

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DESREPLICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS DOS  
FRUTOS DE *Mauritia flexuosa* L.f. POR CROMATOGRAFIA  
LÍQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

**Viviane Guedes de Oliveira**

**Manaus - Amazonas**

**Maio – 2014**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Viviane Guedes de Oliveira**

**DESREPLICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS DOS  
FRUTOS DE *Mauritia flexuosa* L.f. POR CROMATOGRAFIA  
LÍQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração em Química Orgânica.

**Orientadora: Profa. Dra. Rita de Cássia Saraiva Nunomura**

**Manaus - Amazonas**

**Maio – 2014**

## Ficha Catalográfica

(Catalogação realizada pela Biblioteca Central da UFAM)

O48d Oliveira, Viviane Guedes de.  
Desreplicação de substâncias fenólicas dos frutos de *Mauritia flexuosa* L.f por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas / Viviane Guedes de Oliveira. - 2014.  
133 f. : il. color..  
Dissertação (mestrado em Química) — Universidade Federal do Amazonas.  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rita de Cássia Saraiva Nunomura.

1. Buruti 2. Palmeira – Amazônia 3. Florestas – Conservação - Amazonas  
4. Química Orgânica I. Nunomura, Rita de Cássia Saraiva, orientador II.  
Universidade Federal do Amazonas III. Título

CDU (1997): 582.545 (811) (043.3)

**Viviane Guedes de Oliveira**

**DESREPLICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS DOS FRUTOS  
DE *Mauritia flexuosa* L.f. POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA  
ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração em Química Orgânica.

Aprovada em 09 de maio de 2014.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Rita de Cássia Saraiva Nunomura  
Presidente - UFAM

---

Prof. Dr. Pierre André de Souza  
Membro – UFAM-ICET

---

Prof. Dr. Afonso Duarte Leão de Souza  
Membro - UFAM

*À minha mãe por ser meu porto  
seguro, pelo amor, cuidado e  
presença constantes.  
À meus amigos, minha família  
de coração.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus por todo seu cuidado, toda a sabedoria que tem me concedido e todas as maravilhas que tem realizado durante toda a minha vida;

À minha amada e dedicada mãe Neise, a quem tanto amo e que tem me acompanhado por todo esse trajeto, me apoiado a cada dia, orado pela minha vida e meus estudos e tem se esforçado para que minha casa seja um lar feliz e abençoado;

À minha família que tem acreditado em mim dia após dia;

À minha orientadora Dra. Rita Nunomura e ao Dr. Sergio Nunomura que desde muito jovem tem sido ajudadores e orientadores, pelo incentivo, apoio, confiança, conhecimento e oportunidade que me deram;

Aos meus colegas de laboratório Magno e Sabrina, que me auxiliaram nas análises e obtenção de resultados e mesmo no apoio nos momentos mais aflitos;

Aos meus amigos Kethellin e Lucas, que sempre estiveram comigo e que nos momentos de alegria sorriram comigo e nos momentos mais difíceis foram braços e mãos que me ajudaram e acolheram;

À Andreia, Thiago, Rita Cynnara, Renan, Samirimi, Berna, Paula Suelen e Edizon, por serem companheiros de todas as horas, sejam boas, ruins ou mesmo de trabalho, pelos momentos de crise e momentos de alegria nesses três anos;

Ao Programa de Pós Graduação em Química e aos professores por terem sido mestres de excelência e pela oportunidade da realização do curso de mestrado;

À CAPES pela bolsa concedida.

## RESUMO

A espécie *Mauritia flexuosa* L. f. é uma palmeira conhecida popularmente como buriti. Na região os frutos dessa espécie são comumente consumidos na região *in natura* e na forma de licores, sorvetes e sucos. Além disso, o óleo extraído desses frutos é comercializado na fabricação de cosméticos e outras partes da palmeira são utilizadas na cobertura de moradias ribeirinhas e artesanato. Com base na utilização popular da espécie e em estudos previamente descritos na literatura, foi realizado o estudo dos constituintes presentes nos frutos da espécie, que foi iniciado com a caracterização da cadeia graxa dos óleos extraídos das partes dos frutos. A constituição dos óleos de cascas e polpa de frutos de buriti teve como componente principal o ácido oleico, 77,6% e 79,2%, respectivamente. No óleo das sementes, o ácido graxo principal foi o ácido linoleico (47,2%) estando de acordo com a composição já descrita na literatura e sendo assim considerados óleos que trazem benefícios à saúde devido. Foi determinada a atividade antioxidante das frações obtidas dos extratos metanólicos dos frutos utilizando os ensaios FRAP e DPPH. Em ambos os ensaios, observou-se que a fração com maior atividade antioxidante foi a fração acetato de etila das cascas dos frutos que apresentou correlação com o teor de fenólicos totais determinado pelo método Folin-Ciocalteu. A caracterização química das frações dos extratos metanólicos foi realizada por um método do tipo “*targeted analysis*” baseado em CL-UV-EM, desenvolvido neste trabalho e que empregou uma coluna de fase reversa (PFP) com ionização por electrospray e analisador de alta resolução do tipo “*Time-of-flight*”. Com base nesse método, foi construída uma biblioteca com dados de tempo de retenção, espectros de ultra-violeta e íons em modo positivo e negativo, de vinte e oito padrões comerciais de substâncias fenólicas. Em seguida, as frações clorofórmicas, acetato de etila e hidroalcoólica de cascas, polpa e sementes de frutos de *Mauritia flexuosa* L.f. foram analisadas por esse método e foi possível identificar nove substâncias fenólicas: ácido 3,4-dihidroxibenzóico, ácido gálico, ácido siríngico, apigenina, apigenina-7-glicosídeo, baicaleína, isoramnetina, luteolina e quercitrina, até então não descritos na literatura como constituintes dos frutos de buriti.

Palavras-chave: buriti, ácidos graxos, antioxidante, desreplicação, CL-EM.

## ABSTRACT

The *Mauritia flexuosa* L. f (Arecaceae) is a regional palm and popularly known as buriti. The fruits of this species are commonly consumed fresh or as liqueurs, ice cream and juices. The oil extracted from its fruits is used to produce cosmetics and other parts of the palm are used to cover houses and riverine craft. Based on popular use of the species and studies previously described in the literature, the study of metabolites of the fruits of the species was conducted. First the characterization of fatty acids of oils extracted from different parts of the fruits was determined. The peel and fruit pulp oils of buriti had as the main component oleic acid, 77.6% and 79.2 %, respectively. The main fatty acid present in the oil seeds was linoleic acid (47.2%) that it is in agreement with data published in the literature. The antioxidant activity of fractions of methanol extracts of fruits was determined by FRAP and DPPH assays. In both trials, it was observed that the fraction with the highest antioxidant activity was the ethyl acetate fraction from fruit peels that showed correlation with the content of total phenolics determined by the Folin-Ciocalteu assay. The chemical characterization of methanolic extracts was performed by a targeted analysis, which was developed in this work, based on LC-UV-MS that employed RP-HPLC with a PFP column, ionization by electrospray, and a time-of-flight (TOF) detector. Based on this method, a dereplication library was built with retention time, UV spectra and MS fragmentation data acquired both in positive and negative mode of twenty eight samples of phenolics standards commonly found in plant material. All fractions from different parts of fruits of *Mauritia flexuosa* Lf were analysed by this method and eleven phenolic constituents were identified: (-)-gallo catechin gallate, ( $\pm$ ) Narigenina, 3,4-dihydroxybenzoic acid, gallic acid, syringic acid, baicalein, isorramnetina, luteolin, quercitrin and naringin, which have not been previously in the literature from buriti.

Key words: buriti, fatty acids, antioxidant, dereplication, LC-MS

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies oleaginosas da família Arecaceae presentes na região amazônica (Cespe, 2009 - adaptada).....	23
Tabela 2. Composição de ácidos graxos totais do óleo extraído da polpa de buriti (Rodrigues <i>et al.</i> , 2010).....	31
Tabela 3. Substâncias isoladas e/ou identificadas de <i>Mauritia flexuosa</i> L.f.....	33
Tabela 4. Atividade antimicrobiana de extratos de <i>Mauritia flexuosa</i> L.f.....	45
Tabela 5. Dados dos padrões comerciais utilizados na preparação da mistura de padrões. ....	58
Tabela 6. Codificação das amostras de buriti analisadas por CL-EM. ....	64
Tabela 7. Massas dos frutos coletados e agrupados. BFR= Buriti frutos reservados; BFE= Buriti frutos para extração. ....	65
Tabela 8. Massas dos extratos obtidos e respectivos teores de extrativos.....	65
Tabela 9. Massas das frações obtidas após partição líquido-líquido. ....	66
Tabela 10. Tempos de retenção para padrões FAME analisados por CG-DIC.....	67
Tabela 11. Composição da cadeia graxa dos óleos de frutos de buriti obtidos por CG-DIC. ....	71
Tabela 12. Valores obtidos para a concentração de fenólicos totais nas frações de <i>Mauritia flexuosa</i> L.f.....	72
Tabela 13. Resultados da capacidade de redução de Fe (III) das frações dos frutos de <i>Mauritia flexuosa</i> L.f. ....	74
Tabela 14. Listagem de padrões para a coluna C18 nos modos positivo e negativo. ....	80
Tabela 15. Listagem de padrões para a coluna PFP nos modos positivo e negativo. ....	84
Tabela 16. Constituintes fenólicos identificados nas frações dos frutos de <i>M. flexuosa</i> L.f. ....	101

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Metabolismo de fenilpropanóides e seus derivados. (Weisshaar e Jenkins, 1998). .....	41
Esquema 2. Rota biossintética para flavonóides e estilbenos (Dewick, 2009). .....	43
Esquema 3. Principais classes de flavonóides (Lobo e Lourenço, 2007). .....	44
Esquema 4. Procedimento de extração realizado em Soxhlet. ....	51
Esquema 5. Esquema de particionamento realizado para extratos metanólicos de <i>Mauritia flexuosa</i> L.f. ....	52
Esquema 6. Estrutura de demonstração da redução do reagente Folin-Ciocalteu ...	54
Esquema 7. Estruturas do TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com .Fe (II) e Fe (III). .....	55

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A) Área de cultivo de buritis. (B) Detalhe da copa de um espécime de <i>Mauritia flexuosa</i> .	27
Figura 2. (A) Cacho coletado com os frutos fixados; (B) Detalhe das cascas e coloração dos frutos; (C) Frutos de <i>Mauritia flexuosa</i> coletados. Fonte: <i>Vieira et al.</i> , (2006).	28
Figura 3. Mapa de ocorrência da espécie <i>Mauritia flexuosa</i> L.f. (Rocha e Silva, 2005; <i>Vieira et al.</i> , 2006; Lorenzi <i>et al.</i> , 2004).	29
Figura 4. Artigos fabricados a partir de polpa e óleo de buriti.	29
Figura 5. Artesanato utilizando as folhas e sementes de buriti ( <i>Vieira et al.</i> , 2006).	30
Figura 6. Carotenóides predominantes no óleo de Buriti.	32
Figura 7. Tocoferóis identificados nas sementes e polpa dos frutos de <i>Mauritia flexuosa</i> .	33
Figura 8. Estrutura básica dos flavonóides.	40
Figura 9. Frutos de buriti e separação de cascas, polpa e sementes.	50
Figura 10. Perfil cromatográfico em coluna apolar e polar do óleo das cascas de buriti obtido por CG-DIC.	68
Figura 11. Perfil cromatográfico em coluna apolar e polar do óleo da polpa de buriti obtido por CG-DIC.	69
Figura 12. Perfil cromatográfico em coluna apolar e polar do óleo da polpa de buriti obtido por CG-DIC.	70
Figura 13. Curva de calibração de ácido gálico.	72
Figura 14. Curva de calibração linear da %CS em função da Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ) de quercetina.	74
Figura 15. Curva de calibração linear da %CS em função da Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ) de quercetina.	75
Figura 16. $\text{CS}_{50}$ para frações das cascas dos frutos de <i>Mauritia flexuosa</i> L.f, controle positivo (quercetina) e extrato etanólico de <i>Ginkgo biloba</i> .	76
Figura 17. Interface do software DataAnalysis utilizado no processamento do cromatogramas CL-EM obtidos.	78
Figura 18. Cromatograma obtido para a mistura de padrões utilizando a coluna C18 e modo positivo análise.	80

Figura 19. Cromatograma obtido para a mistura de usando a coluna C18 e o modo negativo de análise. ....	80
Figura 20. Estrutura do Pentafluorofenil (PFP).....	82
Figura 21. Cromatograma obtido para a mistura de padrões usando a coluna PFP e o modo positivo de análise. ....	82
Figura 22. Cromatograma obtido para a mistura de padrões usando a coluna PFP e o modo negativo de análise. ....	83
Figura 23. Cromatogramas obtidos para o padrão ácido trans-cinâmico: (A) BPC no modo positivo; (B) EIC no modo positivo; (C) BPC no modo negativo; (D) EIC no modo negativo.....	85
Figura 24. Cromatogramas BPC da fração clorofórmica das cascas dos frutos de <i>M. flexuosa</i> L.f. ....	88
Figura 25. Cromatogramas BPC da fração acetato de etila das cascas dos frutos de <i>M. flexuosa</i> L.f. ....	89
Figura 26. Cromatogramas BPC da fração clorofórmica da polpa dos frutos de <i>M. flexuosa</i> L.f. ....	90
Figura 27. Cromatogramas BPC da fração clorofórmica da polpa dos frutos de <i>M. flexuosa</i> L.f. ....	91
Figura 28. Cromatogramas BPC da fração acetato de etila da polpa dos frutos de <i>M. flexuosa</i> L.f. ....	92
Figura 29. Cromatogramas BPC da fração hidroalcoólica da polpa dos frutos de <i>M. flexuosa</i> L.f. ....	93
Figura 30. Cromatogramas BPC da fração clorofórmica das sementes dos frutos de <i>M. flexuosa</i> L.f. ....	94
Figura 31. Cromatogramas BPC da fração acetato de etila das sementes dos frutos de <i>M. flexuosa</i> L.f. ....	95
Figura 32. Cromatogramas BPC da fração hidroalcoólica de sementes dos frutos de <i>M. flexuosa</i> L.f. ....	96
Figura 33. (A) Cromatograma BPC modo negativo coluna C18 para a fração clorofórmica das sementes, pico 7,1 min; (B) EIC 179,0338 <i>m/z</i> ; (C) EIC 353,0867 <i>m/z</i> ; (D) Espectro de massas para o pico 7,1 min. ....	97
Figura 34. (A) Cromatograma BPC modo positivo coluna C18 para a fração acetato de etila das sementes, pico 7,2 min; (B) EIC 181,0495 <i>m/z</i> ; (C) EIC 355,1023 <i>m/z</i> ; (D) Espectro de UV e (E) Espectro de massas para o pico 7,2 min. ....	98

Figura 35. (A) Cromatograma BPC modo positivo coluna C18 para a fração acetato de etila das sementes, pico 7,3 min; (B) EIC 181,0495 m/z; (C) EIC 355,1023 m/z; (D) Espectro de UV e (E) Espectro de massas para o pico 7,3 min.....	99
Figura 36. (A) Cromatograma BPC modo negativo coluna PFP para a fração acetato de etila das sementes, pico 11,9 min; (B) EIC 179,0338 m/z; (C) EIC 353,0867 m/z; (D) Espectro de UV e (E) Espectro de massas para o pico 7,3 min.....	99
Figura 37. (A) Espectro de UV e (B) Espectro de massas para o pico 11,3 min modo negativo coluna PFP. ....	100
Figura 38. (A) Espectro de UV e (B) Espectro de massas para o pico 11,8 min modo negativo coluna PFP. ....	100

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo positivo. Ampliação dos picos 1 a 9. ....	113
Anexo 2. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo positivo. Ampliação dos picos 10 a 17.....	113
Anexo 3. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo positivo. Ampliação dos picos 18 a 26.....	114
Anexo 4. Cromatograma UV obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonóides para a coluna C18 e modo positivo de análise. ....	114
Anexo 5. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo negativo. Ampliação dos picos 1 a 8. ....	115
Anexo 6. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo negativo. Ampliação dos picos 9 a 16.....	115
Anexo 7. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo negativo. Ampliação dos picos 17 a 20.....	116
Anexo 8. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo negativo. Ampliação dos picos 21 a 26.....	116
Anexo 9. Cromatograma UV obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonóides para a coluna C18 e modo negativo de análise. ....	117
Anexo 10. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo positivo. Ampliação dos picos 1 a 8. ....	117
Anexo 11. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo positivo. Ampliação dos picos 9 a 14.....	118

Anexo 12. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo positivo. Ampliação dos picos 15 a 20.....	118
Anexo 13. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo positivo. Ampliação dos picos 21 a 28.....	119
Anexo 14. Cromatograma UV obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonóides para a coluna PFP e modo positivo de análise.....	119
Anexo 15. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo negativo. Ampliação dos picos 1 a 8. ....	120
Anexo 16. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo negativo. Ampliação dos picos 9 a 17.....	120
Anexo 17. Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo negativo. Ampliação dos picos 18 a 27.....	121
Anexo 18. Cromatograma UV obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonóides para a coluna PFP e modo negativo de análise. ....	121
Anexo 19. Cromatograma CL-EM coluna C18 (BPC) no modo negativo. Apigenina e Baicaleína. Comparação dos tempos de retenção.....	122
Anexo 20. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no modo negativo. Kaempferol e Luteolina. Comparação dos tempos de retenção.....	122
Anexo 21. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no modo negativo. (+)-Catequina e (-)-Epicatequina. Comparação dos tempos de retenção. ....	123
Anexo 22. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no modo negativo. Ácido Nordihidroguaiarético e Quercetina . Comparação dos tempos de retenção. ....	123
Anexo 23. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no modo negativo. (-)-Epigallocatequina galato e (-)-Galocatequina galato. Comparação dos tempos de retenção. ....	124
Anexo 24. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no modo positivo. Coeluição de ácido caféico e ácido clorogênico em 7,0 minutos. ....	124
Anexo 25. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no modo negativo. Coeluição de ácido caféico e ácido clorogênico em 7,0 minutos. ....	125

Anexo 26. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no positivo. Coeluição de Ácido trans-cinâmico e Resveratrol em 20,1 minutos. ....	125
Anexo 27. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no negativo. Coeluição de Ácido trans-cinâmico e Resveratrol em 20,1 minutos. ....	126
Anexo 28. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo positivo. Baicaleína e Apigenina. Comparação dos tempos de retenção.....	126
Anexo 29. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo positivo. Kaempferol e Luteolina. Comparação dos tempos de retenção. ....	127
Anexo 30. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo positivo. (+)-Catequina e (-)-Epicatequina. Comparação dos tempos de retenção. ....	127
Anexo 31. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo positivo. Ácido Nordihidroguaiarético e Quercitrina. Comparação dos tempos de retenção. ....	128
Anexo 32. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo positivo. (-)-Galocatequina galato e (-)-Epigalocatequina galato. Comparação dos tempos de retenção. ....	128
Anexo 33. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo negativo. Apigenina e Baicaleína. Comparação dos tempos de retenção.....	129
Anexo 34. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo negativo. Kaempferol e Luteolina. Comparação dos tempos de retenção. ....	129
Anexo 35. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo negativo. (+)-Catequina e (-)-Epicatequina. Comparação dos tempos de retenção. ....	130
Anexo 36. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo negativo. Ácido nordihidroguaiarético e Quercitrina. Comparação dos tempos de retenção. ....	130
Anexo 37. Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo negativo. (-)-Epigalocatequina galato e (-)-Galocatequina galato. Comparação dos tempos de retenção. ....	131
Anexo 38. Identificação de compostos fenólicos das frações dos frutos de <i>M. flexuosa</i> L.f. em coluna C-18 e PFP no modo negativo e positivo.....	132

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

- %CS – Porcentagem da capacidade de Sequestro
- ACN - Acetonitrila
- AcOEt – Acetato de Etila
- BPC – Cromatograma do Pico Base
- CA-LTQPN - Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais
- CG-DIC – Cromatografia Gasosa com Detector por Ionização de Chama
- CHCl<sub>3</sub> – Clorofórmio
- CL-EM – Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa
- CL-ESI-EM – Cromatografia Líquida acoplado a Espectrometria de Massas com fonte Eletrospray
- CL-RMN – Cromatografia Líquida acoplada a Ressonância Magnética Nuclear
- CLUP-ESI-EM/EM - Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada a Espectrometria de Massa com Ionização por Eletrospray
- CPPN-INPA – Coordenação de Pesquisa de Produtos Naturais-Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
- CS<sub>50</sub> – Capacidade de sequestro 50%
- DPPH – 2,2 -difênil-2-picril-hidrazina
- EIC – Cromatograma de Íons Extraídos
- ESI – Electrospray
- FAME – Fatty Acid Methyl Ester
- Fe(SO<sub>4</sub>).7H<sub>2</sub>O – Sulfato ferroso heptahidratado
- FRAP – Ferric Reducing Antioxidant Power
- H<sub>2</sub>O – Água
- HCOOH – Ácido fórmico
- HOAc/O<sup>-</sup>Ac – Tampão Acetato
- HPLC – High Pressure Liquid Chromatography
- INPA - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
- LDL – Low density lipoproteins
- m/z* – relação massa/carga
- MeOH – Metanol
- MIC – Mínima concentração inibitória

MUFAs – Monounsaturated Fatty Acids

NaHCO<sub>3</sub> – Bicarbonato de sódio

PAL – fenilalanina amônia-liase

PFP – Pentafluorofenil

PUFAs – Poliunsaturated Fatty Acids

TPTZ - 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina

*t<sub>r</sub>* – Tempo de retenção

UV – Ultravioleta

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>23</b>
2.1. FAMÍLIA ARECACEAE.....	23
2.2. <i>MAURITIA FLEXUOSA</i> L.F.....	27
2.2.1. Aspectos botânicos .....	27
2.2.2. Ocorrência e distribuição.....	28
2.2.3. Utilização popular.....	29
2.3. ESTUDOS DE <i>MAURITIA FLEXUOSA</i> L.F.....	30
2.3.1. Estudos químicos dos óleos de buriti.....	30
2.3.2. Substâncias isoladas e/ou identificadas da espécie .....	33
2.3.3. Atividades cicatrizante e antimicrobiana .....	45
2.3.4. Atividade antioxidante .....	46
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>48</b>
3.1. OBJETIVO GERAL .....	48
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	48
<b>4. METODOLOGIA .....</b>	<b>49</b>
4.1. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO .....	49
4.2. COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO .....	49
4.3. TRIAGEM E PREPARO DO MATERIAL COLETADO .....	49
4.4. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS.....	50
4.6. TEOR DE EXTRATIVOS .....	52
4.8. QUANTIFICAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS PELO MÉTODO FOLIN-CIOCLATEU .....	54
4.9. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	55
4.9.1. Capacidade redutora do Ferro (FRAP) .....	55
4.9.2. Captura de radicais livres de DPPH.....	56
4.10. ANÁLISE DE FENÓLICOS E FLAVONOIDES POR CL – EM.....	57
4.10.1. Solventes e padrões.....	57
4.10.2. Preparo da solução dos padrões.....	57
4.10.3. Condições de análise .....	63
4.10.4. Análise de padrões e amostras.....	63

<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>65</b>
5.1. COLETA E TRIAGEM DO MATERIAL VEGETAL .....	65
5.2. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS .....	65
5.3. PARTICIONAMENTO LÍQUIDO-LÍQUIDO .....	66
5.4. DETERMINAÇÃO DA CADEIA GRAXA DOS ÓLEOS OBTIDOS .....	66
5.5. QUANTIFICAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS .....	72
5.6. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	73
5.6.1. <i>Capacidade redutora do Ferro (FRAP)</i> .....	73
5.6.2. <i>Captura de radicais livres DPPH</i> .....	75
5.7. ANÁLISE DE FENÓLICOS E FLAVONÓIDES POR CL – EM .....	77
5.7.1. <i>Análise da mistura de padrões usando a coluna C18</i> .....	78
5.7.2. <i>Análise da mistura de padrões usando a coluna PFP</i> .....	82
5.7.3. <i>Análise das amostras</i> .....	86
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>104</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>106</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>113</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O consumo de vegetais e frutas desempenha papel importante na manutenção dos organismos vivos. A cada dia busca-se a descoberta e desenvolvimento de alimentos funcionais, os quais são fontes não só de nutrientes, mas também são capazes de prevenir e tratar doenças. Alimentos funcionais são definidos como alimentos que são utilizados para prevenir e tratar certas desordens e doenças por seu valor nutritivo. Por séculos a humanidade vem explorando as propriedades de alguns alimentos para tratar, mitigar ou prevenir doenças. No entanto, a grande quantidade de evidências científicas disponíveis sobre a relação entre a ingestão de alimentos e da incidência da doença levou a um interesse crescente em alimentos que proporcionam benefícios fisiológicos adicionais (Jiménez-Colmero *et al.*, 2001).

Frutos de palmeiras são as principais fontes de óleos e gorduras vegetais, porém apenas algumas palmeiras não foram exploradas o suficiente para evidenciar todo o seu potencial (Montúfar *et al.*, 2010). A grande maioria dos frutos amazônicos é consumida na forma *in natura*, fazendo com que a realização de estudos sobre a caracterização química das espécies consumidas na região contribuam para o aumento do consumo e a sua inserção nos mercados nacionais e internacionais.

Dentre os principais óleos fixos (não voláteis), que são atualmente utilizados na indústria de cosméticos, encontram-se: o de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.), buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) e castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) (Cespe, 2009).

A família Areaceae é conhecida por englobar espécies ricas em gorduras insaturadas (cerca de 61,0 % das gorduras totais), que são consideradas gorduras saudáveis e com potencial cardioprotetor (Rodrigues *et al.*, 2010).

A espécie (*Mauritia flexuosa*), pertencente à família Areaceae, encontra-se amplamente distribuída na região amazônica, que além do Brasil inclui Colômbia, Venezuela, Equador, Peru, Trinidad, Guianas e Bolívia (Vieira *et al.*, 2006). O buriti, nome popular dado ao fruto de *Mauritia flexuosa*, fornece um dos principais óleos não voláteis utilizados na indústria de cosméticos, juntamente com os óleos açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.), e castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) (Cespe, 2009).

Dentre as classes de substâncias presentes neste fruto nativo da região amazônica estão os tocoferóis, os carotenóides e os fitoesteróis (Silva *et al.*, 2009). Os tocoferóis são componentes funcionais de alimentos e apresentam propriedades antioxidantes tais como da vitamina E. Devido a essas propriedades, atribui-se a estes compostos, a redução de doenças cardiovasculares e determinados tipos de câncer (Costa *et al.*, 2010).

Carotenóides são pigmentos naturais extensamente encontrados na natureza e estão entre os compostos pigmentares mais importantes na alimentação dos seres humanos devido aos seus efeitos benéficos à saúde. Os carotenóides são de importância significativa por serem precursores de vitaminas A, fortalecedores do sistema imunológico e antioxidantes, prevenindo o surgimento de doenças degenerativas (Lima, *et al.*, 2009; Rodriguez-Amaya *et al.*, 2008).

Quanto aos fitoesteróis, estes são também componentes ativos de todos os alimentos de origem vegetal e considerados substâncias que combatem vários tipos de câncer (Costa *et al.*, 2010).

Estudos prévios realizados com extratos dos frutos de buriti também sugerem a presença de flavonóides, tais como a rutina e a quercetina, e de ácidos fenólicos como os ácidos clorogênico e caféico, detentores de atividade antioxidante e que agregam atividade antimicrobiana aos extratos analisados (Koolen *et al.*, 2013).

Tendo em vista que a maioria dos estudos realizados anteriormente com o buriti foram conduzidos com óleos extraídos da polpa e com da própria polpa *in natura* e que as partes restantes deste alimento funcional tem sido descartadas sem receberem a devida atenção em trabalhos fitoquímicos, o presente estudo foi direcionado à exploração individualizada das partes constitutivas dos frutos de buriti (cascas, polpa e sementes) e visa a identificação de metabólitos secundários que agreguem valor ao fruto por inteiro.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Família Arecaceae

As palmeiras, espécimes pertencentes à família Arecaceae, são plantas muito características da flora tropical e constituem um dos grupos ecologicamente mais importantes dentre as plantas, tendo praticamente todas as suas partes aproveitadas, tanto na alimentação quanto no uso medicinal. Adicionalmente, têm sido utilizadas sob vários aspectos pelo homem da região amazônica para suprir diversas necessidades, como fonte energética na dieta alimentar, na construção de casas, utensílios caseiros; como bebida, ou fazendo parte da arborização regional (Bacelar-Lima *et al.*, 2006; Mendonça e Araújo, 1999).

As arecáceas são plantas lenhosas ou herbáceas das monocotiledôneas e pertencem à ordem Arecales. É um grupo natural de plantas com aspecto muito característico que permite a identificação sem grandes dificuldades (Lorenzi *et al.*, 2004).

O Brasil possui numerosas e diversas variedades de palmeiras, que se destacam tanto pela quantidade de produção, quanto pelo valor comercial e os óleos que produzem (Cespe, 2009).

A Tabela 1 apresenta gêneros e espécies da família Arecaceae que produzem frutos oleaginosos na região amazônica.

**Tabela 1.** Espécies oleaginosas da família Arecaceae presentes na região amazônica (Cespe, 2009 - adaptada).

<b>Gênero ASTROCARYUM</b>	<b>Nome popular</b>
<i>Astrocaryum vulgare</i> Mart.	Tucumã
	Tucumã-Comum
	Tucumã-piririca
<i>Astrocaryum aculeatum</i> G. Mey	Tucumã-açu
	Tucumã-açu-do-pará

Cont. **Tabela 01.** Espécies oleaginosas da família Arecaceae de acordo com os gêneros. (Cespe, 2009 - adaptada).

<b>Gênero ASTROCARYUM</b>	<b>Nome popular</b>
	Tucumã-arara
<i>Astrocaryum acaule</i> Mart.	Tucumãí
	Tucumã-da-várzea
	Tucumãí-da-terra-firme
	Tucumãí-açu
<i>Astrocaryum jauari</i> Mart.	Jauari
<i>Astrocaryum murumuru</i> Mart.	Murumuru
<i>Astrocaryum gynacanthum</i> var. <i>mumbaca</i> (Mart.) Trail	Mumbaca
	Murumuru-da-terra-firme
	Murumuruí
<i>Astrocaryum sciophilum</i> (Miq.) Pulle	Urumuru-iri
<b>Gênero ATTALEA</b>	
<i>Attalea speciosa</i> Mart. ex Spreng.	Babaçu
	Curuá-pixuna
	Curuá-preto
<i>Attalea eichleri</i> (Drude) A. J. Hend.	Indaiá-açu
	Indaiá-verdadeira
	Indaiá-mirim
<i>Attalea spectabilis</i> Mart.	Curuatinga
	Curuá-piranga
<i>Attalea microcarpa</i> Mart.	Curuai
<i>Attalea maripa</i> (Aubl.) Mart.	Inajá

Cont. **Tabela 01.** Espécies oleaginosas da família Arecaceae de acordo com os gêneros. (Cespe, 2009 - adaptada).

<b>Gênero ATTALEA</b>	<b>Nome popular</b>
<i>Attalea phareolata</i> Mart. ex Spreng.	Urucuri
<b>Gênero SYAGRUS</b>	
<i>Syagrus cocoides</i> Mart.	Piririma
	Jatá
<i>Syagrus inajai</i> (Spruce) Becc.	Jareua
	Pupunha-do-porco
	Pupunharana
	Inajá
<b>Gênero LEOPOLDINIA</b>	
<i>Leopoldinia pulchra</i> Mart.	Jaraiúva
<i>Leopoldinia piassaba</i> Wallace	Piaçava
<b>Gênero OENOCARPUS</b>	
<i>Oenocarpus distichus</i> Mart. e <i>O. bacaba</i> Mart.	Bacaba
<i>Oenocarpus minor</i> Mart.	Bacabinha
<i>Oenocarpus bataua</i> Mart.	Patauá
<i>Oenocarpus mapora</i> H. Kast.	Ciambo
<b>Gênero BACTRIS</b>	
<i>Bactris acanthocarpa</i> Mart. var. <i>trillianae</i> (Barb. Rodr.) Hend.	Marajá
<i>Bactris major</i> var. <i>infesta</i> (Mart.) Drude	Marajá
<i>Bactris turbinocarpa</i> Barb. Rodr.	Marajá
<i>Bactris maraja</i> Barb. Rodr.	Marajá
<i>Bactris constanciae</i> Barb. Rodr.	Marajá

Cont. **Tabela 01.** Espécies oleaginosas da família Arecaceae de acordo com os gêneros. (Cespe, 2009 - adaptada).

<b>Gênero BACTRIS</b>	<b>Nome popular</b>
<i>Bactris brongniartii</i> Mart.	Marajá-açu
<i>Bactris maraja</i> var. <i>juvuensis</i> (Trail.) Hend.	Marajá-da-matta
<i>Bactris maraja</i> var. <i>maraja</i>	Marajarana
<i>Bactris gasipaes</i> Kunth	Pupunha
	Pupunha-piranga
	Pupunha-marajá
	Tapiré
<b>Gênero DESMONCUS</b>	
<i>Desmoncus polyacanthos</i> Mart.	Jacitara
<b>Gênero MAURITIA</b>	
<i>Mauritia flexuosa</i> L.f.	Buriti
<i>Mauritia flexuosa</i> Mart.	Miriti ou buriti
<b>Gênero ACROCOMIA</b>	
<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart.	Mucajá
	Mucajá-pequeno
<b>Gênero EUTERPE</b>	
<i>Euterpe oleracea</i> Mart. e <i>Euterpe precatoria</i> Mart.	Açaí
<b>Gênero ELAEIS</b>	
<i>Elaeis oleifera</i> (Kunth) Cortés ex Prain.	Caiaué
<b>Gênero RAPHIA</b>	
<i>Raphia taedigera</i> (Mart.) Mart.	Jupati

Além da larga utilização para extração de óleos vegetais, os frutos e sementes das palmeiras são utilizados na alimentação do homem e de animais, e as folhas e estipes são comumente empregados na construção de casas (cobertura, assoalho e paredes) pelas populações do interior da Amazônia (Bacelar-Lima *et al.*, 2006).

## 2.2. *Mauritia flexuosa* L.f.

### 2.2.1. Aspectos botânicos

De acordo com o sistema Cronquist, a espécie estudada apresenta a seguinte classificação botânica:

- Reino: Plantae
- Divisão: Magnoliophyta
- Classe: Equisetopsida
- Subclasse: Magnoliidae
- Ordem: Arecales
- Família: Arecaceae
- Gênero: *Mauritia*
- Espécie: *Mauritia flexuosa* L.f.

Conhecida popularmente como buriti, miriti, muriti, buritizeiro, moriti e carandá-guaçu (Lorenzi *et al.*, 2004), a espécie *Mauritia flexuosa* L.f. é uma planta dióica, inerme ou armada com pequenos acúleos nos folíolos. Atinge de 2 a 25 metros de altura e possui estipe solitário e aéreo. Suas folhas medem cerca 3,5 m de comprimento, tendo em média cada indivíduo 14 unidades, sendo estas costopalmadas (Figura 1).



**Figura 1.** (A) Área de cultivo de buritis. (B) Detalhe da copa de um espécime de *Mauritia flexuosa*.

Seus frutos são marrom-avermelhados, globosos e possuem de 5 a 4 cm; epicarpo coberto com escamas sobreposta (Figura 2C). Mesocarpo carnoso de coloração amarelada (Figura 2B) e endocarpo não diferenciado. Apresenta sementes esféricas e irregulares. Um exemplar da palmeira de buriti produz de 40 a 360 quilos de frutos por ano. Em um hectare manejado podem ser produzidas de 2,5 a 23 toneladas de frutos por ano. Estima-se que uma palmeira de buriti produz de 1 a 9 cachos e, cada cacho (Figura 2A), de 600 a 1200 frutos (Vieira *et al.*, 2006).

Geralmente, o buritizeiro floresce de setembro a dezembro e frutifica de janeiro a julho e, por vezes, a partir de novembro ou dezembro. Os frutos maduros podem ser encontrados entre março e outubro (Shanley *et al.*, 2010).



**Figura 2.** (A) Cacho coletado com os frutos fixados; (B) Detalhe das cascas e coloração dos frutos; (C) Frutos de *Mauritia flexuosa* coletados. Fonte: Vieira *et al.*, (2006).

### 2.2.2. Ocorrência e distribuição

O gênero *Mauritia* é representado por palmeiras muito grandes, solitárias ou em grupos, compreende duas espécies similares, a *Mauritia flexuosa* L.f., que fora considerada a mesma *Mauritia vinifera* e está distribuída na América do Sul, e *Mauritia carana* A. Wallace, que ocorre nos Estados do Amazonas e Roraima. Todas as sinônimas ocorrem em florestas fechadas ou abertas (campinas), em solos mal drenados e arenosos (Vieira *et al.*, 2006; Lorenzi *et al.*, 2004).

O buritizeiro, como é conhecido a palmeira *Mauritia flexuosa* no Brasil, é encontrada nos estados do Pará, Amazonas, Amapá, Rondônia, Goiás, Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso, Ceará, Maranhão, Piauí e Tocantins, ocorrendo ainda em países

como Colômbia, Venezuela, Equador, Peru, Trinidad, Guianas, Bolívia (Figura 3) (Rocha e Silva, 2005).



**Figura 3.** Mapa de ocorrência da espécie *Mauritia flexuosa* L.f. (Rocha e Silva, 2005; Vieira *et al.*, 2006; Lorenzi *et al.*, 2004).

### 2.2.3. Utilização popular

Do buritizeiro, são extraídos frutos, folhas e seiva proveniente do corte da palmeira. É um fruto importantíssimo na alimentação de grupos indígenas e comunidades rurais.

Os frutos do buriti, cuja parte principal utilizada é a polpa, apresentam grande variedade de aplicações. Quando *in natura*, são utilizados no preparo de farinha, sucos, vinhos, licores, doces e sorvetes (Figura 4). Do óleo extraído da polpa e encaminhado à indústria são fabricados xampus, sabonetes, cremes para cabelos, hidratantes, óleos corporais e bronzeadores. Na utilização popular, este óleo é também utilizado na culinária e no tratamento de afecções cutâneas, como picadas de insetos. Do corte da própria árvore é extraída a seiva, em pequena quantidade, da qual é reduzida e utilizada como mel que apresenta 92% de sacarose (Vieira *et al.*, 2006).



**Figura 4.** Artigos fabricados a partir de polpa e óleo de buriti.

Em estudo realizado por Jardim e Medeiros (2006) as sementes deste fruto aparecem ainda sendo utilizadas popularmente no tratamento de inflamações externas.

Das folhas do buriti são forjadas cordas que apresentam uma série de aplicações, como confecção de redes, telas e diversos artefatos artesanais como bolsas, carteiras, bonecas e jóias (Figura 5). No aspecto artesanal, também são aproveitadas as sementes dos frutos de buriti com as quais são confeccionados brincos, anéis, pulseiras e colares.



**Figura 5.** Artesanato utilizando as folhas e sementes de buriti (Vieira *et al*, 2006).

## 2.3. ESTUDOS DE *Mauritia flexuosa* L.f.

### 2.3.1. Estudos químicos dos óleos de buriti

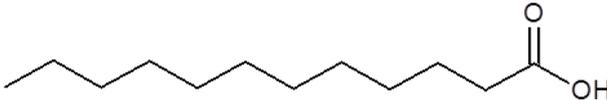
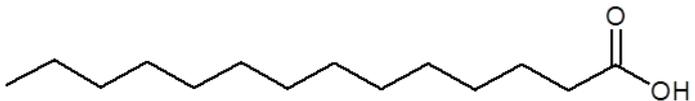
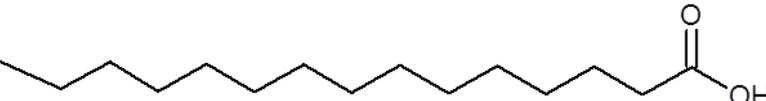
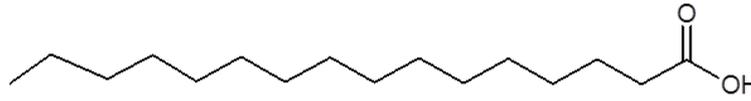
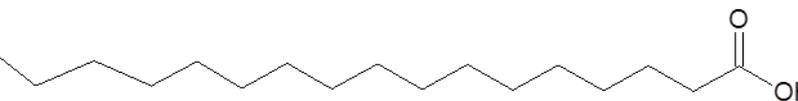
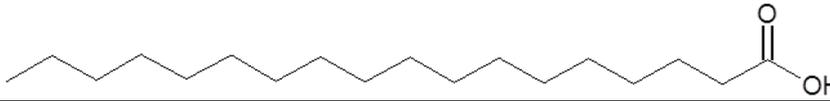
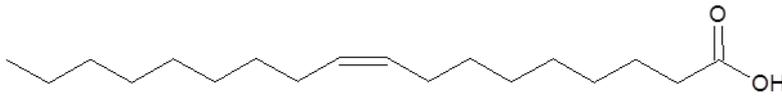
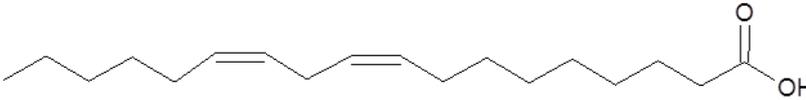
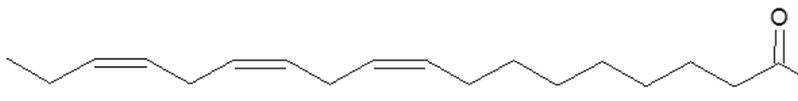
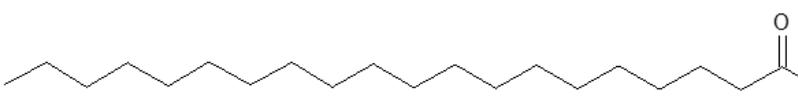
A concentração e utilização do buriti na região amazônica despertou o interesse de grupos de pesquisa na elucidação das estruturas dos componentes químicos desta espécie. A busca da comprovação dos efeitos descritos popularmente é determinante nos estudos de espécies regionais. Logo, o buriti tão utilizado por grupos indígenas e comunidades rurais tem sido estudado.

Além do bom percentual de óleo extraído do buriti (cerca de 45 kg de óleo a partir de 1000 kg de frutos maduros), os estudos realizados com este material indicam alto percentual de ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs - Tabela 2), que apresentam propriedades cardioprotetoras e mediadores da redução do LDL (Silva *et al.*, 2009).

Os valores de MUFAs encontrados para o buriti são maiores que os encontrados para óleos de oliva e castanha do Brasil. Além disso, óleo de buriti apresenta estabilidade oxidativa devido à baixa concentração de ácidos graxos

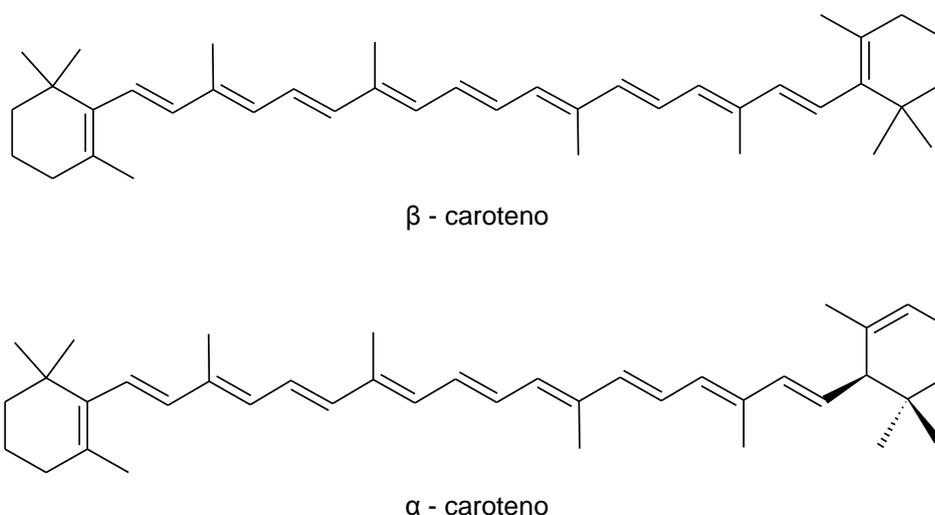
poliinsaturados (PUFAs) (Pardaul *et al.*, 2011) e à presença significativa de carotenóides e tocoferóis (Zanatta *et al.*, 2010).

**Tabela 2.** Composição de ácidos graxos totais do óleo extraído da polpa de buriti (Rodrigues *et al.*, 2010).

Cadeia	Fórmula estrutural	Percentual
C 12:0		0,1
C 14:0		0,1
C 15:0		ND
C 16:0		18,75
C 16:1		0,25
C 17:0		0,05
C 18:0		1,35
C 18:1		75,5
C 18:2		2,15
C 18:3		0,1
C 20:0		1,65
C 22:0		ND

Segundo Rodriguez-Amaya *et al.* (2008), o buriti é a maior fonte natural de carotenóides dentre as espécies brasileiras e, segundo Albuquerque *et al.* (2005), é uma fonte significativa de tocoferóis. Estas duas classes de compostos juntamente com a vitamina C, flavonóides e fenólicos compõem o grupo dito antioxidantes alimentares, e reduzem o surgimento de doenças degenerativas (Barreto *et al.*, 2009).

A quantidade significativa de carotenóides no óleo de buriti, especialmente o  $\beta$ -caroteno (Figura 6), o torna um potente antioxidante apresentando ainda atividade fotoprotetora (Zanatta *et al.*, 2010).

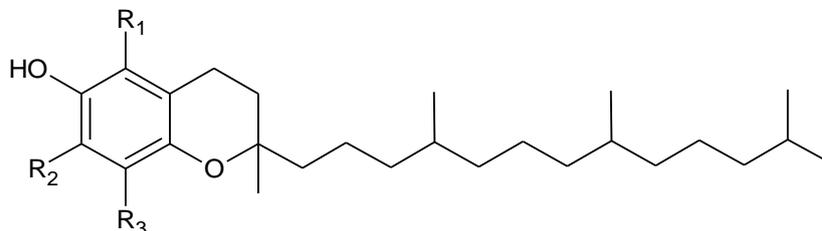


**Figura 6.** Carotenóides predominantes no óleo de Buriti.

O  $\beta$ -caroteno é um dos carotenóides mais estudados por seu envolvimento na saúde humana e é comumente encontrado em alimentos de origem vegetal. O  $\beta$ -caroteno, juntamente com o  $\alpha$ -caroteno (Figura 6) e a  $\beta$ -criptoxatina são pró-vitaminas A, importantes na prevenção de doenças crônicas degenerativas. A estrutura da vitamina A é a metade da estrutura do  $\beta$ -caroteno, com uma molécula de água ao final da cadeia lateral, conseqüentemente este caroteno possui maior potência vitamínica, ao qual se atribui 100% de atividade (Rodriguez-Amaya *et al.*, 2008).

