Residues on *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p. 182–186, 2012.

ANEXO I – Normas da Revista Brasileira de Plantas Medicinais



ISSN 1516-0572 *versão impressa*
ISSN 1983-084X *versão on-line*

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Escopo e política](#)
- [Forma e preparação de manuscritos](#)
- [Envio de manuscritos](#)

Escopo e política

A **Revista Brasileira de Plantas Medicinais - RBPM** é publicação trimestral, exclusivamente eletrônica a partir de 2012, e destina-se à divulgação de trabalhos científicos originais, revisões bibliográficas, e notas prévias, que deverão ser inéditos e contemplar as grandes áreas relativas ao estudo de plantas medicinais. Manuscritos que envolvam ensaios clínicos deverão vir acompanhados de autorização da Comissão de Ética pertinente para realização da pesquisa. Os artigos podem ser redigidos em português, inglês ou espanhol, sendo obrigatória a apresentação do resumo em português e em inglês, independente do idioma utilizado. Os artigos devem ser enviados por e-mail: rbpm.sbpmp@gmail.com, com letra Arial 12, espaço duplo, margens de 2 cm, em "Word for Windows". Os artigos, em qualquer modalidade, não devem exceder 20 páginas. No e-mail, enviar telefone para eventuais contatos urgentes.

Para a publicação, os artigos aprovados submetidos à RBPM a partir de 1º de Abril de 2013 (inclusive), terão custo de tramite de 300 reais (trezentos reais) a ser efetivado pelos autores/responsáveis somente na ocasião do recebimento da carta de aceitação do artigo, quando receberão o respectivo boleto e instruções para o pagamento.

Forma e preparação de manuscritos

REVISÕES BIBLIOGRÁFICAS E NOTAS PRÉVIAS

Revisões e Notas prévias deverão ser organizadas basicamente em: Título, Autores, Resumo, Palavras-chave, Abstract, Key words, Texto, Agradecimento (se houver) e Referência Bibliográfica.

Atenção especial deve ser dada aos artigos de Revisão evitando a citação Ipsi-litteris de textos, que configura plágio por lei.

ARTIGO CIENTÍFICO

Os artigos deverão ser organizados em:

TÍTULO: Deverá ser claro e conciso, escrito apenas com a inicial maiúscula, negrito, centralizado, na parte superior da página. Se houver subtítulo, deverá ser em seguida ao título, em minúscula, podendo ser precedido de um número de ordem em algarismo romano. Os nomes comuns das plantas medicinais devem ser seguidos pelo nome científico (binômio latino e autor) entre parênteses.

AUTORES: Começar pelo último sobrenome dos autores por extenso (nomes intermediários somente iniciais, sem espaço entre elas) em letras maiúsculas, 2 linhas abaixo do título. Após o nome de cada autor deverá ser colocado um número sobrescrito que deverá corresponder ao endereço: instituição, endereço da instituição (rua e número ou Caixa Postal, cidade, sigla do estado, CEP, e-mail). Indicar o autor que deverá receber a correspondência. Os autores devem ser separados com ponto e vírgula.

RESUMO: Deverá constar da mesma página onde estão o título e os autores, duas linhas abaixo dos autores. O resumo deverá ser escrito em um único parágrafo, contendo objetivo, resumo do material e método, principais resultados e conclusão. Não deverá apresentar citação bibliográfica.

Palavras-chave: Deverão ser colocadas uma linha abaixo do resumo, na margem esquerda, podendo constar até cinco palavras.

ABSTRACT: Apresentar o título e resumo em inglês, no mesmo formato do redigido em português, com exceção do título, apenas com a inicial em maiúscula, que virá após a palavra ABSTRACT.

Key words: Abaixo do Abstract deverão ser colocadas as palavras-chave em inglês, podendo constar até cinco palavras.

INTRODUÇÃO: Na introdução deverá constar breve revisão de literatura e os objetivos do trabalho. As citações de autores no texto deverão ser feitas de acordo com os seguintes exemplos: Silva (1996); Pereira & Antunes (1985); (Souza & Silva, 1986) ou quando houver mais de dois autores Santos et al. (1996).

MATERIAL E MÉTODO (CASUÍSTICA): Deverá ser feita apresentação completa das técnicas originais empregadas ou com referências de trabalhos anteriores que as descrevam.

As análises estatísticas deverão ser igualmente referenciadas. Na metodologia deverão constar os seguintes dados da espécie estudada: nome popular; nome científico com autor e indicação da família botânica; nome do botânico responsável pela identificação taxonômica; nome do herbário onde a exsicata está depositada, e o respectivo número (Voucher Number); época e local de coleta, bem como, a parte da planta utilizada.

RESULTADO E DISCUSSÃO: Poderão ser apresentados separados, ou como um só capítulo, contendo a conclusão sumarizada no final.

AGRADECIMENTO: deverá ser colocado neste capítulo (quando houver).

REFERÊNCIA: As referências devem seguir as normas da ABNT 6023 e de acordo com os exemplos:

Periódicos:

AUTOR(ES) separados por ponto e vírgula, sem espaço entre as iniciais. Título do artigo. **Nome da Revista, por extenso**, volume, número, página inicial-página final, ano.

KAWAGISHI, H. et al. Fractionation and antitumor activity of the water-insoluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies. **Carbohydrate Research**, v.186, n.2, p.267-73, 1989.