Os tocoferóis, além da importância nutricional, apresentam atividade antioxidante protegendo os componentes lipídicos do óleo da oxidação. Em estudos realizados com óleos e sementes de buriti, foram identificados e quantificados  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ -tocoferóis (Figura 7). No óleo extraído da polpa do buriti, o  $\beta$ -tocopherol foi observado em maiores quantidades, seguido de  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ -tocopherol, nesta ordem (Silva *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2010). Nas sementes, não foi observado  $\alpha$ -tocopherol (Costa *et al.*, 2010). Com altas concentrações de  $\alpha$ -tocopherol observadas considera-se o fruto

de buriti rico em vitamina E. Embora a deficiência de vitamina E não represente deficiência nutricional, o interesse nesse campo tem sido freqüente pois está relacionado a prevenção de doenças degenerativas e câncer (Guinazi *et al.*, 2009).



$\alpha$  - tocoferol:  $R_1 = R_2 = R_3 = CH_3$

$\gamma$  - tocoferol:  $R_1 = H$ ;  $R_2 = R_3 = CH_3$

$\beta$  - tocoferol:  $R_1 = R_3 = CH_3$ ;  $R_2 = H$

$\delta$  - tocoferol:  $R_1 = R_2 = H$ ;  $R_3 = CH_3$

**Figura 7.** Tocoferóis identificados nas sementes e polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa*.

### 2.3.2. Substâncias isoladas e/ou identificadas da espécie

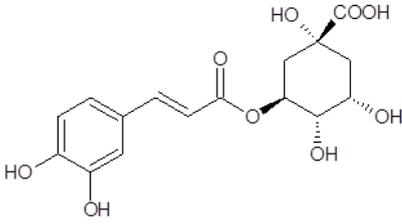
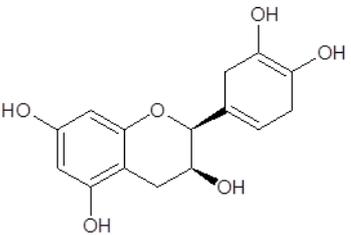
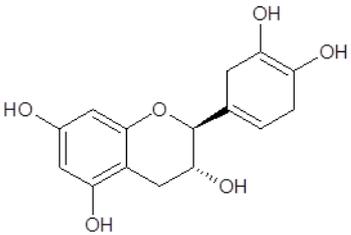
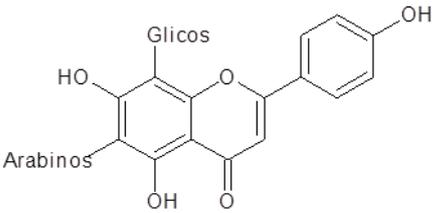
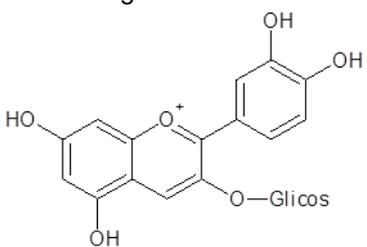
Substâncias isoladas das raízes e folhas desta espécie foram descritas nos trabalhos de Koolen *et al.*(2012) e Oliveira *et al.*(2013). Em trabalho publicado em 2013, Koolen *et al.* realizou ainda a identificação de outras substâncias, desta vez dos frutos e tronco de *Mauritia flexuosa* L.f., utilizando a técnica de Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada a Espectrometria de Massa com Ionização por Eletrospray (CLUP-ESI-EM/EM).

As classes de substâncias isoladas e identificadas nos trabalhos citados acima incluem flavonóides, fenilpropanóides e seus derivados e terpenos (Tabela 3.), os quais são descritos na literatura como potenciais antioxidantes e detentores de atividades biológicas (Dewick, 2009).

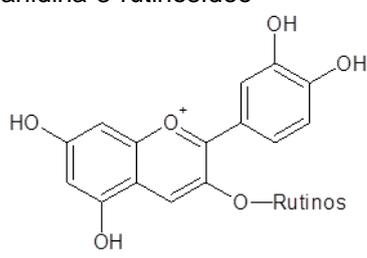
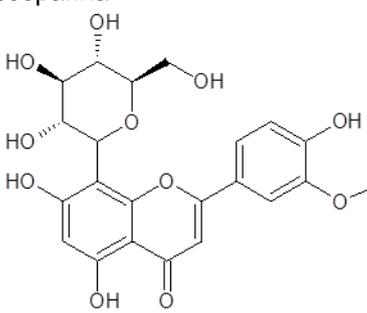
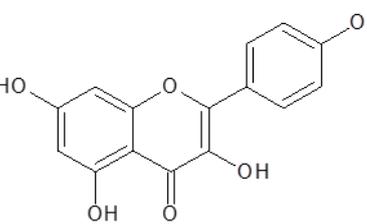
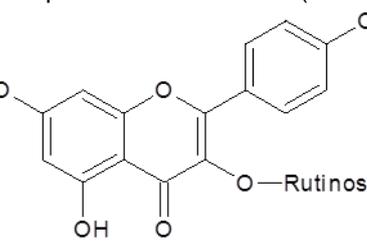
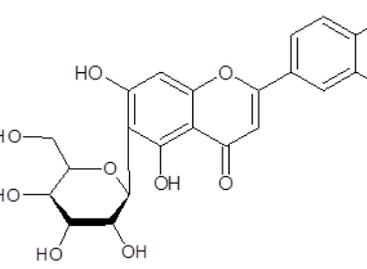
**Tabela 3.** Substâncias isoladas e/ou identificadas identificadas de *Mauritia flexuosa* L.f

Substância /Estrutura	Classe	Parte identificada	Referência
	Fenilpropanóides e derivados	Frutos, folhas	Koolen <i>et al.</i> , 2013.

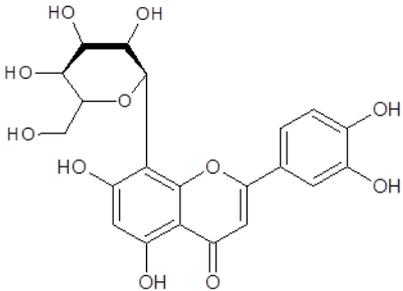
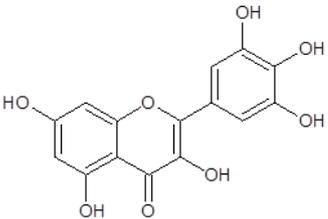
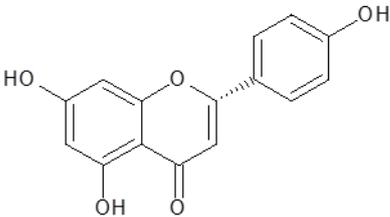
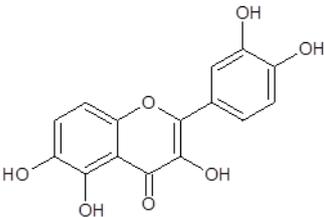
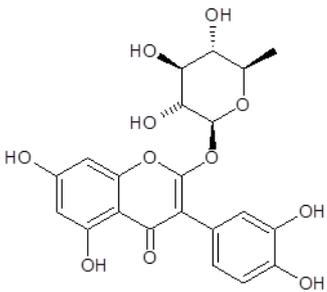
Cont. **Tabela 3.** Substâncias isoladas e/ou identificadas de *Mauritia flexuosa* L.f

Substância /Estrutura	Classe	Parte identificada	Referência
<p>Ácido clorogênico</p> 	Fenilpropanóides e derivados	Frutos, folhas, tronco	Koolen <i>et al.</i> , 2013.
<p>(-) - Epicatequina</p> 	Flavonóide	Folhas, tronco	Koolen <i>et al.</i> , 2013.
<p>(+) - Catequina</p> 	Flavonóide	Frutos, folhas, tronco	Koolen <i>et al.</i> , 2013.
<p>Apigenin-6-C-arabinoside- 8-C-glucoside (isoschaftoside)</p> 	Flavonóide	Folhas	Oliveira <i>et al.</i> ,2013.
<p>Cianidina-3-glicosídeo</p> 	Flavonóide	Frutos	Koolen <i>et al.</i> , 2013.

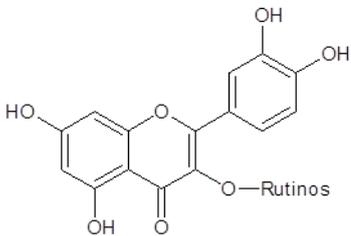
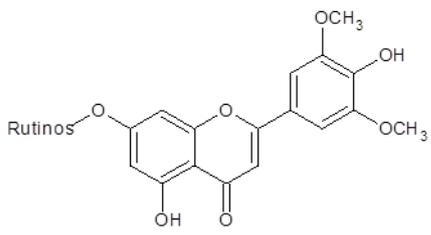
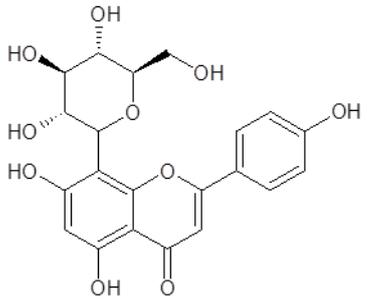
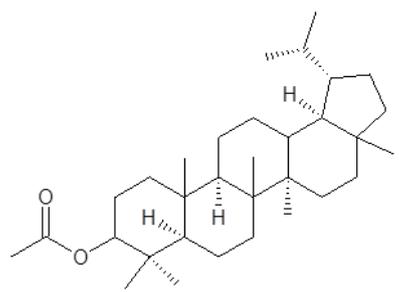
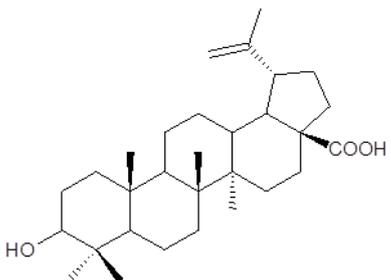
Cont. **Tabela 3.** Substâncias isoladas e/ou identificadas identificadas de *Mauritia flexuosa* L.f

Substância /Estrutura	Classe	Parte identificada	Referência
<p>Cianidina-3-rutinosídeo</p> 	Flavonóide	Frutos	Koolen <i>et al.</i> , 2013.
<p>Escoparina</p> 	Flavonóide	Frutos	Koolen <i>et al.</i> , 2013.
<p>Kaempferol</p> 	Flavonóide	Tronco	Koolen <i>et al.</i> , 2013.
<p>Kaempferol-3-O-rutinoside (nicotiflorina)</p> 	Flavonóide	Folhas	Oliveira <i>et al.</i> , 2013.
<p>Luteolina-6-C-glucoside (isoorientina)</p> 	Flavonóide	Folhas	Oliveira <i>et al.</i> , 2013.

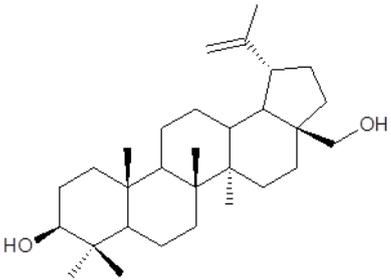
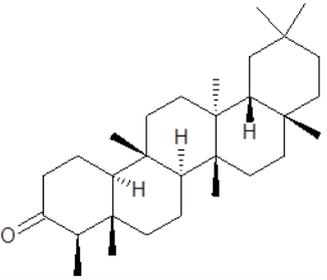
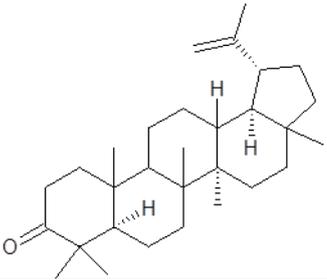
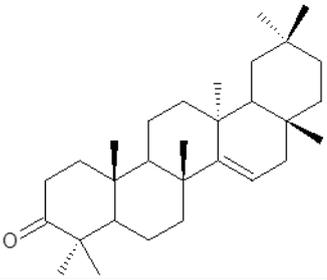
Cont. **Tabela 3.** Substâncias isoladas e/ou identificadas de *Mauritia flexuosa* L.f

Substância /Estrutura	Classe	Parte identificada	Referência
<p>Luteolina-8-C-glucoside (orientina)</p> 	Flavonóide	Folhas	Oliveira <i>et al.</i> , 2013.
<p>Miricetina</p> 	Flavonóide	Frutos, folhas, tronco	Koolen <i>et al.</i> , 2013.
<p>Narigenina</p> 	Flavonóide	Folhas, tronco	Koolen <i>et al.</i> , 2013.
<p>Quercetina</p> 	Flavonóide	Frutos, folhas, tronco, raízes	Koolen <i>et al.</i> , 2013; Koolen <i>et al.</i> , 2012.
<p>Quercitrina</p> 	Flavonóide	Raízes	Koolen <i>et al.</i> , 2012.

Cont. **Tabela 3.** Substâncias isoladas e/ou identificadas de *Mauritia flexuosa* L.f

Substância /Estrutura	Classe	Parte identificada	Referência
<p>Rutina</p> 	Flavonóide	Frutos, folhas, tronco, raízes	Koolen <i>et al.</i> , 2013; Koolen <i>et al.</i> 2012; Oliveira <i>et al.</i> , 2013.
<p>Tricina-7-O-rutinoside</p> 	Flavonóide	Folhas	Oliveira <i>et al.</i> , 2013.
<p>Vitexina</p> 	Flavonóide	Frutos	Koolen <i>et al.</i> , 2013.
<p>Acetato de lupeol</p> 	Terpeno	Raízes	Koolen <i>et al.</i> , 2012.
<p>Ácido Betulínico</p> 	Terpeno	Raízes	Koolen <i>et al.</i> , 2012.

Cont. **Tabela 3.** Substâncias isoladas e/ou identificadas de *Mauritia flexuosa* L.f

Substância /Estrutura	Classe	Parte identificada	Referência
Betulina 	Terpeno	Raízes	Koolen <i>et al.</i> , 2012.
Friedelina 	Terpeno	Raízes	Koolen <i>et al.</i> , 2012.
Lupenona 	Terpeno	Raízes	Koolen <i>et al.</i> , 2012.
Taraxerona 	Terpeno	Raízes	Koolen <i>et al.</i> , 2012.

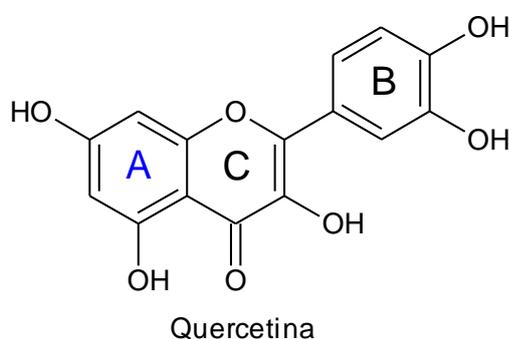
O metabolismo dos fenilpropanóides compreende uma série complexa de reações bioquímicas que dá origem a milhares de compostos, muitos dos quais específicos em determinadas espécies de plantas. A via fenilpropanóide geral (Esquema 1) parte da fenilalanina para cumaril-CoA e é iniciada pela enzima fenilalanina amônia-liase (PAL). Um importante ramo leva à produção de flavonóides,

incluindo flavonóis, antocianinas e taninos, compostos estes que têm uma série de funções importantes em plantas, sendo componentes estruturais (tais como a lignina), protetores contra estresses bióticos e abióticos (fitoalexinas antipatogênicas, antioxidantes e compostos absorventes de UV), pigmentação (em particular as antocianinas) e sinalização (por exemplo, fatores de modulação de flavonóides) (Weisshaar e Jenkins, 1998).

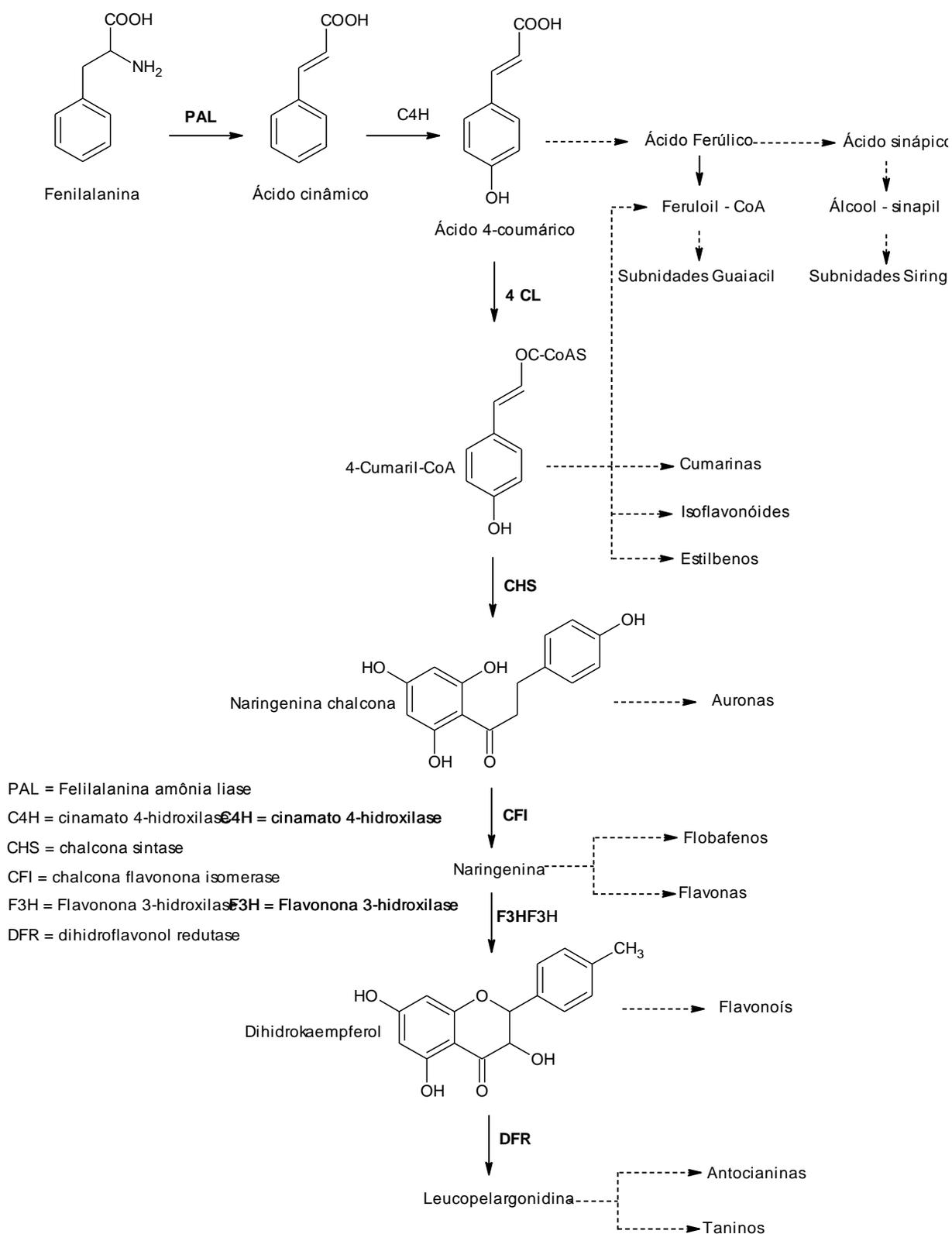
Derivados fenilpropanóides também são compostos fenólicos de suma importância de baixo peso molecular, sendo os mais importantes são os ácidos hidroxicinâmicos (*p*-cumárico, caféico, ferúlico, sinápico) e derivados (Bravo, 1998).

São muitas as funções biológicas atribuídas aos compostos fenólicos, mas o grande interesse está relacionado às suas propriedades antioxidantes, por apresentarem habilidades redutoras ou sequestrantes de radicais livres e quelantes de metais de transição. Essa capacidade ocorre através da formação de intermediários relativamente estáveis, devido ao efeito de ressonância característico de compostos que apresentam anéis aromáticos em sua estrutura (Sousa *et al.*, 2007).

Os flavonóides são compostos de biossíntese mista envolvendo blocos provenientes da via do poliacetato e da via do ácido chiquímico (Esquema 2). Apresentam estrutura básica contendo 15 carbonos num arranjo  $C_6C_3C_6$  (Dewick, 2009). A estrutura básica dos flavonóides é composta por três anéis, designados A, B e C, sendo dois deles aromáticos. O anel A é derivado da rota do acetato enquanto os anéis B e C provêm da rota do ácido chiquímico (Figura 8).



**Figura 8.** Estrutura básica dos flavonóides.



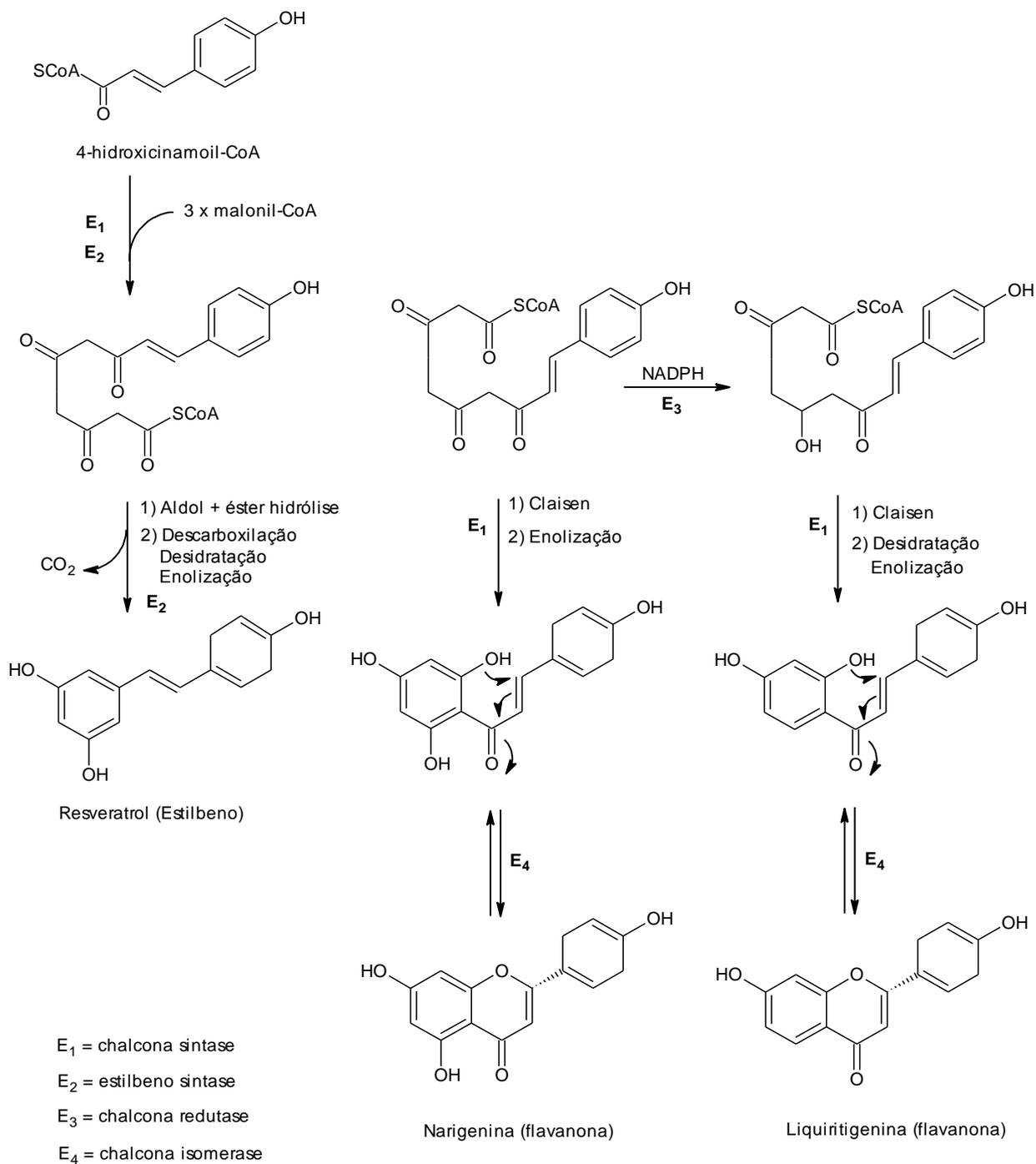
**Esquema 1.** Metabolismo de fenilpropanóides e seus derivados. (Weisshaar e Jenkins, 1998).

As principais classes de flavonóides são formadas sequencialmente segundo os Esquemas 2 e 3, formando as chalconas, isoflavonas, flavanonas, flavanonóis, flavonas, flavanóis, flavano-3,4-dióis, antocianidinas e catequinas (Lobo e Lourenço, 2007).

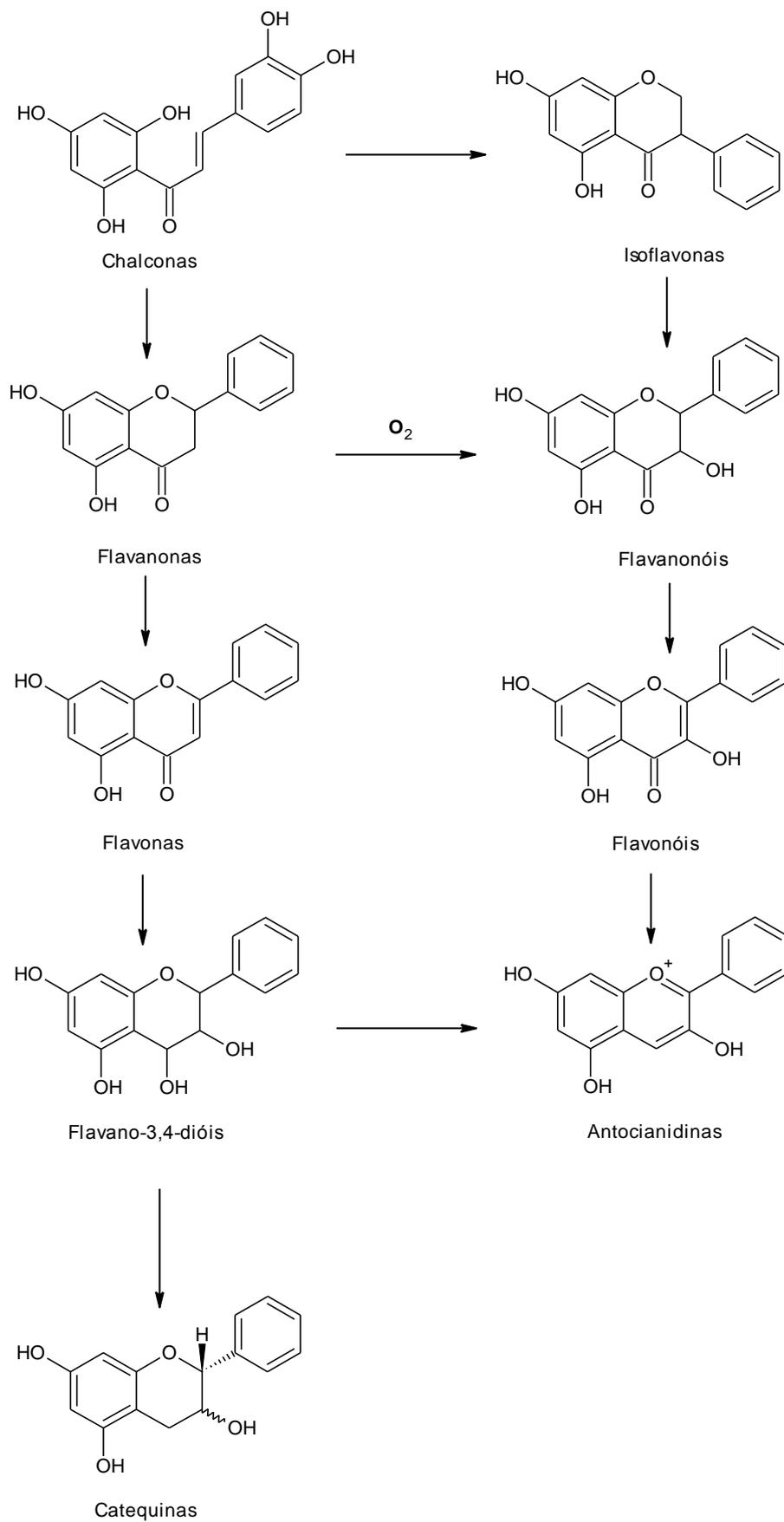
Os flavonóides são compostos fenólicos amplamente distribuídos no reino vegetal e ocorrem em todas as partes das plantas na forma de misturas complexas de diferentes componentes. A estrutura de um flavonóide consiste em dois anéis aromáticos substituídos por hidroxilas que os torna doadores de elétrons. Assim, eles são agentes de limpeza eficazes de radicais livres, que são produtos intermediários da peroxidação lipídica, e eles diminuem a velocidade de reações de oxidação. A atividade antioxidante dos flavonóides tem sido estudada em substratos lipídicos, bem como em relação à saúde humana, em particular no que diz respeito ao retardamento do envelhecimento das células e proteção contra certas doenças tais como doenças cardiovasculares e coronárias (Shahidi, 1997; Tsimogiannis *et al.*, 2007).

Alguns flavonóides presentes na espécie *Mauritia flexuosa* L.f. incluem (-)-epicatequina, (+)-catequina, isoschaftoside, cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, escoparina, kaempferol, nicotiflorina, isoorientina, orientina, miricetina, narigenina, quercetina, quercitrina, rutina, tricina-7-O-rutinoside, vitexina (Koolen *et al.*, 2012; Koolen *et al.*, 2013; Oliveira *et al.*, 2013).

A quercetina, em particular, está quase sempre presente em quantidades substanciais nos tecidos das plantas, onde atua como um antioxidante poderoso, quelante de metais, eliminador de radicais e no impedimento da oxidação da lipoproteína de baixa densidade. O kaempferol, que está presente no vinho tinto e também na espécie em estudo, demonstrou ser um antioxidante eficaz (Dewick, 2009).



**Esquema 2.** Rota biossintética para flavonóides e estilbenos (Dewick, 2009).



**Esquema 3.** Principais classes de flavonóides (Lobo e Lourenço, 2007).

### 2.3.3. Atividades cicatrizante e antimicrobiana

Em estudo realizado por Batista *et al.* (2012), o óleo de buriti também mostrou-se um agente cicatrizante quando submetido a ensaios frente a feridas cutâneas utilizando ratos, promovendo um maior percentual de contração dos bordos das ferida e foi estatisticamente significativa na contagem de fibroblastos e fibras colágenas no grupo tratado com óleo de buriti em relação ao grupo controle.

No óleo obtido da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa*, estão presentes substâncias cicatrizantes já preconizadas na literatura, como os carotenóides e a vitamina E, além de ácidos graxos insaturados como o ácido oléico e linoléico que têm importante papel na regeneração tecidual (Albuquerque *et al.*, 2005).

De acordo com Koolen *et al.*(2013), extratos metanólicos de frutos, folhas e tronco apresentaram atividade antimicrobiana frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus* e *Bacillus cereus* I. (Tabela 4).

**Tabela 4.** Atividade antimicrobiana de extratos de *Mauritia flexuosa* L.f

	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. cereus</i>
<b>Folhas</b>	50 µg/mL	50 µg/mL	X	200 µg/mL	X
<b>Tronco</b>	100 µg/mL	X	X	X	X
<b>Frutos</b>	100 µg/mL	200 µg/mL	X	200 µg/mL	X

Os resultados para os ensaios foram expressos como a Mínima Concentração Inibitória (MIC) e utilizou como controle positivo os antibióticos norflaxacina e tetraciclina. O extrato das folhas apresentou o melhor resultado, sendo moderadamente ativo frente a *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

O óleo de buriti também foi testado em trabalho realizado por Ferreira *et al.* (2011) não apresentando atividade antimicrobiana frente à *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*.

#### 2.3.4. Atividade antioxidante

O estresse oxidativo decorre de um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante. A geração de radicais livres e/ou espécies reativas não radicais é resultante do metabolismo de oxigênio. A mitocôndria, por meio da cadeia transportadora de elétrons, é a principal fonte geradora. O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres e/ou espécies reativas não radicais. Esse sistema, usualmente, é dividido em enzimático (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) e não-enzimático. No último caso, é constituído por grande variedade de substâncias antioxidantes, que podem ter origem endógena ou dietética (Barbosa *et al.*, 2010).

Os antioxidantes obtidos da dieta, tais como as vitaminas C, E e A, os flavonóides e carotenóides são extremamente importantes na intercepção dos radicais livres (Bianchi e Antunes, 1999).

A concentração de fenólicos e as atividades antioxidante foram estudadas por Ferreira *et al.* (2011), relacionando a concentração de substâncias fenólicas com a atividade biológica do óleo de buriti. A atividade antioxidante do óleo é significativa na captura dos radicais DPPH.

O óleo de buriti foi considerado um potencial antioxidante frente aos extratos de babaçu e pequi, devido aos carotenóides e tocoferóis presentes em sua constituição. O óleo extraído da polpa dos frutos de buriti desperta interesse devido à sua composição química e farmacológica e por ser rico em carotenóides, ácidos graxos e tocoferol, o que sugere boa perspectiva na sua utilização como alternativa terapêutica e cosmética, tendo a função de lubrificar e regenerar a barreira hidrolipídica da pele frequentemente submetida a lesões. Também quando usado em produtos pós-sol, evita danos provocados por radiação UV, justamente por apresentar propriedades fotoprotetoras (Batista, *et al.*, 2012; Pardauil *et al.*, 2011; Zanata *et al.*, 2008; Zanata *et al.*, 2010).

Quanto aos extratos metanólicos de frutos de buriti Koolen *et al.* (2013) a atividade antioxidante foi testada frente aos métodos FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power) e captura de radicais livres de DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazina) (Koolen *et al.*, 2013)..

O ensaio FRAP mede a capacidade das amostras em de reduzir complexos de  $Fe^{+3}$  a  $Fe^{+2}$  utilizando como complexante o TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina). É um método bastante válido, pois as propriedades de redução são geralmente associadas com a presença de redutores, cuja ação antioxidante é devida a quebra da reação em cadeia dos radicais livres pela doação de um átomo de hidrogênio (Da Silva *et al.*, 2013). Extratos de frutos de buriti apresentaram resultados de 280,8 mmol  $Fe(II)/100g$  de extrato seco, sendo este um valor menor que os encontrados para extratos de folha e tronco da espécie (Koolen *et al.*,2013; Oliveira *et al.*,2013).

O ensaio de captura de radicais livres de DPPH faz uso da fotometria para avaliação da atividade antioxidante, utilizando como fonte de radical livre o composto DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazina), considerado estável devido ao deslocamento de um elétron não compartilhado em toda molécula. O ensaio quantitativo avalia a habilidade que uma substância ou mistura de substâncias tem de sequestrar o radical livre estável DPPH o que é observado através do descoloramento das diluições da amostra de cor violeta. Pode-se determinar a capacidade da amostra em sequestrar 50% de radicais livres de DPPH, por meio da leitura das absorvâncias a 518 nm (Braça *et al.*, 2002; Choi *et al.*, 2002; Mensor *et al.*, 2001).

De acordo com Koolen *et al.*(2013), o extrato dos frutos verdes e inteiros de *Mauritia flexuosa* apresentou CS 50 igual a 19,58 mg/mL, enquanto que os extratos etanólicos da polpa e dos frutos da sinonímia *Mauritia vinífera* apresentaram CS 50 iguais a 0,583 e 0,071 mg/mL, respectivamente (Silva *et al.*, 2005). Tais resultados sugerem uma maior atividade antioxidante para extratos obtidos de partes isoladas dos frutos.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo Geral

Identificar compostos fenólicos nas cascas, polpa e sementes de frutos maduros de *Mauritia flexuosa* L.f. utilizando a Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (CL-EM), bem como caracterizar os ácidos graxos dos óleos extraídos e avaliar o potencial antioxidante de extratos e frações obtidos dos frutos da espécie supracitada.

#### 3.2. Objetivos específicos

- Preparar extratos de cascas, polpa e sementes dos frutos de *Mauritia flexuosa* provenientes de uma comunidade ribeirinha da região;
- Caracterizar a cadeia graxa dos óleos extraídos das partes constitutivas do buriti, por Cromatografia Gasosa de Alta Resolução e detecção por Ionização de Chama (CG-DIC);
- Realizar testes de atividade antioxidante *in vitro* de extratos e frações;
- Desenvolver condições de análise de compostos fenólicos por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de massas (CL-EM);
- Realizar a identificação de compostos fenólicos nas frações obtidas por partição de extratos de frutos de *Mauritia flexuosa* L.f.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1. Levantamento Bibliográfico**

Foi realizado o levantamento de trabalhos científicos em bases de dados especializadas e obtenção de trabalhos publicados em livros e revistas, relacionados à área de química de produtos naturais. As principais ferramentas de busca foram as bases de dados disponíveis no Portal Periódicos da CAPES (Scifinder, Scopus, Web of Science, Medline Pub, Biological, Scirus e CAB Abstracts). Além destes, foram utilizados ainda o CNN, COMUT e literatura especializada como a coleção da AOAC.

### **4.2. Coleta e identificação do material botânico**

Os frutos de *Mauritia flexuosa*, frescos e em estado de maturação próprio para o consumo, foram coletados em abril de 2011 na Vila de Abonari, comunidade localizada no município de Presidente Figueiredo a 107 km de Manaus.

### **4.3. Triagem e preparo do material coletado**

O material coletado foi inicialmente lavado e em seguida foi submetido a triagem agrupando os frutos em dois grupos principais: frutos íntegros e frutos não-íntegros. O grupo dos frutos íntegros foi pesado, acondicionado e congelado para posterior tratamento. Quanto ao grupo dos frutos não íntegros, que apresentava frutos com pequenas lesões, foi utilizado na etapa seguinte.

Cada grupo principal foi dividido em pequenos subgrupos de dez unidades. Os frutos presentes em cada subgrupo foram então descascados manualmente, efetuando assim a separação de cascas, polpa e sementes (Figura 9). Efetuou-se a devida identificação de acordo com grupo principal, subgrupo e parte do fruto, pesou-se e o material então foi devidamente transferido para estufa de circulação de ar à temperatura de 40°C. A secagem foi acompanhada diariamente até que o peso no material fosse constante.



**Figura 9.** Frutos de buriti e separação de cascas, polpa e sementes.

Após a fase de secagem, os subgrupos foram novamente reunidos e então foi realizada a moagem do material em moinho de facas do grupo (CPPN – INPA). Em seguida, foi feito o acondicionamento do material em sacos plásticos de acordo com a parte do fruto para posterior realização de extrações.

#### **4.4. Preparação dos extratos**

Foram preparados separadamente extratos de cascas, polpa e sementes dos frutos de *Mauritia flexuosa*.

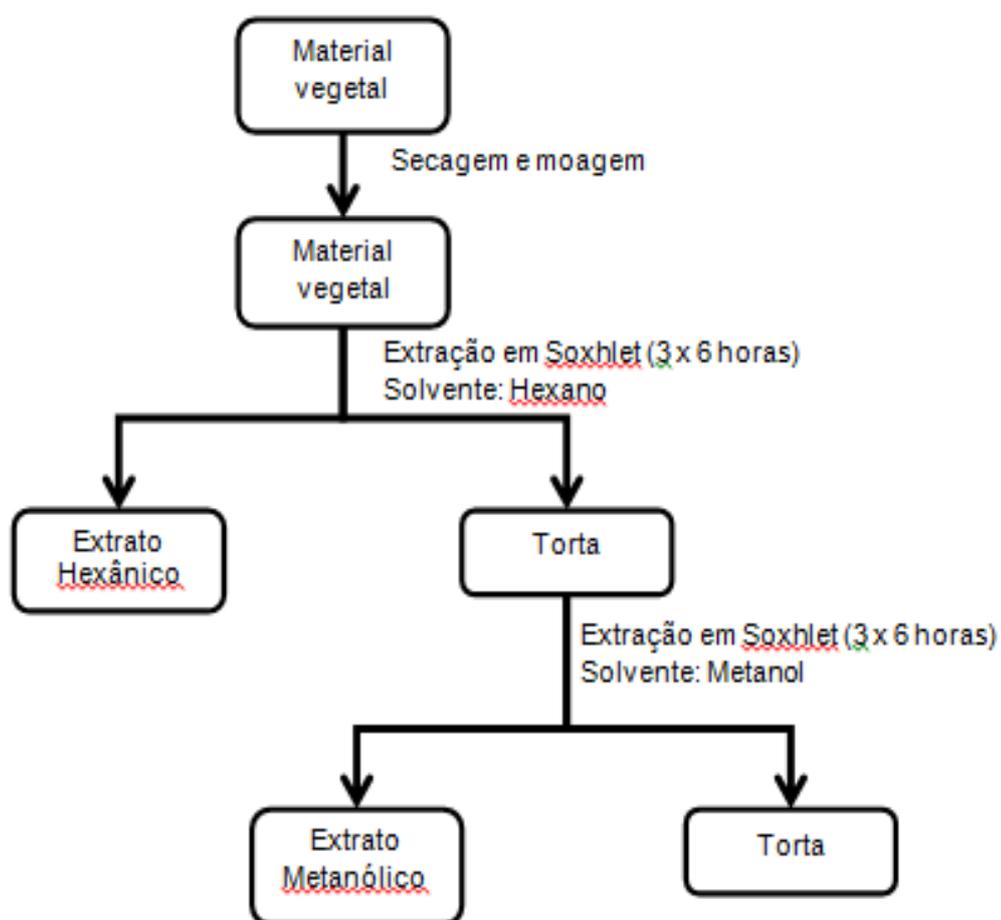
A extração sequencial se deu a quente com aparelhagem do tipo Soxhlet, utilizando como solventes extratores o hexano e metanol destilados. Cada extração foi realizada em três etapas de 6 horas com troca de solvente, totalizando 18 horas de extração (Esquema 4).

Os extratos obtidos foram concentrados por evaporação rotatória sob pressão reduzida em banho de 40°C de temperatura monitorada. Posteriormente, os extratos foram transferidos para vidros pesados e identificados. Utilizou-se ainda banho de areia e liofilizador para secagem final antes da pesagem e determinação do teor de extrativos.

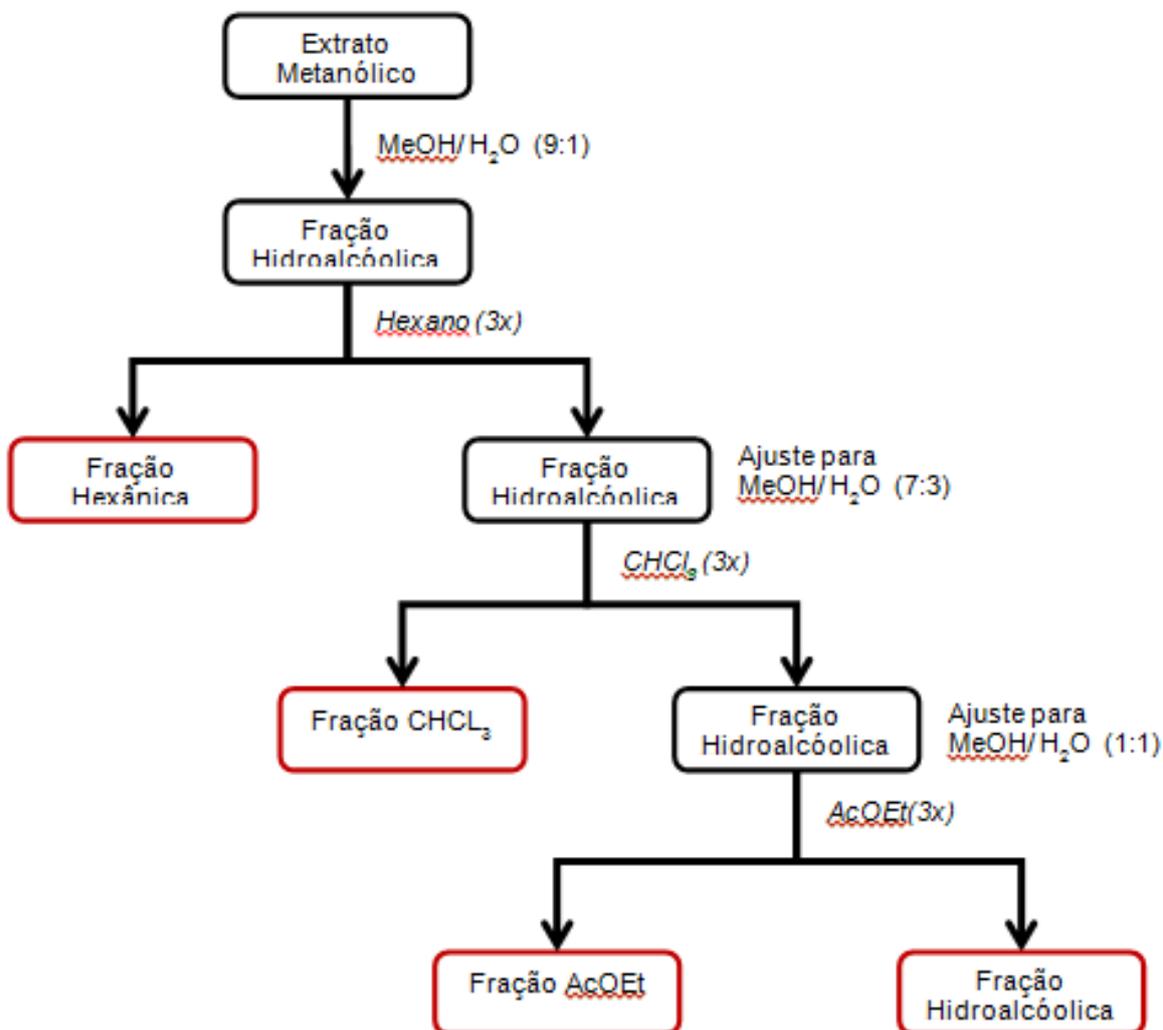
#### **4.5. Particionamento Líquido-líquido**

Os extratos metanólicos obtidos foram submetidos a particionamento líquido-líquido com aumento de polaridade utilizando hexano, clorofórmio, acetato de etila e

metanol (Esquema 5). Obteve-se então as frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e hidrolacóica que por sua vez foram concentrados por evaporação rotatória sob pressão reduzida em banho de 40°C de temperatura monitorada, transferidas para vidros pesados e identificados e colocadas para secar em banho de areia.



**Esquema 4.** Procedimento de extração realizado em Soxhlet.



**Esquema 5.** Esquema de particionamento realizado para extratos metanólicos de *Mauritia flexuosa* L.f.

#### 4.6. Teor de extrativos

O teor de extrativos dos extratos hexânicos, metanólicos, bem como de suas respectivas frações resultantes do particionamento líquido-líquido, foi obtido utilizando a fórmula abaixo.

$$\text{Teor de extrativo (\%)} = 100 \times \frac{\text{massa do extrato (g)}}{\text{massa do material utilizado (g)}}$$

#### 4.7. Determinação da cadeia graxa dos óleos obtidos por CG-DIC.

Amostras dos óleos obtidos de cascas, polpa e sementes de buriti, foram inicialmente submetidas à derivatização, conforme método oficial AOAC 969.33, para posterior análise por CG-DIC (Horwitz, 2000).

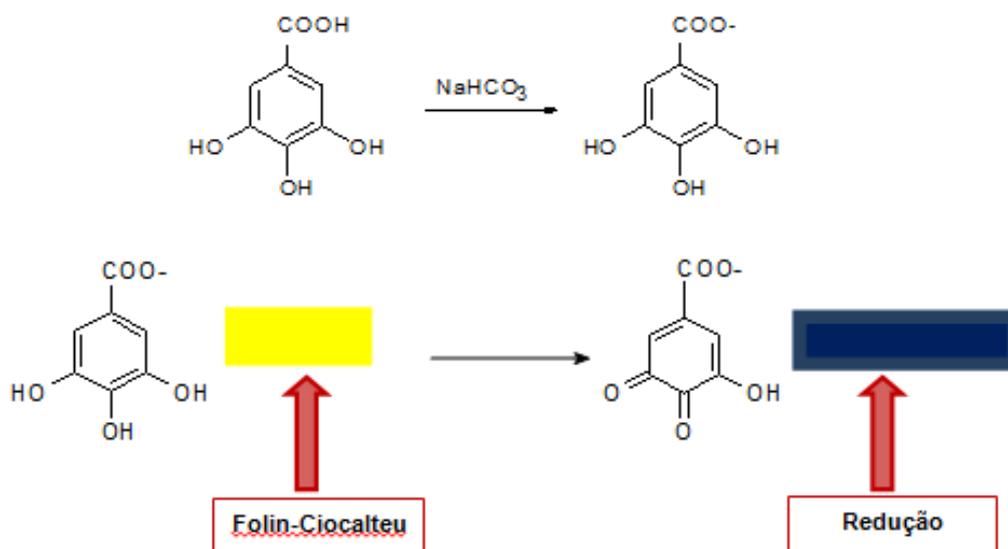
Inicialmente pesaram-se 25 mg de cada um dos óleos a serem analisados. Em seguida, foram adicionados 2 mL de solução metanólica de KOH 0,5 N a cada um dos tubos, os quais foram levados a aquecimento durante 10 minutos em banho-maria mantido a 55 °C e agitados periodicamente. Passado o tempo inicial de reação, foram adicionados aos tubos 5 mL de BF<sub>3</sub> metanólico, os quais foram novamente levados a aquecimento, desta vez por 2 minutos com agitação periódica. Retirados do banho-maria, foram adicionados aos tubos 2 mL de hexano e 4 mL de solução saturada de cloreto de sódio. Após o repouso do meio reacional, foram retiradas alíquotas de 1 mL da fração superior (hexânica) de cada uma das amostras, as quais foram filtradas em coluna de sílica e sulfato de sódio, usando como sistema eluente a mistura de hexano/acetato de etila na proporção 95:5. A partir do filtrado seco e pesado foram preparadas soluções de preparou-se uma solução 1 mg/mL as quais foram submetidas à análise por CG-DIC.

As análises por CG-DIC foram realizadas em cromatógrafo gasoso da marca Agilent, modelo HP 6890 Plus, equipado com sistema de aquisição e manipulação de dados (Chemstation, versão A.10.02) e configurado com duas colunas capilares de dimensões idênticas (30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e espessura do filme de 0,25 µm) e em paralelo, sendo uma coluna polar (HP INNOWAX-20) e outra apolar (HP-5). Usou-se ainda gás de arraste hidrogênio, sistema de injeção automático com volume de injeção de 1 µL, injetor no modo split com razão 20:1 e temperatura de 250 °C, detetores de ionização de chama a 260 °C. A temperatura inicial do forno foi de 107°C com uma rampa de 7 °C/ min até a temperatura de 149 °C, isoterma por 54 min, subindo 6 °C/ min até 260 °C, isoterma por 1,50 min. O tempo de análise foi de 80 minutos.

Os ésteres metílicos das amostras foram identificados com auxílio de amostras autênticas (Sigma-Aldrich e Carlo Erba) que foram injetados nas mesmas condições (Barbosa *et al.*, 2009).

#### 4.8. Quantificação de Fenólicos Totais pelo método Folin-Ciocalteu

Utilizando a metodologia descrita por Velioglu *et al.* (1998) foi possível realizar a quantificação espectrofotométrica de fenólicos presentes nas amostras estudadas utilizando como reagente principal Folin-Ciocalteu, que consiste numa mistura de molibdato, tungstato e ácido fosfórico. A presença de substâncias fenólicas na amostra é detectada pela conversão da coloração amarela do meio reacional para a coloração azul (Esquema 6).



**Esquema 6.** Estrutura de demonstração da redução do reagente Folin-Ciocalteu

Para tal quantificação, foi preparada uma solução metanólica 1 mg/ mL da amostra a ser analisada. Foram transferidos para um frasco âmbar 200  $\mu\text{L}$  da solução e adicionados 1,5 mL de solução Folin-Ciocalteu 10%. Passados 5 minutos, adicionou-se ao meio 1,5 mL de solução  $\text{NaHCO}_3$  6%. Aguardou-se 90 minutos para a leitura do meio no comprimento de onda de 725 nm em espectrofotômetro UV/Visível Femto 800XI.

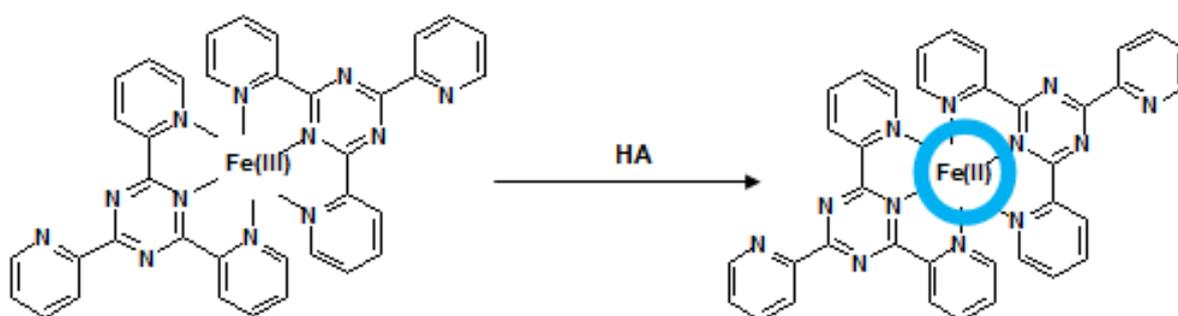
A determinação foi possível realizando a interpolação da curva de ácido gálico, utilizado como padrão. A curva foi construída utilizando soluções padrões nas concentrações de 250, 125, 62,5 e 31,25  $\mu\text{g/mL}$ .

Todas as análises foram realizadas em triplicatas utilizando solventes com grau HPLC. Os resultados obtidos para o teor de Fenólicos nas amostras foram expressos em gramas de Ácido Gálico por grama de extrato seco (g AG/ extrato seco).

## 4.9. Determinação da atividade antioxidante

### 4.9.1. Capacidade redutora do Ferro (FRAP)

O ensaio FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power), consiste na medida da capacidade da amostra em reduzir  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$ , via avaliação da redução do complexo  $[\text{Fe}^{3+}(\text{TPTZ})_2]^{3+}$  (ferritripiridiltriazina) a ferroso-tripiridiltriazina  $[(\text{Fe}^{2+}(\text{TPTZ})_2)]^{2+}$  (Esquema 7). Se a amostra apresentar capacidade antioxidante frente a este ensaio haverá a mudança da coloração do meio reacional para azul.



**Esquema 7.** Estruturas do TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com  $\text{Fe(II)}$  e  $\text{Fe(III)}$ .

Seguindo o procedimento descrito por Luximon-Ramma *et al.*(2002), foram preparadas soluções metanólicas de 1 mg/mL das amostras a serem analisadas, as quais foram reservadas. Preparou-se então o reagente FRAP, que resulta da reunião das soluções previamente preparadas de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20 mM, solução de TPTZ [2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina] 10 mM e da solução tampão de  $\text{HOAc}/\text{O}^- \text{Ac}$  0,3 M e pH 3,6, na proporção de 1:1:10.

Para um vidro âmbar foram transferidos 100  $\mu\text{L}$  da solução de 1 mg/mL da amostra a ser analisada, ao qual foram acrescentados 300  $\mu\text{L}$  de água Milli-Q. Em seguida foram adicionados 3 mL do reagente FRAP e após o período de repouso, sobre abrigo de luz por 4 minutos, foi feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro UV/Visível Femto 800XI no comprimento de onda de 593 nm.

Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de  $\text{Fe(II)}$ /mg de extrato seco e calculados por meio da equação de regressão linear, obtida a partir da construção de uma curva analítica de sulfato ferroso nas concentrações de 62,5, 125, 250, 500, 1000 e 2000  $\mu\text{M}$ .

Todas as análises foram realizadas em triplicatas utilizando solventes com grau HPLC.

#### 4.9.2. Captura de radicais livres de DPPH

O método utilizado foi o descrito por Choi *et al.* (2002) e consiste na captura de radicais livres de DPPH (2,2-difenil-picril-hidraxina), que apresentam coloração roxa quando em solução. A caracterização da atividade antioxidante frente a este método é observada pela captura dos radicais livres de DPPH, o que é evidenciado pela mudança da coloração do meio.

A capacidade antioxidante medida por esse ensaio é expressa pela a massa de amostra por mL (concentração da amostra) capaz de sequestrar 50% dos radicais livres de DPPH ( $CS_{50}$ ). Este cálculo é realizado a partir de gráficos plotados com a capacidade de sequestro de radicais para cada diluição/concentração da amostra que é realizada.

O método consiste no preparo de soluções de 1 mg/mL de amostra em MeOH grau HPLC. Em seguida são realizadas 2 diluições para concentrações finais de 0,1 e 0,01 mg/mL. Foi preparada então a solução DPPH 0,2 mg/mL em MeOH grau HPLC. A leitura da absorbância do meio é então realizada após a adição de 1 mL de solução DPPH 0,2 mg/mL a 2,5 mL de amostra, passados os 30 minutos de reação sob o abrigo de luz, em espectrofotômetro a 518 nm.

Após essa fase inicial foram determinadas as diluições que serviram para a construção da curva analítica para o cálculo do  $CS_{50}$ .

Utilizou-se a quercetina como padrão positivo para atividade antioxidante nas concentrações 20, 10, 5,0, 2,5 e 1,25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  por diluições sucessivas.

As absorbâncias foram convertidas a porcentagem da capacidade de sequestro do radical livre DPPH ( $CS\%$ ) usando a fórmula:

$$CS \% = 100 - ((A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) \times 100) / A_{\text{controle}}$$

Onde, a  $A_{\text{branco}}$  é a absorvância da amostra em maior concentração para uma sequência de diluições sem a adição do radical DPPH e  $A_{\text{controle}}$  é a absorvância do controle negativo preparado utilizando 2,5 mL de MeOH, 1 mL da solução DPPH 0,2 mg/mL.

Todas as análises foram realizadas em triplicata, utilizando como equipamento Espectrofotômetro UV/Visível Femto 800XI.

#### **4.10. Análise de fenólicos e flavonoides por CL – EM.**

##### **4.10.1. Solventes e padrões**

Foram utilizados metanol, acetonitrila, isopropanol e ácido fórmico grau LC-MS, adquiridos da Sigma-Aldrich. A água utilizada foi previamente tratada no sistema Millipore Simplicity.

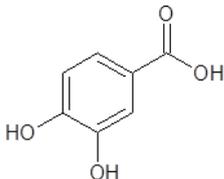
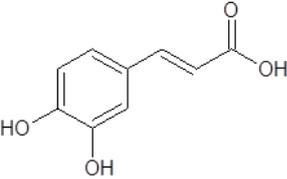
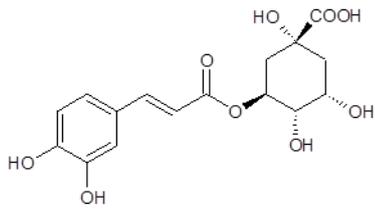
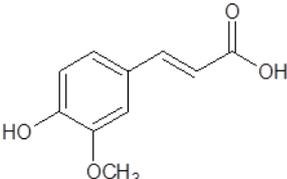
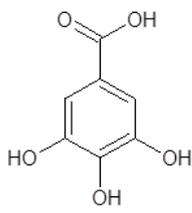
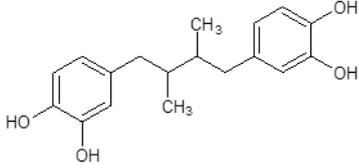
Utilizaram-se vinte e oito padrões comerciais (Tabela 5) adquiridos da Sigma-Aldrich e da Fluka

##### **4.10.2. Preparo da solução dos padrões**

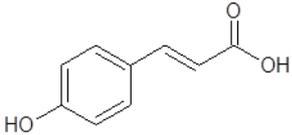
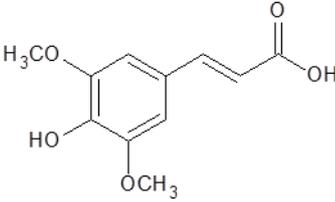
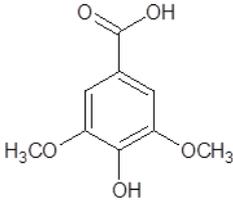
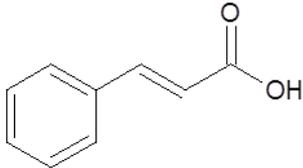
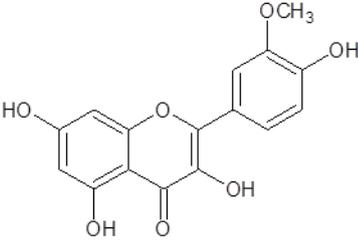
Foram preparadas soluções estoques dos diferentes padrões (Tabela 5) na concentração de 1 mg/ mL usando metanol grau LC-MS. Quando necessário para a completa solubilização dos padrões glicosilados, foram usadas pequenas quantidades. Em seguida, de cada uma das 28 soluções foram retiradas alíquotas de 100  $\mu$ L, as quais foram reunidas em um outro *vial* o volume final de 2,8 mL.

A solução resultante da mistura de padrões foi filtrada com filtro 0,2  $\mu$ m da Millipore e dividida em dois *vials* previamente identificados. Para a primeira fase de estudos foi utilizado um dos *vials* a fim de preservar a composição e as características dos padrões.

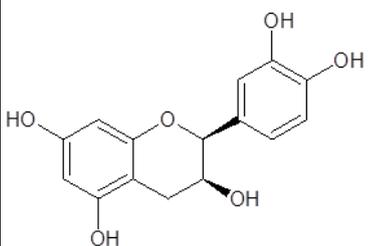
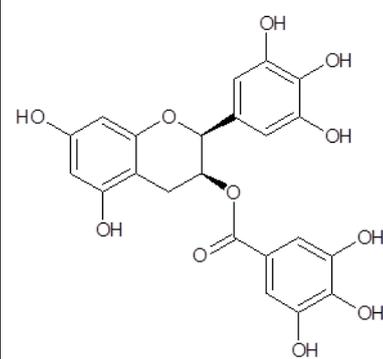
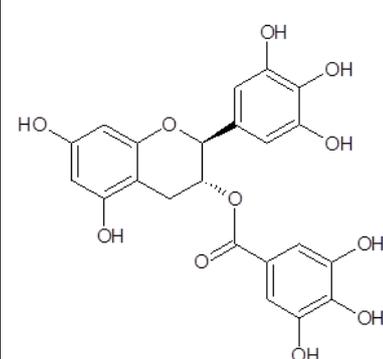
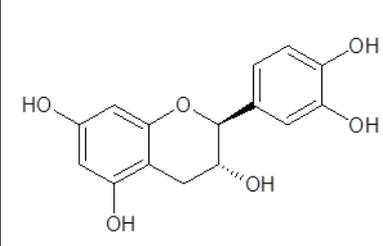
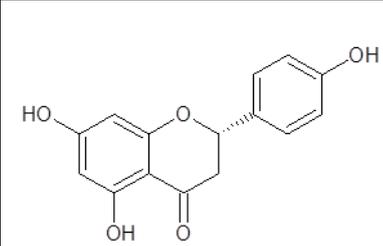
**Tabela 5.** Dados dos padrões comerciais utilizados na preparação da mistura de padrões.

Padrão	Fórmula molecular / M <sup>+</sup>	[M+H] <sup>+</sup>	[M-H] <sup>-</sup>	[M+Na] <sup>+</sup>	[M+K] <sup>+</sup>	Fórmula estrutural
ácido 3,4-dihidroxibenzoico	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> 154,0260	155,0338	153,0182	177,0158	192,9897	
ácido caféico	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> 180,0417	181,0495	179,0338	203,0314	219,0054	
ácido clorogênico	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub> 354,0945	355,1023	353,0867	377,0843	393,0582	
ácido ferúlico	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> 194,0573	195,0651	193,0495	217,0471	233,0210	
ácido gálico	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub> 170,0209	171,0288	169,0131	193,0107	208,9846	
ácido nordihidroguaiarético	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> 302,1512	303,1590	301,1434	325,1410	341,1149	

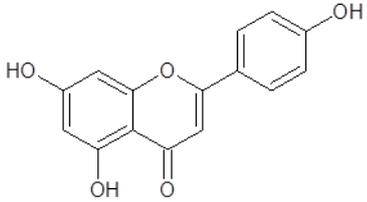
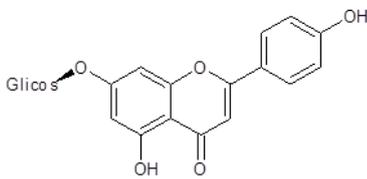
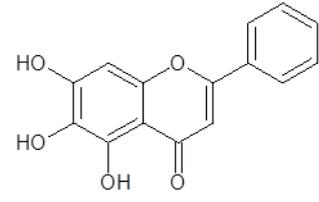
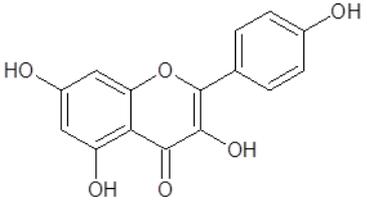
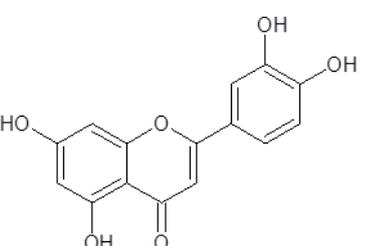
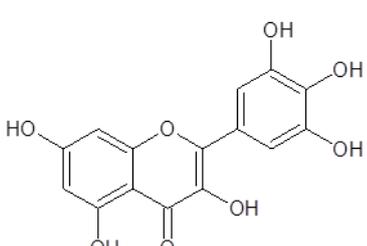
Cont. **Tabela 5.** Dados dos padrões comerciais utilizados na preparação da mistura de padrões.

Padrão	Fórmula molecular / M+	[M+H] <sup>+</sup>	[M-H] <sup>-</sup>	[M+Na] <sup>+</sup>	[M+K] <sup>+</sup>	Fórmula estrutural
ácido <i>p</i> -coumárico	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> 164,0467	165,0546	163,0389	187,0365	203,0105	
ácido sinápico	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub> 224,0679	225,0757	223,0601	247,0576	263,0316	
ácido siríngico	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> 198,0522	199,0601	197,0444	221,0420	237,0159	
ácido trans-cinâmico	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> 148,0518	149,0597	147,0440	171,0416	187,0155	
isorramnetina	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub> 316,0577	317,0655	315,0499	339,0475	355,0214	
(-)-epigallocatequina	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub> 306,0734	307,0812	305,0655	329,0631	345,0371	

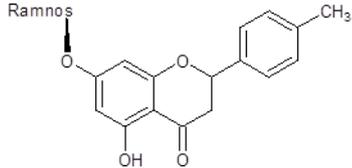
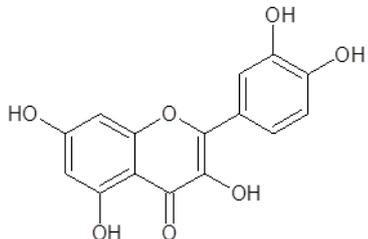
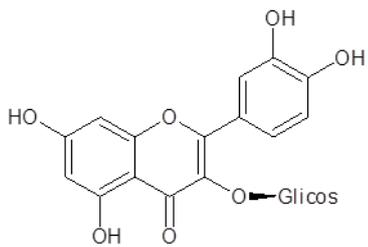
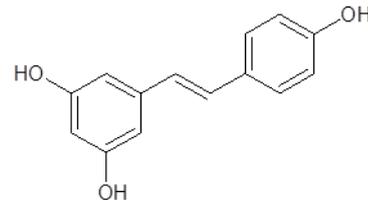
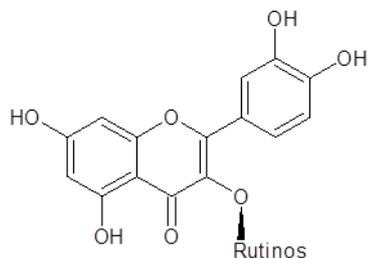
Cont. Tabela 5. Dados dos padrões comerciais utilizados na preparação da mistura de padrões.

Padrão	Fórmula molecular / M+	[M+H] <sup>+</sup>	[M-H] <sup>-</sup>	[M+Na] <sup>+</sup>	[M+K] <sup>+</sup>	Fórmula estrutural
(-)-epicatequina	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> 290,0784	291,0863	289,0706	313,0682	329,0421	
(-)-epigallocatequina galato	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub> 458,0843	459,0921	457,0765	481,0741	497,0480	
(-)-galocatequina galato	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub> 458,0843	459,0921	457,0765	481,0741	497,0480	
(+)- catequina	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> 290,0784	291,0863	289,0706	313,0682	329,0421	
(±)-narigenina	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub> 272,0679	273,0757	271,0601	295,0576	311,0316	

Cont. **Tabela 5.** Dados dos padrões comerciais utilizados na preparação da mistura de padrões.

Padrão	Fórmula molecular / M+	[M+H] <sup>+</sup>	[M-H] <sup>-</sup>	[M+Na] <sup>+</sup>	[M+K] <sup>+</sup>	Fórmula estrutural
apigenina	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> 270,0522	271,0601	269,0444	293,0420	309,0159	
apigenina-7-glicosídeo	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub> 432,1050	433,1129	431,0972	455,0948	471,0688	
baicaleína	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> 270,0522	271,0601	269,0444	293,0420	309,0159	
kaempferol	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub> 286,0471	287,0550	285,0393	309,0369	325,0108	
luteolina	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub> 286,0471	287,0550	285,0393	309,0369	325,0108	
miricetina	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub> 318,0370	319,0448	317,0291	341,0267	357,0007	

Cont. Tabela 5. Dados dos padrões comerciais utilizados na preparação da mistura de padrões.

Padrão	Fórmula molecular / M+	[M+H] <sup>+</sup>	[M-H] <sup>-</sup>	[M+Na] <sup>+</sup>	[M+K] <sup>+</sup>	Fórmula estrutural
naringina	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub> 580,1786	581,1864	579,1708	603,1684	619,1423	
quercetina	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> 302,0421	303,0499	301,0342	325,0318	341,0058	
quercitrina	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub> 448,1000	449,1078	447,0921	471,0897	487,0637	
resveratrol	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> 228,0780	229,0859	227,0702	251,0678	267,0418	
rutina	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub> 610,1528	611,1606	609,1450	633,1426	649,1165	

#### 4.10.3. Condições de análise

As análises por CL-EM foram realizadas na Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais (CA-LTQPN) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

Foi utilizado o sistema CL-ESI-EM constituído por um cromatógrafo modelo Prominence UFLC (Shimadzu), equipado com bomba binária LC-20AT, detector de arranjo de diodos (DAD) SPD-20A e injetor automático SIL-20A e acoplado a espectrômetro de massas (Brucker Daltonics, modelo Micro TOF-QII) com de uma fonte eletrospray e ajustado para os seguintes parâmetros de operação: *Source type*: ESI; *capillary*: 2600 volts; *Scan*: 50-1200 m/z; *Set nebulizer*: 4,0 bar; *Set dry heater*: 200 °C; *Set dry gas*: 9,0 L/ min. As análises foram realizadas nos modos positivo e negativo, usando duas colunas distintas: C18 (Kinetex, 2,6 µm, 100A, 100x200 mm) e PFP (Kinetex, 2,6 µm, 100A, 150x200 mm).

#### 4.10.4. Análise de padrões e amostras

Após a otimização das condições de análise, foram injetadas a solução de mistura de padrões e as soluções das amostras. Os padrões com massas moleculares idênticas foram injetados individualmente mediante as condições determinadas podendo assim retirar as informações pertinentes à identificação destes quando em mistura.

A determinação das melhores de condições de análise só foi possível após inúmeras modificações que abrangeram tempo de análise cromatográfica, modificações de fases móveis, variação da concentração de ácido das soluções utilizadas como fases móveis e variação de colunas cromatográficas (tanto ao tamanho, quanto a natureza da fase estacionária).

A partir da análise de todos os cromatogramas obtidos, definiram-se as melhores condições para a análise em função da melhor resolução obtida para a mistura de padrões. Nas mesmas condições definidas para mistura de padrões foram injetadas as amostras (Tabela 6).

**Tabela 6.** Codificação das amostras de buriti analisadas por CL-EM.

<b>Amostra</b>	<b>Descrição</b>
<i>BCM 37Cl 48</i>	Fração CHCl <sub>3</sub> obtida por partição do extrato metanólico de cascas
<i>BCM 37Ac 48</i>	Fração AcOEt obtida por partição do extrato metanólico de cascas
<i>BCM 37Hid 48</i>	Fração MeOH/H <sub>2</sub> O obtida por partição do extrato metanólico de cascas
<i>BPM15Cl16</i>	Fração CHCl <sub>3</sub> obtida por partição do extrato metanólico de polpa
<i>BPM15Ac16</i>	Fração AcOEt obtida por partição do extrato metanólico de polpa
<i>BPM15Hid16</i>	Fração MeOH/H <sub>2</sub> O obtida por partição do extrato metanólico de polpa
<i>BSM15Cl16</i>	Fração CHCl <sub>3</sub> obtida por partição do extrato metanólico de sementes
<i>BSM15Ac16</i>	Fração AcOEt obtida por partição do extrato metanólico de sementes
<i>BSM15Hid16</i>	Fração MeOH/H <sub>2</sub> O obtida por partição do extrato metanólico de sementes

As amostras de buriti foram então analisadas nos sistemas abaixo:

1) Coluna Kinetex C18 (100 x 2,1 mm; 2,6µm; 100Å), sistema gradiente não linear com fase móvel A: Sol. Aquosa HCOOH 0,1% e fase móvel B: Sol. ACN/ HCOOH 0,1% : 0 - 2,5 min (5 % B), 2,5 - 35 min (5 - 35 % B), 35 - 40 min (35 – 100% B), 40 - 43 min (100 % B), 43 - 47 min (100 - 5 % B). Volume de injeção 10 µL e fluxo 0,40 mL/ min. Espectrômetro de Massas equipado fonte com ESI e operado nos modos positivo e negativo.

2) Coluna Kinetex PFP (150 x 2,1 mm; 2,6µm; 100Å), sistema gradiente não linear com fase móvel A: Sol. Aquosa HCOOH 0,1% e fase móvel B: Sol. ACN/ HCOOH 0,1% : 0 - 2,5 min (5 % B), 2,5 - 35 min (5 - 35 % B), 35 - 40 min (35 – 100% B), 40 - 43 min (100 % B), 43 - 47 min (100 - 5 % B). Volume de injeção 10 µL e fluxo 0,31 mL/ min. Espectrômetro de Massas equipado com fonte ESI e operado nos modos positivo e negativo.

Todas as análises realizadas foram processadas utilizando o software Data Analysis, Bruker.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Coleta e triagem do material vegetal

Os frutos coletados em abril de 2011 foram separados em dois grupos, identificados e então pesados, apresentando as seguintes massas:

**Tabela 7.** Massas dos frutos coletados e agrupados. BFR= Buriti frutos reservados; BFE= Buriti frutos para extração.

Grupo	Quantidade	Massa
<i>BFR</i>	30 unidades	751,34 g
<i>BFE</i>	130 unidades	3157,02 g
<b>Total</b>	<b>160 unidades</b>	<b>3908,36 g</b>

O grupo de frutos BFR foi reservado para eventuais extrações se necessário, devidamente acondicionado e identificado para futuras análises, enquanto que o grupo BFE foi usado neste estudo.

### 5.2. Preparação dos extratos

As massas obtidas dos extratos hexânicos e metanólicos, juntamente com seus respectivos teores de extrativos são descritos na tabela abaixo.

**Tabela 8.** Massas dos extratos obtidos e respectivos teores de extrativos.

Material de partida		Extrato	Massa obtida (g)	Extrativos (%)
Casca	315,00 g	Ext. Hex	8,07	2,56
		Ext. MeOH	45,12	14,32
Polpa	368,22 g	Ext. Hex	154,86	42,05
		Ext. MeOH	33,82	9,18
Sementes	859,69 g	Ext. Hex	0,47	0,05
		Ext. MeOH	14,66	1,70

Os rendimentos observados ilustram o que fora relatado na literatura para a polpa dos frutos de buriti, valores que cercam os 40% em extrativos. O extrato hexânico da polpa apresentou o maior valor dentre os extratos preparados, 42,05%,

seguido do extrato metanólico das cascas com 14,32%, este último não sendo descrito na literatura.

### 5.3. Particionamento líquido-líquido

Durante o procedimento de partição dos extratos metanólicos obtidos, encontrou-se problemas de solubilidade do extrato das cascas de *Mauritia flexuosa* (BCMS15). Dessa forma, o particionamento foi realizado apenas com os extratos metanólicos de cascas e polpa, obtendo as seguintes massas e rendimentos.

**Tabela 9.** Massas das frações obtidas após partição líquido-líquido.

Parte	Códigos	Massa obtida (g)	Rendimentos (%)
Polpa	Fração Hex.	0,9288	2,75
	Fração CHCl <sub>3</sub>	4,1263	12,20
	Fração AcOEt	1,1716	3,46
	Fração Hidroalcoólica	9,0001	26,61
Sementes	Fração Hex.	0,1639	1,12
	Fração CHCl <sub>3</sub>	0,4607	3,14
	Fração AcOEt	0,2302	1,57
	Fração Hidroalcoólica	13,8000	94,17
Cascas	Fração Hex.	0,0577	0,68
	Fração CHCl <sub>3</sub>	0,4855	5,73
	Fração AcOEt	2,4440	28,83
	Fração Hidroalcoólica	5,5800	65,83

### 5.4. Determinação da cadeia graxa dos óleos obtidos

A análise da cadeia graxa dos óleos foi efetuada em duas colunas cromatográficas de forma simultânea para uma maior confiabilidade dos resultados. A composição percentual foi determinada pela média dos percentuais de áreas obtidos para cada um dos ésteres metílicos de ácidos graxos identificados nos cromatogramas obtidos em coluna polar (HP-INNOWAX-20) e apolar (HP-5) (Figuras 10 a 12). Os ésteres metílicos das amostras foram identificados com auxílio de padrões que foram injetados nas mesmas condições, obtendo-se assim os tempos de retenção nas duas colunas utilizadas e tornando possível a identificação através da comparação dos tempos de retenção para padrões (Tabela 10) e das amostras dos óleos provenientes das cascas, da polpa e das sementes dos frutos de buriti (Tabela 11).

**Tabela 10.** Tempos de retenção para padrões FAME analisados por CG-DIC.

Ácido graxo	Cadeia	Tempo de retenção (min)	
		Col. Apolar	Col. Polar
caprílico	C 8:0	2,30	2,08
pelargônico	C 9:0	3,06	2,65
caprílico	C 10:0	4,13	3,46
undecanóico	C 11:0	5,35	4,42
undecenóico	C 11:1 cis-10	5,20	5,02
láurico	C 12:0	6,79	5,56
mirístico	C 14:0	11,98	8,64
miristoléico	C 14:1 cis-9	11,52	9,49
palmítico	C 16:0	24,74	15,08
palmitoléico	C 16:1 cis-9	22,64	16,26
palmitoléico	C 16:1 trans-9	23,45	16,51
esteárico	C 18:0	57,16	27,49
petroselínico	C 18:1 cis-6	50,92	31,51
cis-vaccênico	C 18:1 cis-11	51,33	31,93
oléico	C 18:1 cis-9	50,80	31,61
trans-vaccênico	C 18:1 trans-11	53,98	32,85
elaídico	C 18:1 trans-9	52,67	32,03
	C 18:1 cis-12	53,51	33,42
linolelaídico	C 18:2 trans-9,12	51,16	37,67
linoléico	C 18:2 cis-9,12	49,13	36,98
$\alpha$ -linolênico	C 18:3 cis-9,12,15	49,51	45,80
$\gamma$ -linolênico	C 18:3 cis-6,9,12	44,75	40,49
	C 18:4 cis-6,9,12,15	45,93	51,00
linoléico conjugado (CLA)	C 18:2 cis-9,11	62,48	53,98
	C 19:0	62,44	42,47
araquídico	C 20:0	70,59	61,55
	C 20:1 cis-5	69,87	62,95
	C 20:1 cis-11	69,76	63,05
	C 20:1 cis-8	69,79	63,05
	C 20:1 cis-13	70,08	64,26
	C 20:2 cis-11,14	69,66	66,19
	C 20:3 cis-8,11,14	68,88	67,04
	C 20:3 cis-11,14,17	69,74	68,46
araquidônico	C 20:4 cis-5,8,11,14,17	68,26	67,89
timnodônico (EPA)	C 20:5 cis-5,8,11,14,17	68,59	69,91
	C 21:0	72,75	67,75
behênico	C 22:0	74,50	70,53
erúcico	C 22:1 cis-13	74,11	71,00
	C 22:2 cis-13,16	73,94	71,86
	C 22:3 cis-13,16,19	74,06	73,05
	C 22:4 cis-7,10,13,16	73,15	72,74
docosaexaenóico (DHA)	C 22:6 cis-4,7,10,13,16,19	73,02	74,32
nervônico	C 24:1	77,09	74,55

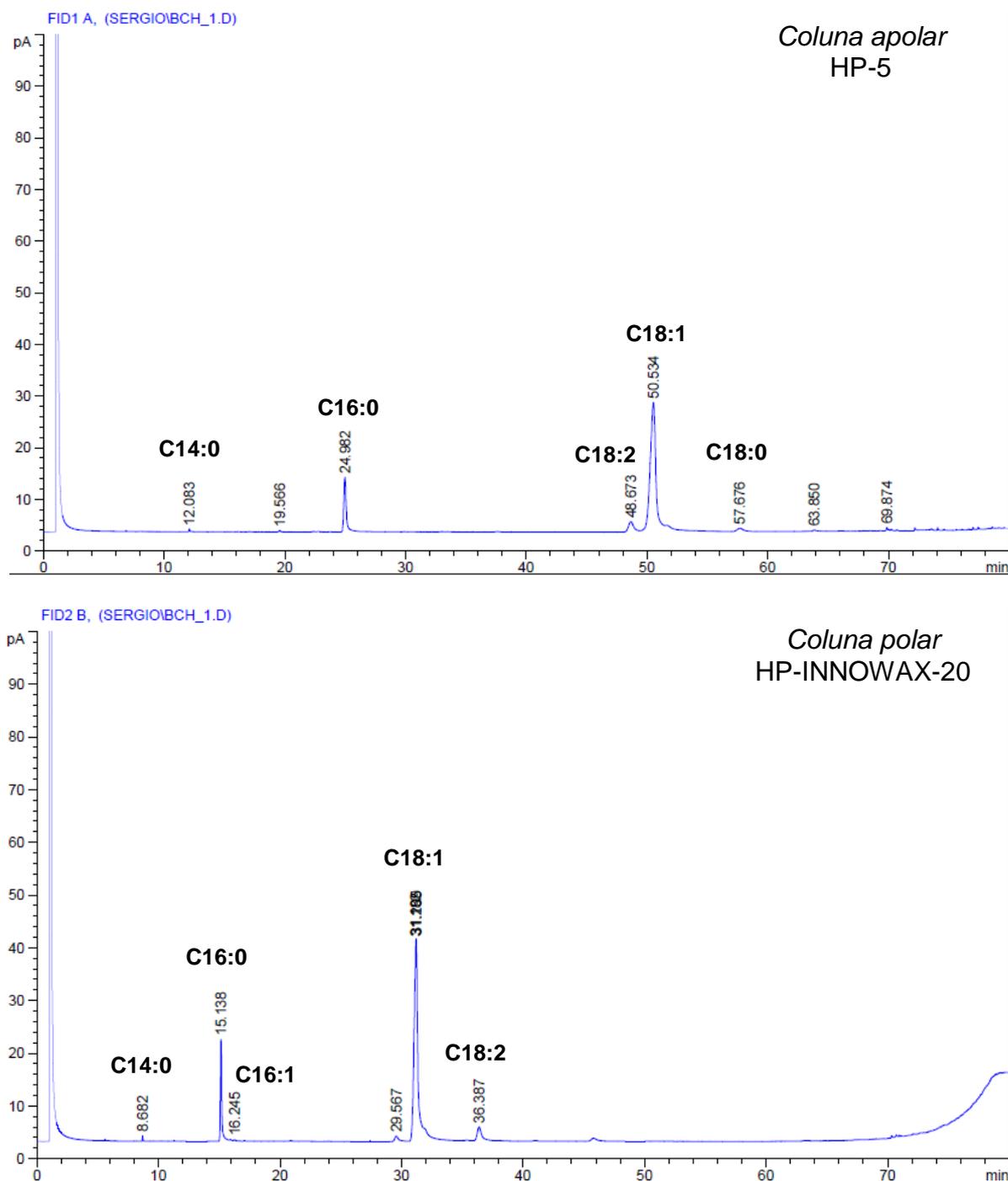
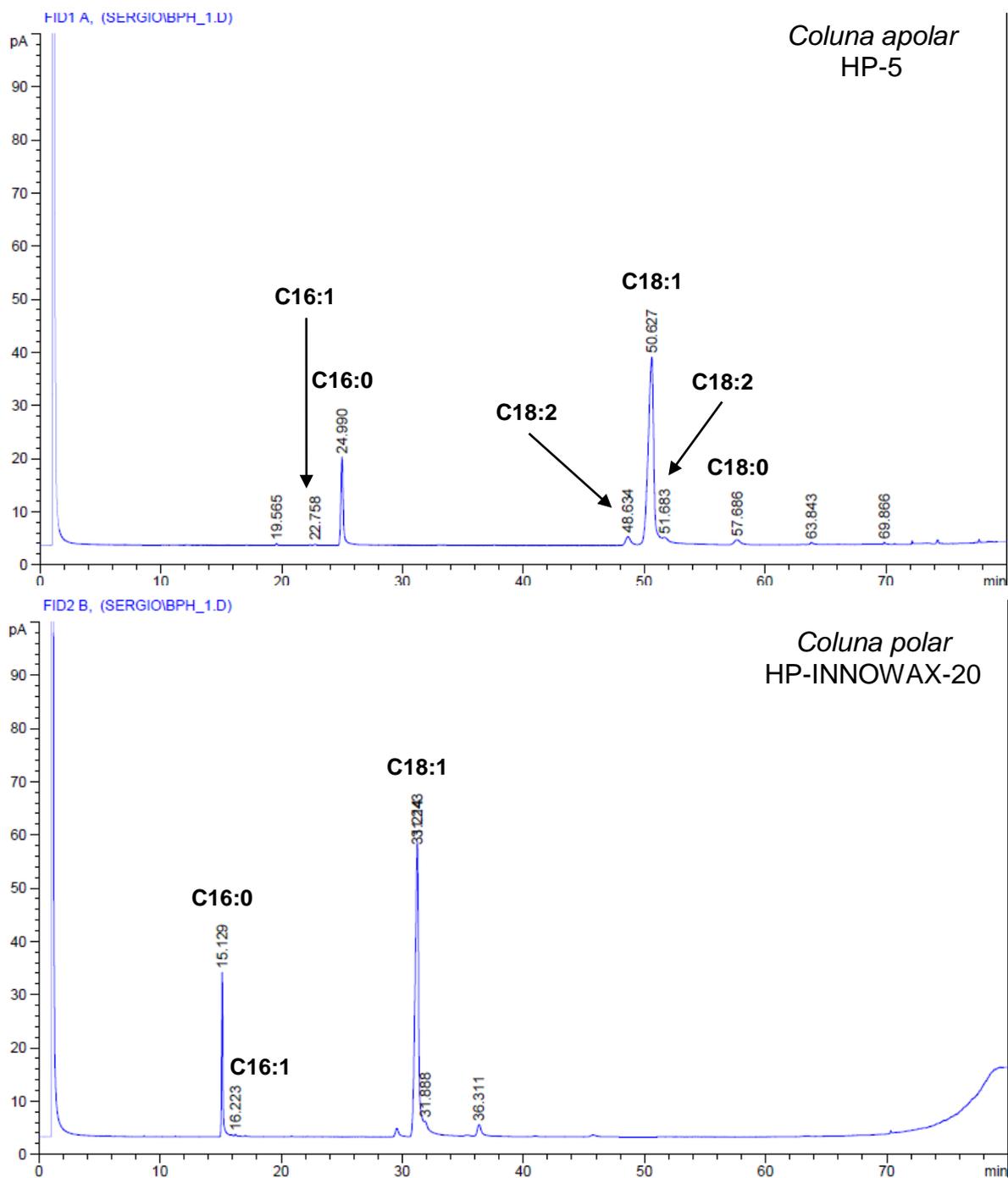
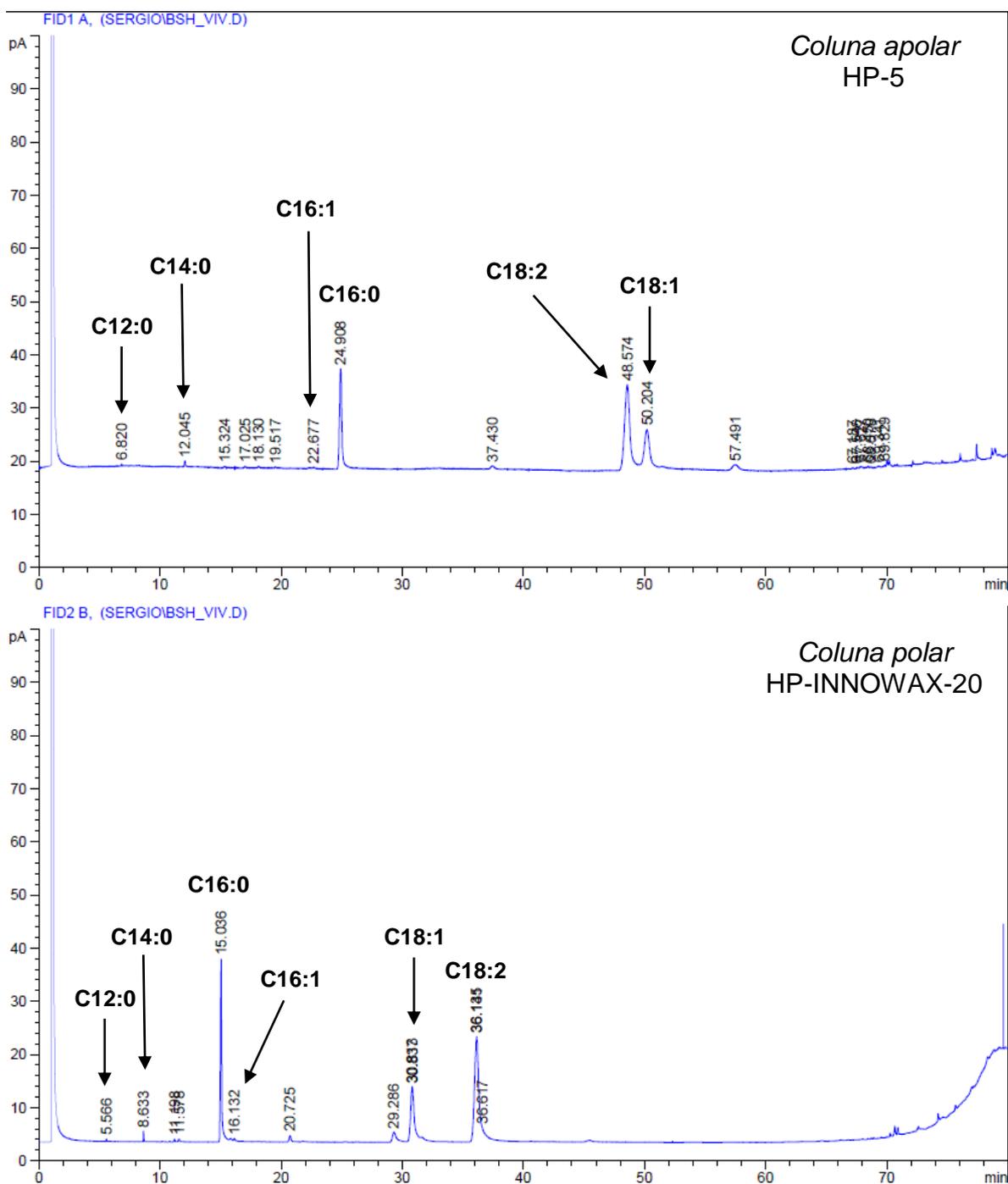
BCH – óleo das cascas de frutos

Figura 10. Perfil cromatográfico em coluna apolar e polar do óleo das cascas de buriti obtido por CG-DIC.

BPH – óleo da polpa de frutos

**Figura 11.** Perfil cromatográfico em coluna apolar e polar do óleo da polpa de buriti obtido por CG-DIC.

BPH – óleo das sementes de frutos



**Figura 12.** Perfil cromatográfico em coluna apolar e polar do óleo da polpa de buriti obtido por CG-DIC.

Conforme pode ser visto, os óleos de cascas e polpa dos frutos de buriti analisados apresentaram uma maior concentração de ácidos graxos monoinsaturados (MUFAS), sendo o predominante o ácido oléico (C 18:1) em concentrações por volta de 80% da composição dos óleos (Tabela 11). Já a cadeia graxa do óleo das

sementes apresentou como componente majoritário o ácido linoléico (C 18:2) com 47% do total (Tabela 11).

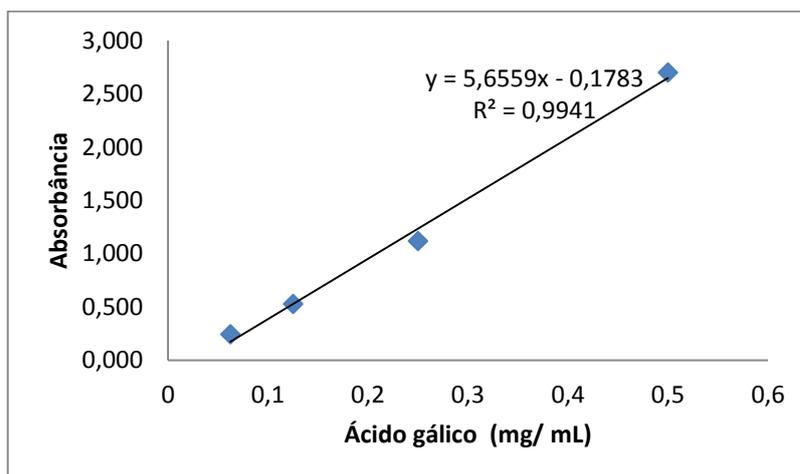
**Tabela 11.** Composição da cadeia graxa dos óleos de frutos de buriti obtidos por CG-DIC.

	$t_r$ (coluna apolar)	$t_r$ (coluna polar)	Ácido graxo	Cadeia	% Área (HP-5)	%Área (HP INNOWAX-20)	%Área média
BCH óleo das cascas	12,083	8,682	Mirístico	C 14:0	0,301	0,342	0,322
	24,982	15,138	Palmítico	C 16:0	14,696	15,704	15,200
	-----	16,245	Palmitoléico	C 16:1	-----	0,140	-----
	57,676	-----	Esteárico	C 18:0	1,872	-----	-----
	50,534	31,195	Oléico	C18:1	76,549	78,760	77,655
	48,673	36,387	Linoléico	C 18:2	5,598	4,872	5,235
<b><math>\Sigma</math> Área</b>					<b>99,016</b>	<b>99,818</b>	<b>99,417</b>
BPH óleo da polpa	24,99	15,129	Palmítico	C 16:0	15,310	17,745	16,528
	22,758	16,223	Palmitoléico	C 16:1	0,131	0,081	0,106
	57,686	-----	Esteárico	C 18:0	2,030	-----	-----
	50,627	31,228	Oléico	C18:1	76,725	81,868	79,297
	48,634	-----	Linoléico	C 18:2	3,056	-----	-----
	51,683	-----	Linolelaídico	C 18:2	1,924	-----	-----
<b><math>\Sigma</math> Área</b>					<b>99,176</b>	<b>99,694</b>	<b>99,435</b>
BSH óleo das sementes	6,82	5,56	Láurico	C 12:0	0,130	0,158	0,144
	12,045	8,63	Mirístico	C 14:0	0,596	0,615	0,606
	24,908	15,036	Palmítico	C 16:0	25,390	27,874	26,632
	57,491	-----	Esteárico	C 18:0	4,074	-----	-----
	22,677	16,132	Palmitoléico	C 16:1	0,203	0,317	0,260
	48,574	36,138	Linoléico	C 18:2	45,613	48,884	47,249
50,204	30,825	Oléico	C18:1	19,006	19,566	19,286	
<b><math>\Sigma</math> Área</b>					<b>95,012</b>	<b>97,414</b>	<b>96,213</b>

A composição média dos óleos pode ser verificada na tabela 11, sendo possível identificar o mínimo de 96% de estéres metílicos. A composição dos óleos apresentou maior composição de ácidos graxos insaturados. Os valores de MUFAs encontrados para o buriti são maiores que os encontrados para óleos de oliva e castanha do Brasil. Além disso, óleo de da polpa dos frutos de buriti apresenta estabilidade oxidativa devido à baixa concentração de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) (Pardauil *et al.*, 2011)

## 5.5. Quantificação de Fenólicos Totais

A concentração de fenólicos totais em cada uma das amostras foi determinada a partir da interpolação das absorbâncias observadas na reta de regressão linear da curva do padrão de ácido gálico (Figura 13).



**Figura 13.** Curva de calibração de ácido gálico.

Os valores de fenólicos totais foram expressos em equivalentes de mg de ácido gálico (AG) por grama de material vegetal seco. O cálculo deu-se a partir da interpolação das absorbâncias considerando ainda o teor de extrativos para cada parte do fruto e os rendimentos obtidos para os particionamentos, resultando assim nos valores listados na Tabela 12.

**Tabela 12.** Valores obtidos para a concentração de fenólicos totais nas frações de *Mauritia flexuosa* L.f

Parte do fruto	Fração	mg AG/ 100g material seco ± DP
Casca	<i>CHCl<sub>3</sub></i>	69,88 ± 0,006
	<i>AcOEt</i>	742,66 ± 0,08
	<i>Hidroalcoólica</i>	1998,80 ± 0,03
Polpa	<i>CHCl<sub>3</sub></i>	89,00 ± 0,003
	<i>AcOEt</i>	36,70 ± 0,009
	<i>Hidroalcoólica</i>	141,44 ± 0,007
Sementes	<i>CHCl<sub>3</sub></i>	24,38 ± 0,003
	<i>AcOEt</i>	19,95 ± 0,028
	<i>Hidroalcoólica</i>	493,33 ± 0,004

Dentre as frações analisadas a que a apresentou maior concentração de substâncias fenólicas foi a fração hidroalcoólica das cascas, seguida da fração acetato de etila das cascas sendo que a primeira apresentou mais que o dobro da

concentração de fenólicos da segunda ( $742,66 \pm 0,03$  e  $1998,80 \pm 0,08$ , respectivamente).

Realizando um comparativo entre as partes do fruto, as frações das cascas apresentaram valores superiores quando comparados ao mesmo solvente utilizado no particionamento, Os menores valores foram obtidos para as frações clorofórmicas e acetato de etila das sementes, apresentando  $24,38 \pm 0,003$  e  $19,95 \pm 0,028$  mg de ácido gálico, respectivamente.

Pelos resultados obtidos, não é possível correlacionar a concentração de fenólicos totais com o solvente usado na extração e nem com parte do fruto. De acordo com Koolen e colaboradores (2013), o extrato metanólico dos frutos não maduros e inteiros apresentou o valor de  $387,07$  mg de equivalentes de ácido gálico/  $100$  g material seco, sendo este inferior aos valores encontrados neste estudo para frações acetato de etila e hidrolacóica das cascas e fração hidroalcoólica das sementes analisadas indicando que ocorre uma concentração desse tipo de substâncias nessas frações, sendo assim a concentração de fenólicos nos frutos inteiros foi menor que os valores encontrados para frações de algumas das partes isoladas.

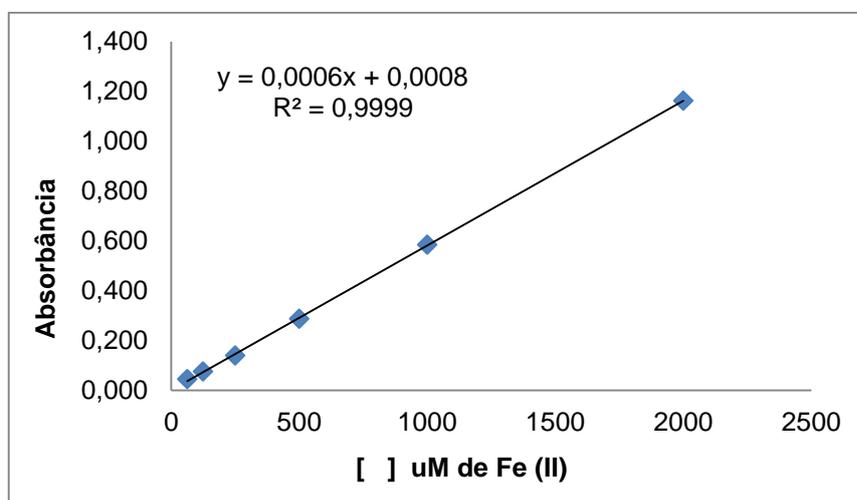
O fato de as frações das cascas apresentarem maior concentração de fenólicos pode ser relacionada com os rendimentos para extratos metanólicos, uma vez que esta parte do fruto apresentou o maior rendimento ( $14,32\%$ ) quando comparado às demais partes (polpa:  $9,18\%$  e sementes:  $1,7\%$ ) e sabe-se que as substâncias fenólicas, principalmente flavonóides, apresentam afinidade por solventes de média polaridade, tais como o acetato de etila (Wagner e Bladt, 1996).

## **5. 6. Determinação da atividade antioxidante**

### **5.6.1. Capacidade redutora do Ferro (FRAP)**

A partir dos dados de absorvância em função da concentração foi construída uma curva de calibração de sulfato ferroso ( $\text{Fe}(\text{SO}_4) \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )  $\mu\text{M}$  (Figura 14). Os valores de absorvância para cada fração foram interpolados na curva de calibração e os resultados da capacidade redutora de Fe (III) foram expressos como  $\mu\text{M}$  de Fe(II)/g de extrato seco.

Maiores valores de Fe (II) ( $\mu\text{M}$ ) detectados para as frações indicam uma maior capacidade das substâncias presentes para reduzir Fe (III) e formar complexos estáveis com Fe (II).



**Figura 14.** Curva de calibração linear da %CS em função da Concentração ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) de quercetina.

Na tabela 13 encontram-se os valores referentes as frações testadas de cascas, polpa e sementes de frutos de *Mauritia flexuosa* L.f.

**Tabela 13.** Resultados da capacidade de redução de Fe (III) das frações dos frutos de *Mauritia flexuosa* L.f.

Parte do fruto	Frações	$\mu\text{M Fe}/ 100\text{g extrato seco} \pm \text{DP}$
Cascas	$\text{CHCl}_3$	$147,25 \pm 0,002$
	$\text{AcOEt}$	$241,31 \pm 0,04$
	Hidroalcoólica	$250,03 \pm 0,02$
Polpa	$\text{CHCl}_3$	$51,08 \pm 0,01$
	$\text{AcOEt}$	$54,42 \pm 0,002$
	Hidroalcoólica	$20,58 \pm 0,002$
Sementes	$\text{CHCl}_3$	$80,03 \pm 0,004$
	$\text{AcOEt}$	$99,42 \pm 0,03$
	Hidroalcoólica	$21,25 \pm 0,007$

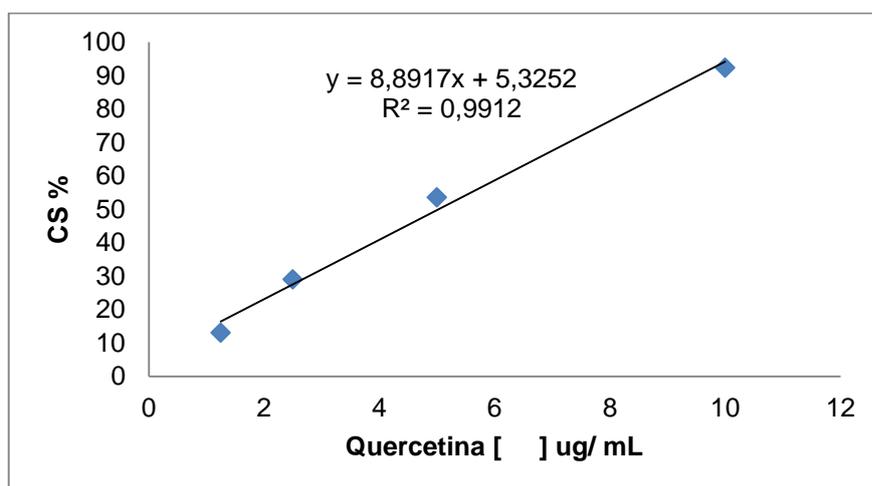
Dentre as frações analisadas a que apresentou maior capacidade de redução de ferro foi a fração hidroalcoólica das cascas dos frutos com valor  $250,03 \pm 0,02 \mu\text{M Fe}/ 100\text{g extrato seco}$  seguido da fração acetato de etila das cascas,  $241,31 \pm 0,04$

$\mu\text{M Fe/ 100g}$  extrato seco. Os menores valores foram obtidos para a fração hidroalcoólica das sementes e fração acetato de etila da polpa,  $21,25 \pm 0,007$  e  $20,58 \pm 0,002 \mu\text{M Fe/ 100g}$  extrato seco respectivamente.

Os resultados obtidos para o ensaio FRAP estão em concordância com os resultados obtidos para a quantificação de fenólicos. As frações que apresentaram a maior concentração de fenólicos foram as que também apresentaram maior capacidade de redução do ferro. Realizando um comparativo dos valores entre o extrato hidroalcoólico dos frutos verdes inteiros (Koolen *et al.*, 2013) e os valores obtidos para o presente estudo, pode-se afirmar que o extrato dos frutos inteiros possuem menor capacidade redutora de ferro ( $0,28 \pm 37.99 \mu\text{M Fe/ 100g}$  extrato seco) que quaisquer uma das frações testadas neste trabalho.

### 5.6.2. Captura de radicais livres DPPH

Foi estimado o parâmetro  $\text{CS}_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ), que expressa a concentração de substrato que causa 50 % de perda da atividade do radical livre de DPPH a partir da equação da reta dos gráficos da porcentagem de capacidade de seqüestro do radical livre DPPH (%CS) em função da concentração, series de diluições de frações e do controle positivo.



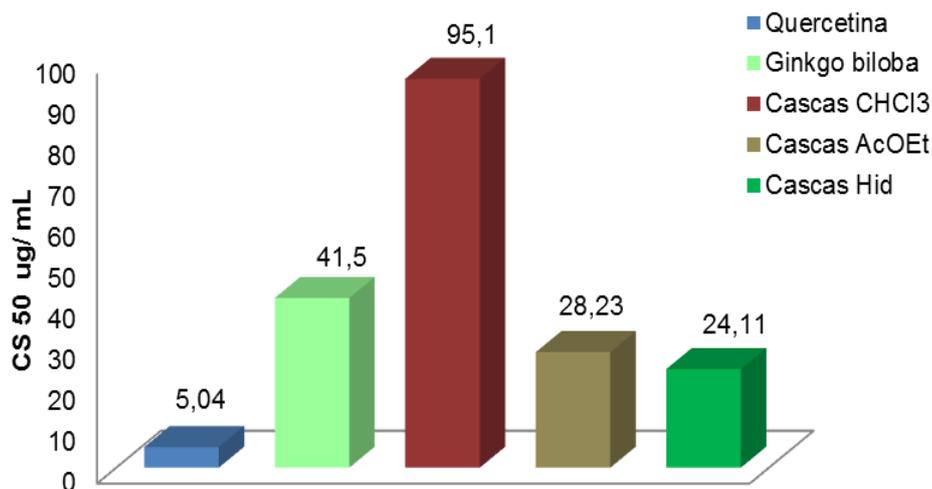
**Figura 15.** Curva de calibração linear da %CS em função da Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ) de quercetina.

O valor calculado de  $\text{CS}_{50}$  para a quercetina a partir da equação da reta (Figura 15) foi de  $5,04 \mu\text{g/mL}$ . Esse dado constitui uma referência da atividade antioxidante de uma substância de caráter polifenólico com reconhecidas propriedades antioxidantes.

Foi utilizado ainda para efeito de comparação, o  $CS_{50}$  do extrato etanólico de *Ginkgo biloba*, que em trabalho realizado por Silva *et al.*(2005), utilizando a sinonímia *Mauritia vinifera*, apresentou o valor de 41,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Durante a determinação da faixa de trabalho para o teste, as frações de polpas e sementes dos frutos, apresentaram valores de  $CS_{50}$  acima de 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , não apresentando assim atividade antioxidante frente ao método DPPH. Entretanto, as frações das cascas dos frutos apresentaram valores medianos entre o controle positivo quercetina e o valor para a *Ginkgo biloba* (Figura 16).

Os valores encontrados para as frações das cascas de frutos de buriti no presente trabalho são menores que os valores obtidos nos trabalhos anteriores para extratos de polpa e cascas da sinonímia *Mauritia vinifera*, que apresentaram respectivamente 538,3 e 71,0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , e para o extrato hidroalcoólico de frutos verdes inteiros, 19,58  $\text{mg}/\text{mL}$  (Koolen *et al.*, 2013).



**Figura 16.**  $CS_{50}$  para frações das cascas dos frutos de *Mauritia flexuosa* L.f , controle positivo (quercetina) e extrato etanólico de *Ginkgo biloba*.

Das frações das cascas a que apresentou maior atividade foi a fração hidroalcoólica (24,11  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) seguida da fração acetato de etila (28,23  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). A menor atividade foi observada para a fração clorofórmica (95,10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) apresentando  $CS_{50}$  aproximadamente 20 vezes maior que o controle positivo quercetina.

Os dados obtidos para as cascas dos frutos de buriti sugerem que a atividade antioxidante significativa está relacionada com a presença de antocianinas, que apresentam atividade antioxidante já descrita em inúmeros trabalhos na literatura. A presença de cor nas plantas e extratos está relacionada à presença de antocianinas,

responsável por colorações que vão de amarelo a vermelho nos tecidos vegetais. Além de serem responsáveis pela cor dos vegetais e apresentarem atividade antioxidante, a presença de antocianinas ainda está relacionada à fotoproteção dos tecidos vegetais, o que apresenta relação direta no caso dos frutos de buriti pois a presença de substâncias fotoprotetoras e antioxidantes nas cascas de buriti realizariam a proteção de carotenóides e tocoferóis contidos na polpa deste fruto, justificando assim a atividade observada frente ao ensaio DPPH (Smillie e Hetherington, 1999; Steyn *et al.*, 2002; Dewick, 2009)

### **5.7. Análise de fenólicos e flavonóides por CL – EM.**

Segundo Corley e Dorley (1994), as estratégias para a triagem de extratos de produtos naturais para identificação de novos compostos utilizando a desrepliação representa a chance de encontrar novos compostos bioativos. A rápida caracterização de compostos conhecidos é o processo conhecido como desrepliação e faz uso de técnica hífenadas como CL-EM e CL-RMN, e tornou-se uma área de importância estratégica para o químico de produtos naturais.

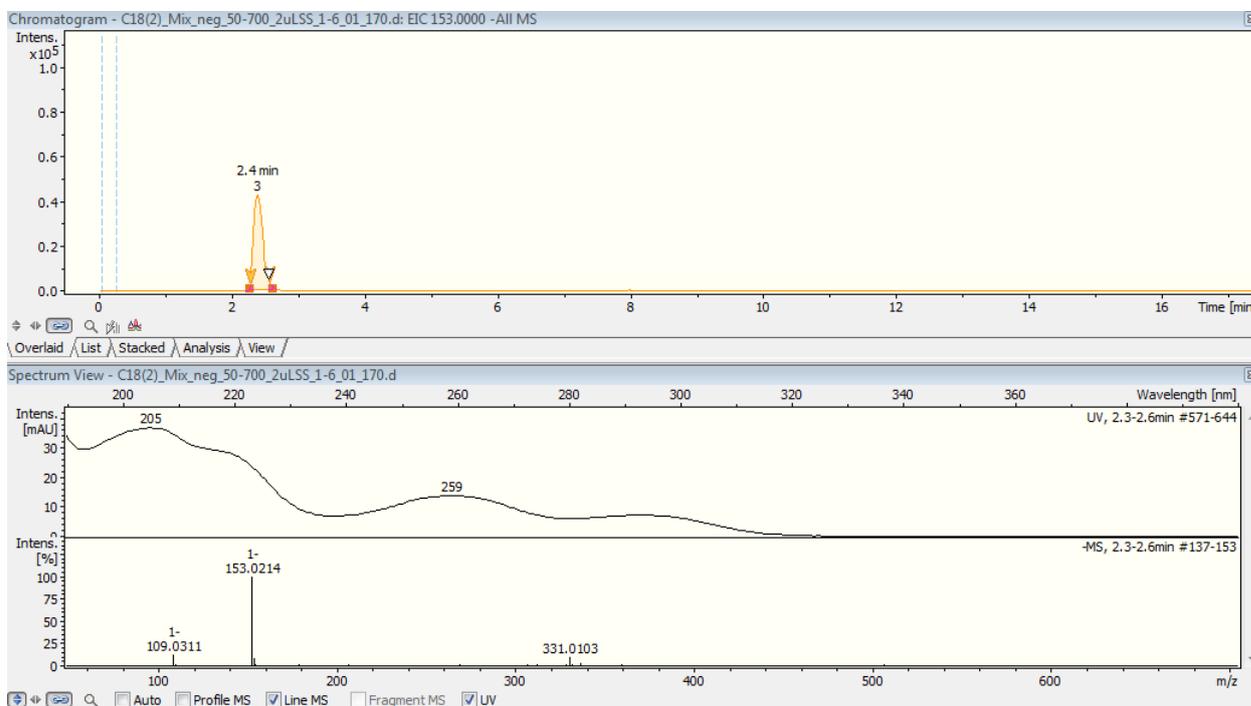
Várias bases de dados comerciais foram desenvolvidas e podem auxiliar na tarefa da elucidação de compostos, como o Scifinder, MASSBANK e CrossFire Commander (Nikolic *et al.*, 2012). Na ausência de informações para os compostos investigados, a criação de um banco de dados próprio para o trabalho é válida quando se faz uso de padrões que são analisados nas mesmas condições e aparelhagem.

A análise das amostras obtidas por partição dos extratos de buriti foi possível somente após a otimização das condições cromatográficas e dos parâmetros de análise por espectrometria de massas para a mistura de padrões.

Para desrepliação dos extratos de plantas, um banco de dados foi construído contendo todas as moléculas e dados espectroscópicos. Assim, a partir da análise comparativa foram identificadas as substâncias padrão. Os dados coletados levaram à criação de um banco de dados contendo 28 moléculas incluindo 11 ácidos fenólicos e 17 flavonóides.

Foram realizadas análises CL-EM nas colunas C18 e PFP nos modos positivo e negativo. O processamento dos cromatogramas foi realizado utilizando o software

DataAnalysis, podendo assim ser retirados dados como tempo de retenção ( $t_r$ ),  $m/z$  para os padrões, fragmentações e absorbâncias para cada substância (Figura 17).



**Figura 17.** Interface do software DataAnalysis utilizado no processamento do cromatogramas CL-EM obtidos.

Para ambas as colunas, após coletadas as informações pertinentes, foram construídas tabelas que contém os dados que foram utilizados na identificação dos padrões nas amostras de buriti (Tabela 14 e 15). O software utilizado fornece ferramentas para extração das massas de interesse e ao ser comparado com os padrões de fragmentação, tempos de retenção e absorbância foi possível identificar cada substância nos cromatogramas.

Nos cromatogramas os picos foram numerados de acordo com o tempo de retenção e assim relacionados às substâncias nas tabelas 14 e 15.

### 5.7.1. Análise da mistura de padrões usando a coluna C18

A coluna C18, usualmente utilizada em análises de compostos fenólicos (Tabela 5), foi inicialmente utilizada nas análises devido a variedade de trabalhos descritos na literatura fazendo uso desta como fase estacionária útil para desreplicação de compostos fenólicos. Assim, as análises foram conduzidas usando-

se a coluna C18 e foram obtidos os cromatogramas BPC (Cromatograma do Pico Base) nos modos positivo e negativo (Figuras 18 e 19)

Conforme descrito na seção 4.10, foi utilizada uma solução estoque contendo 28 padrões, porém foram observados somente 26 picos nos cromatograma BPC no modo positivo e negativo sugerindo assim a ocorrência de co-eluições. Estas co-eluições foram confirmadas à medida que se deu o processamento das análises (Anexos 24 a 27).

Não foi possível diferenciar os padrões isoméricos apenas por meio da análise de suas fragmentações. Por isso, estes padrões foram injetados individualmente para se determinar seus respectivos tempos de retenção e assim identificá-los quando na mistura (ver anexos).

Os padrões que foram isoladamente injetados para a coluna C18 foram apigenina e baicaleína (270,0522  $m/z$ ); luteolina e kaempferol (286,0471  $m/z$ ); epicatequina e catequina (290,0784  $m/z$ ); quercetina e ácido nordihidroguaiarético (302,0421  $m/z$ ); (-)-epigallocatequina galato e (-)-gallocatequina galato (458,0843  $m/z$ ).

A resolução das co-eluições se deu da mesma forma, realizando injeções da solução padrão isoladamente para a confirmação dos tempos de retenção das substâncias.

A partir das informações obtidas na a coluna C18 foi construída uma tabela contendo número do pico, tempo de retenção ( $t_r$ ), máximos de absorbância ( $\lambda$ ) do espectro de UV, massa molecular ( $m/z$ ) e a substância referente a cada pico identificado.

### C18 modo positivo

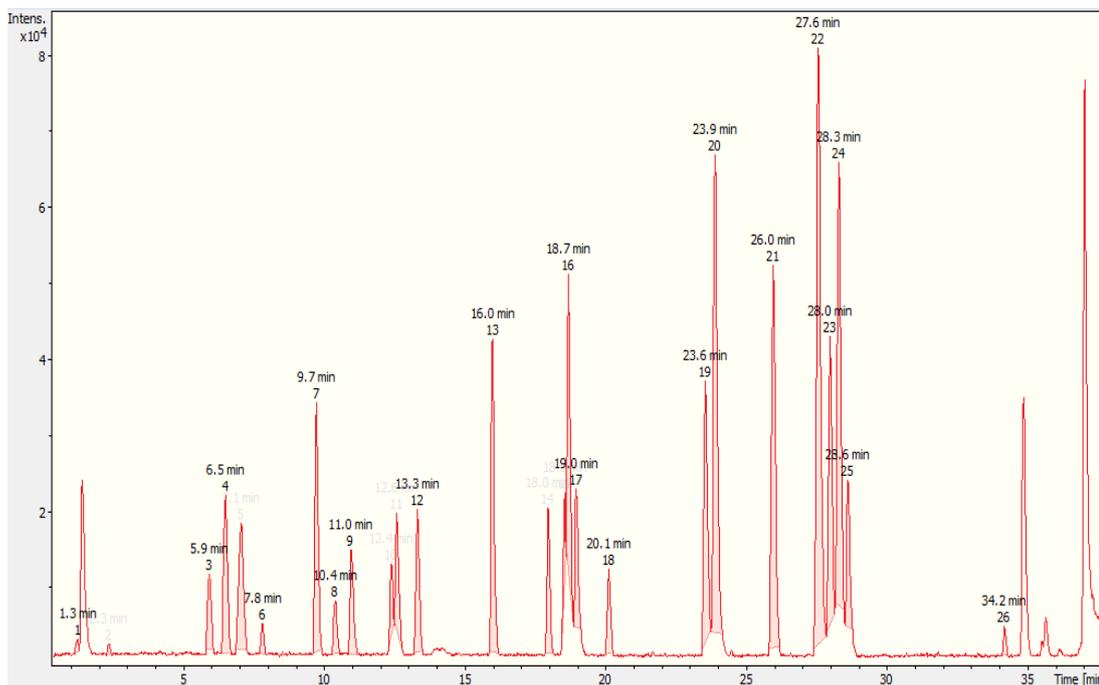


Figura 18. Cromatograma obtido para a mistura de padrões utilizando a coluna C18 e modo positivo análise.

### C18 modo negativo

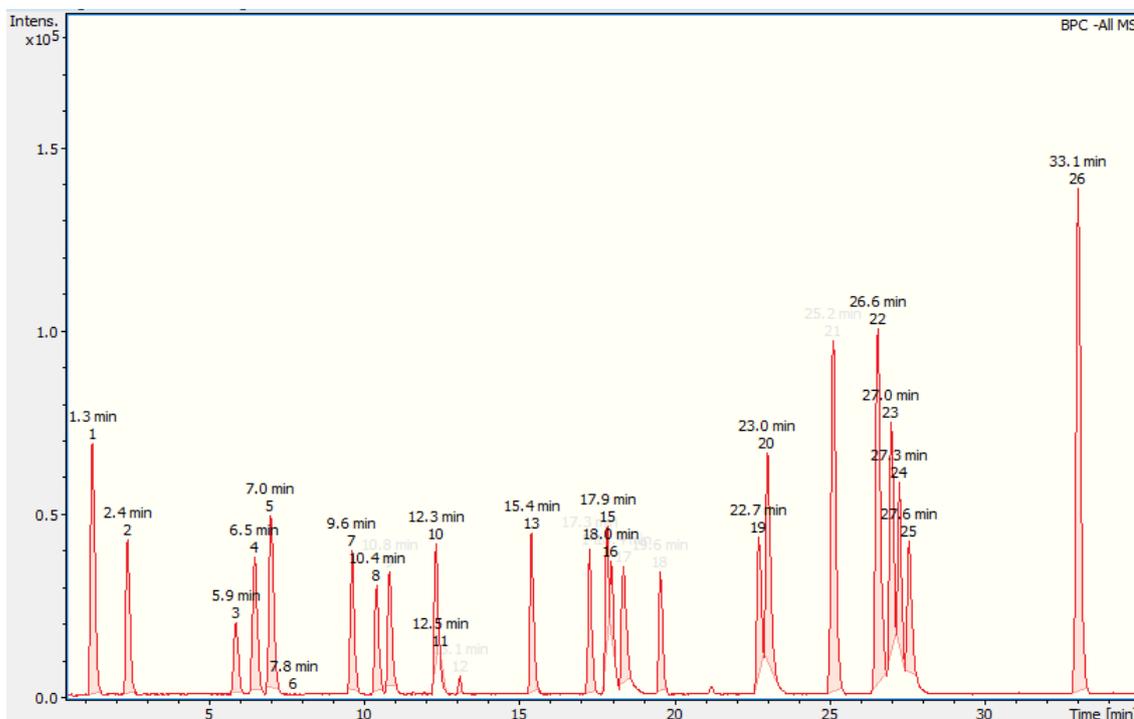


Figura 19. Cromatograma obtido para a mistura de usando a coluna C18 e o modo negativo de análise.

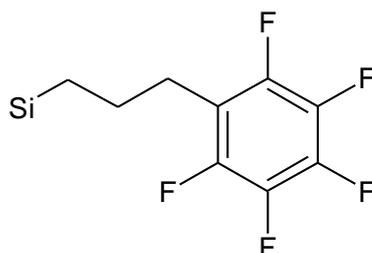
Tabela 14. Listagem de padrões para a coluna C18 nos modos positivo e negativo.

C18

Pico nº	<i>t<sub>r</sub></i> (min)				$\lambda$	<i>m/z</i>	Substância / Padrão
	BPC (+)	UV (+)	BPC (-)	UV (-)			
1	1,3	1,1	1,3	1,1	210 / 271	170,0209	ácido gálico
2	2,3	2,3	2,4	2,3	205 / 259	154,0260	ácido 3,4-dihidroxibenzóico
3	5,9	5,9	5,9	5,8	206 / 270	306,0734	(-) - epigallocatequina
4	6,5	6,4	6,5	6,4	204 / 280	290,0784	(+) - catequina
5	7,1	6,9	7,0	6,9	219 / 323	180,0417	ácido caféico
					216 / 325	354,0945	ácido clorogênico
6	7,8	7,8	7,8	7,7	210 / 275	198,0522	ácido siríngico
7	9,7	9,7	9,6	9,5	204 / 278	290,0784	(-) - epicatequina
8	10,4	10,3	10,4	10,3	210 / 309	164,0467	ácido para-cumárico
9	11	10,9	10,8	10,7	208 / 273	458,0843	(-) - epigallocatequina galato
10	12,4	12,4	12,4	12,4	219 / 323	194,0573	ácido ferúlico
11	12,6	12,4	12,6	12,5	211 / 274	458,0843	(-) - galocatequina galato
12	13,3	13,3	13,1	13,0	221 / 323	224,0679	ácido sinápico
13	16,0	15,9	15,4	15,3	221 / 212	610,1528	rutina
14	18,0	17,9	17,3	17,2	221 / 282	580,1786	naringina
15	18,6	18,5	17,9	17,8	210 / 265 / 341	448,1000	quercitrina
16	18,7	18,7	18	17,9	220 / 270 / 340	432,1050	apigenina-7-glicosídeo
17	19,0	18,9	18,4	18,3	213 / 272	318,0370	miricetina
18	20,1	20,1	19,6	19,5	217 / 283 / 305	228,0780	resveratrol
						148,0518	ácido trans-cinâmico
19	23,6	23,5	22,7	22,7	210 / 339	302,0421	quercetina
20	23,9	23,8	23,0	22,9	212 / 347	286,0471	luteolina
21	26,0	25,9	25,2	25,1	215 / 288	272,0679	(±) - narigenina
22	27,6	27,5	26,6	26,5	218 / 275	270,0522	baicaleína
23	28,0	27,9	27,0	26,9	215 / 367	286,0471	kaempferol
24	28,3	28,3	27,3	27,2	219 / 275	270,0522	apigenina
25	28,6	28,6	27,6	27,5	220 / 368	316,0577	isoramnetina
26	34,2	34,1	33,1	33	218 / 366	302,1512	ácido nordiidroguaiarético

### 5.7.2. Análise da mistura de padrões usando a coluna PFP

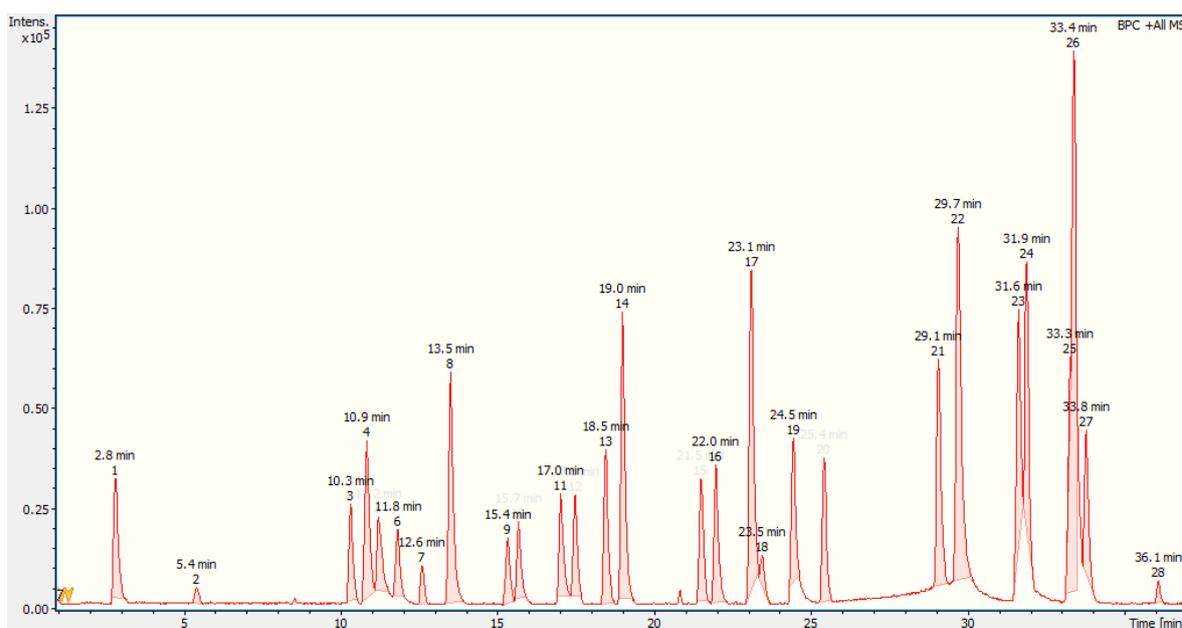
A utilização de uma coluna com fase estacionária diferente (PFP – Pentafluorofenil, Figura 20) e não apenas com dimensões diferentes da C18, se deu devido à ocorrência de co-eluições. Dessa forma, a mudança da fase estacionária trouxe informações diferenciadas, que ajudaram na resolução das co-eluições ocorridas na coluna anteriormente utilizada.



**Figura 20.** Estrutura do Pentafluorofenil (PFP).

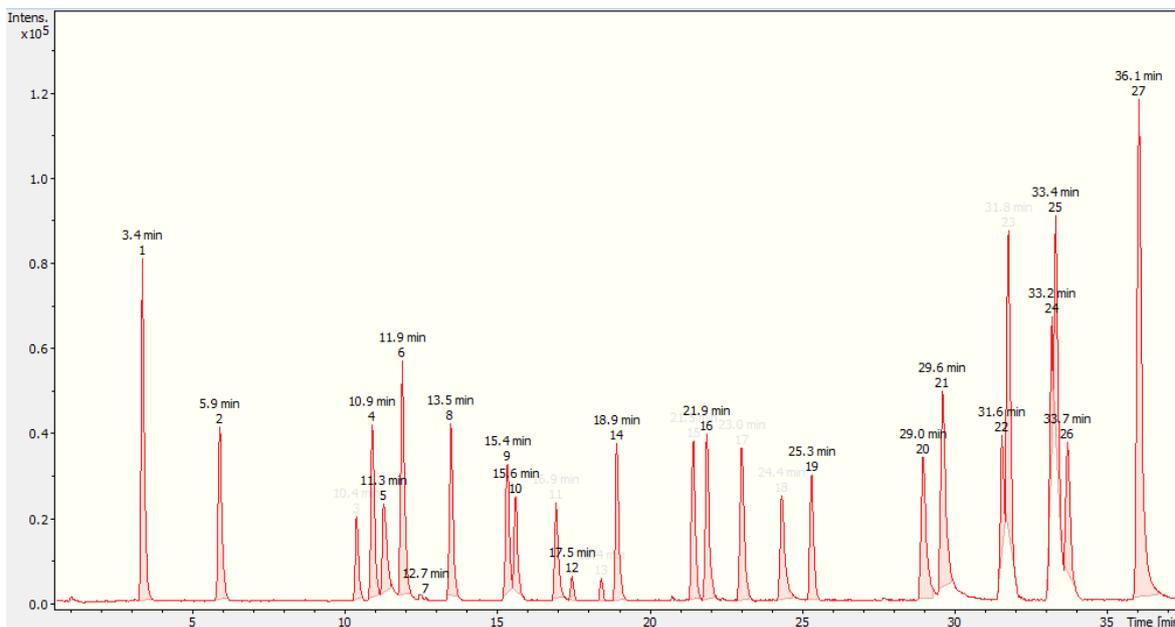
As análises realizadas com a coluna PFP foram conduzidas em um fluxo diferente (0,31 mL/min) daquele utilizado com a coluna C18 (0,43 mL/min) devido a dificuldades na estabilização da pressão do cromatógrafo. Foram obtidos assim os cromatogramas BPC para os modos positivo e negativo usando a coluna PFP (Figuras 21 e 22).

#### *PFP modo positivo*



**Figura 21.** Cromatograma obtido para a mistura de padrões usando a coluna PFP e o modo positivo de análise.

### PFP modo negativo



**Figura 22.** Cromatograma obtido para a mistura de padrões usando a coluna PFP e o modo negativo de análise.

A partir das informações obtidas para a coluna PFP foi construída uma tabela contendo número do pico, tempo de retenção ( $t_r$ ), máximos de absorvância (nm) do espectro de UV, massa molecular ( $m/z$ ) e a substância referente a cada pico identificado (Tabela 15). As informações do detector de UV são apresentadas porque funcionaram como ferramenta adicional na identificação e detecção de um ou outro padrão não observados nos cromatogramas BPC (Anexos 4, 9, 14 e 18).

Apesar de o UV ser um detector menos informativo, decidiu-se por manter as informações desse detector (máximos de absorvância), pois funciona como uma ferramenta adicional de identificação, especialmente útil para a identificação de substâncias fenólicas.

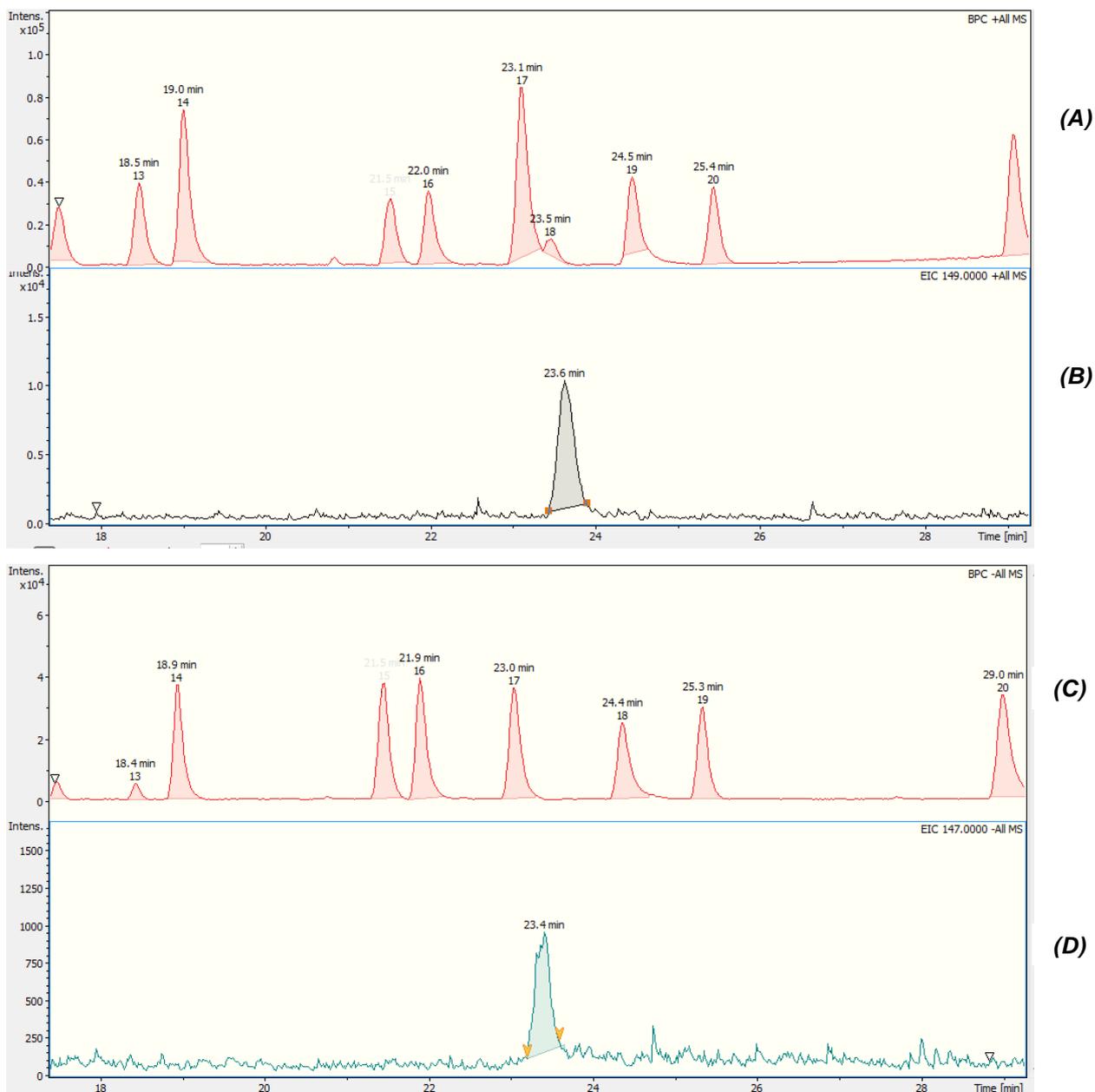
Conforme mostrado na Figura 21, no cromatograma BPC obtido no modo positivo de análise estão presentes 28 picos, portanto todos os padrões utilizados neste estudo foram identificados separados. Para o modo negativo, não foi possível observar o pico referente ao ácido *trans*-cinâmico pelo fato de este padrão não ser um componente fenólico e a ionização deste ocorre então preferencialmente no modo positivo. A dificuldade na identificação deste padrão no cromatograma foi resolvida, pois foi realizada a injeção da solução do padrão isolado, podendo assim ser identificado o tempo de retenção deste na mistura. O cromatograma de íons extraídos

para o ácido *trans*-cinâmico também foi utilizado para identificação do tempo de retenção (Figura 23).

**Tabela 15.** Listagem de padrões para a coluna PFP nos modos positivo e negativo.

PFP								
Pico nº	<i>t<sub>r</sub></i> (min)		Pico nº	<i>t<sub>r</sub></i> (min)		Λ	m/z	Substância / Padrão
	BPC (+)	UV (+)		BPC (-)	UV (-)			
1	2,8	2,8	1	3,4	3,3	210 / 271	170,0209	ácido gálico
2	5,4	5,3	2	5,9	5,8	205 / 259	154,0260	ácido 3,4-dihidroxibenzóico
3	10,3	10,2	3	10,4	10,3	206 / 270	306,0734	(-) - epigalocatequina
4	10,9	10,8	4	10,9	10,9	204 / 280	290,0784	(+) - catequina
5	11,2	11,1	5	11,3	11,2	216 / 325	354,0945	ácido clorogênico
6	11,8	11,7	6	11,9	11,9	219 / 323	180,0417	ácido caféico
7	12,6	12,5	7	12,7	12,6	210 / 275	198,0522	ácido siríngico
8	13,5	13,4	8	13,5	13,4	204 / 278	290,0784	(-) - epicatequina
9	15,4	15,3	9	15,4	15,3	210 / 309	164,0467	ácido para-cumárico
10	15,7	15,6	10	15,6	15,5	208 / 273	458,0843	(-) - epigalocatequina galato
11	17,0	16,9	11	16,9	16,9	211 / 274	458,0843	(-) - galocatequina galato
12	17,5	17,4	12	17,5	17,4	219 / 323	194,0573	ácido ferúlico
13	18,5	18,4	13	18,4	18,3	221 / 323	224,0679	ácido sinápico
14	19,0	18,9	14	18,9	18,8	221 / 212	610,1528	Rutina
15	21,5	21,4	15	21,5	21,4	221 / 282	580,1786	naringina
16	22,0	21,9	16	21,9	21,8	210 / 265 / 341	448,1000	quercitrina
17	23,1	23,0	17	23,0	22,9	220 / 270 / 340	432,1050	apigenina-7-glucosídeo
18	23,5	23,4	∅	23,4	23,3	217 / 277	148,0518	ácido <i>trans</i> -cinâmico
19	24,5	24,4	18	24,4	24,3	213 / 272	318,070	miricetina
20	25,4	25,3	19	25,3	25,2	217 / 283 / 305	228,0780	resveratrol
21	29,1	29,0	20	29,0	28,9	210 / 339	302,0421	quercetina
22	29,7	29,6	21	29,6	29,5	212 / 347	286,0471	luteolina
23	31,6	31,5	22	31,6	31,5	219 / 275	270,0522	apigenina
24	31,9	31,6	23	31,8	31,7	215 / 288	272,0679	(±) - naringina
25	33,3	33,2	24	33,2	33,1	215 / 367	286,0471	kaempferol
26	33,4	33,3	25	33,4	33,3	218 / 275	270,0522	baicaleína
27	33,8	33,7	26	33,7	33,6	220 / 368	316,0577	isorramnetina
28	36,1	36,0	27	36,1	36,0	218 / 366	302,1512	ácido nordiidroguaiarético

∅: não foi observado



**Figura 23.** Cromatogramas obtidos para o padrão ácido *trans*-cinâmico: (A) BPC no modo positivo; (B) EIC no modo positivo; (C) BPC no modo negativo; (D) EIC no modo negativo.

A ionização do ácido *trans*-cinâmico não foi verificada no cromatograma BPC obtido no modo negativo, embora possa ser observado um pico de baixa intensidade no cromatograma de íons extraídos (EIC). Apenas com a manipulação dos cromatogramas, extraíndo-se o íon de interesse ( $149,0597 m/z$  para o modo positivo e  $147,0440 m/z$  para o modo negativo) foi possível identificar o tempo de retenção do padrão de ácido *trans*-cinâmico para ambos os modos de análise. Sendo assim a numeração dos picos para o modo negativo foi diferenciada como pode ser observada na Tabela 15.

### 5.7.3. Análise das amostras

A importância da construção de um banco de dados com as informações para os padrões é essencial ao trabalho de desreplicação, pois de posse destes dados foi possível identificar a presença destes compostos nas frações obtidas para as frações dos frutos de buriti e a criação de um possível método de análise de compostos fenólicos que poderá ser aplicado a outras matrizes (extratos de origem vegetal ou animal) não sendo limitado apenas ao presente estudo.

No primeiro passo do processo de desreplicação, os espectros de UV e tempos de retenção registrados para cada pico durante a separação por cromatografia líquida são comparados aos dados da base de dados construída a partir das análises dos padrões, que neste caso foi a biblioteca utilizada na identificação (Lang *et al.*, 2008).

A utilização da espectrometria de massas de alta resolução fornece massas que podem ser comparadas com as massas teóricas de padrões que devem ser por sua vez comparadas com as massas observadas tanto para a mistura de padrões utilizada neste estudo quanto para as massas observadas nas amostras analisadas. Para a confirmação da presença do componente na amostra foi calculado o erro para cada padrão pela fórmula abaixo.

$$\text{Erro} = \left( \frac{M_{\text{teórica}} - M_{\text{observada}}}{M_{\text{teórica}}} \right) \times 1.000.000 = \text{ppm}$$

Onde, o erro observado é dado em ppm (partes por milhão);  $M_{\text{teórica}}$  é a massa calculada a partir da fórmula molecular do composto e  $M_{\text{observada}}$  é a massa observada a partir do cromatograma do íon extraído (EIC).

A massa observada, juntamente com um ajuste de precisão da massa teórica, é a principal entrada de pesquisa para este banco de dados e para a identificação de componentes nas amostras de buriti. A precisão da massa pode ser definida em ppm (partes por milhão), permitindo, assim, a comparação dos dados de detectores de gerar massas com baixa ou alta precisão. A confirmação do componente nas amostras depende de um valor baixo de erro calculado (Moco *et al.*, 2006).

Após a determinação dos tempos de retenção e o cálculo das variações de massa (erro), as amostras foram analisadas a fim de identificar a presença das substâncias padrão que podem estar contidas nas frações de buriti. Tal identificação só foi possível utilizando os recursos do software DataAnalysis, com o qual foi possível extrair os picos moleculares de interesse e assim relacionar os dados (Tabelas 14 e 15).

Para cada parte do fruto, cascas, polpa e sementes, foram analisadas as três frações geradas, fração clorofórmica, acetato de etila e hidroalcoólica. A identificação de componentes destas frações foi realizada para ambas as colunas (C18 e PFP), nos modos positivo e negativo, sendo possível a identificação de diferentes componentes para ambas as colunas e modos. Os resultados obtidos para as frações foram listados na Tabela 16, identificando-se os tempos de retenção e número do pico observado nos cromatogramas (Figuras 24 a 32).

Os componentes identificados receberam a mesma numeração da utilizada para o banco de dados dos padrões (Tabelas 14 e 15) para efeito de comparação e identificação.

Todos os dados até agora descritos neste estudo passaram por confirmação do componente após extenso estudo de dados como tempos de retenção, absorbâncias, fragmentações e erros calculados a fim de criar um banco de dados de padrões disponíveis no grupo para a identificação inequívoca dos componentes em diversas matrizes, que neste caso deu-se na utilização de 9 amostras de diferentes polaridades das 3 partes dos frutos de buriti.

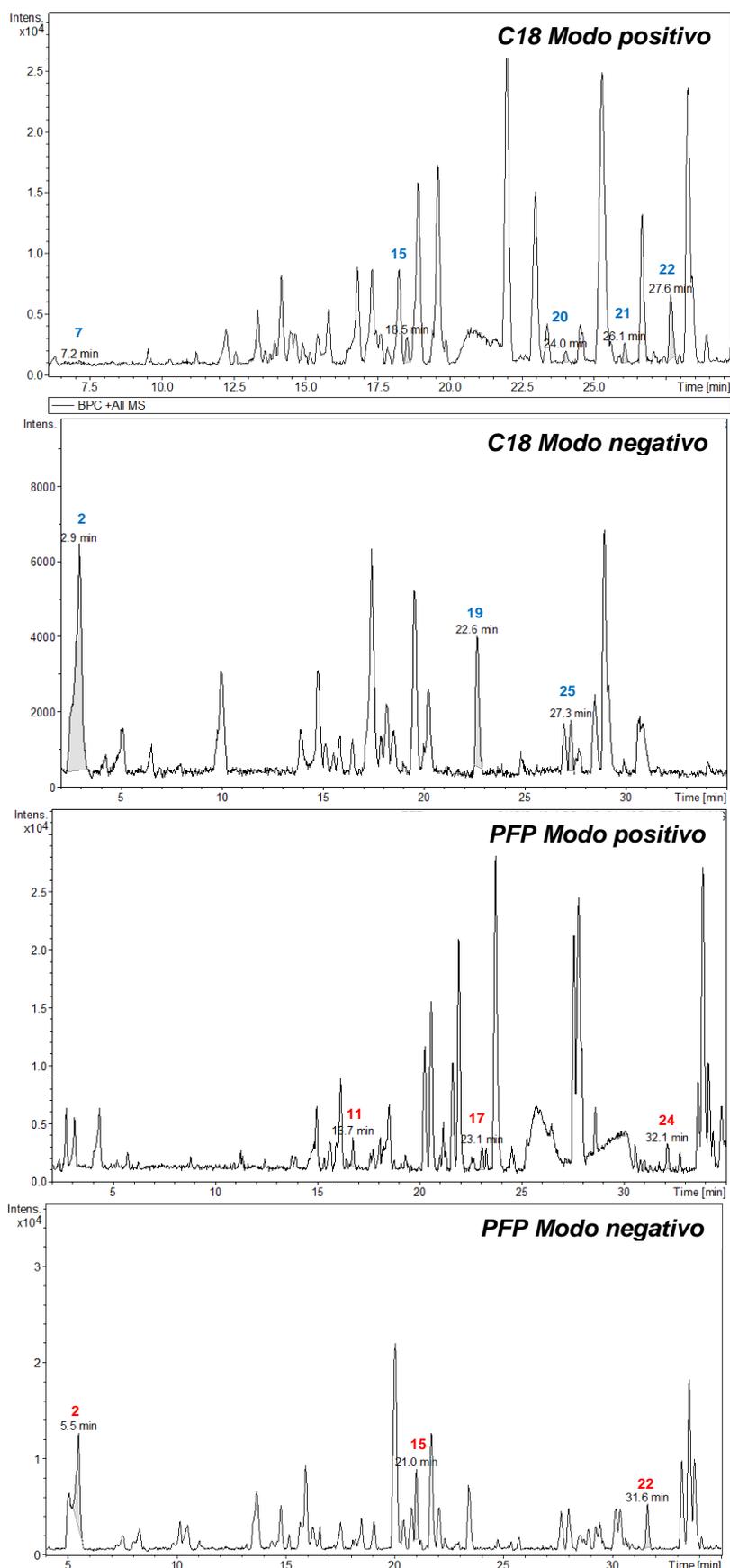
Fração clorofórmica das cascas

Figura 24. Cromatogramas BPC da fração clorofórmica das cascas dos frutos de *M. flexuosa* L.f.

Fração acetato de etila das cascas

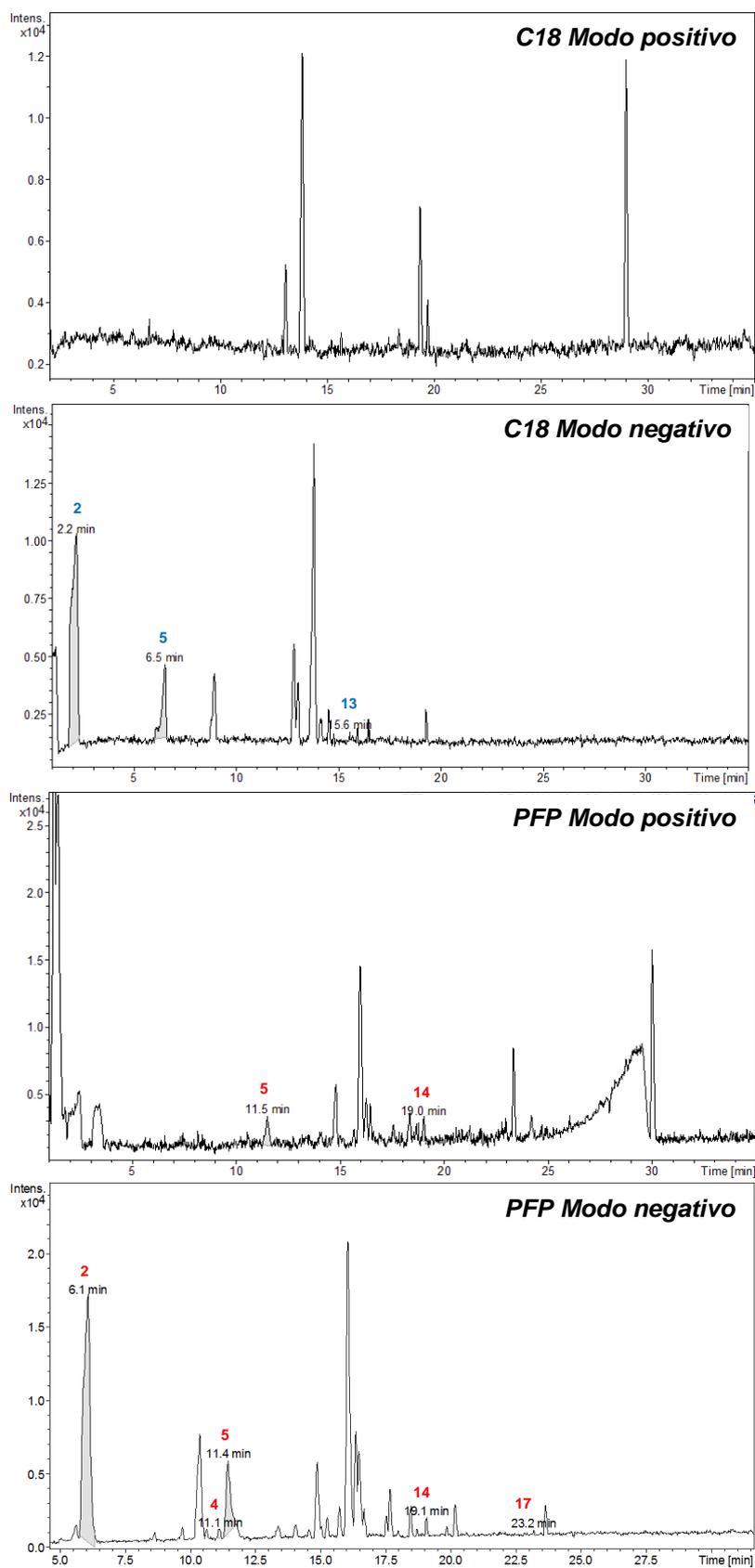
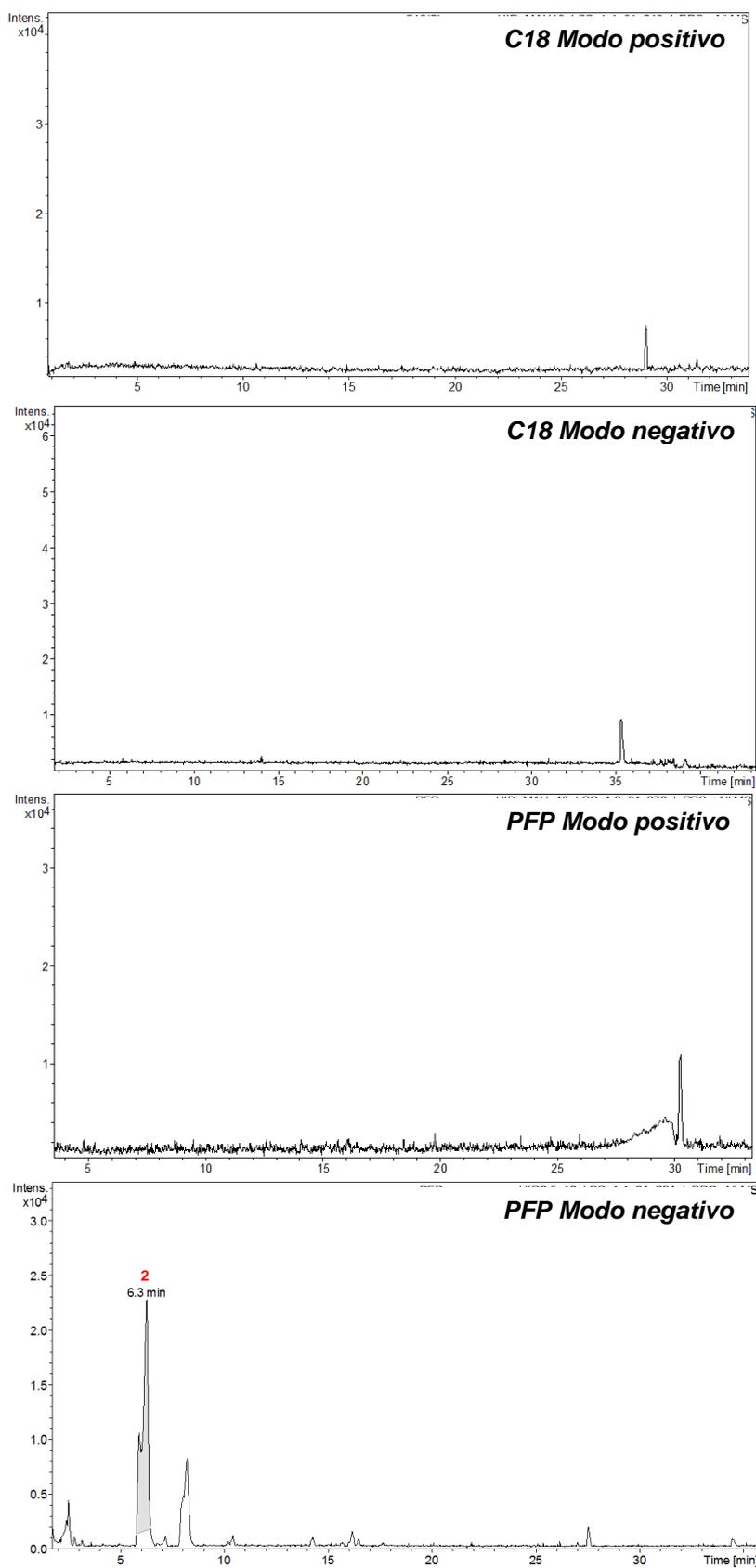


Figura 25. Cromatogramas BPC da fração acetato de etila das cascas dos frutos de *M. flexuosa* L.f.

Fração hidroalcoólica das cascas



**Figura 26.** Cromatogramas BPC da fração clorofórmica da polpa dos frutos de *M. flexuosa* L.f.

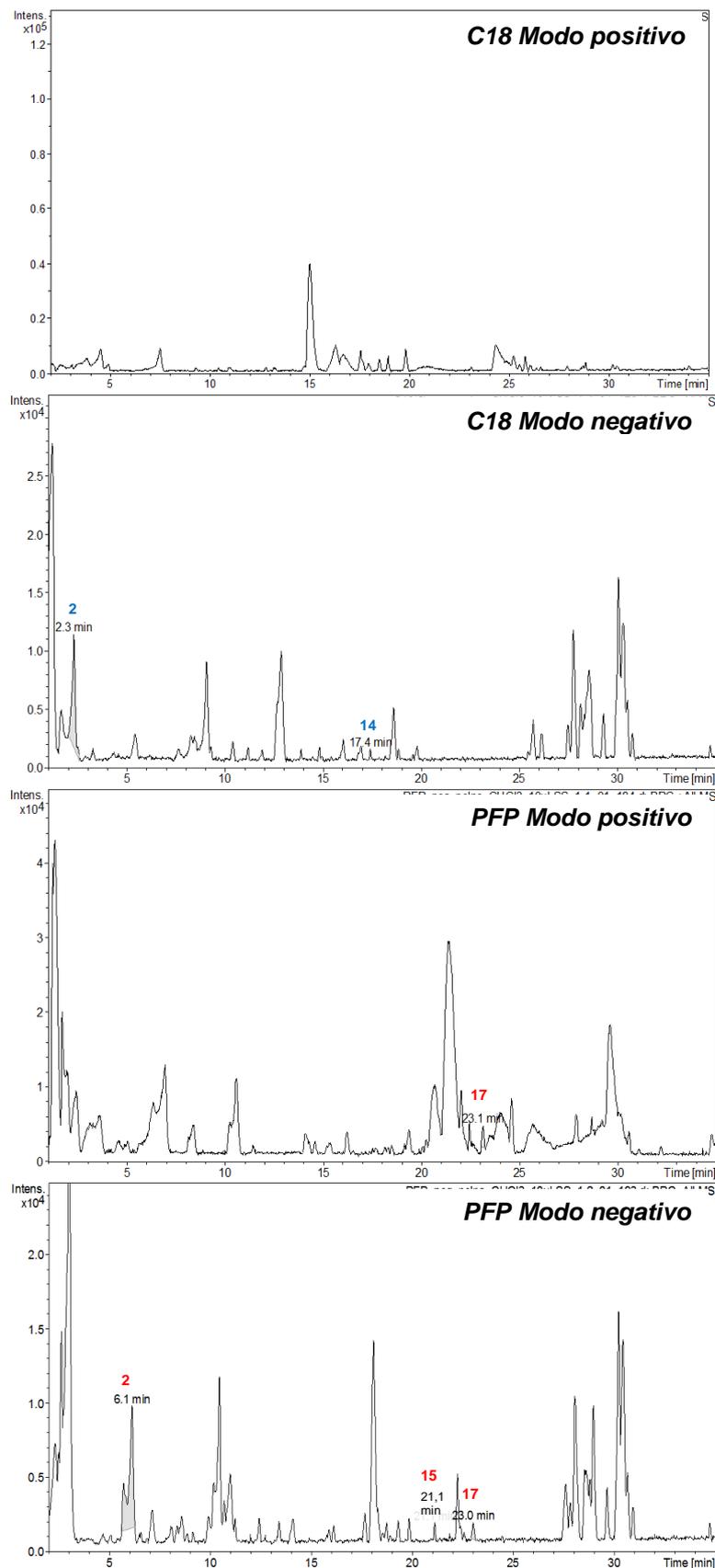
Fração clorofórmica da polpa

Figura 27. Cromatogramas BPC da fração clorofórmica da polpa dos frutos de *M. flexuosa* L.f.

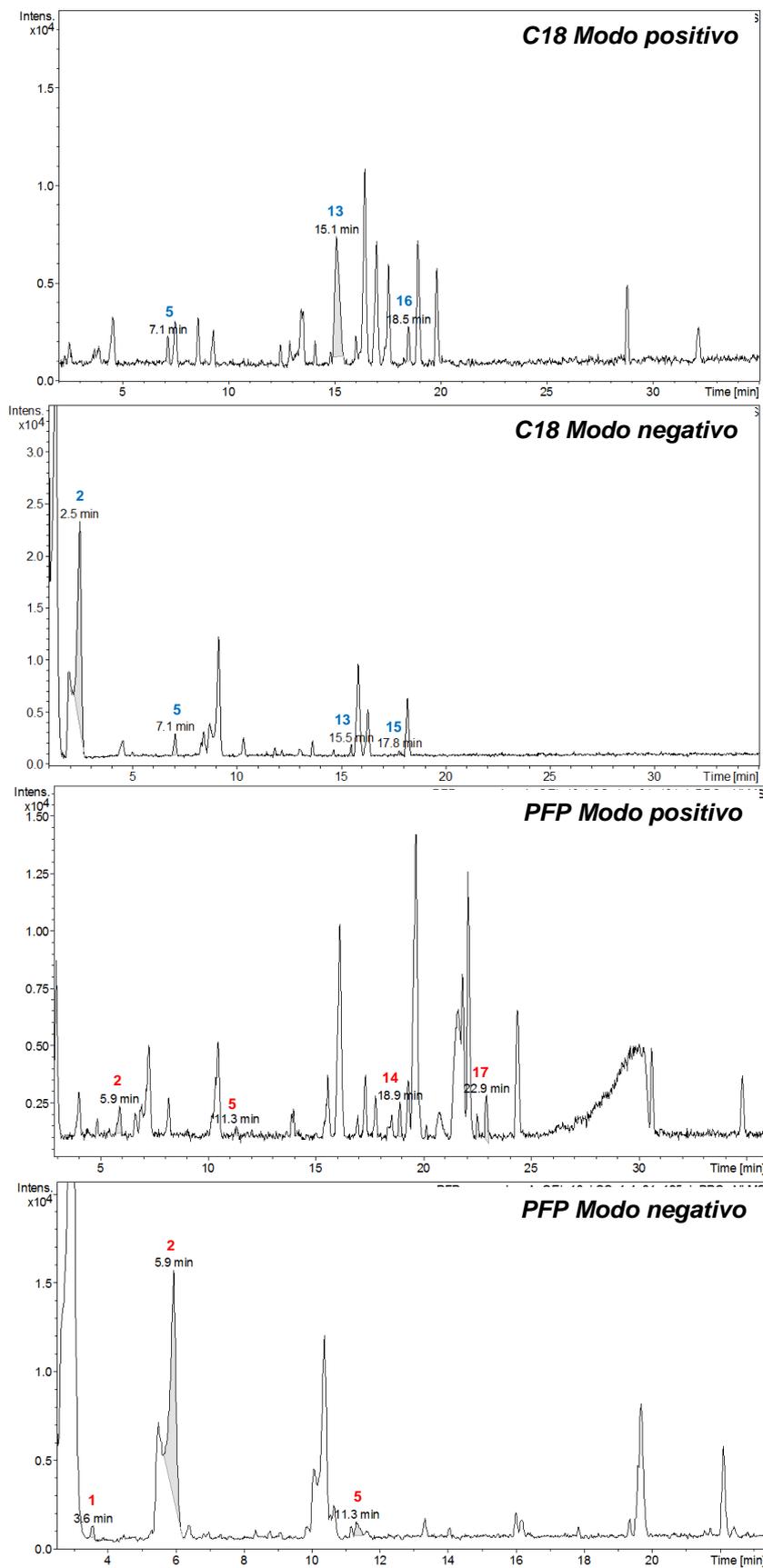
Fração acetato de etila da polpa

Figura 28. Cromatogramas BPC da fração acetato de etila da polpa dos frutos de *M. flexuosa* L.f.

Fração hidroalcoólica da polpa

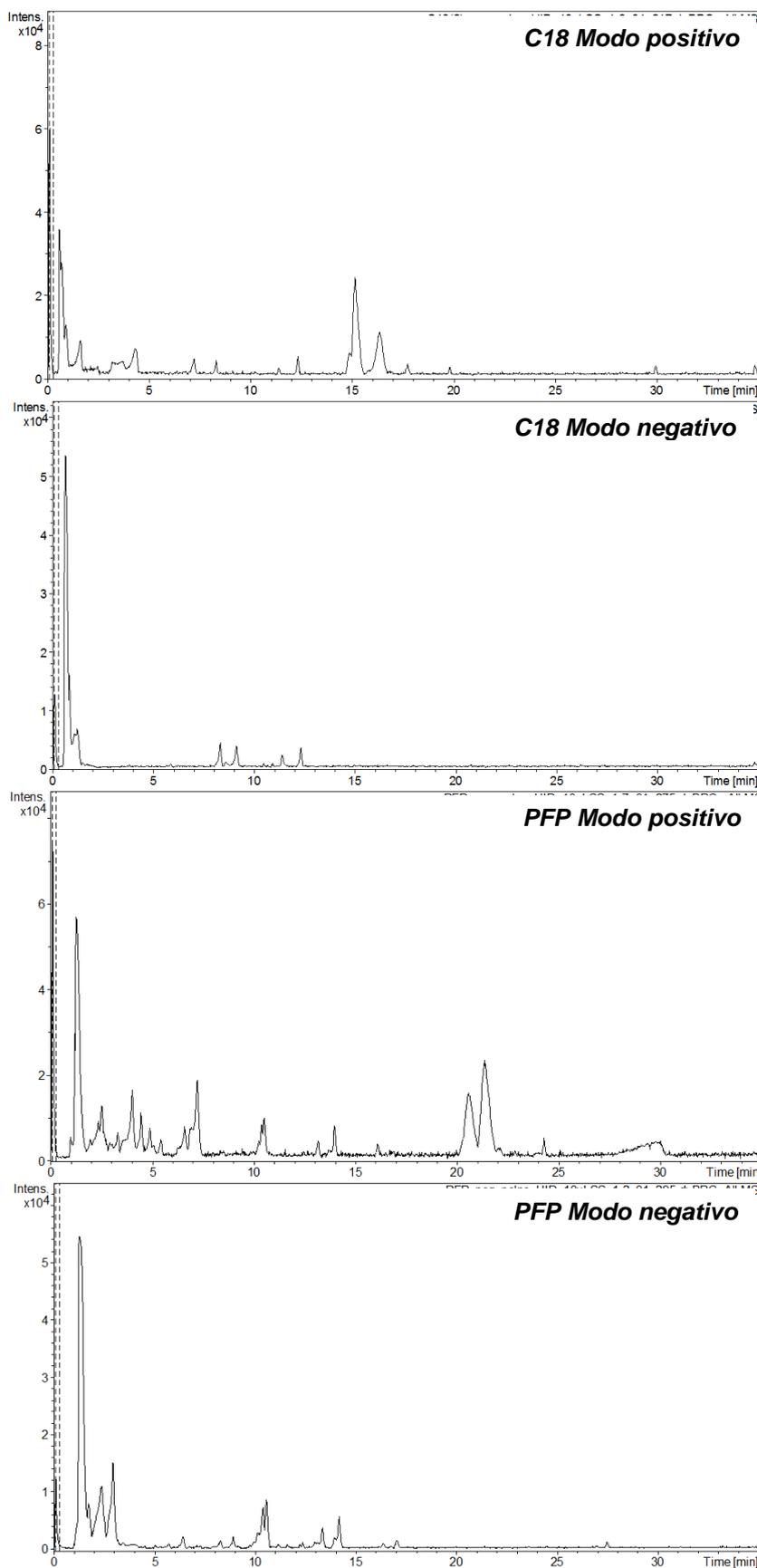


Figura 29. Cromatogramas BPC da fração hidroalcoólica da polpa dos frutos de *M. flexuosa* L.f.

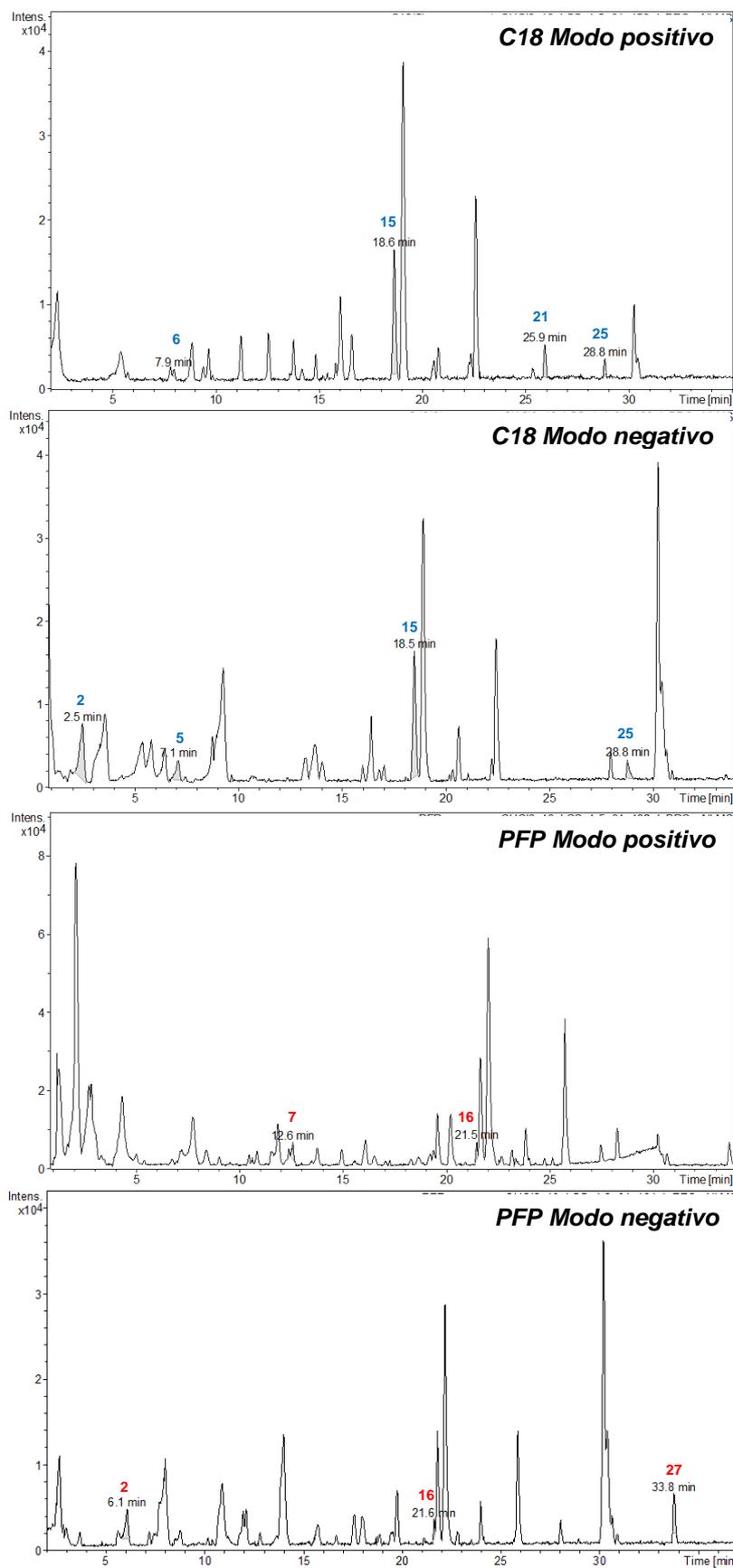
Fração clorofórmica das sementes

Figura 30. Cromatogramas BPC da fração clorofórmica das sementes dos frutos de *M. flexuosa* L.f.

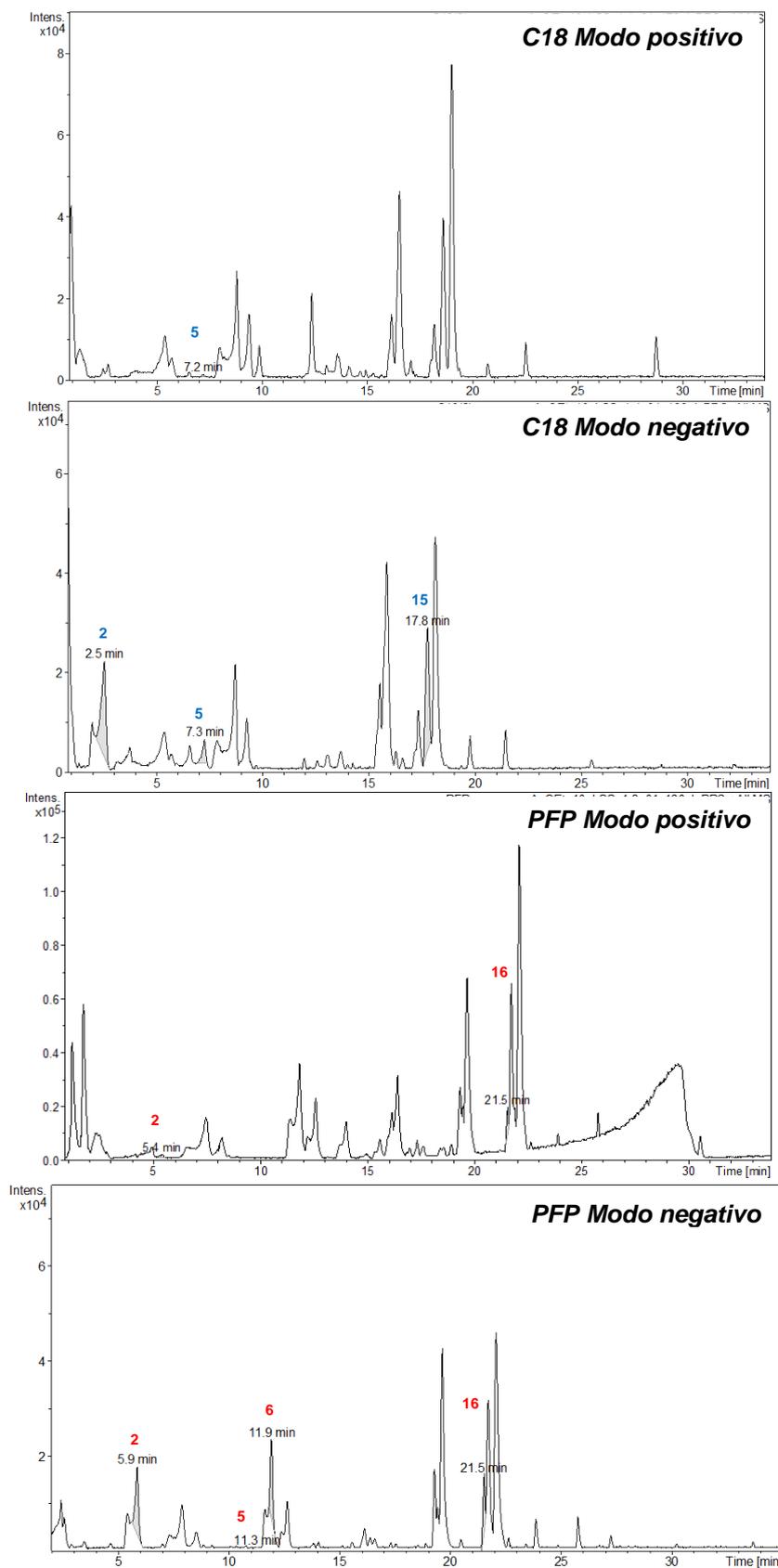
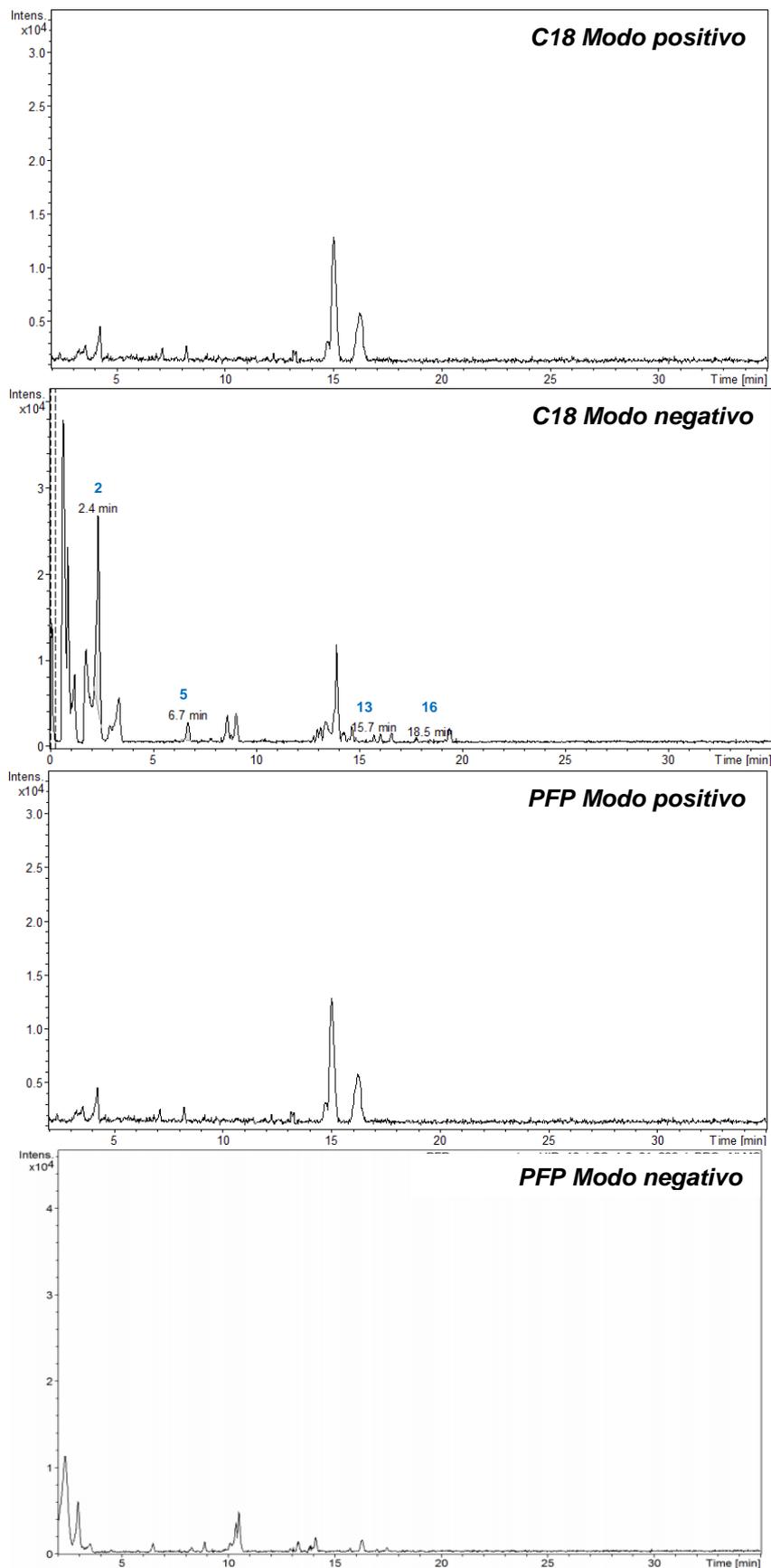
Fração acetato de etila das sementes

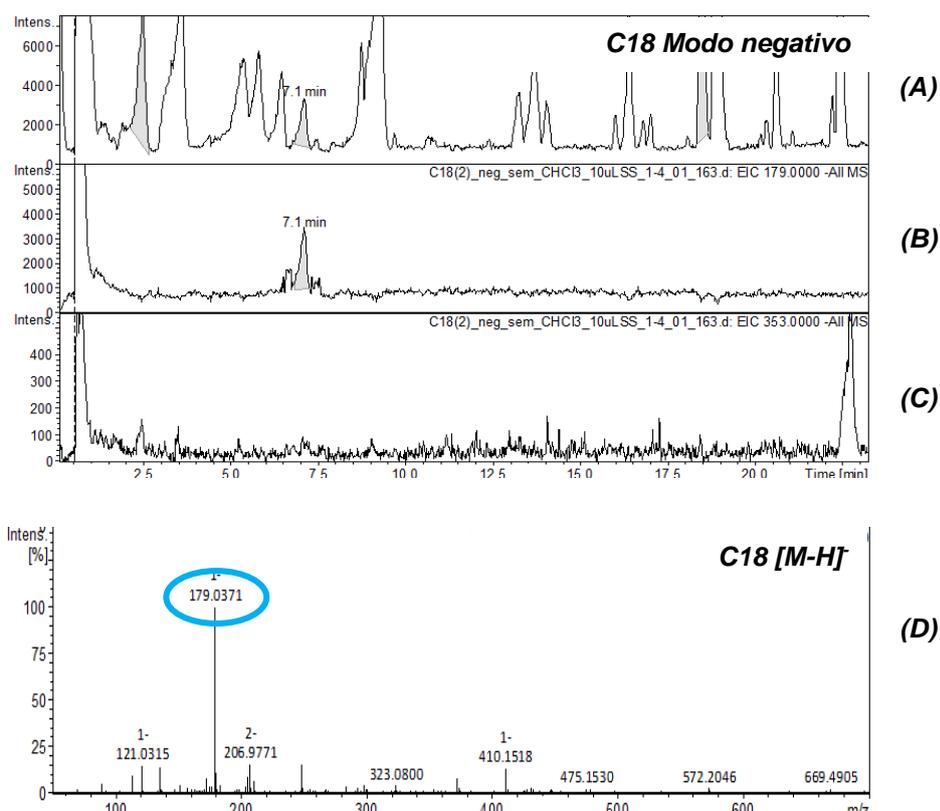
Figura 31. Cromatogramas BPC da fração acetato de etila das sementes dos frutos de *M. flexuosa* L.f.

Fração hidroalcoólica das sementes



**Figura 32.** Cromatogramas BPC da fração hidroalcoólica de sementes dos frutos de *M. flexuosa* L.f. A coluna C18 apresentou coeluição para os ácidos caféico e clorogênico (180,0417  $m/z$  e 354,0945  $m/z$ ). Considerando a similaridade estrutural não foi

possível confirmar a presença de um ou outro componente na análise realizada por essa coluna. A presença dos componentes é confirmada pela análise dos íons moleculares identificados, inclusive empregando técnicas de processamento como a análise de íon extraído, selecionando a massa do íon específico de interesse. Contudo no caso dessa mistura, existe a possibilidade do íon 179,0338  $m/z$  também ser gerado pelo ácido clorogênico e não apenas pelo ácido cafeico. Por exemplo, o cromatograma obtido para a fração clorofórmica das sementes no modo negativo, o pico em 7,1 min levantou dúvidas quanto a presença de ácido caféico e clorogênico. A avaliação do espectro de massas indica à presença apenas do íon molecular 179,0338  $m/z$  que pode indicar a ausência do ácido clorogênico como um dos componentes da fração (Figura 33). Contudo essa avaliação não pode ser considerada definitiva, pois dadas as condições adotadas, o ácido clorogênico pode gerar apenas o íon 179,0338  $m/z$ , e não o íon 353,0867  $m/z$ , que confirmaria a presença deste. A intensidade dos íons também foi observada para efeito de identificação destes dois componentes em outras frações.

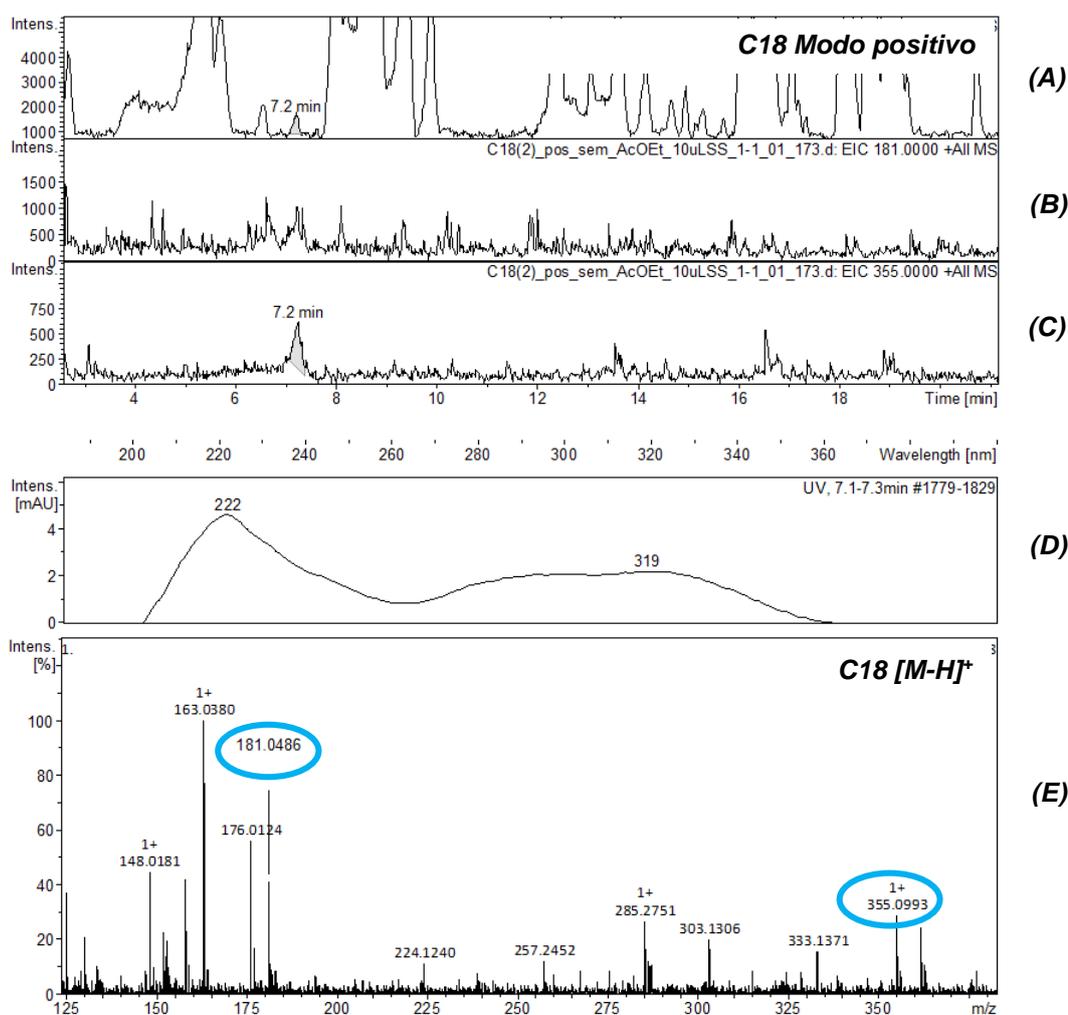


**Figura 33.** (A) Cromatograma BPC modo negativo coluna C18 para a fração clorofórmica das sementes, pico 7,1 min; (B) EIC 179,0338  $m/z$ ; (C) EIC 353,0867  $m/z$ ; (D) Espectro de massas para o pico 7,1 min.

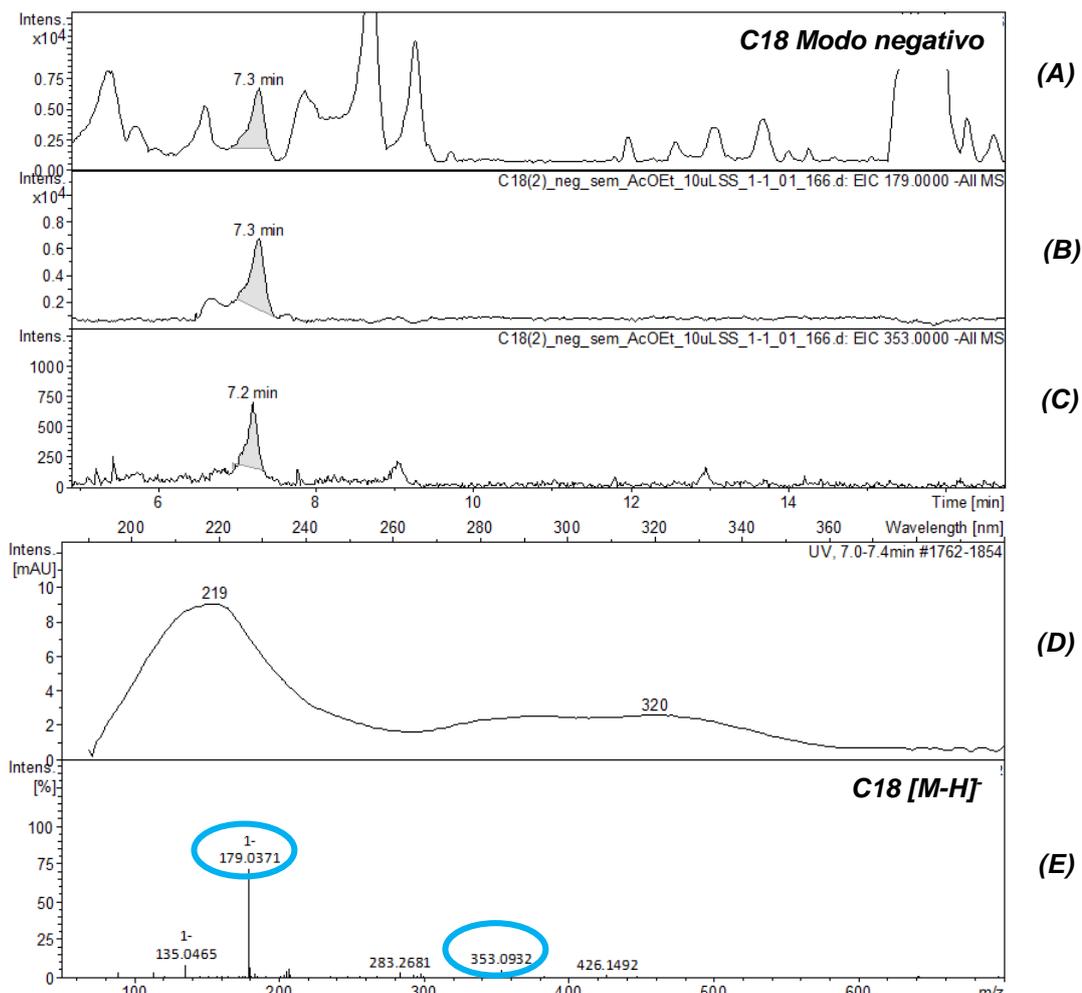
Na fração acetato de etila das sementes foi verificada a presença tanto de ácido caféico como de ácido clorogênico. Para a coluna C18 no modo positivo, foi possível

observar apenas a presença de ácido clorogênico após os processamentos realizados (Figura 34). Para o modo negativo, utilizando a mesma coluna, houve a confirmação da presença de ácido clorogênico (Figura 35), porém pela intensidade dos íons *quasi*-moleculares, observou-se um íon pouco intenso, referente a presença de ácido caféico. Essa presença somente pode ser confirmada utilizando a análise em coluna PFP, não qual as coeluições não existem

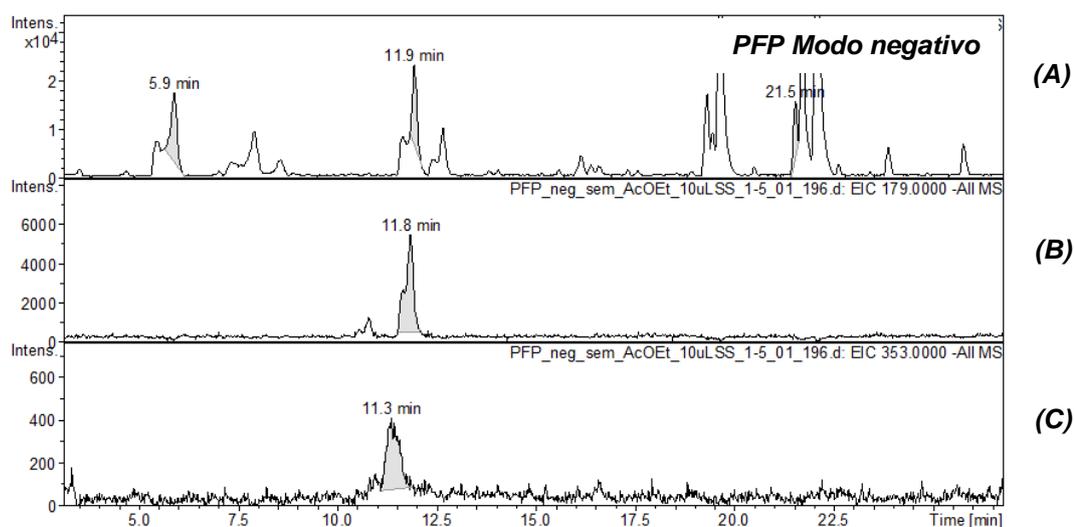
Na análise realizada na coluna PFP e no modo negativo, devido a melhor separação promovida por esta fase, foi possível confirmar que ácido caféico e clorogênico são componentes da fração (Figuras 36, 37 e 38). A identificação foi possível após a extração dos íons de interesse e a verificação das intensidades dos íon moleculares no espectro de massas.



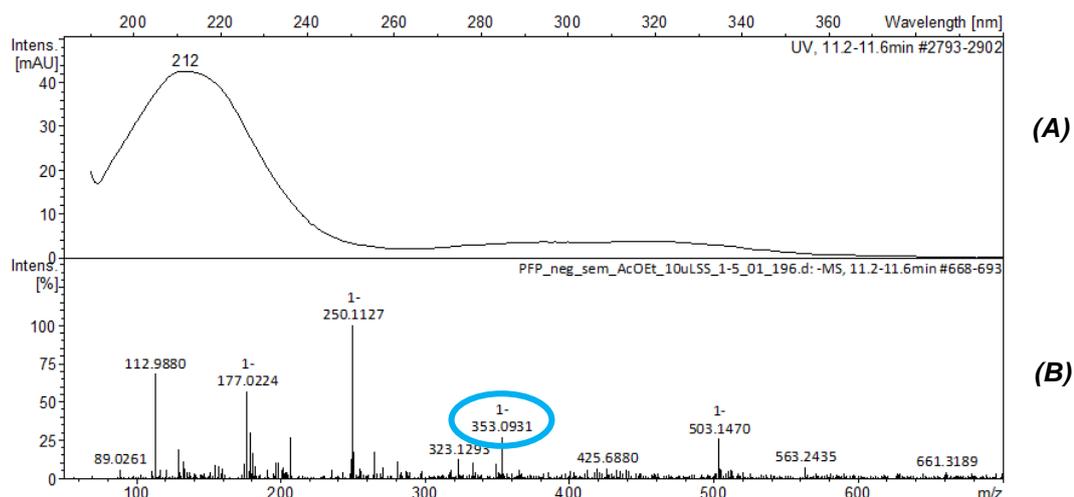
**Figura 34.** (A) Cromatograma BPC modo positivo coluna C18 para a fração acetato de etila das sementes, pico 7,2 min; (B) EIC 181,0495  $m/z$ ; (C) EIC 355,1023  $m/z$ ; (D) Espectro de UV e (E) Espectro de massas para o pico 7,2 min.



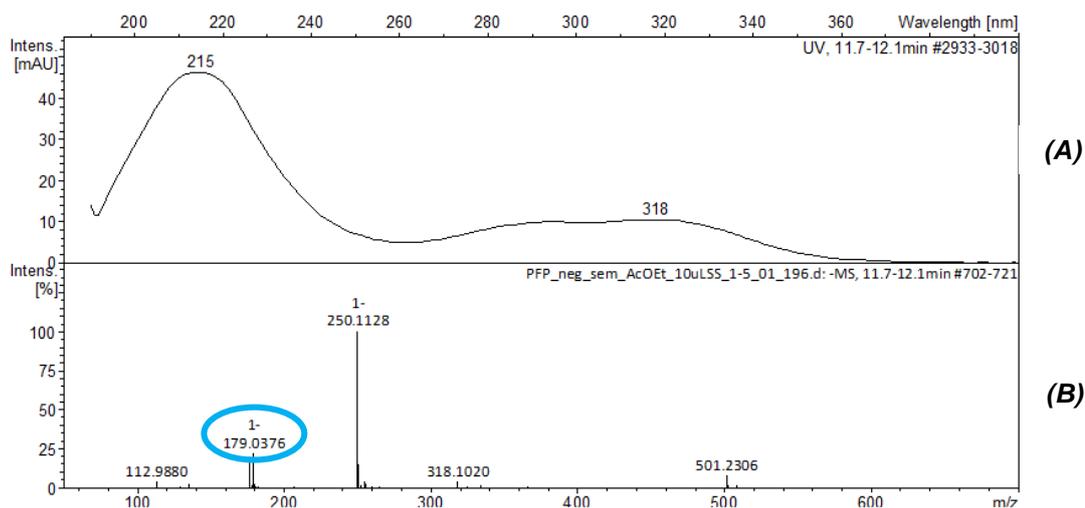
**Figura 35.** (A) Cromatograma BPC modo positivo coluna C18 para a fração acetato de etila das sementes, pico 7,3 min; (B) EIC 181,0495 m/z; (C) EIC 355,1023 m/z; (D) Espectro de UV e (E) Espectro de massas para o pico 7,3 min.



**Figura 36.** (A) Cromatograma BPC modo negativo coluna PFP para a fração acetato de etila das sementes, pico 11,9 min; (B) EIC 179,0338 m/z; (C) EIC 353,0867 m/z; (D) Espectro de UV e (E) Espectro de massas para o pico 7,3 min.



**Figura 37.** (A) Espectro de UV e (B) Espectro de massas para o pico 11,3 min modo negativo coluna PFP.



**Figura 38.** (A) Espectro de UV e (B) Espectro de massas para o pico 11,8 min modo negativo coluna PFP.

Após a análise de todas as frações, foi construída uma tabela que contém todos os componentes identificados para as 9 frações de buriti analisadas (Tabela 16). A tabela construída dispõe de dados que relacionam o banco de dados construído a partir da mistura de padrões e as informações da identificação das frações para a confirmação das massa de alta resolução.

As confirmações dos compostos foram feitas após análises de massas teóricas, massas observadas, tempos de retenção comparados com os padrões e erros calculados para cada identificação (Anexo 38).

**Tabela 16.** Constituintes fenólicos identificados nas frações dos frutos de *M. flexuosa* L.f.

Parte do fruto	Composto identificado
Casca	ácido 3,4-dihidroxibenzóico
	(+)- catequina
	(±)-narigenina
	ácido clorogênico
	ácido gálico
	apigenina
	apigenina-7-glicosídeo
	baicaleína
	luteolina
	rutina
Polpa	ácido 3,4-dihidroxibenzóico
	ácido clorogênico
	ácido gálico
	rutina
Sementes	(+)- catequina
	ácido 3,4-dihidroxibenzóico
	ácido caféico
	ácido clorogênico
	ácido gálico
	ácido siríngico
	baicaleína
	isorramnetina
	quercetina
	quercitrina
	rutina

Nas frações das cascas dos frutos de buriti foram identificados ácido-3,4-dihidroxibenzóico, catequina, (±)-narigenina, ácido clorogênico, ácido gálico, apigenina, apigenina-7-glicosídeo, baicaleína, luteolina e rutina. Nas frações da polpa, ácido-3,4-dihidroxibenzóico, ácido clorogênico, ácido gálico e rutina. Para as frações das sementes foram identificados catequina, ácido-3,4-dihidroxibenzóico, ácido caféico, ácido clorogênico, ácido gálico, ácido siríngico, baicaleína, isorramnetina, quercetina, quercitrina, e rutina.

Ao todo foram realizadas 15 identificações de compostos fenólicos constituintes dos frutos de buriti são eles ácido 3,4-dihidroxibenzóico,(+)-catequina, (±)- narigenina, ácido clorgênico, ácido gálico, apigenina, apigenina-7-glicosídeo, baicaleína, luteolina, rutina, ácido caféico, ácido siríngico, isorramnetina, quercetina e quercitrina.

Dentre os 15 componentes identificados nos frutos como um todo, apenas 4 deles são comuns de todas as partes estando presentes tanto em cascas como na polpa e sementes. São eles, ácido 3,4-dihidroxibenzoico, ácido clorogênico, ácido gálico e rutina.

Dos constituintes fenólicos identificados na metodologia desenvolvida, e que também foram encontrados nos frutos verdes no trabalho realizado por Koolen *et al.*(2013) foram (+)-catequina, (±)- narigenina, ácido caféico, ácido clorogênico, quercetina e rutina. Para os frutos, não haviam sido descritos outros constituintes em trabalhos anteriores.

Os compostos identificados neste estudo e que ainda não haviam sido descritos na literatura para frutos de *M. flexuosa* L.f. foram ácido 3,4-dihidroxibenzoico, ácido gálico, apigenina, apigenina-7-glicosídeo, baicaleína, luteolina, ácido siríngico, isorramnetina e quercitrina, agregando mais 9 novos compostos identificados a estudos anteriormente realizados por Koolen e colaboradores (2013). A quercitrina, já havia sido descrita para estudo realizado com as raízes de *M. flexuosa* L.f. (Koolen *et al.*, 2012) e a rutina já fora encontrada nas folhas da mesma espécie.

A partir do estudo comparativo entre as distintas fases estacionárias e os diferentes modos de ionização é possível afirmar que as melhores condições de análise foram obtidas com o uso da coluna PFP e no modo de ionização negativo. A identificação de fenólicos já tem sido descrita na literatura como preferencial no modo negativo. A seleção de compostos em modo negativo foi, portanto, tendencioso sobre boa parte dos compostos, pois mostrou a perda de CO<sub>2</sub> como principal fragmento, devido ao número de ácidos carboxílicos neste subconjunto de compostos.

Os resultados obtidos nesse trabalho de desreplicação de constituintes fenólicos com as frações dos frutos de buriti são uma importante contribuição científica aos estudos já realizados com frutos da espécie, pois permitiram identificar constituintes fenólicos ainda não identificados na espécie, inclusive nas diferentes partes do fruto (cascas, polpa e sementes), corroborado informações já existentes na literatura e possibilitam o agrupamento dos compostos fenólicos de acordo com as partes constitutivas do fruto, além de identificar uma maior quantidade de compostos bioativos nos frutos da espécie estudada. Além disto, o desenvolvimento de condições para a análise de compostos fenólicos apresentou como alternativa para identificação a utilização da coluna PFP, que se mostrou eficiente frente a coluna C18 nas condições adotadas.

Dos frutos oleaginosos encontrados na Amazônia, muitos são excepcionalmente ricos em micronutrientes, particularmente em antioxidantes, tais como carotenóides, antocianinas e outros polifenóis. O óleo obtido dos frutos de buriti já é considerado a maior fonte natural de carotenóides e o presente estudo vem reforçar a funcionalidade desses frutos devido à presença de constituintes fenólicos em sua composição. Considerando o consumo *in natura* dos frutos de buriti e os resultados obtidos nesse trabalho, observa-se que existe um grande potencial nutricional no consumo desses frutos (De Rosso e Mercadante, 2007; Rodriguez-Amaya *et al.*, 2007).

## 6. CONCLUSÃO

Os estudos realizados neste trabalho vêm reforçar a utilização dos frutos da espécie *Mauritia flexuosa* L.f. como alimento funcional e agregar valor a cascas e sementes dos frutos que são tratados como resíduo da obtenção do óleo e vinho da polpa. A caracterização da cadeia graxa indicou a presença de ácido oléico como constituinte majoritário dos óleos de cascas e polpa dos frutos de buriti (77,6% e 79,2 %, respectivamente). O óleo das sementes dos frutos apresentou como composição principal o ácido linoléico (47,2%). Os valores encontrados para esses ácidos graxos na composição dos óleos conferem propriedades cardioprotetoras e os enquadra como óleos benéficos à saúde (Rodrigues *et al*, 2010).

A avaliação da atividade antioxidante das frações dos frutos de buriti apresentou valores superiores aos descritos em estudos previamente realizados para frutos inteiros. Todas as frações analisadas apresentaram quantidades significativas de substâncias fenólicas, assim como valores superiores de atividade antioxidante no ensaio FRAP. A fração acetato de etila das cascas foi a fração que apresentou a maior quantidade de substâncias fenólicas, a maior capacidade redutora de Ferro (III) e a melhor atividade frente ao ensaio de sequestro de radicais (DPPH), agregando assim valor a esta parte dos frutos que por apresentar atividade antioxidante significativa pode trazer benefícios a saúde.

Na identificação das substâncias fenólicas utilizando um método de desreplicação desenvolvido para identificar constituintes fenólicos, obteve-se melhores resultados empregando uma coluna PFP no modo negativo de ionização sendo possível utilizar as condições desenvolvidas na identificação de fenólicos em matrizes diferenciadas, não estando esse estudo restrito aos frutos de *M. flexuosa* L.f.

A partir desse método foi possível identificar uma grande quantidade de componentes nas diferentes partes dos frutos de buriti, boa parte delas descritas aqui pela primeira vez para a espécie *Mauritia flexuosa* L.f.. De modo geral, para os frutos foram identificados os ácido 3,4-diidroxibenzóico, ácido gálico, apigenina, apigenina-7-glicosídeo, baicaleína, luteolina, ácido siríngico, isorramnetina e quercitrina,

As substâncias fenólicas encontradas tanto nas cascas, sementes e na polpa dos frutos de buriti foram apenas o ácido 3,4-dihidroxibenzóico, ácido clorogênico, ácido gálico e rutina.

Os resultados aqui apresentados contribuem para uma melhor compreensão do potencial dos frutos de *M. flexuosa* L.f com a descrição da composição química e de atividade antioxidante de frutos tradicionalmente consumidos na região, agregam valor a partes não utilizadas dos frutos da espécie e mostram novas condições para identificação de substâncias fenólicas com a utilização da coluna PFP no estudo de frutos amazônicos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABU-REIDAH, I. M.; CONTRERAS, M. M.; ARRÁEZ-ROMÁNA, D.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Reversed-phase ultra-high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry as a powerful tool for metabolic profiling of vegetables: *Lactuca sativa* as an example of its application. *Journal of Chromatography A*, 2013.

ALBUQUERQUE, M. L. S.; GUEDES, I.; ALCANTARA, J. R. P.; MOREIRA, S. G. C.; BARBOSA NETO, N. M.; CORREA, D.S.; ZILIO, S. C. Characterization of buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil by absorption and emission spectroscopies. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16(111), 3–1117, 2005.

AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. *Official methods and recommended practices. Method Ce 8-89. Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by HPLC*. 3rd ed. Champaign: IL, 1997.

BACELAR-LIMA, C. G.; MENDONÇA, M. S.; BARBOSA, T. C. T. S.. Morfologia Floral de uma População de Tucumã, *Astrocaryum aculeatum* G. Mey. (Arecaceae) na Amazônia Central. *Acta Amazonica*, 36 (4), 407 – 412, 2006.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENA, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutrição- Campinas*, 23(4), 629-643, 2010.

BARBOSA, B. S.; KOOLEN, H. H. F.; BARRETO, A. C.; SILVA, J. D. ; FIGLIUOLO, R.; NUNOMURA, S.M. Aproveitamento do Óleo das Amêndoas de Tucumã do Amazonas na Produção de Biodiesel. *Acta Amazonica*, 39(2), 371 – 376, 2009.

BARRETO, G. P. M.; BENASSI, M. T.; MERCADANTE, A. Z. Bioactive Compounds from Several Tropical Fruits and Correlation by Multivariate Analysis to Free Radical Scavenger Activity. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20 (10), 1856-1861, 2009.

BATISTA, J. S.; OLINDA, R.G.; MEDEIROS, V. B.; RODRIGUES, C. M. F.; OLIVEIRA, A. F.; PAIVA, E. S.; FREITAS, C. I. A.; MEDEIROS, A. C.. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L.f.. *Ciência Rural*, 42 (1), 136-141, 2012.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista de Nutrição de Campinas*, 12(2), 123-130, 1999.

BIESAGA, M.; PYRZYNSKA, K. Liquid chromatography/tandem mass spectrometry studies of the phenolic compounds in honey. *Journal of Chromatography A*, 1216, 6620–6626, 2009

BOROS, B.; JAKABOVÁ, S.; DORNYEI, A.; HORVÁTH, G; PLUHÁR, Z.; KILÁR, F.; FELINGER, A. Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*, 1217, 7972–7980, 2010.

BRAÇA, A.; SORTINO, C.; POLITI, M.; MORELLI, I.; MENDEZ, J. Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 379-381, 2002.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56, (11), 317-333, 1998.

CHOI, C. W.; KIM, S. C.; HWANG, S. S.; CHOI, B. K.; AHN, H. J.; LEE, M.Y.; PARK, S. H.; KIM, S. K. Antioxidant Activity and Free Radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assy-guided comparassion. *Plant Science*, 163,1161-1168, 2002.

CORLEY, D. D.; DURLEY, R. C. Strategies for database dereplication of natural products. *Journal of natural products*, 57 (2), 1484 – 1490, 1994.

COSTA, P.A.; BALLUS, C.A.; TEIXEIRA-FILHO, J.; GODOY, H.T. Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. *Food Research International*, 43, 1603-1606, 2010.

DA SILVA, E. C. C.; MUNIZ, M. P.; NUNOMURA, R. C. S.; NUNOMURA, S. M.; ZILSE, G. A. C. Constituintes fenólicos e atividade antioxidante da geopropolis de duas espécies de abelhas sem ferrão amazônicas. *Química Nova*, 36(5), 628-633, 2013.

DE ROSSO V. V.; MERCADANTE, A. Z. Identification and Quantification of Carotenoids, By HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5062-5072, 2007.

DEWICK, P. M.. *Medicinal natural products : a biosynthetic approach*. John Wiley & Sons Ltd, 3rd ed. United Kingdom, 2009.

FERREIRA, B. S.; ALMEIDA, C. G., FAZA, L. P.; ALMEIDA, A.; DINIZ, C. G.; SILVA, V. L.; GRAZUL, R. M.; LE HYARIC, M. Comparative Properties of Amazonian Oils Obtained by Different Extraction Methods. *Molecules*, 16, 5875-5885, 2011.

GUINAZI, M.; MILAGRES, R. C. R. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; CHAVES, B. P. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. *Química Nova*, 32 (8), 2098-2103, 2009.

HORWITZ, W. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. AOAC International, 17 ed., volume II, cap.41, 1-69, Maryland, EUA, 2000.

JARDIM, M. A. G.; MEDEIROS, T. D. S.. Plantas oleaginosas do Estado do Pará: composição florística e usos medicinais. *Revista Brasileira de Farmácia*, 87(4), 124 – 127, 2006.

JIMÉNEZ-COLMENERO, F.; CARBALLO, J.; COFRADES, S. Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science*, 59, 5-13, 2001.

KOOLEN, H. H. F.; SILVA, F. M. A.; GOZZO, F.C.; SOUZA, A.Q.L.; SOUZA, A. D. L.. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. *Food Research International*, 51, 467–473, 2013.

KOOLEN, H. H. F.; SOARES, E. R.; SILVA, F. M. A.; SOUZA, A.Q.L.; FILHO, E. R.; SOUZA, A. D. L.. Triterpenes and flavonoids from the roots of *Mauritia flexuosa*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(1), 189-192, 2012.

LANG, G.; MAYHUDIN, N. A.; MITOVA, M. I.; SUN, L.; VAN DER SAR, S.; BLUNT, J. W.; COLE, A. L. J.; ELLIS, G.; LAATSCH, H.; MUNRO, M. H. G. *Journal of natural products*, 71, 1595 – 1599, 2008.

LIMA, A. L. S.; LIMA, K. S. C.; COELHO, M. J.; SILVA, J. M.; GODOY, R. L. O.; PACHECO, S. Avaliação dos efeitos da radiação gama nos teores de carotenóides, ácido ascórbico e açúcares do fruto buriti do brejo (*Mauritia flexuosa* L.). *Acta Amazonica*, 39(3), 649-654, 2009.

LOBO, A.M.; LOURENÇO, A. M.. *Biossíntese de produtos naturais*. IST Press. Lisboa, 2007.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; COSTA, J. T. M.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E.. *Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas*. Instituto Plantarum. Nova Odessa, 2004.

LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, T.; SOOBRAATTEE, A. M.; AROUMA, I. Antioxidant activities of Phenolic, Proanthocyanidin, and Flavonoid Components in extract of *Cassia fistula*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5042-5047, 2002.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; DOS SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S.G. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, 15, 127-130, 2001.

MOCO,S.; BINO, R.J.; VORST, O.; VERHOEVEN, H. A.; GROOT, J.; VAN BEEK, T. A.; VERVOORT, J.; RIC DE VOS, C. H. A Liquid Chromatography-Mass Spectrometry-Based Metabolome Database for Tomato. *Plant Physiology*, 141,1205–1218, 2006.

MONTÚFAR, R.; LAFFARGUE, A.; PINTAUD, J. C.; HAMON, S.; AVALLONE, S.; DUSSERT, S. *Oenocarpus bataua* Mart. (Arecaceae): Rediscovering a Source of High Oleic Vegetable oil from Amazonia. *Journal of the American Oil Chemical Society*, 87, 167–172, 2010.

NIKOLIC, D.; GODECKE, T.; CHEN, S. N.; WHITE, J.; LANKIN, D. C.; PAULI, G.F.; VAN BREEMENB, R. B. Mass spectrometric dereplication of nitrogen-containing constituents of black cohosh (*Cimicifuga racemosa* L.). *Fitoterapia*, 83, 441–460, 2012.

PARDAUIL, J. J. R.; SOUZA, L. K.C.; MOLFETTA, F.A.; ZAMIAN, J.R.; ROCHA-FILHO, G.N.; DA COSTA, C.E.F. Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian area. *Bioresource Technology*, 102, 5873–5877, 2011.

PESCE, C. *Oleaginosas da Amazônia*. Museu Paraense Emílio Goeldi, Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural. 2ª edição. Belém, 2009.

ROBBINS, R. J. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2866-2887, 2003.

ROCHA, A. E.; SILVA, M. F. F. Aspectos fitossociológicos, florísticos e etnobotânicos das palmeiras (Arecaceae) de floresta secundária no município de Bragança, PA, Brasil. *Acta Botanica Brasílica*, 19(3), 657-667, 2005.

RODRIGUES, A. M. C.; DARNET, S.; DA SILVA, L. H. M. Fatty acids profiles and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa*), patawa (*Oenocarpus bataua*), tucuma (*Astrocaryum vulgare*), mari (*Poraqueiba paraensis*) and inajá (*Maximiliana maripa*) fruits. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21(10) 2000-2004, 2010.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. *Fontes brasileiras de carotenóides: Tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos*. Ministério do Meio ambiente. Brasília, 2008.

SHANLEY, P.; SERRA, M.; MEDINA, G.. *Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica*. Cifor. Brasília, 2010.

SILVA, C. G.; HERDEIRO, R.S.; MATHIAS, C.J.; PANEK, A.D.; SILVEIRA, C.S.; RODRIGUES, V.P.; RENN'O, M.N.; FALCÃO, D.Q.; CERQUEIRA, D.M.; MINTO, A.B.M.; NOGUEIRA, F.L.P.; QUARESMA, C.H.; SILVA, J.F.M.; MENEZES, F.S.; ELEUTHRIO, E.C.A. Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. *Pharmacological Research* , 52, 229–233, 2005.

SILVA, S.M.; ROCCO, S. A.; SAMPAIO, K.A.; TAHAM, T.; DA SILVA, L. H. M.; CERIANI, R.; MEIRELLES, A.J.A. Validation of a method for simultaneous quantification of total carotenes and tocopherols in vegetable oils by HPLC. *Food Chemistry*, 129, 1874–1881, 2011.

SILVA, S. M.; SAMPAIO, K. A.; TAHAM, T.; ROCCO, S. A.; CERIANI, R.; MEIRELLES, A. J. A. Characterization of oil extracted from buriti fruit (*Mauritia flexuosa*) grown in the Brazilian Amazon region. *Journal of the American Oil Chemical Society*, 86, 611-616, 2009.

SMILLIE, R. M.; HETHERINGTON, S. E. Photoabatement by anthocyanin shields photosynthetic systems from light stress. *Photosynthetica*, 36 (3), 451-463, 1999.

SOUSA, C. M. DE M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; DA COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, 30(2), 351-355, 2007.

STEYN, W. J.; WAND, S. J. E.; HOLCROFT, D. M.; JACOBS, G. Review: Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist*, 155, 349–361, 2002.

TSIMOGIANNIS, D.; SAMIOTAKI, M.; PANAYOTOU, G.; OREOPOULOU, V. Characterization of Flavonoid Subgroups and Hydroxy Substitution by HPLC-MS/MS. *Molecules*, 12, 593-606, 2007.

VELIOGLU, Y. S.; MAZZA, G., GAO, L.; OOMAH, B. D. Antioxidant Activity and Total Phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 8, 4113-4117, 1998.

VIEIRA, R. F.; Costa, T. S. A; Silva, D. B.; Ferreira, F. R.; Sano, S. M. *Frutas nativas da região Centro-oeste do Brasil*. Embrapa recursos genéticos e tecnologia. Brasília, 2006.

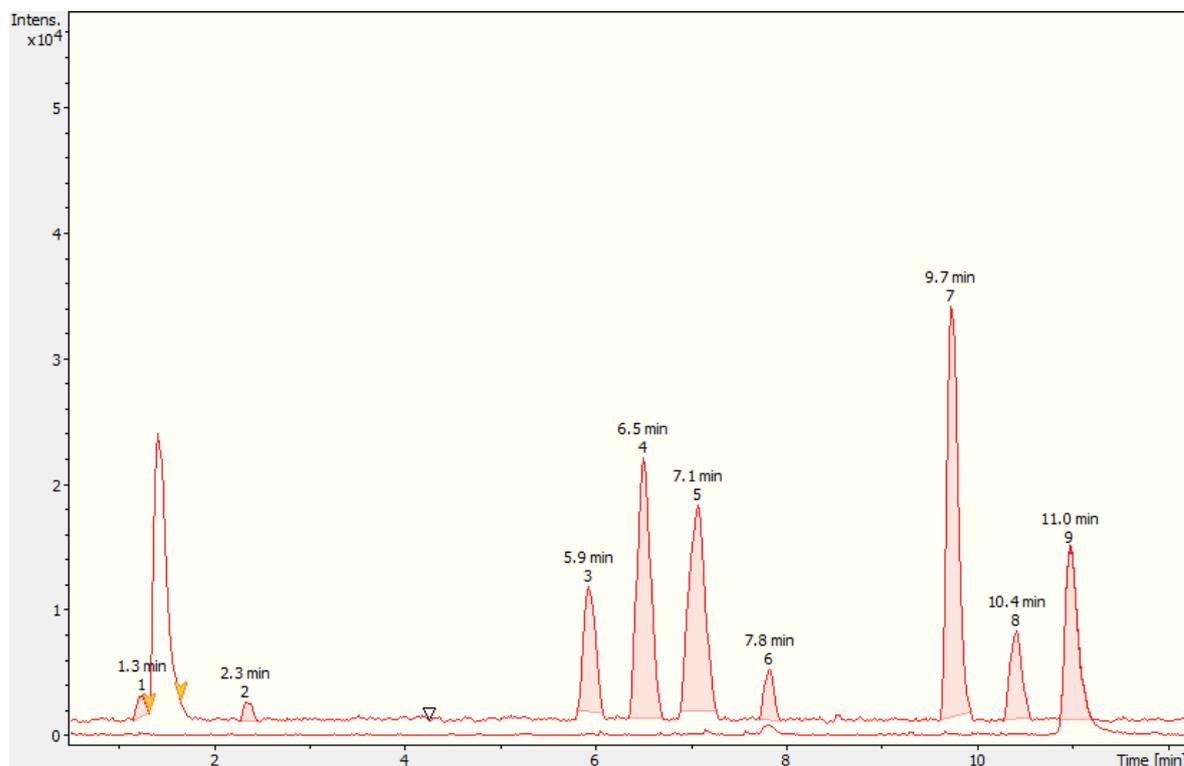
WAGNER. H.; BLADT, S. A Thin Layer Chromatography Atlas. *Plant Drug Analysis*. 2nd Ed. Springer Verlag. 1996.

WEISSHAAR, B.; JENKINS, G. Phenylpropanoid biosynthesis and its regulation. *Current Opinion in Plant Biology*, 1(3), 251–257, 1998.

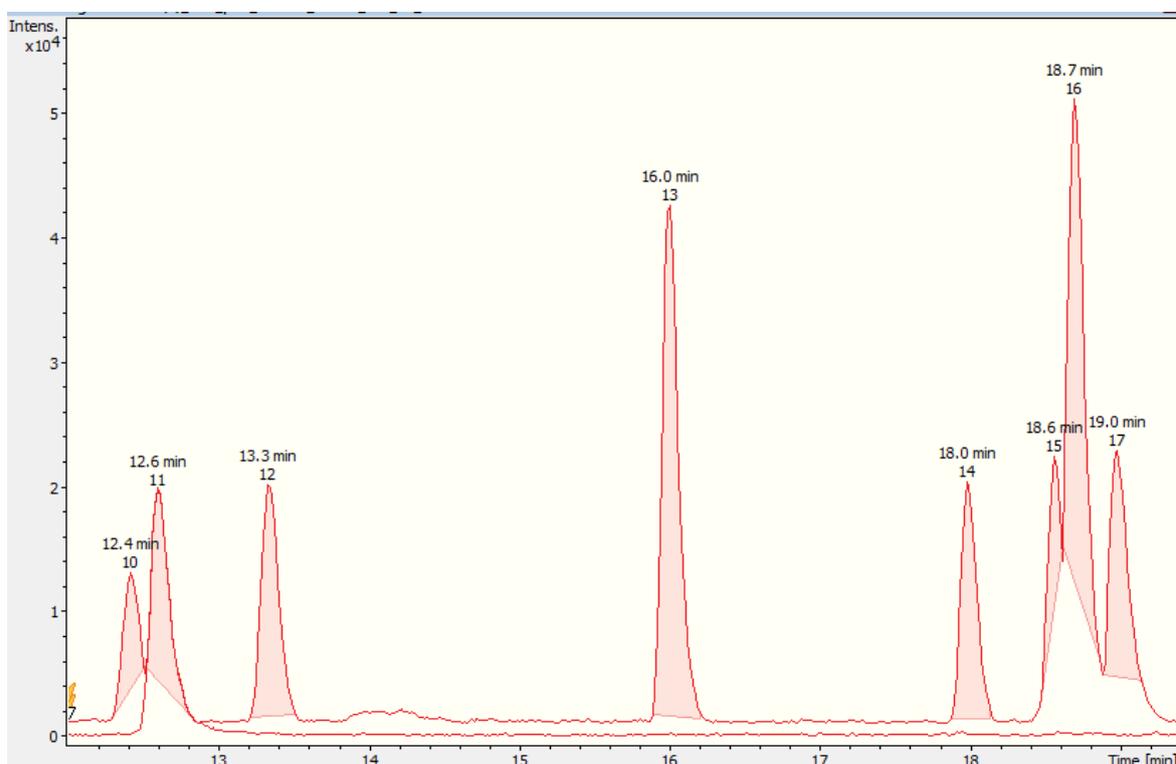
ZANATTA, C. F.; MITJANS, M.; URGATONDO, V.; ROCHA-FILHO, P. A.; VINARDELL, M. P. Photoprotective potential of emulsions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) against UV irradiation on keratinocytes and fibroblasts cell lines. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 70–75, 2010.

ZANATTA, C. F.; URGATONDO, V.; MITJANS, M.; ROCHA-FILHO, P. A.; VINARDELL, M. P. Low cytotoxicity of creams and lotions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) assessed by the neutral red release test. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2776–2781, 2008.

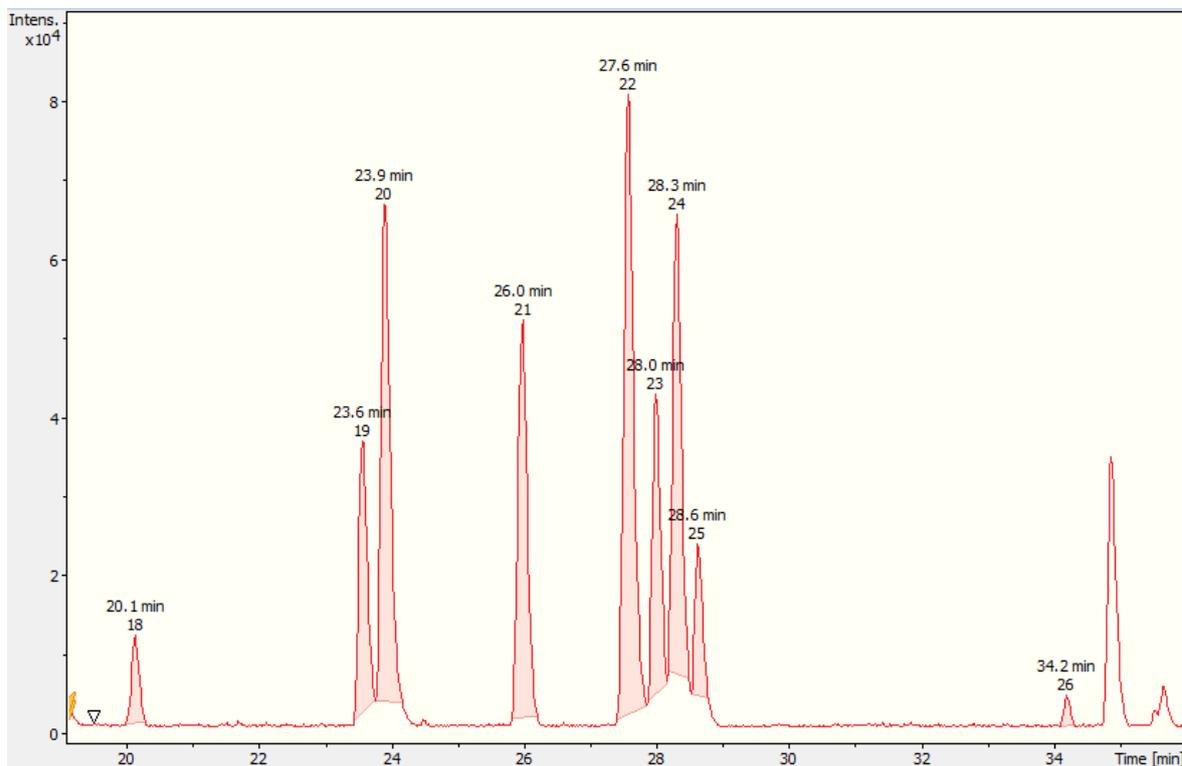
## ANEXOS



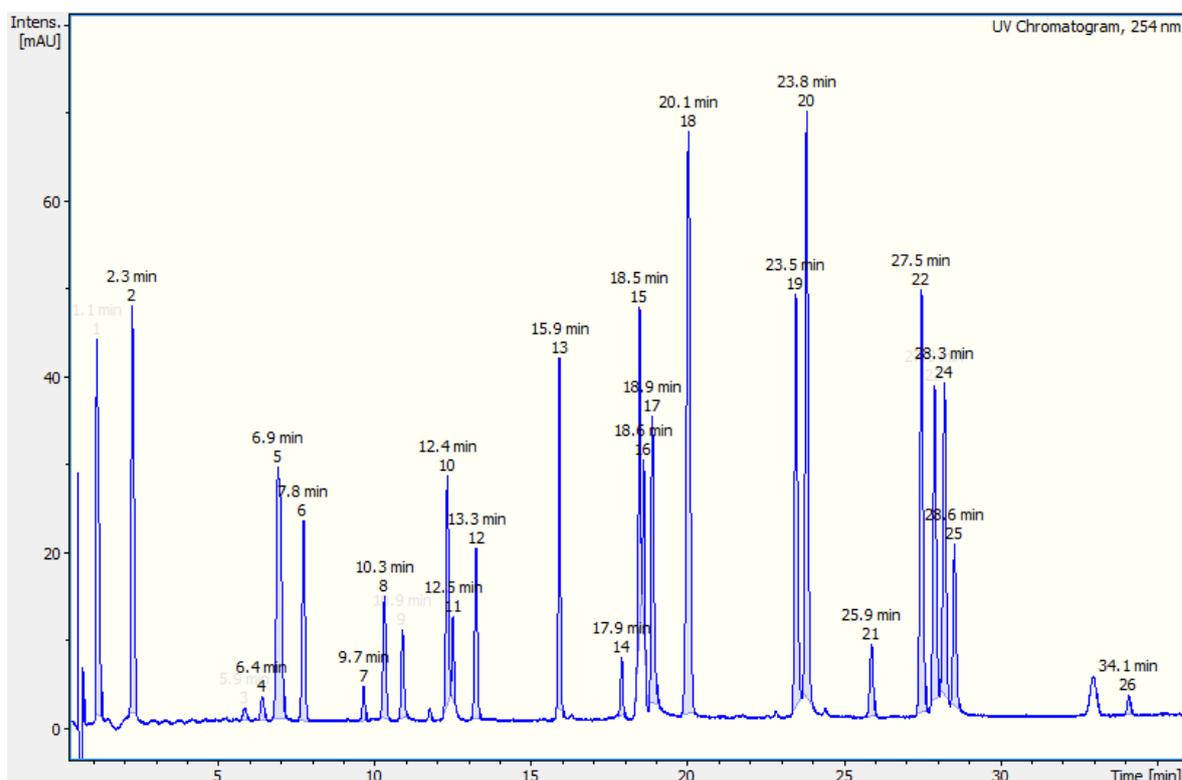
**Anexo 1.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo positivo. Ampliação dos picos 1 a 9.



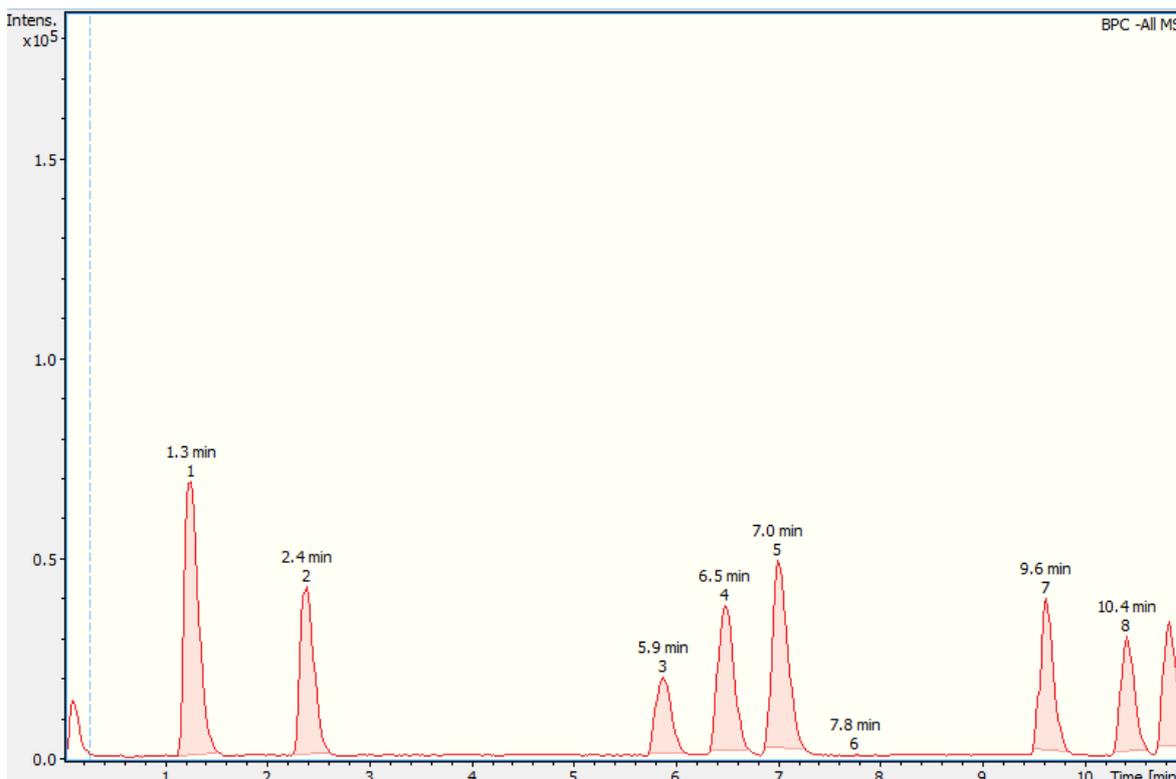
**Anexo 2.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo positivo. Ampliação dos picos 10 a 17.



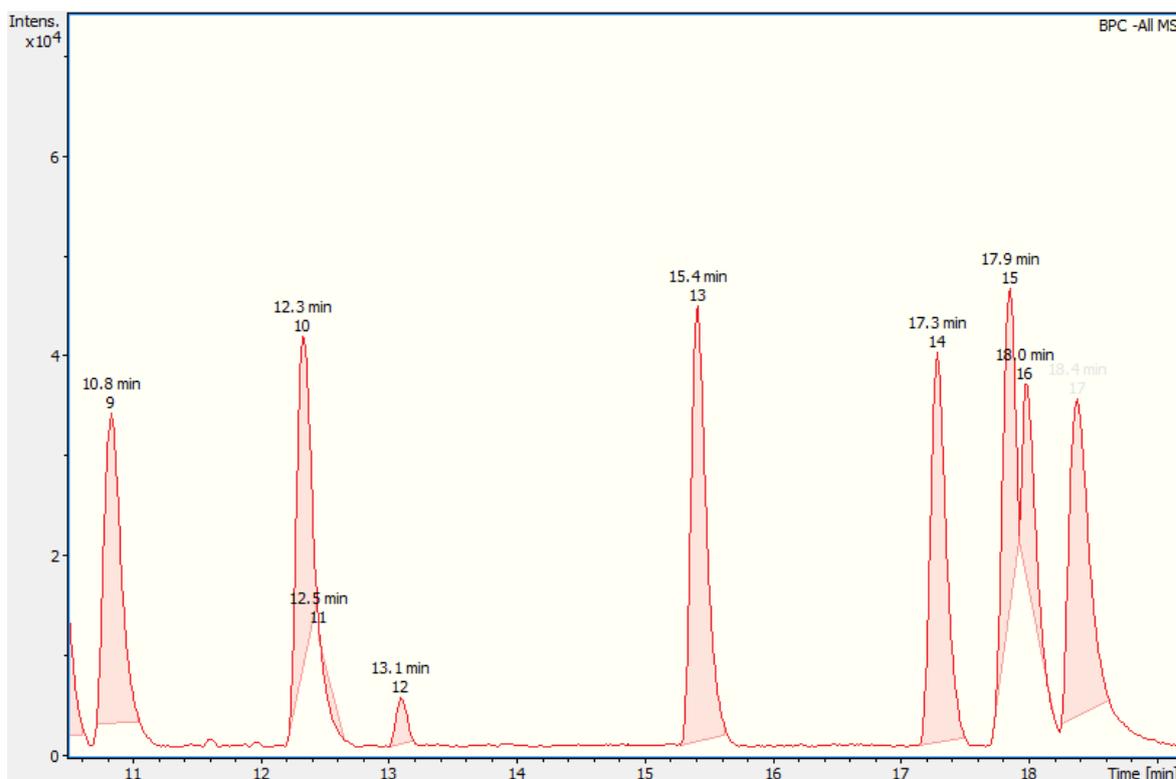
**Anexo 3.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo positivo. Ampliação dos picos 18 a 26.



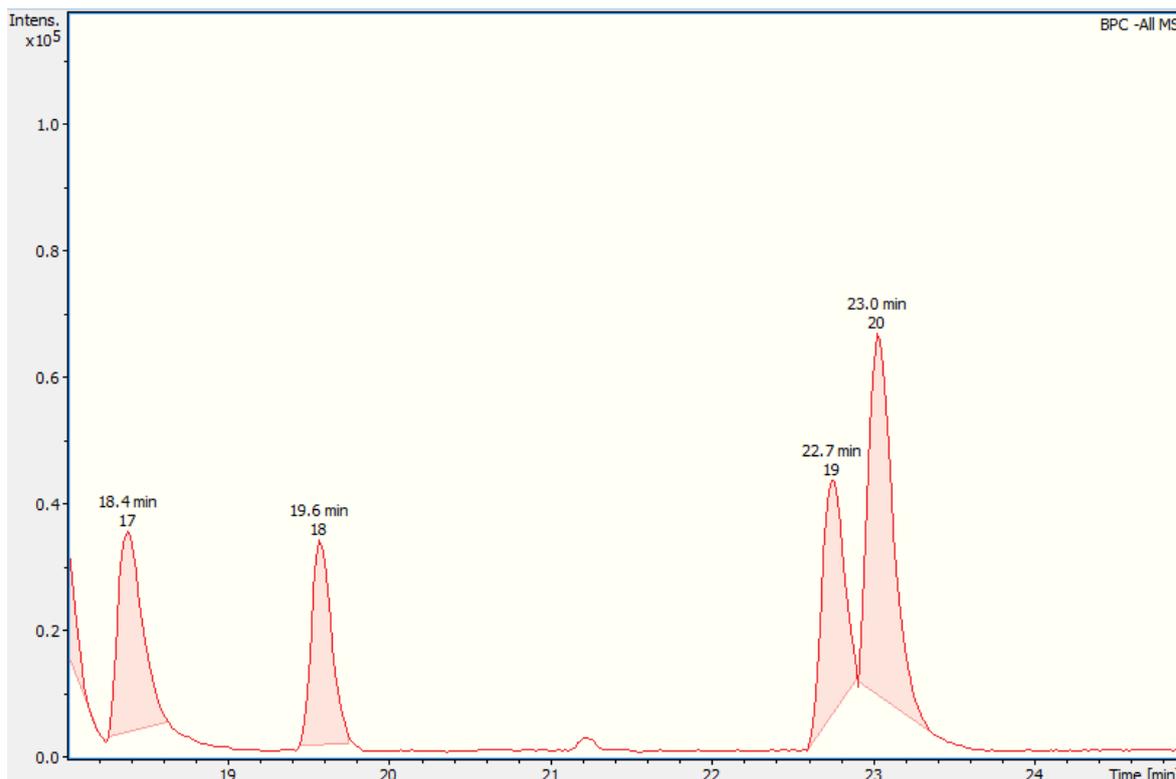
**Anexo 4.** Cromatograma UV obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e modo positivo de análise.



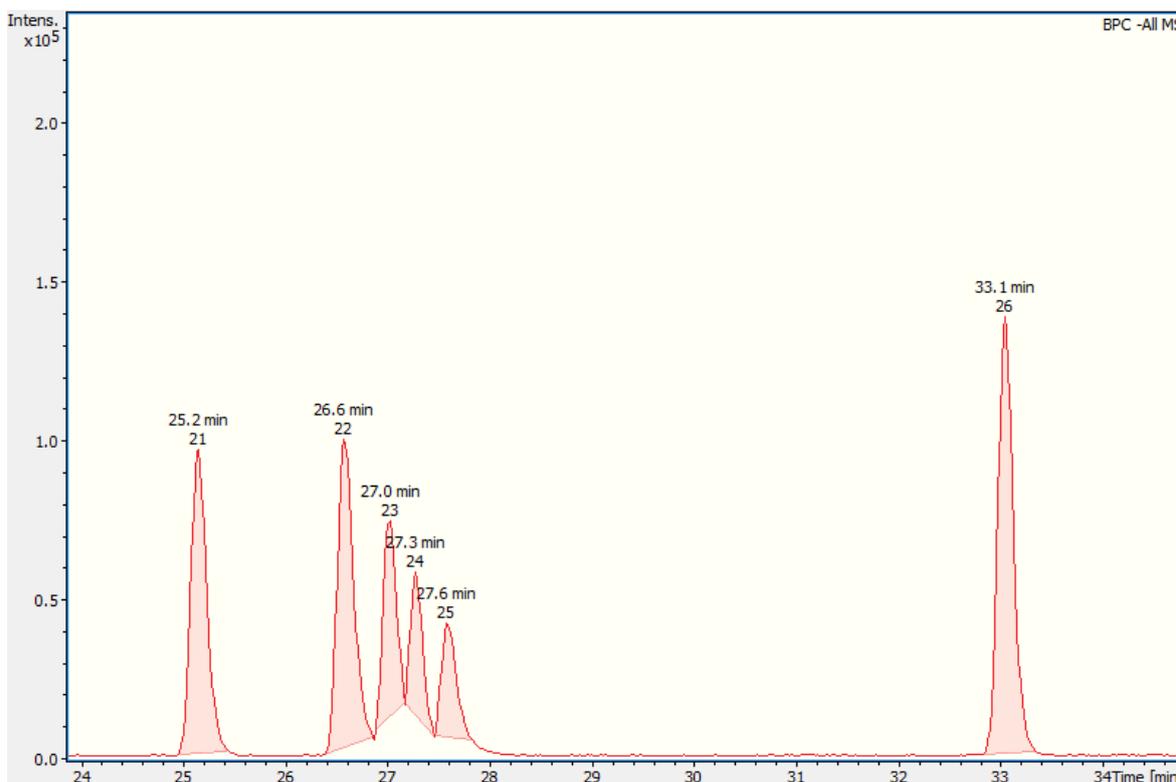
**Anexo 5.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo negativo. Ampliação dos picos 1 a 8.



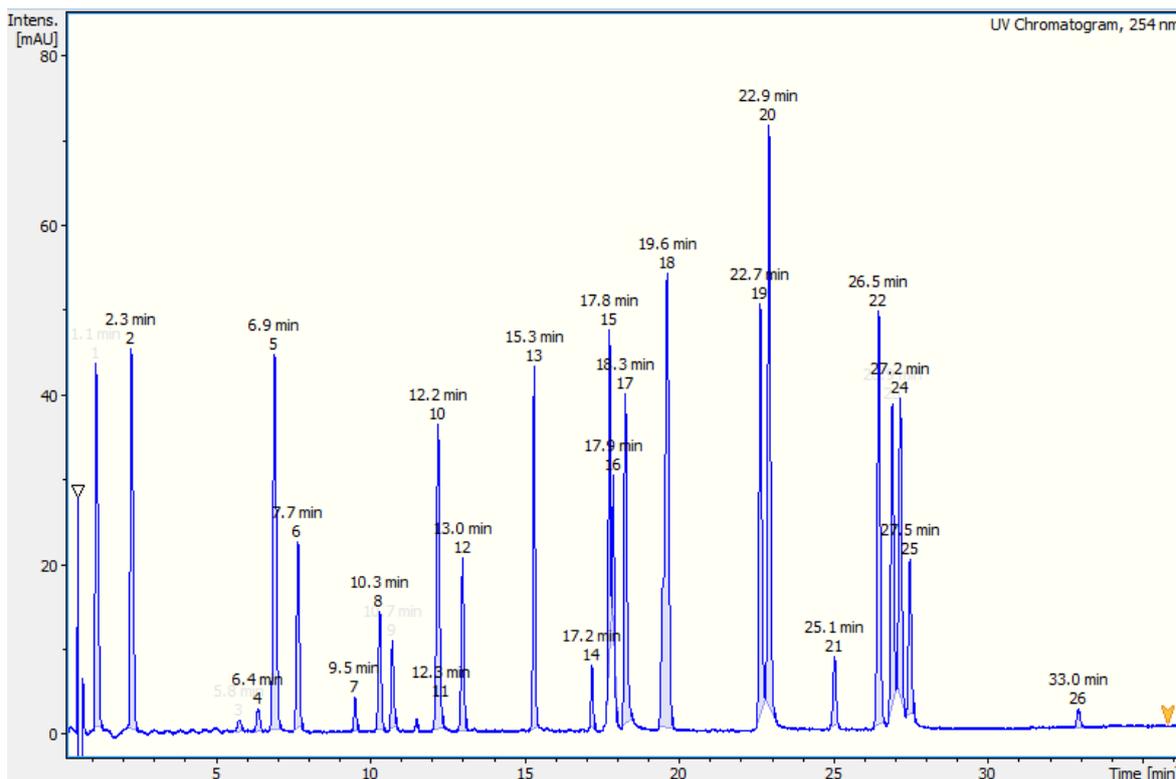
**Anexo 6.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo negativo. Ampliação dos picos 9 a 16.



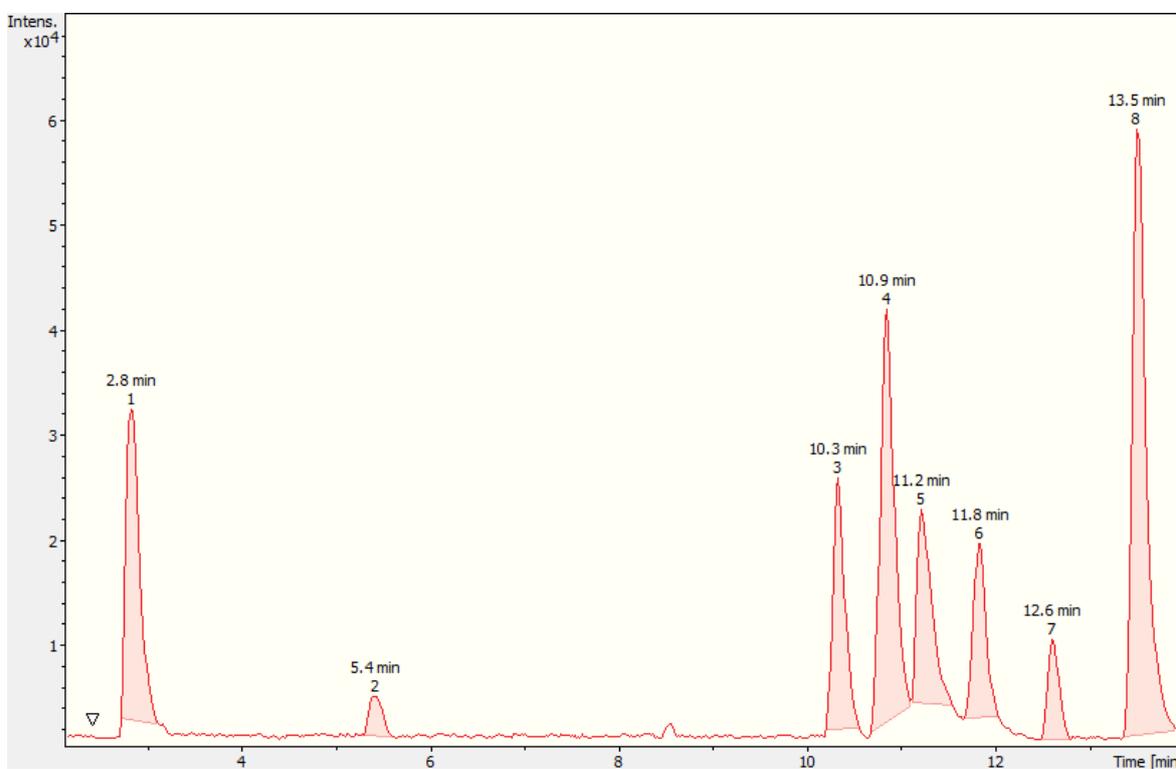
**Anexo 7.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo negativo. Ampliação dos picos 17 a 20.



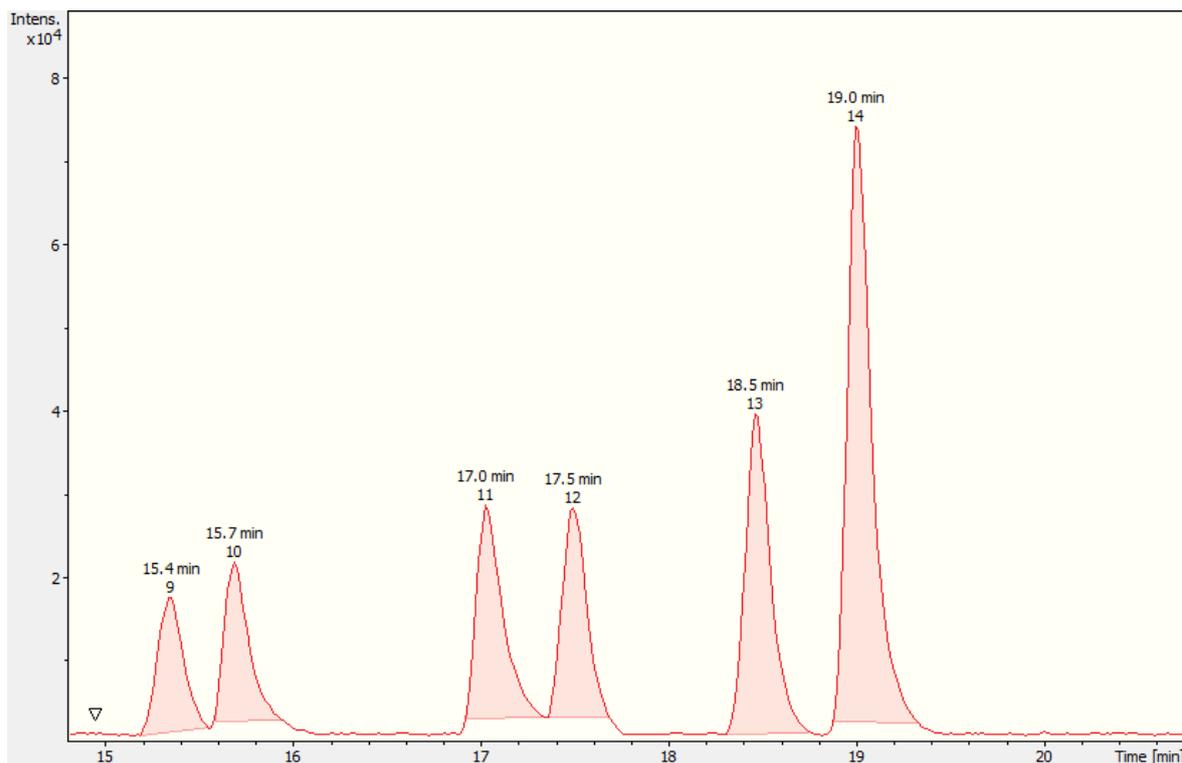
**Anexo 8.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna C18 e no modo negativo. Ampliação dos picos 21 a 26.



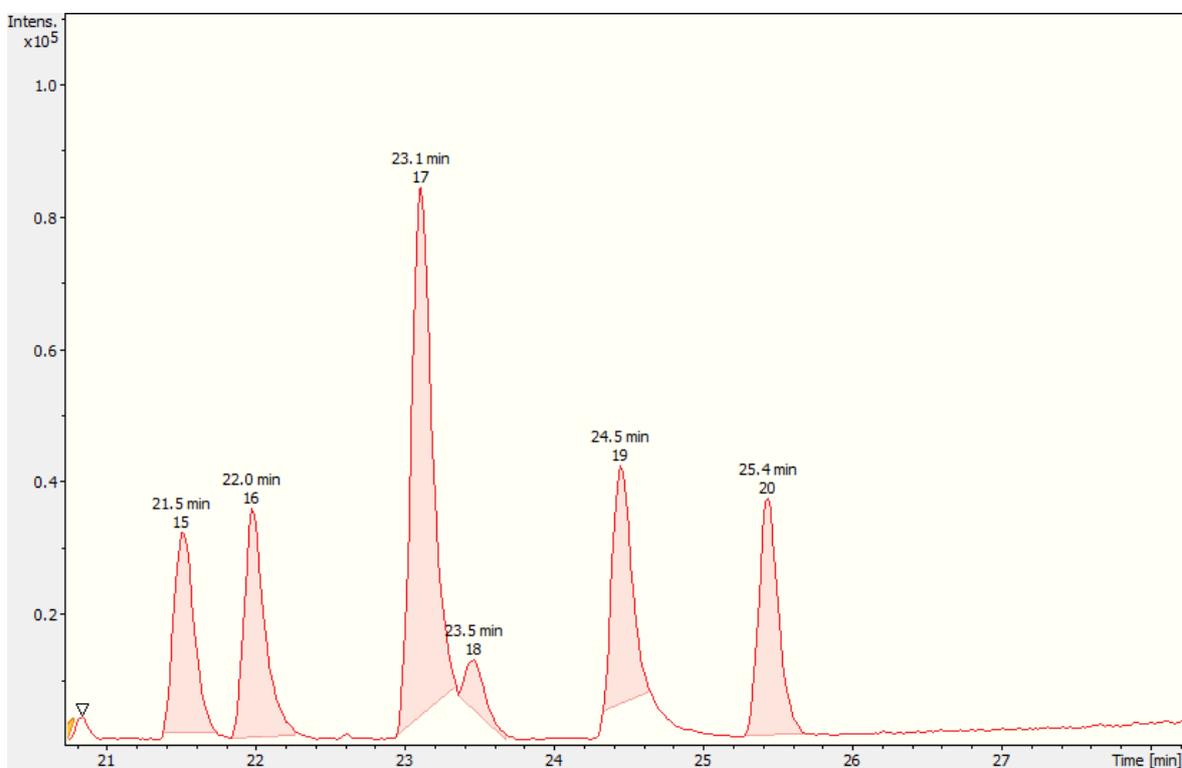
**Anexo 9.** Cromatograma UV obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonóides para a coluna C18 e modo negativo de análise.



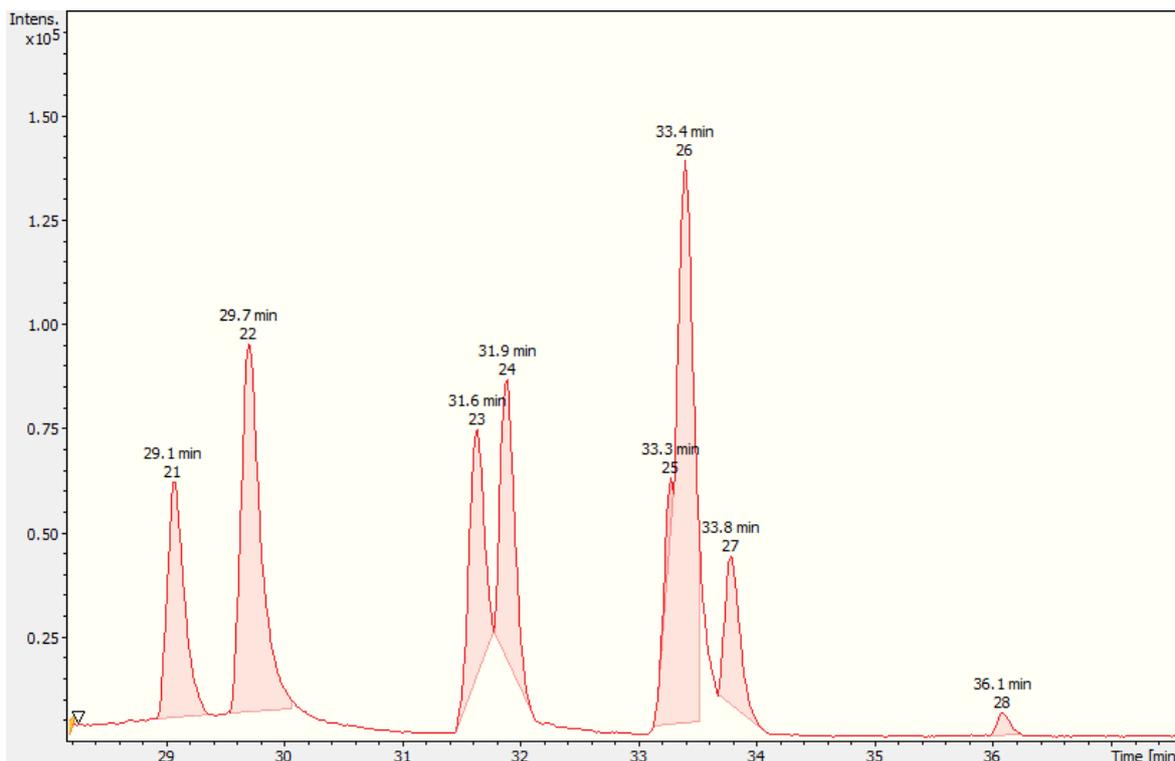
**Anexo 10.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo positivo. Ampliação dos picos 1 a 8.



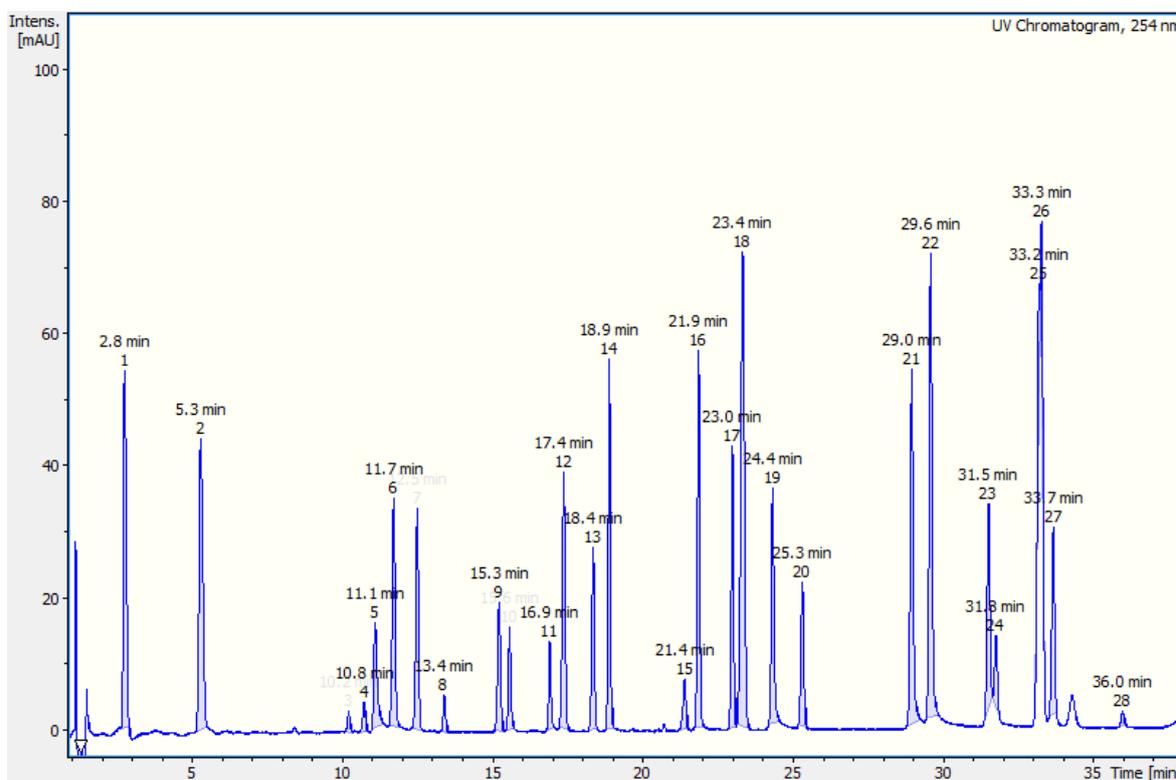
**Anexo 11.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo positivo. Ampliação dos picos 9 a 14.



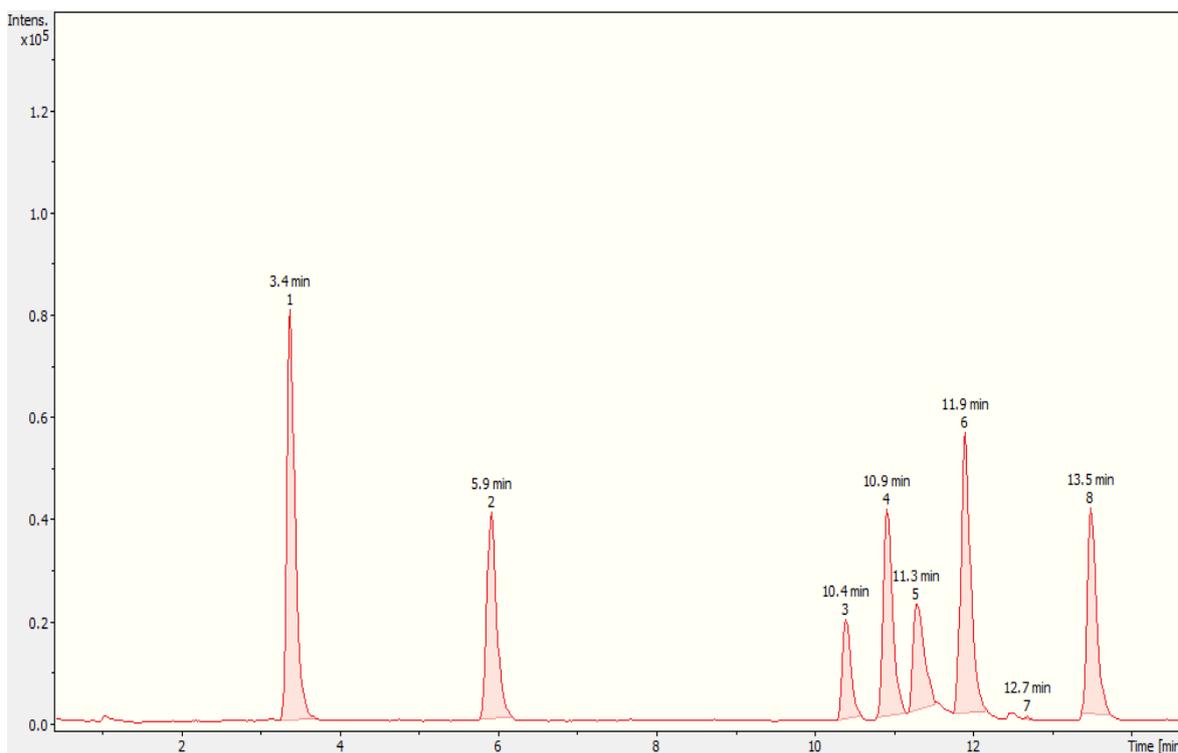
**Anexo 12.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo positivo. Ampliação dos picos 15 a 20.



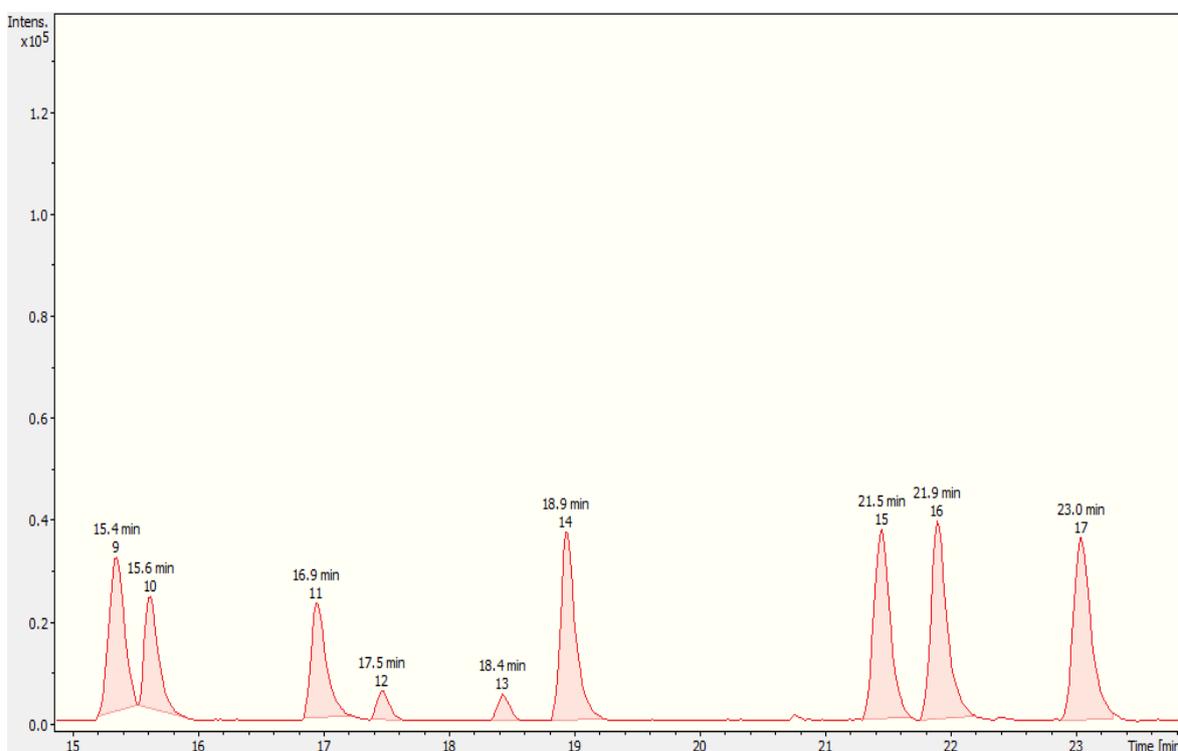
**Anexo 13.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo positivo. Ampliação dos picos 21 a 28.



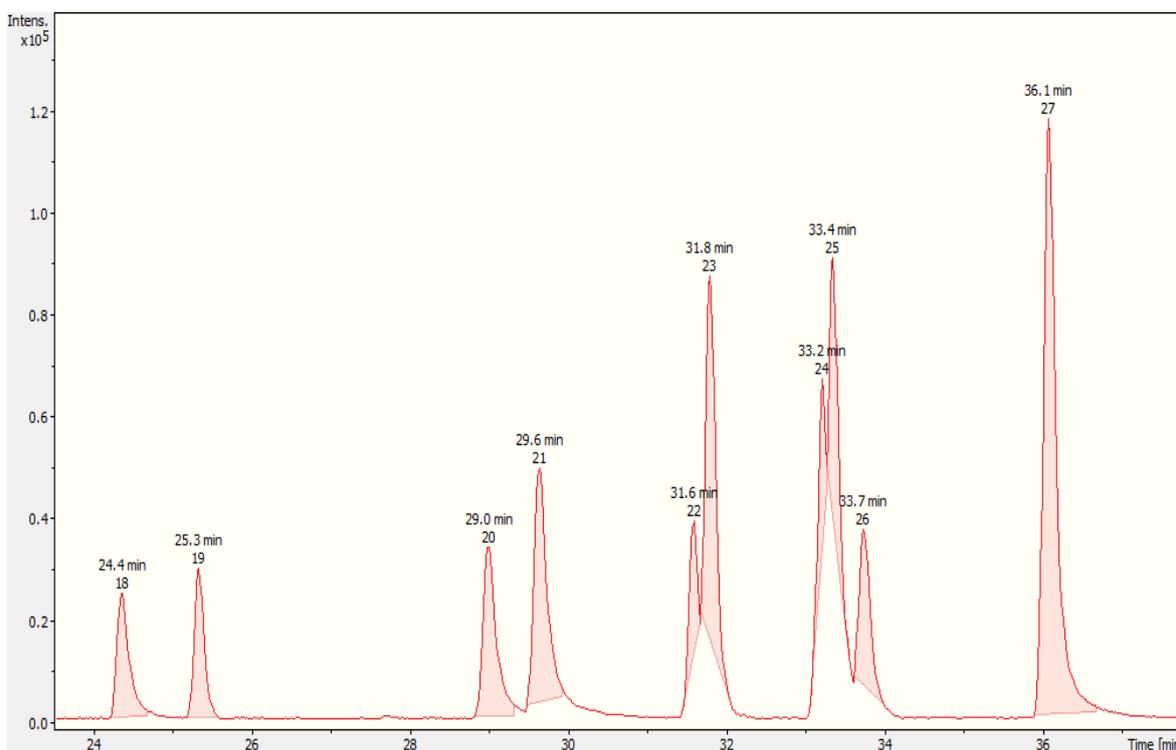
**Anexo 14.** Cromatograma UV obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonóides para a coluna PFP e modo positivo de análise.



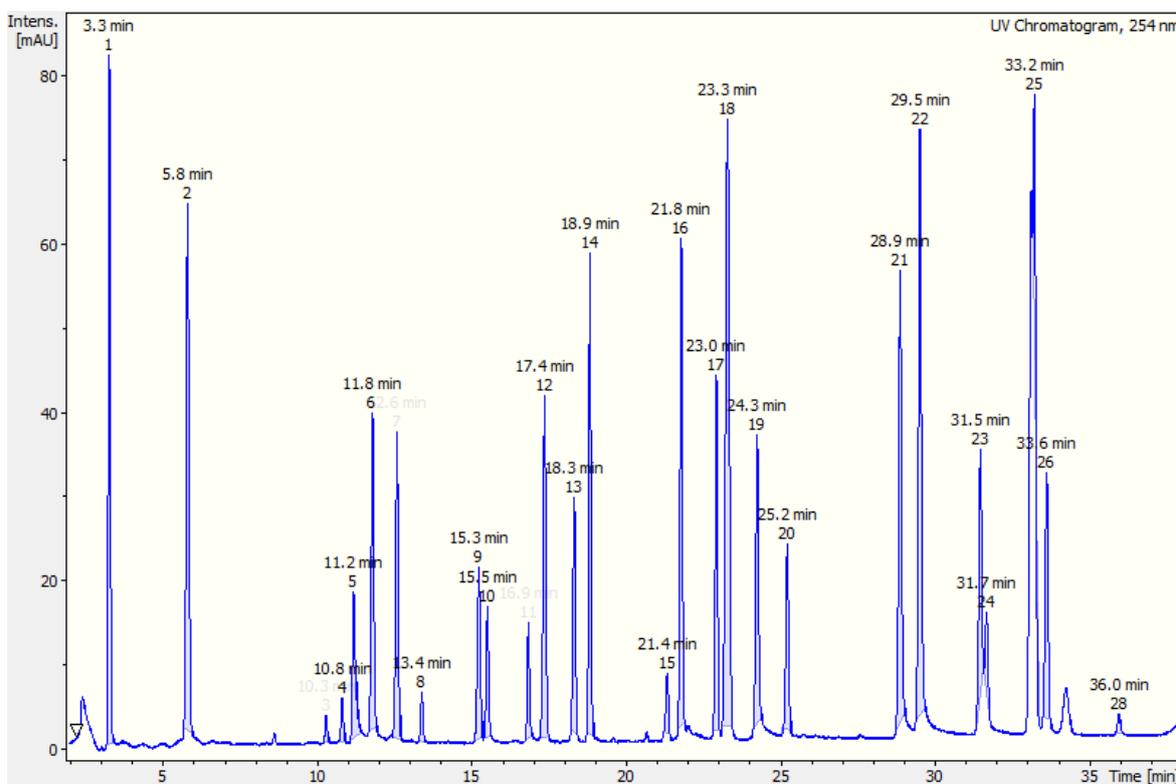
**Anexo 15.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo negativo. Ampliação dos picos 1 a 8.



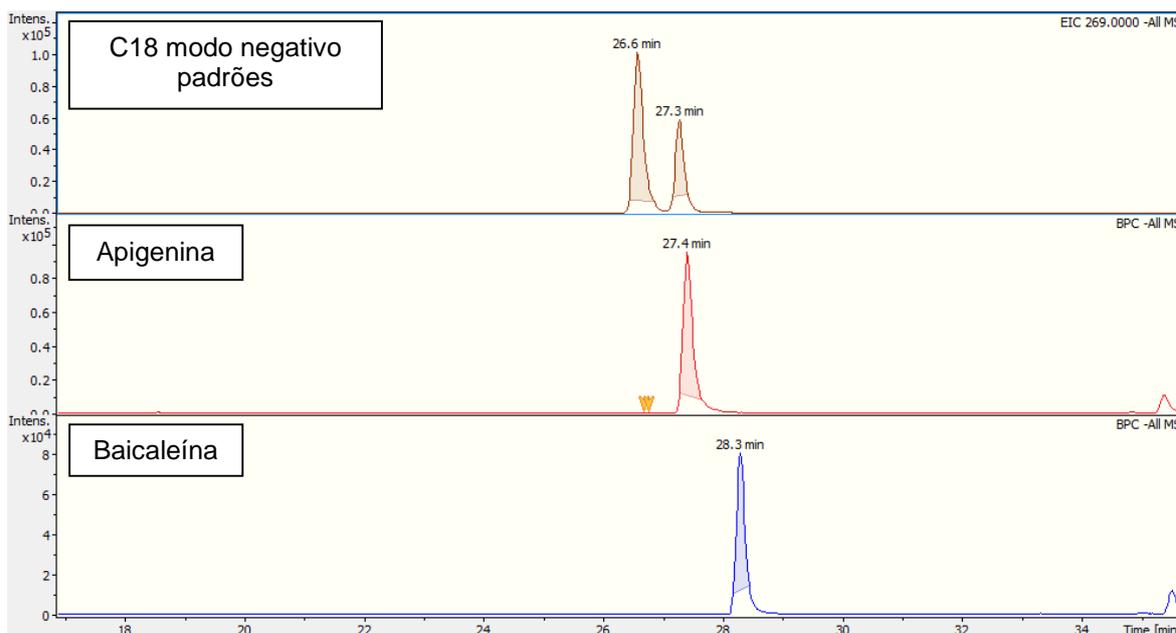
**Anexo 16.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo negativo. Ampliação dos picos 9 a 17.



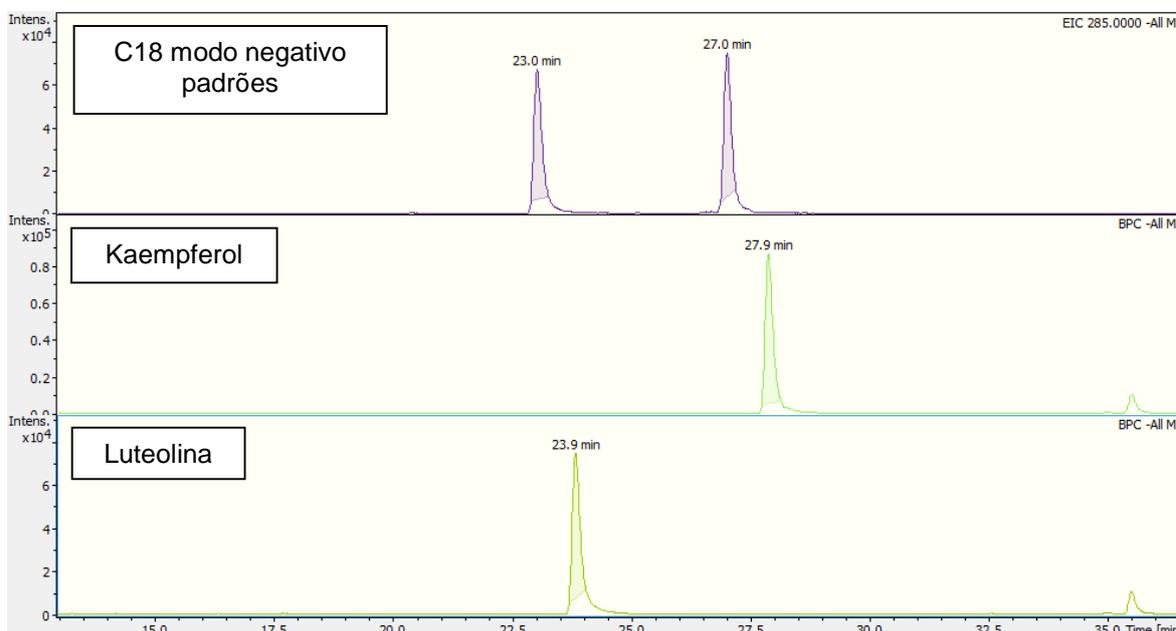
**Anexo 17.** Cromatograma CL-EM (BPC) obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e no modo negativo. Ampliação dos picos 18 a 27.



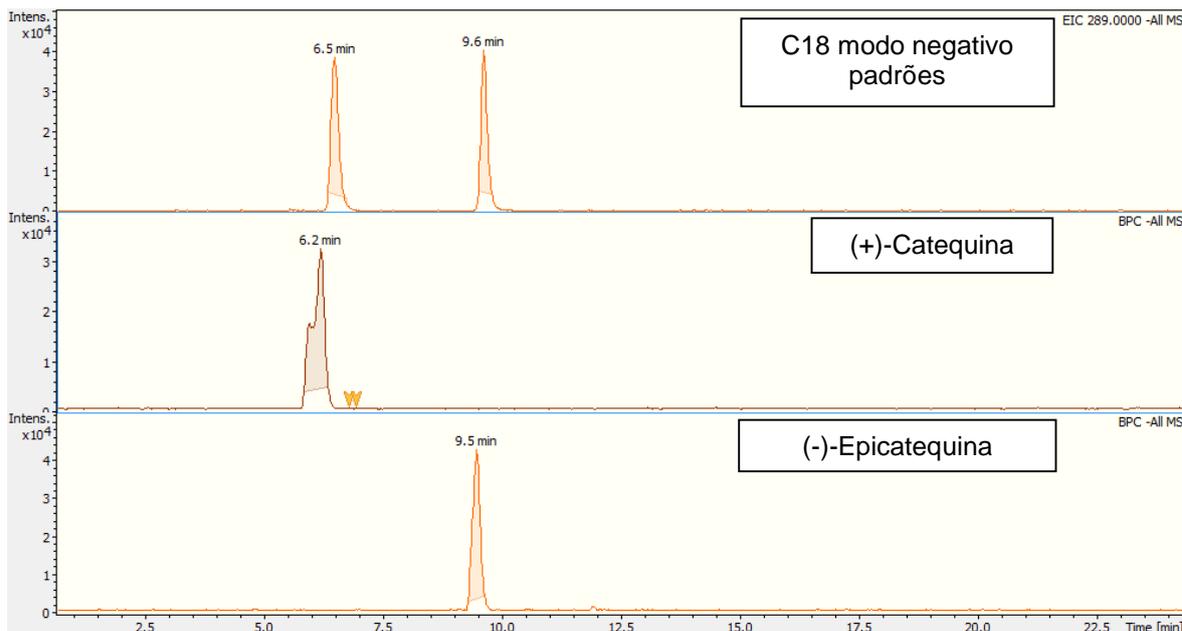
**Anexo 18.** Cromatograma UV obtido para a mistura de padrões fenilpropanóides e derivados e flavonoides para a coluna PFP e modo negativo de análise.



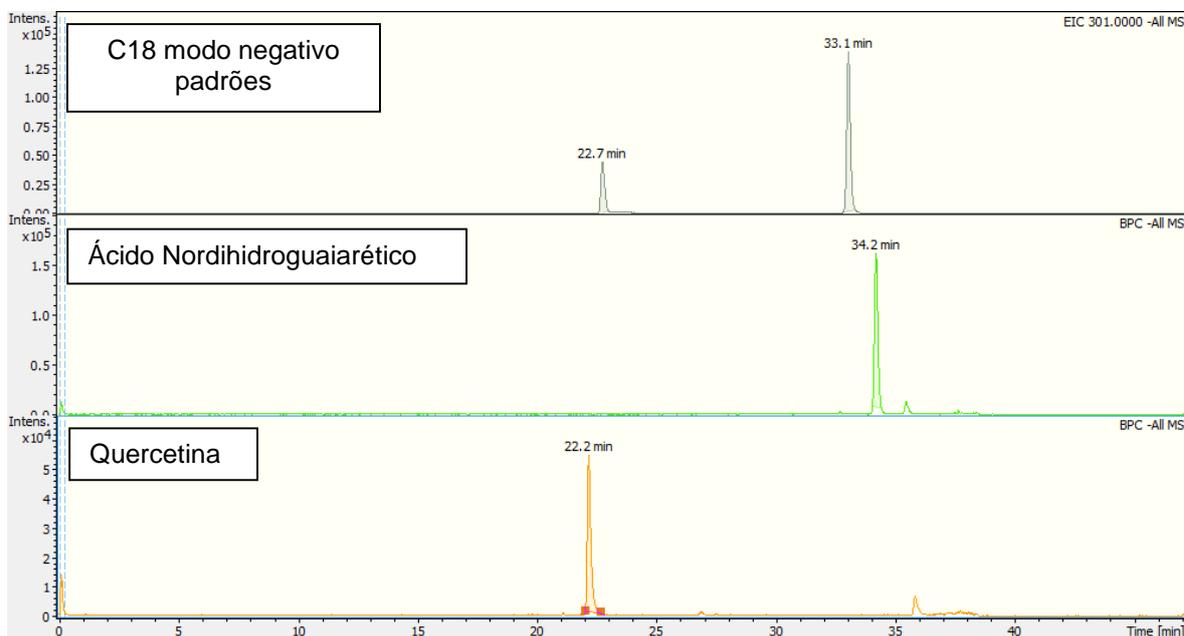
**Anexo 19.** Cromatograma CL-EM coluna C18 (BPC) no modo negativo. Apigenina e Baicaleína. Comparação dos tempos de retenção.



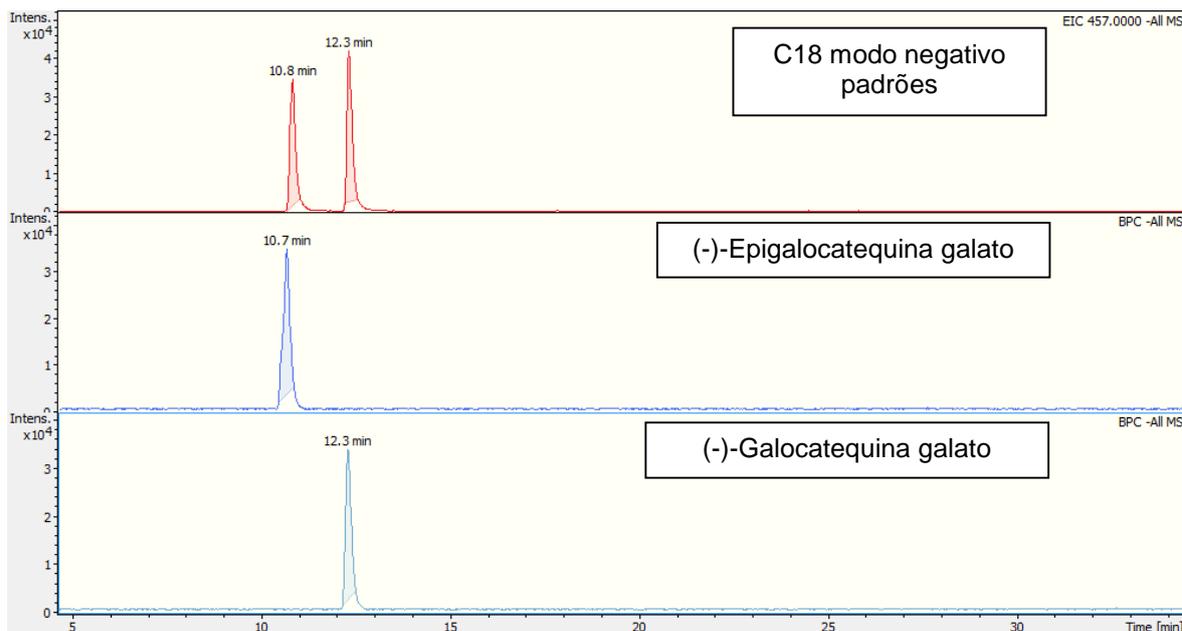
**Anexo 20.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no modo negativo. Kaempferol e Luteolina. Comparação dos tempos de retenção.



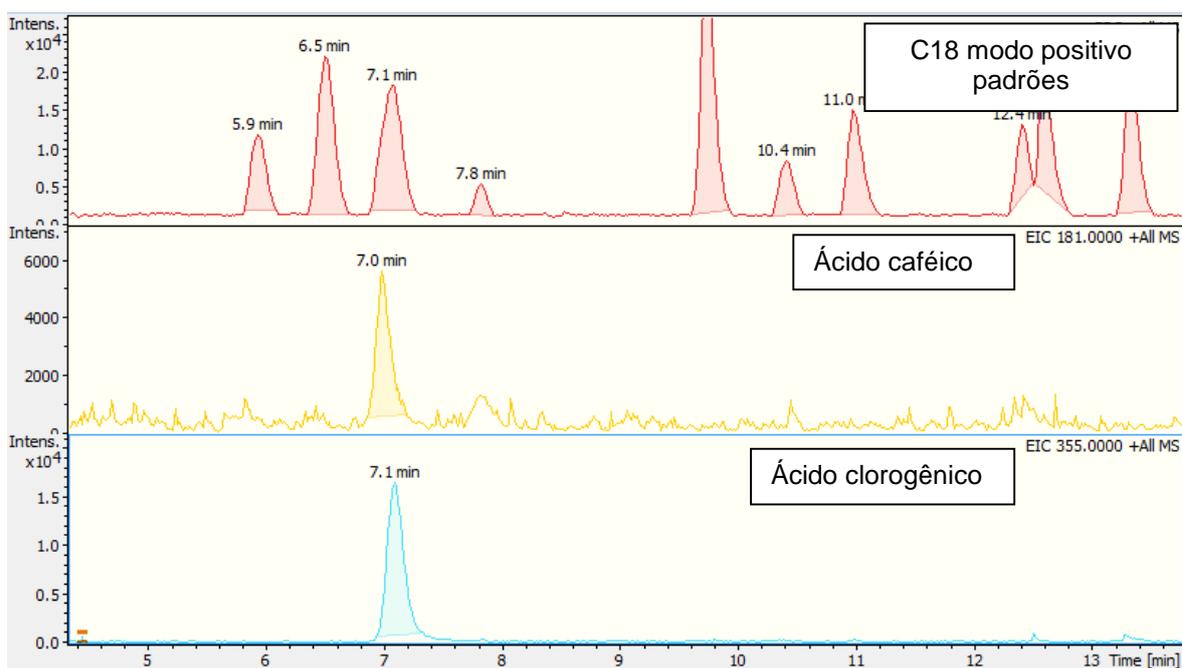
**Anexo 21.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no modo negativo. (+)-Catequina e (-)-Epicatequina. Comparação dos tempos de retenção.



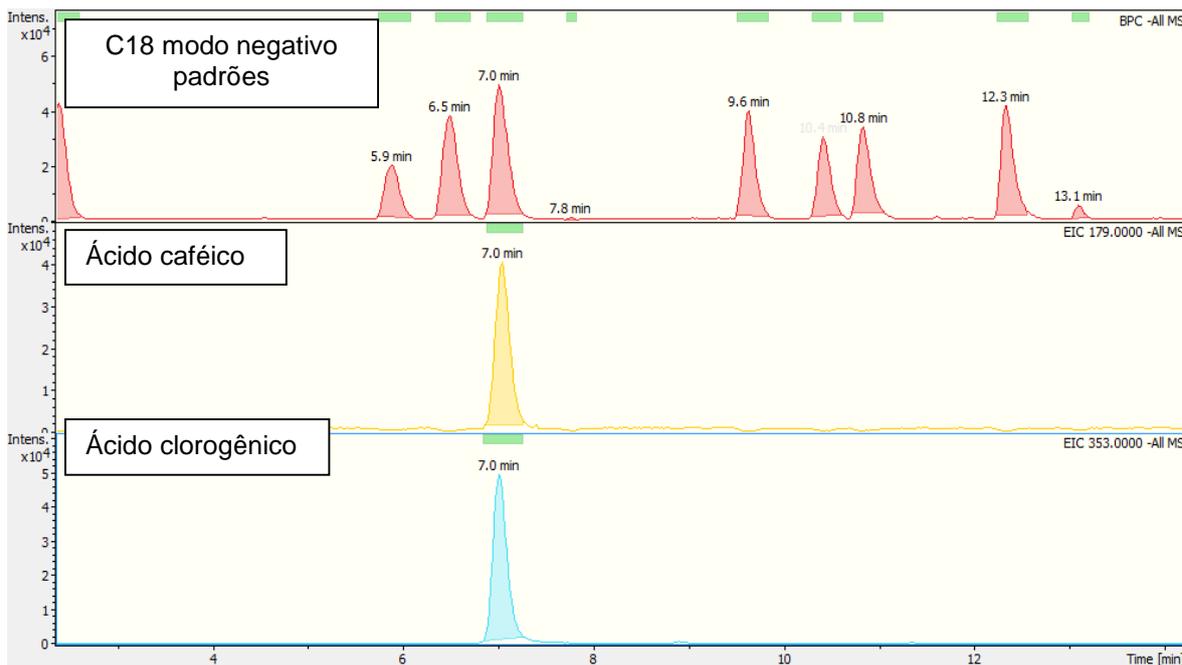
**Anexo 22.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no modo negativo. Ácido Nordihidroguaiarético e Quercetina. Comparação dos tempos de retenção.



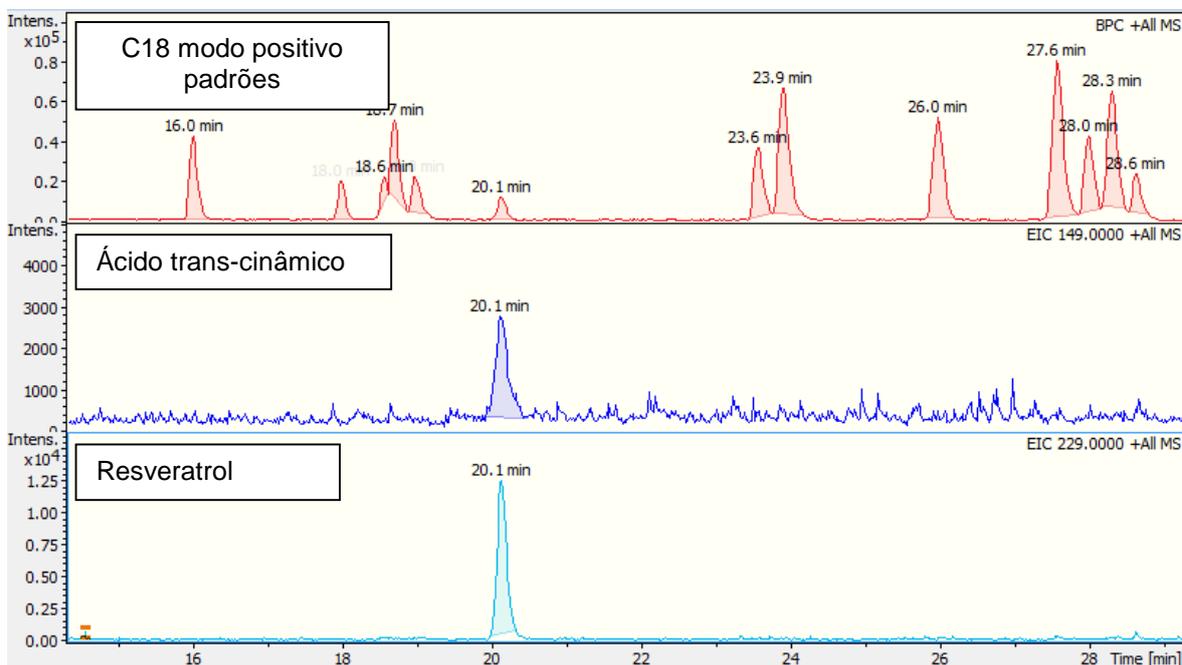
**Anexo 23.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no modo negativo. (-)-Epigalocatequina galato e (-)-Galocatequina galato. Comparação dos tempos de retenção.



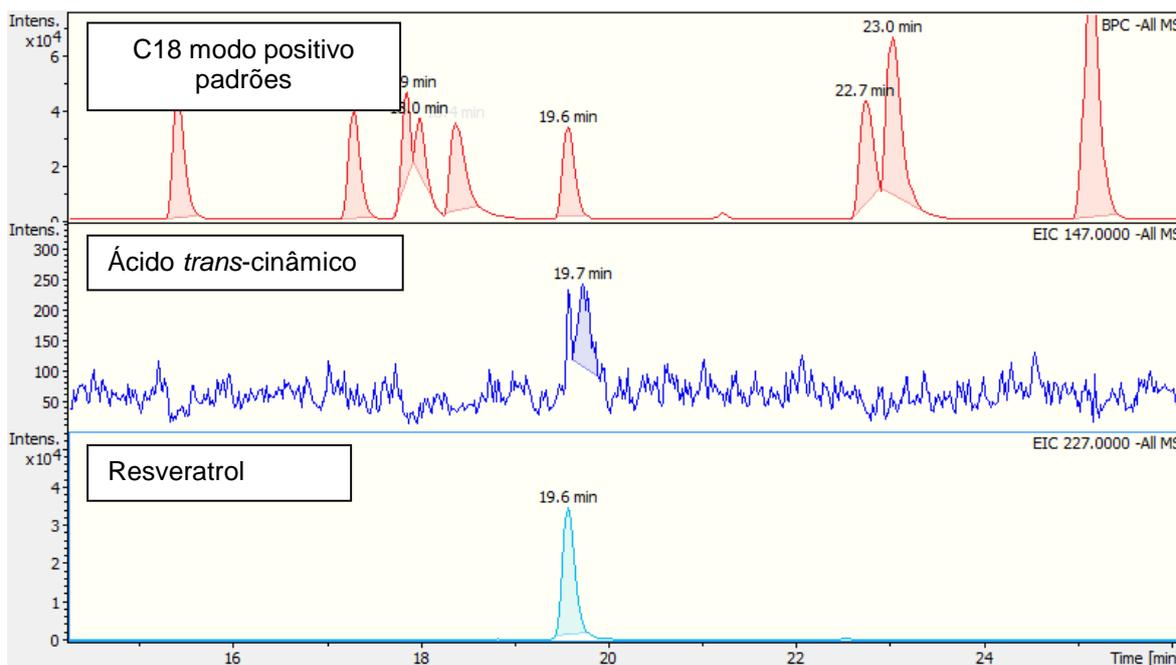
**Anexo 24.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no modo positivo. Coeluição de ácido caféico e ácido clorogênico em 7,0 minutos.



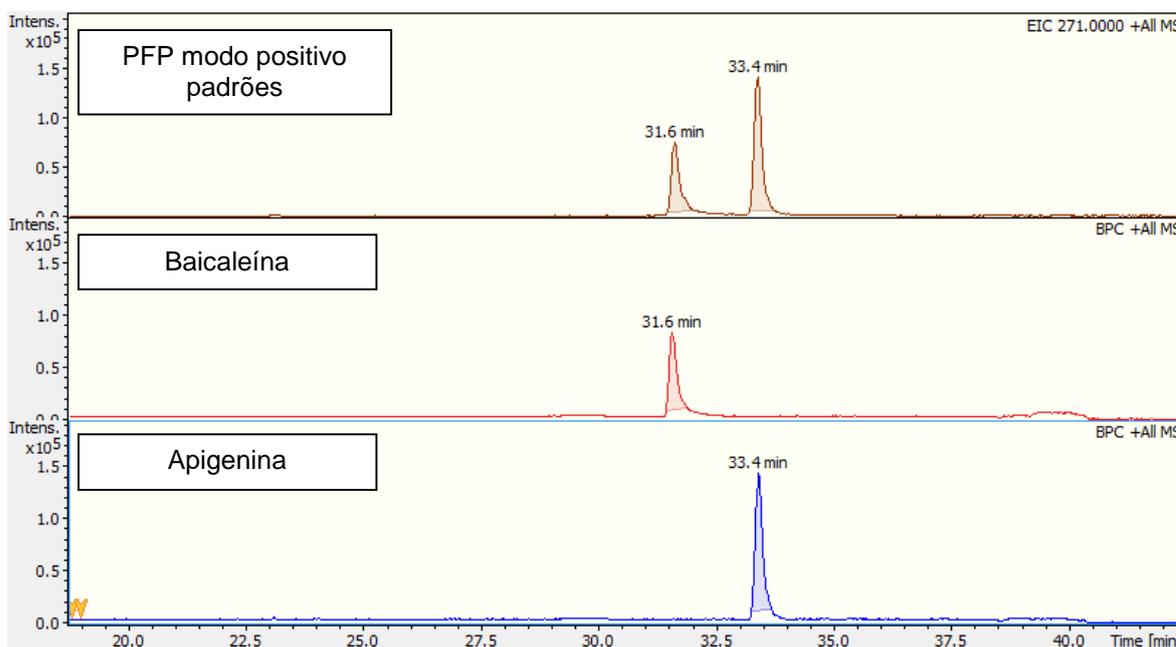
**Anexo 25.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no modo negativo. Coeluição de ácido caféico e ácido clorogênico em 7,0 minutos.



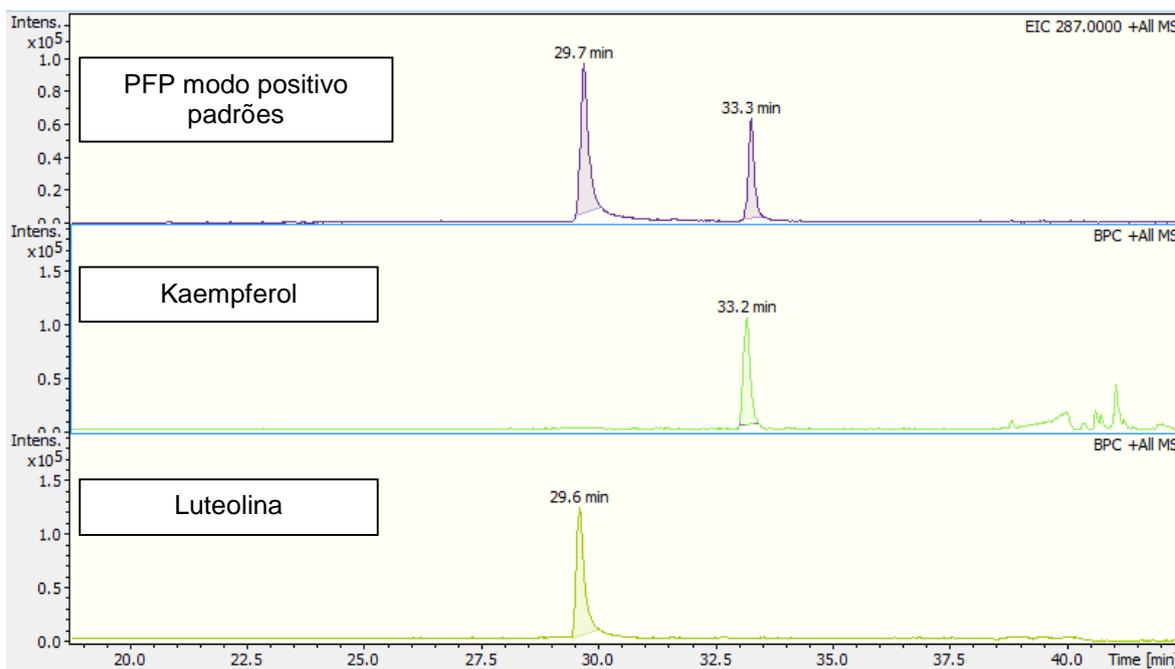
**Anexo 26.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no positivo. Coeluição de Ácido trans-cinâmico e Resveratrol em 20,1 minutos.



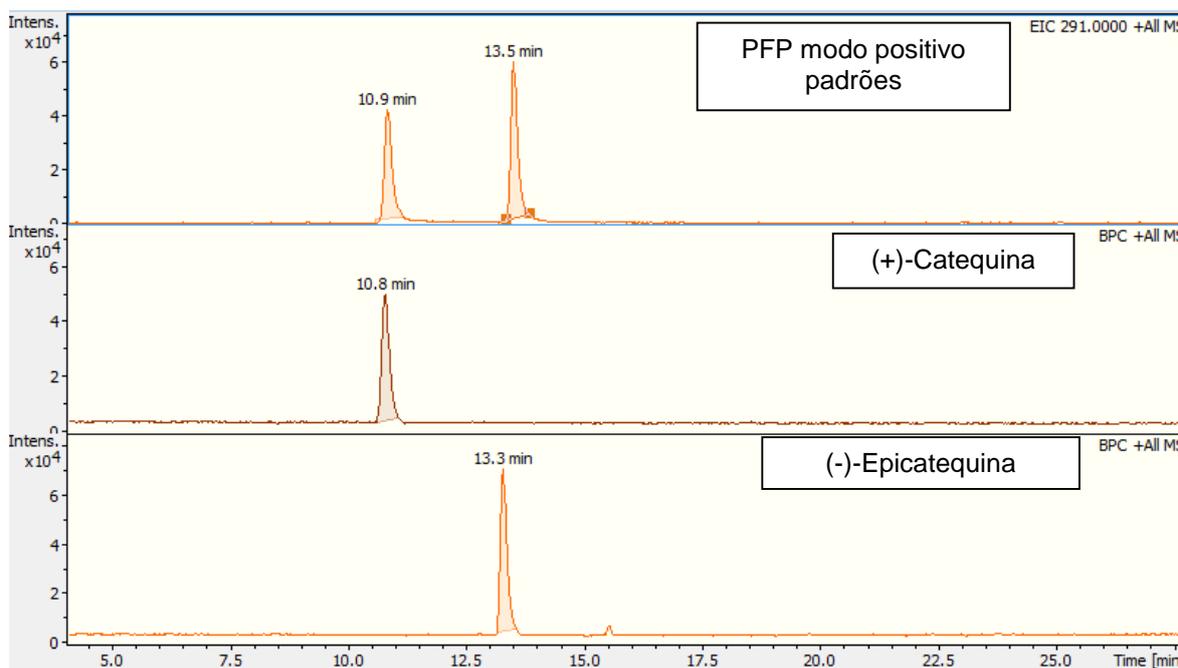
**Anexo 27.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna C18 no negativo. Coeluição de Ácido *trans*-cinâmico e Resveratrol em 20,1 minutos.



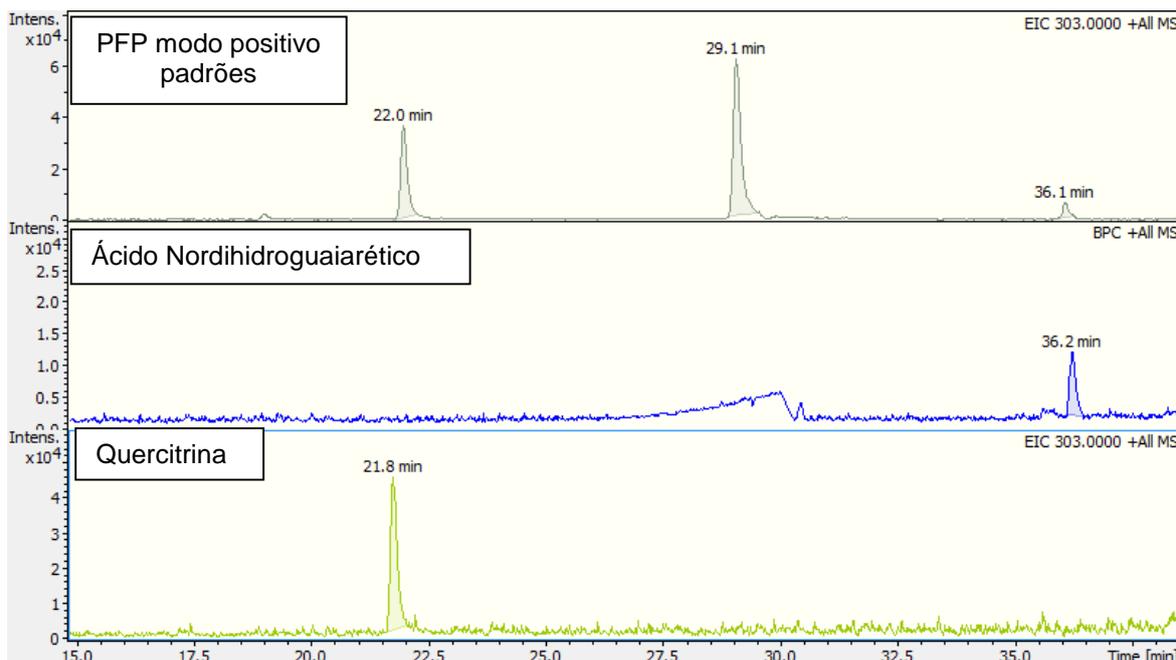
**Anexo 28.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo positivo. Baicaleína e Apigenina. Comparação dos tempos de retenção.



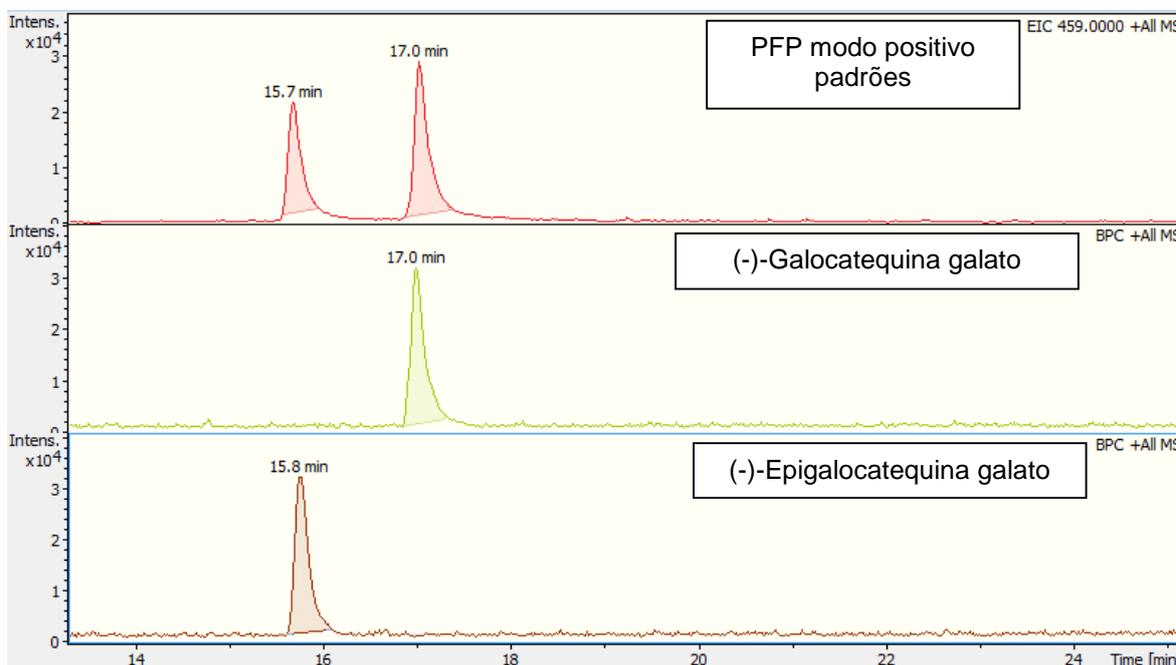
**Anexo 29.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo positivo. Kaempferol e Luteolina. Comparação dos tempos de retenção.



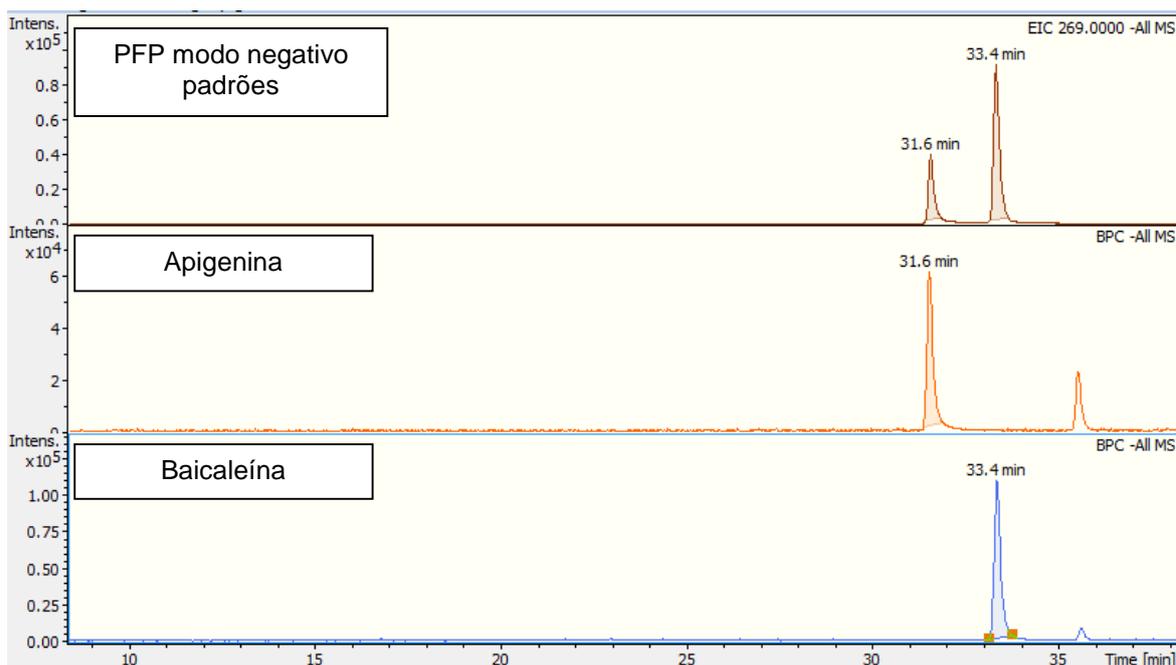
**Anexo 30.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo positivo. (+)-Catequina e (-)-Epicatequina. Comparação dos tempos de retenção.



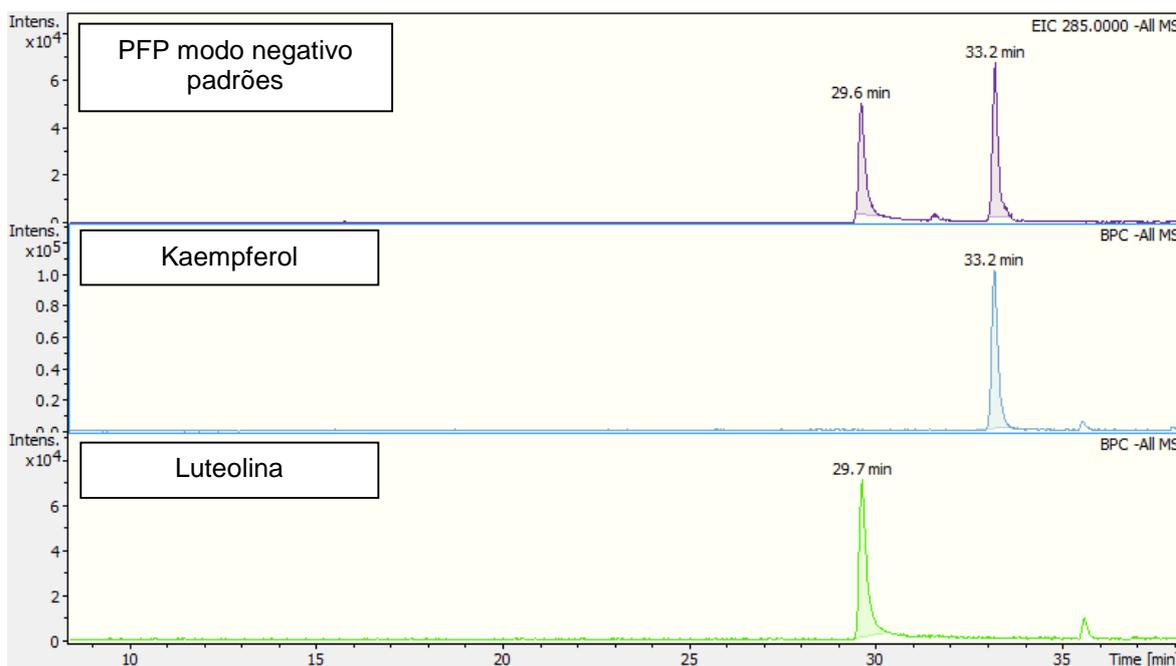
**Anexo 31.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo positivo. Ácido Nordihidroguaiarético e Quercitrina. Comparação dos tempos de retenção.



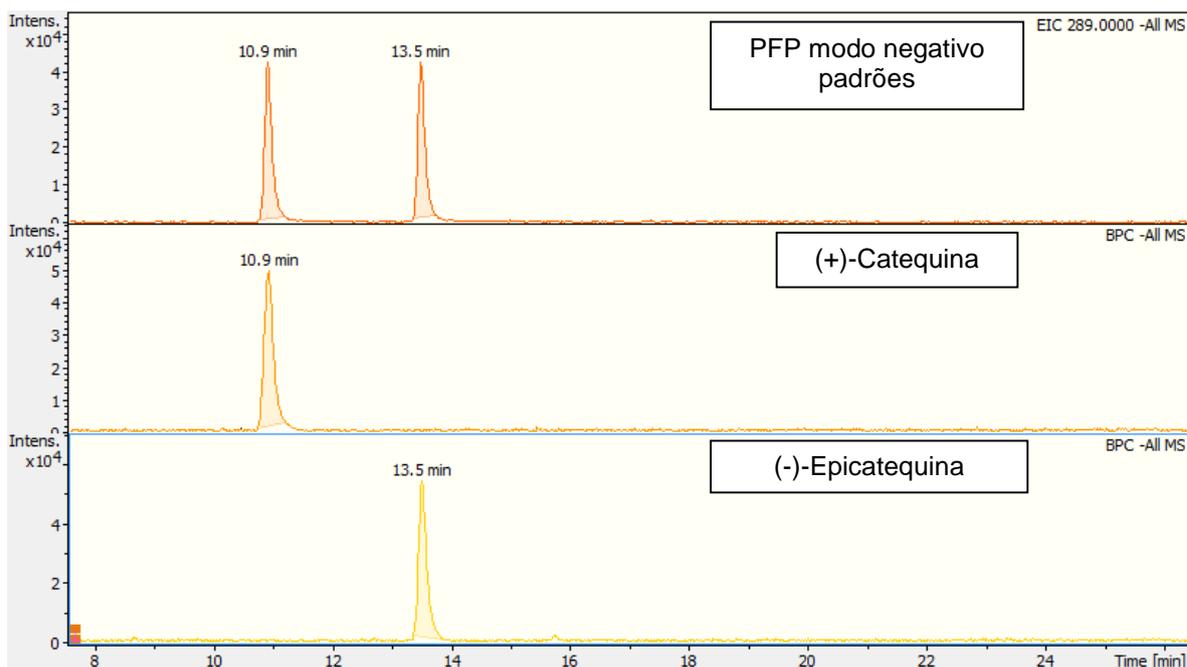
**Anexo 32.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo positivo. (-)-Galocatequina galato e (-)-Epigalocatequina galato. Comparação dos tempos de retenção.



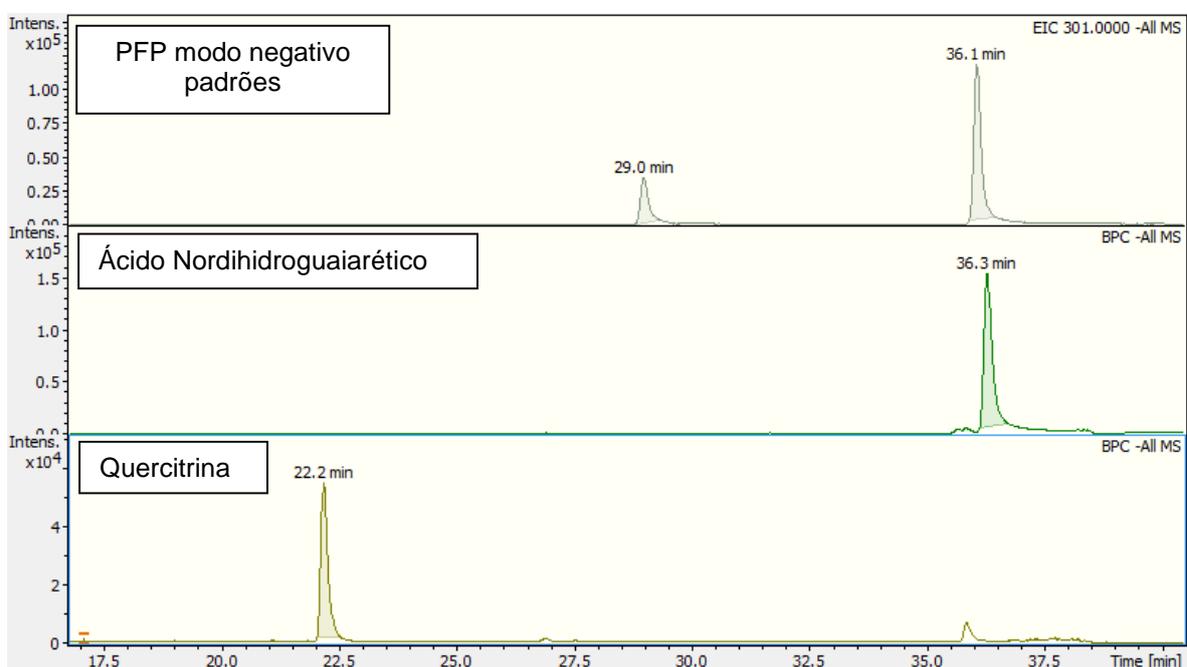
**Anexo 33.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo negativo. Apigenina e Baicaleína. Comparação dos tempos de retenção.



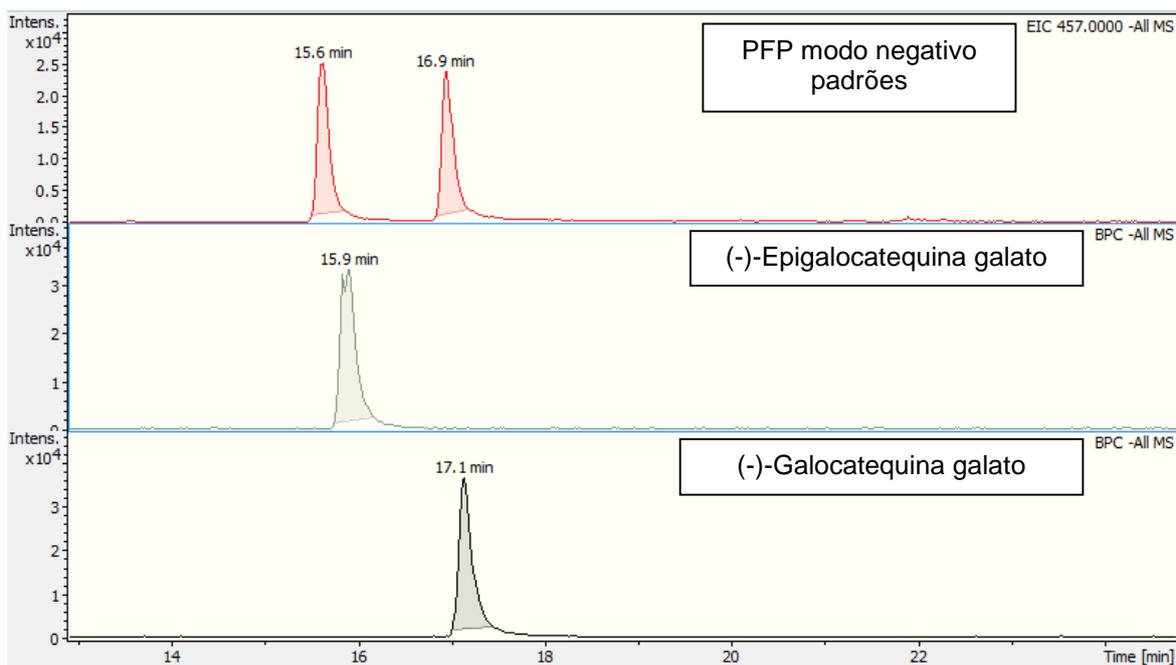
**Anexo 34.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo negativo. Kaempferol e Luteolina. Comparação dos tempos de retenção.



**Anexo 35.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo negativo. (+)-Catequina e (-)-Epicatequina. Comparação dos tempos de retenção.



**Anexo 36.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo negativo. Ácido nordihidroguaiarético e Quercitrina. Comparação dos tempos de retenção.



**Anexo 37.** Cromatograma CL-EM (BPC) coluna PFP no modo negativo. (-)-Epigallocatequina galato e (-)-Galocatequina galato. Comparação dos tempos de retenção.

**Anexo 38.** Identificação de compostos fenólicos das frações dos frutos de *M. flexuosa* L.f. em coluna C-18 e PFP no modo negativo e positivo

	Padrão	M+	[M+H] <sup>+</sup>	[M-H] <sup>-</sup>	m/z C18 (+)	Erro (ppm)	tr (min)	m/z C18 (-)	Erro (ppm)	tr (min)	m/z PFP (+)	Erro (ppm)	tr (min)	m/z PFP (-)	Erro (ppm)	tr (min)
Casca Fr. CHCl <sub>3</sub>	Ácido 3,4-dihidroxibenzóico	154,0260	155,0338	153,0182				153,0199	-11,11	2,9				153,0193	-7,19	5,5
	Ácido clorogênico	354,0945	355,1023	353,0867	355,1034	-3,10	7,2									
	(±)-Narigenina	272,0679	273,0757	271,0601	273,0770	-4,76	26,1	271,0621	-7,38	27,0	273,0763	-2,20	32,1	271,0621	-7,38	31,6
	Apigenina	270,0522	271,0601	269,0444				269,0473	-10,78	28,5						
	Apigenina-7-glicosídeo	432,1050	433,1129	431,0972							433,1130	-0,23	23,3			
	Baicaleína	270,0522	271,0601	269,0444	271,0616	-5,53	26,7				271,0613	-4,43	33,7	269,0459	-5,58	33,2
	Luteolina	286,0471	287,0550	285,0393	287,0571	-7,32	24,0									
Casca Fr. AcOEt	Ácido 3,4-dihidroxibenzóico	154,0260	155,0338	153,0182				153,0190	-5,23	2,2				153,0195	-8,50	6,1
	Ácido clorogênico	354,0945	355,1023	353,0867				353,0887	-5,66	6,5	355,1019	1,13	11,5	353,0879	-3,40	11,4
	Ácido gálico	170,0209	171,0288	169,0131										169,0144	-7,69	3,5
	(+)-Catequina	290,0784	291,0863	289,0706										289,0717	-3,81	11,1
	Apigenina-7-glicosídeo	432,1050	433,1129	431,0972							433,1151	-5,08	23,0	431,0984	-2,78	23,2
	Rutina	610,1528	611,1606	609,1450							611,1614	-1,31	19,0	609,1455	-0,82	19,1
Casca Fr. Hid	Ácido 3,4-dihidroxibenzóico	154,0260	155,0338	153,0182										153,0196	-9,15	6,5
Polpa Fr. CHCl <sub>3</sub>	Ácido 3,4-dihidroxibenzóico	154,0260	155,0338	153,0182				153,0191	-5,88	2,3				153,0197	-9,80	6,1

Cont. Anexo 38. Identificação de compostos fenólicos das frações dos frutos de *M. flexuosa* L.f. em coluna C-18 e PFP no modo negativo e positivo

	Padrão	M <sup>+</sup>	[M+H] <sup>+</sup>	[M-H] <sup>-</sup>	m/z C18 (+)	Erro (ppm)	t <sub>r</sub> (min)	m/z C18 (-)	Erro (ppm)	t <sub>r</sub> (min)	m/z PFP (+)	Erro (ppm)	t <sub>r</sub> (min)	m/z PFP (-)	Erro (ppm)	t <sub>r</sub> (min)
Polpa Fr. AcOEt	Ácido 3,4- dihidroxibenzóico	154,0260	155,0338	153,0182	155,0339	-0,65	2,5	153,0199	11,11	2,5	155,0341	-1,94	5,9	153,0189	-4,57	5,9
	Ácido clorogênico	354,0945	355,1023	353,0867	355,1017	1,69	7,1	353,0871	-1,13	7,1	355,1026	-0,84	11,3	353,0874	-1,98	11,3
	Ácido gálico	170,0209	171,0288	169,0131										169,0141	-5,92	3,6
	Rutina	610,1528	611,1606	609,1450	611,1583	3,76	15,1	609,1466	-2,63	15,5	611,1600	0,98	18,9	609,1444	0,98	18,9
Polpa Hid																
Sementes Fr. CHCl <sub>3</sub>	Ácido 3,4- dihidroxibenzóico	154,0260	155,0338	153,0182				153,0195	-8,50	2,5				153,0195	-8,50	6,1
	Ácido caféico	180,0417	181,0495	179,0338				179,0351	-7,26	7,1				179,0347	-5,03	12,1
	Ácido siríngico	198,0522	199,0601	197,0444	199,0588	6,53	7,9				199,0609	-4,02	12,6			
	Isorramnetina	316,0577	317,0655	315,0499							317,0643	3,78	33,7			
	Baicaleína	270,0522	271,0601	269,0444							271,0587	5,16	33,3			
	Quercetina	302,0421	303,0499	301,0342										301,0348	-1,99	29,1
Quercitrina	448,1000	449,1078	447,0921								449,1087	-2,00	21,5	447,0947	-5,82	21,6
Sementes Fr. AcOEt	Ácido 3,4- dihidroxibenzóico	154,0260	155,0338	153,0182	155,0346	-5,16	2,4	153,0190	-5,23	2,5	155,0349	-7,10	5,4	153,0190	-5,23	5,9
	Ácido caféico	180,0417	181,0495	179,0338	181,0494	0,55	7,2	179,0341	-1,68	7,3				179,0343	-2,79	11,8
	Ácido clorogênico	354,0945	355,1023	353,0867	355,1026	-0,84	7,2	353,0887	-5,66	7,3				353,0885	-5,10	11,3
	Ácido gálico	170,0209	171,0288	169,0131										169,0143	-7,10	3,5
	Quercitrina	448,1000	449,1078	447,0921							449,1068	2,23	21,5	447,0935	-3,13	21,5
Sementes Fr. Hid	Ácido 3,4- dihidroxibenzóico	154,0260	155,0338	153,0182				153,0189	-4,57	2,4						
	Ácido clorogênico	354,0945	355,1023	353,0867				353,0890	-6,51	6,7						
	(+)- Catequina	290,0784	291,0863	289,0706				289,0714	-2,77	6,1						
	Rutina	610,1528	611,1606	609,1450				609,1487	-6,07	15,7						