Livros:

AUTOR. **Título do livro**. Edição. Local de publicação: Editora, Ano. Total de páginas.

MURRIA, R.D.H.; MÉNDEZ, J.; BROWN, S.A. **The natural coumarins: occurrence, chemistry and biochemistry**. 3.ed. Chinchester: John Wiley & Sons, 1982. 702p.

Capítulos de livros:

AUTOR(ES) DO CAPÍTULO. Título do Capítulo. In: AUTOR (ES) do LIVRO. **Título do livro:** subtítulo. Edição. Local de Publicação: Editora, ano, página inicial-página final.
HUFFAKER, R.C. Protein metabolism. In: STEWARD, F.C. (Ed.). **Plant physiology: a treatise**. Orlando: Academic Press, 1983. p.267-33.

Tese ou Dissertação:

AUTOR. **Título em destaque:** subtítulo. Ano. Total de páginas. Categoria (grau e área de concentração) - Instituição, Universidade, Local.

OLIVEIRA, A.F.M. **Caracterização de Acanthaceae medicinais conhecidas como anador no nordeste do Brasil**. 1995. 125p. Dissertação (Mestrado - Área de

Concentração em Botânica) - Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Trabalho de Evento:

AUTOR(ES). Título do trabalho. In: Nome do evento em caixa alta, número, ano, local. **Tipo de publicação em destaque...** Local: Editora, ano. página inicial-página final. VIEIRA, R.F.; MARTINS, M.V.M. Estudos etnobotânicos de espécies medicinais de uso popular no Cerrado. In: INTERNATIONAL SAVANNA SYMPOSIUM, 3., 1996, Brasília. **Proceedings...** Brasília: Embrapa, 1996. p.169-71.

Publicação Eletrônica:

AUTOR(ES). Título do artigo. **Título do periódico em destaque**, volume, número, página inicial-página final, ano. Local: editora, ano. Páginas. Disponível em: <<http://www.....>>. Acesso em: dia mês (abreviado) ano. PEREIRA, R.S. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Revista de Saúde Pública**, v.38, n.2, p.326-8, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 18 abr. 2005.

Não citar resumos e relatórios de pesquisa, a não ser que a informação seja muito importante e não tenha sido publicada de outra forma. Comunicações pessoais devem ser colocadas no rodapé da página onde aparecem no texto e evitadas se possível. Devem ser também evitadas citações do tipo: Almeida (1994) citado por Souza (1997).

TABELAS: Devem ser inseridas no texto, com letra do tipo Arial 10, espaço simples. A palavra TABELA (Arial 12) deve ser em letras maiúsculas, seguidas por algarismo arábico; já quando citadas no texto devem ser em letras minúsculas (Tabela).

FIGURAS: As ilustrações (gráficos, fotográficas, desenhos, mapas) devem ser em letras maiúsculas seguidas por algarismo arábico, Arial 12, e inseridas no texto. Quando citadas no texto devem ser em letras minúsculas (Figura). As legendas e eixos devem ser em Arial 10, enviadas em arquivos separados, com resolução 300 DPI, 800x600, com extensão JPG ou TIFF, para impressão de publicação.

Processo de avaliação: Os manuscritos são analisados por, pelo menos, dois pareceristas, segundo um roteiro de análise baseado principalmente no conteúdo científico. Os pareceristas recomendarão a aceitação com ou sem necessidade de retornar; recusa, ou sugerir reformulações, e que, neste caso, o artigo reformulado retornará ao parecerista até que a avaliação seja concluída. Quando no mínimo 2 pareceristas aprovarem, sem necessidade de retornar, o artigo estará pronto para ser publicado e o autor receberá a carta de aceite bem como as instruções para pagamento dos custos de tramite (R\$300 reais)*. Os nomes

dos pareceristas permanecerão em sigilo, omitindo-se também perante estes os nomes dos autores.

* Somente os artigos aprovados que foram submetidos a partir de 1º de abril de 2013 terão custo para publicação.

Direitos autorais: Ao encaminhar um manuscrito para a RBPM os autores devem estar cientes de que, se aprovado para publicação, o copyright do artigo, incluindo os direitos de reprodução em todas as mídias e formatos, deverá ser concedido exclusivamente para as Memórias.

ATENÇÃO: Artigos que não estiverem de acordo com essas normas serão devolvidos.

Observação: São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos. Contudo, reserva-se ao Conselho Editorial, o direito de sugerir ou solicitar modificações que julgarem necessárias.

Envio de manuscritos

Os artigos devem ser enviados por e-mail: rbpm.sbp@gmail.com

ANEXO II: Qualis da Revista Brasileira de Plantas Mediciniais

Qualis Periódicos

Evento de Classificação:

CLASSIFICAÇÕES DE PERIÓDICOS QUADRIÊNIO 2013-2016

Área de Avaliação:

☒

CIÊNCIA DE ALIMENTOS

+

ISSN:

☐

Título:

☒

Revista Brasileira de Plantas Medicinais

Classificação:

☐

-- SELECIONE --

Consultar

Cancelar

Periódicos

ISSN	Título	Área de Avaliação	Classificação
1983-084X	REVISTA BRASILEIRA DE PLANTAS MEDICINAIS	CIÊNCIA DE ALIMENTOS	B2
1516-0572	REVISTA BRASILEIRA DE PLANTAS MEDICINAIS (IMPRESSO)	CIÊNCIA DE ALIMENTOS	B2

ANEXO III: COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO